

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y METALURGIA
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**



TESIS:

**Cuantificación de fenoles totales y antocianinas en fruto de
ayrampo (*Berberis commutata* Eichler) Liofilizado, por la
metodología de optimización de extracción acelerada por
solventes**

Para optar el Título Profesional de:

INGENIERA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

PRESENTADO POR:

Bach. Daysi MITMA ENCISO

ASESOR:

Ing. Jesús Javier PANIAGUA SEGOVIA

AYACUCHO - PERÚ

2024

DEDICATORIA

A Dios por cuidarme, protegerme, brindarme salud así mismo con mucho aprecio y amor a mis padres Teodoro Mitma y María Enciso por su apoyo incondicional que me brindo día a día en este proceso.

A mis hermanos Jorge Enrique y Mayte por apoyarme y guiarme a lo largo de mi aprendizaje.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme bienestar día a día.

A mis amados padres y hermanos por apoyarme día a día en este proceso de aprendizaje de la vida.

Al Ing. Jesús Javier Paniagua Segovia por su inquebrantable apoyo al prestar su experiencia e ideas para el desarrollo de este estudio, así como por su tiempo.

A los jurados de tesis, al Dr. Alberto Luis Huamani Huamani, al Mg. Cronwell Eduardo Alarcón Mundaca, al Mg. Edith Susan Pillaca Medina.

A la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga y a la plana de docentes de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia por las enseñanzas compartidas durante mi formación profesional.

RESUMEN

El ayrampo (*Berberis Commutata Eichler*) es un fruto nativo de los andes peruanos que son una fuente viable de nutraceuticos por su contenido alto de antocianinas y fenoles. El propósito de esta investigación es determinar las condiciones óptimas de extracción y cuantificar el contenido total de antocianinas monoméricas y fenoles totales del fruto en estudio. El ayrampo liofilizado tiene un contenido de antocianinas monoméricas de $65,97 \pm 0,62$ mg/g y fenoles totales de $50,22 \pm 0,54$ mg GAE/g. Utilizando el método de extracción acelerada con solventes (ASE) a una presión de 10 Mp., y empleando el diseño experimental de Superficie de Respuesta (RSM) - Box-Behnken (BBD) con 17 ejecuciones, con las siguientes variables: Etanol a una concentración de 50%, 60%, 70%, tiempos de extracción 9 min, 11 min, y 13 min y temperatura 80 °C, 90 °C y 100 °C, se obtuvieron extractos con contenido de antocianinas monoméricas entre $47,34 \pm 0,50$ mg/g a $56,33 \pm 0,57$ mg/g y fenoles totales entre $41,40 \pm 1,73$ mg GAE/g a $59,96 \pm 1,66$ mg GAE/g. El mayor contenido de antocianinas monoméricas ($56,33 \pm 0,57$ mg/g) se obtuvo con las condiciones óptimas de 100 °C, 13 minutos y 60% de etanol. El mayor contenido de fenoles totales ($59,96 \pm 1,66$ mg GAE/g) se obtuvo con las condiciones óptimas de 90 °C, 13 minutos y una concentración de 70% de etanol. Según este estudio se puede obtener altos contenidos de antocianinas monoméricas y fenoles totales utilizando solventes no tóxicos y el método ASE.

Palabras clave: Ayrampo, *Berberis*, ASE, antocianinas monoméricas y fenoles totales.

ABSTRACT

Ayrampo (*Berberis Commutata* Eichler) is a fruit native to the Peruvian Andes that is a viable source of nutraceuticals due to its high content of anthocyanins and phenols. The purpose of this research is to determine the optimal extraction conditions and to quantify the total content of monomeric anthocyanins and total phenols of the fruit under study. Freeze-dried ayrampo has a monomeric anthocyanin content of 65.97 ± 0.62 mg/g and total phenols of 50.22 ± 0.54 mg GAE/g. Using the accelerated solvent extraction (ASE) method at a pressure of 10 MPa, and employing the Response Surface Method (RSM) - Box-Behnken (BBD) experimental design with 17 runs, with the following variables: Ethanol at a concentration of 50%, 60%, 70%, extraction times 9 min, 11 min, and 13 min and temperature 80 °C, 90 °C and 100 °C, extracts were obtained with monomeric anthocyanin content between 47.34 ± 0.50 mg/g to 56.33 ± 0.57 mg/g and total phenols between 41.40 ± 1.73 mg GAE/g to 59.96 ± 1.66 mg GAE/g. The highest monomeric anthocyanin content (56.33 ± 0.57 mg/g) was obtained with the optimum conditions of 100 °C, 13 min and 60% ethanol. The highest content of total phenols (59.96 ± 1.66 mg GAE/g) was obtained with the optimum conditions of 90 °C, 13 minutes and 70% ethanol concentration. According to this study, high contents of monomeric anthocyanins and total phenols can be obtained using non-toxic solvents and the ASE method.

Key words: Ayrampo, *Berberis*, ASE, monomeric anthocyanins and total phenols.

INDICE

CAPITULO I	1
GENERALIDADES	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	2
1.2.1 Problema principal.....	2
1.2.2 Problema secundario	2
1.3. OBJETIVOS	2
1.3.1 Objetivo general	2
1.3.2 Objetivos específicos	2
1.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA	3
1.4.1 Justificación económica	3
1.4.2 Justificación social.....	3
1.5. DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA	3
1.5.1. Espacial	3
1.5.2. Temporal.....	4
1.6. HIPOTESIS	4
1.6.1 Hipótesis general.....	4
1.6.2 Hipótesis específica.....	4
1.7. VARIABLES	4
1.7.1 Variable dependiente	4
1.7.2 Variable independiente.....	4
CAPITULO II	5
MARCO TEORICO	5
2.1 ANTECEDENTES	5
2.2 AYRAMPO	10
2.2.1 Clasificación taxonómica.....	10
2.2.2 Descripción botánica	11
2.2.3 Composición química del ayrampo	11
2.3 ANTOCIANINAS	12
2.3.1 Contenido de antocianinas en el Ayrampo	12
2.3.2 Composición química del ayrampo	13
2.3.3 Clasificación.....	13
2.3.4 Factores que alteran la estabilidad de las antocianinas.....	14
2.3.5 Clasificación de los compuestos fenólicos	16

2.3.6	Presencia de pigmento de antocianinas en la naturaleza.....	16
2.4	COMPUESTOS FENOLICOS.....	17
2.5	METODOS DE EXTRACCIÓN.....	18
2.5.1	Método de extracción acelerada con solventes (ASE).....	18
2.5.2	Extracción directa.....	22
2.5.3	Extracción Soxhlet.....	22
2.6	El método de superficie respuesta	22
2.7	Software Desing-Expert	23
CAPITULO III		25
MATERIALES Y MÉTODOS		25
3.1	LUGAR DE EJECUCIÓN	25
3.2	PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO	25
3.2.1	Nivel de investigación.....	25
3.2.2	Tipo de investigación.....	25
3.2.3	Tipo de análisis estadístico	25
3.3	MATERIALES.....	26
3.3.1	Equipos.....	26
3.3.2	Materiales	26
3.3.3	Reactivos	27
3.3.4	Software.....	27
3.4	METODOS	27
3.4.1	Tratamiento inicial de los frutos del ayrampo liofilizado	27
3.4.2	Extracción de antocianinas y fenoles.....	32
3.4.3	Determinación del contenido de las antocianinas monoméricas	38
3.4.4	Determinación del contenido de fenoles totales.....	42
CAPITULO IV.....		47
RESULTADOS Y DISCUSIONES		47
4.1	ANÁLISIS INICIAL DE LOS FRUTOS DEL AYRAMPO (<i>Berberis Commutata Eichler</i>).....	47
4.1.1	Análisis de acidez y °Brix del fruto de ayrampo fresco.	47
4.1.2	Resultados de la humedad antes y después de la liofilización	48
4.1.3	Resultados de las antocianinas de maíz morado y ayrampo liofilizado.....	48
4.2	ANÁLISIS DE EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS MONOMERICAS Y FENOLES TOTALES.	49
4.3	CONTENIDO DE ANTOCIANINAS EN EXTRACTOS OBTENIDOS DEL ASE.	

4.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS EN LA EXTRACCIÓN CON ASE.	55
4.4.1	Análisis de varianza de la extracción antocianinas	55
4.4.2	Análisis de superficie de respuesta (RSM) en antocianinas	56
4.5	CONTENIDO DE FENOLES EN EXTRACTOS OBTENIDOS DEL ASE.....	61
4.6	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE FENOLES.....	64
4.6.1	Análisis de varianza de fenoles totales del ayrampo.....	64
4.6.2	Análisis de superficie de respuesta (RSM) en fenoles totales.....	64
4.7	EFFECTO DE LOS PARÁMETROS.....	68
4.8	ANÁLISIS DEL GRÁFICO DE SUPERFICIE RESPUESTA	68
4.9	VALIDACIÓN DEL MODELO PREDICTIVO	69
	CONCLUSIONES	70
	RECOMENDACIONES.....	71
	ANEXOS	75

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Características fisicoquímicas del fruto de ayrampo.	11
Tabla 2.	Actividad antioxidante y compuestos bioactivos del fruto de ayrampo fresco.	12
Tabla 3.	Composición química proximal en 100 g de fruto de ayrampo.....	13
Tabla 4.	Contenido de antocianinas y fenoles en diferentes materias primas.	17
Tabla 5.	Factores y niveles experimentales.....	34
Tabla 6.	Resultados experimentales de los °Brix y del % de acidez.	47
Tabla 7.	Resultados de la humedad de las muestras antes y después de la liofilización	48
Tabla 8.	Contenido de antocianinas y fenoles en el maíz morado negro Canaán y ayrampo.	48
Tabla 9.	Volumen final de la extracción.....	50
Tabla 10.	Resultado del contenido de antocianinas en mg/L.....	51
Tabla 11.	Resultado del mínimo y máximo contenido de antocianinas a diferentes factores extraídos en el ASE.	54
Tabla 12.	Tabla de ANOVA del contenido total de antocianinas.....	56
Tabla 12.	Concentración de (mg G.A./ml).....	61
Tabla 13.	Resultados del contenido de fenoles de las 17 muestras.	62
Tabla 14.	Resultado del mínimo y máximo contenido de fenoles en las 17 muestras. .	63
Tabla 15.	Tabla de ANOVA del contenido total de fenoles	64
Tabla 16.	Tabla 17. Predicción del rendimiento de las antocianinas.	69

Tabla 17.Tabla 18. Predicción del rendimiento de los fenoles.	69
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.Ayrampo (<i>Berberis commutata</i> Eichler).....	11
Figura 2.Estructura básica de las antocianinas.	13
Figura 3.Transformación estructural de las antocianinas a diversos valores de pH	14
Figura 4.Clasificación de los compuestos fenólicos.	16
Figura 5.Principales características de operación del ASE 150 extractor de solvente acelerado.	20
Figura 6.Diagrama de bloques del proceso de liofilización del ayrampo.	27
Figura 7.Recolección de los frutos en el centro poblado de Liriopata en el distrito Chiara	28
Figura 8.Selección de los frutos del ayrampo.....	28
Figura 9.Eliminación de pepas del fruto del ayrampo.	29
Figura 10.Liofilización de los frutos del ayrampo sin pepa.....	29
Figura 11.Almacenamiento de la muestra de ayrampo liofilizado.	30
Figura 12.Muestras de ayrampo después de retirar de la estufa.	31
Figura 13. Proceso de extracción de las antocianinas y fenoles de los frutos liofilizados del ayrampo.	32
Figura 14.Preparación de las concentraciones de etanol.....	32
Figura 15.Preparación de la muestra para luego realizar la extracción.	33
Figura 16.Partes importantes del ASE 150 Extractor de Solvente Acelerado.	35
Figura 17.Eschema del proceso de extracción de las antocianinas y fenoles del ayrampo liofilizado.	36
Figura 18.Proceso de incorporación de la celda de muestra al ASE 150.	36
Figura 19.Proceso de medición del volumen.	37
Figura 20.Almacenamiento del extracto de las muestras.....	37
Figura 21.Medición del pH 1.0.....	38
Figura 22.Medición del pH 4.5.....	38
Figura 23.Proceso de la preparación de la solución de prueba.	39
Figura 24.Proceso para realizar la lectura de las absorbancias de las antocianinas. ..	40
Figura 25.Proceso para la lectura de la absorbancia.	41
Figura 26.Proceso de la determinación de las absorbancias.....	44
Figura 27.Proceso para la lectura de la absorbancia de los fenoles.....	45
Figura 27. Efectos interactivos de la concentración del etanol y la temperatura de extracción.....	57

Figura 28. Contorno de efectos interactivos de la concentración del etanol y la temperatura de extracción.....	58
Figura 29. Efectos interactivos del tiempo de extracción y la temperatura.....	59
Figura 30. Efectos interactivos del tiempo de extracción y la temperatura.....	59
Figura 31. Efectos interactivos del tiempo de extracción y la concentración del etanol.....	60
Figura 32. Efectos interactivos del tiempo de extracción y la concentración del etanol.....	61
Figura 35. Curva Acido Gálico (hidroalcoholico).....	62
Figura 34. Efectos interactivos de la concentración del etanol y la temperatura de extracción.....	65
Figura 35. Efectos interactivos de la concentración del etanol y la temperatura de extracción.....	65
Figura 36. Efectos interactivos del tiempo de extracción y la temperatura.....	66
Figura 37. Efectos interactivos del tiempo de extracción y la temperatura.....	66
Figura 38. Efectos interactivos del tiempo de extracción y la concentración del etanol.....	67
Figura 39. Efectos interactivos del tiempo de extracción y la concentración del etanol.....	67

CAPITULO I

GENERALIDADES

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Hoy en día la población está optando por consumir productos saludables que no pongan en riesgo su salud, uno de los casos viene a ser los colorantes artificiales que son dañinos para el organismo. Existen investigaciones sobre la obtención de colorantes naturales de diversas plantas y frutos que pueden ser una alternativa para reemplazar los colorantes sintéticos Alfaro Ayvar (2019).

Actualmente el ayrampo (*Berberis commutata Eichler*) tiene un gran potencial como colorante por el contenido de antocianinas, el ayrampo es utilizado como remedios caseros, infusiones, alimento para algunas aves y en otras ocasiones lo utilizan para el teñido de hilos, sin embargo, este recurso no está siendo aprovechado adecuadamente todo su beneficio, ya que son plantas silvestres que se encuentran en las áreas no muy accesibles Alfaro Ayvar (2019).

En la región de Ayacucho, estos frutos silvestres no han sido estudiados a plenitud con respecto a la composición de antocianinas y su aplicación en la industria alimentaria, de tal forma que no se cuenta con una base de datos, no existen parámetros establecidos para una óptima extracción, existe poca información sobre los solventes

adecuados, faltan datos sobre el contenido de fenoles este hecho exige un inmediato estudio sobre el contenido de las antocianinas en el fruto de ayrampo.

Se conoce diversos métodos de extracción de antocianinas, extracción directa, extracción soxhlet, extracción acelerada por solventes (ASE) y otros. Se han extraído antocianinas de ayrampo (*Berberis*) solo por métodos de extracción directo y soxhlet, pero no se encuentra una información detallada sobre la extracción de antocianinas y fenoles del ayrampo por extracción acelerada por solventes (ASE), porque es necesario optimizar el proceso de extracción con el ASE y evaluar los extractos del contenido de antocianinas y fenoles totales.

En el presente estudio se determinará los parámetros óptimos de extracción que se pretende extraer la máxima cantidad de antocianinas y fenoles del fruto de ayrampo en relación del tiempo, % de etanol y temperatura con el equipo de extracción acelerada con solventes (ASE) 150, así obtener una base de datos para futuras investigaciones.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1 Problema principal

¿Cuáles son los parámetros óptimos de extracción que produzcan el máximo de antocianinas, fenoles totales de frutos de ayrampo (*Berberis Commutata Eichler*) a través de la extracción acelerada por solventes?

1.2.2 Problema secundario

- ¿Cuál es la cantidad de las antocianinas y fenoles totales los frutos liofilizados de ayrampo (*Berberis Commutata Eichler*)?
- ¿Cuáles son las condiciones óptimas de extracción de antocianinas, fenoles totales de frutos liofilizados de ayrampo como la temperatura, % de alcohol y tiempo a través de la extracción acelerada por solventes (ASE), aplicando el diseño de la metodología de superficie de respuesta (RSM)?

1.3. OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo general

- Determinar los parámetros óptimos de extracción que obtenga el máximo contenido de antocianinas y fenoles totales de frutos de ayrampo (*Berberis Commutata Eichler*) a través de la extracción acelerada por solventes.

1.3.2 Objetivos específicos

- Determinar la cantidad de antocianinas y fenoles totales los frutos liofilizados de ayrampo (*Berberis Commutata Eichler*).

- Optimizar la extracción de antocianinas, fenoles totales de frutos liofilizados de ayrampo a través de la extracción acelerada por solventes (ASE), aplicando el diseño de la metodología de superficie de respuesta (RSM).

1.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

1.4.1 Justificación económica

El objetivo es determinar el diseño de la metodología de superficie de respuesta (RSM) para la extracción acelerada con solventes (ASE) con el fin de extraer antocianinas y fenoles totales de frutos liofilizados de ayrampo (*Berberis Commutata Eichler*). El propósito de este proyecto de investigación es recopilar una base de datos porque no hay mucha información disponible sobre la extracción por el método del ASE de fenoles y antocianinas. Después, el procedimiento de extracción se ampliará para apoyar futuros estudios que pretendan utilizar los frutos silvestres como fuente natural de colorantes para la industria alimentaria y de esa forma la economía de los pobladores se incremente por la venta de ayrampo.

1.4.2 Justificación social

La falta de reconocimiento de esta fruta autóctona, que crece en el distrito de Chiara Anexo Lirio pata, es la causa de que esta práctica se esté extinguiendo se pueden obtener altas concentraciones de antocianinas y fenoles con la tecnología adecuada y utilizarlos como colorantes naturales para diversas industrias, como alimentaria, textil, etc. Esto puede elevar el nivel de vida de los pobladores andinos y promover su desarrollo rural, lo que mejorará sus circunstancias socioeconómicas.

1.5. DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

1.5.1. Espacial

La recolección de las muestras de frutos de ayrampo se realizó en el centro poblado de Liriopata, distrito de Chiara, provincia de Huamanga y departamento de Ayacucho que se encuentra a una altitud de 3711 m s.n. m. y a un ubigeo de 050105. La parte experimental se realizó en el Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y en el Laboratorio de Investigación de la Universidad Nacional de San Marcos.

1.5.2. Temporal

La ejecución de la investigación se dio en el periodo de mayo 2023 – febrero 2024.

1.6. HIPOTESIS

1.6.1 Hipótesis general

Los parámetros óptimos de extracción que obtengan el máximo contenido de antocianinas y fenoles totales de frutos de ayrampo (*Berberis Commutata Eichler*) a través de la extracción acelerada por solventes, dependen de la concentración de etanol, tiempo de extracción y temperatura de extracción.

1.6.2 Hipótesis específica

- La cantidad de las antocianinas y fenoles totales de los frutos liofilizados de ayrampo (*Berberis Commutata Eichler*) son altos en relación a otros frutos.
- La optimización de extracción de antocianinas, fenoles totales de frutos liofilizados de ayrampo a través de la extracción acelerada por solventes (ASE), aplicando el diseño de la metodología de superficie de respuesta (RSM), permite extraer la totalidad de antocianinas del fruto liofilizado.

1.7. VARIABLES

1.7.1 Variable dependiente

- Cantidad de antocianinas.
- Cantidad de fenoles.

1.7.2 Variable independiente

- Concentración de etanol.
- Tiempo de extracción.
- Temperatura de extracción.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1 ANTECEDENTES

Qinghua et al. (2018), “Optimización de extracción de fenólicos y antioxidantes de Black Goji Berry por extractor de solvente acelerado usando metodología de superficie de respuesta”. Este estudio tiene como objetivo proporcionar conocimientos fundamentales para el uso de la baya de goji negra y determinar los parámetros de proceso óptimos que producen el máximo de compuestos fenólicos a partir de la baya de goji negra a través de la extracción acelerada por solventes (ASE). Las extracciones óptimas de fenoles y antioxidantes del goji negro se exploraron a través de las técnicas ASE, aplicando el diseño de la metodología de superficie de respuesta (RSM). Después de alcanzar las condiciones óptimas para factores individuales, se encontraron las condiciones óptimas de extracción de ASE a través de un total de 17 ejecuciones siguiendo el diseño Box-Behnken (BBD) de RSM. El rendimiento máximo de contenido fenólico total (TPC) fue de 17,92 mg GAE/g en las mejores condiciones de extracción: una temperatura de extracción de 89,38 °C, una concentración de etanol del 70% y un tiempo de extracción de 13 min. Este estudio indica que las condiciones óptimas de extracción podrían servir como base científica para la producción industrial a mayor escala. La baya negra de goji podría ser una fuente viable de nutraceuticos debido a la abundancia de sustancias antioxidantes y fenolicas.

Carpio et al. (2014), “Caracterización de las antocianinas de los frutos de berberis”. En la investigación nos indica que se realizó un análisis por HPLC-PDA

(Cromatografía líquida de alta resolución) en el cual se encontró la presencia de 5 aglicones: delphinidina, cianidina, petudinina, peonidina y malvidina que son componentes esenciales de la antocianina, así mismo se realizó un análisis en HPLC – espectrometría de masas tándem, lo cual confirmó la presencia de 10 picos y que por la diferencia de masas se logró identificar las antocianinas presentes en *Berberis boliviana* lechler las cuales son: delphinidina-3-glucósido, delphinidina-3- rutinósido, cianidina-3- glucósido, cianidina-3-rutinósido, petunidina-3- glucósido, petunidina-3-rutinósido, peonidina-3-glucósido, peonidina-3- rutinósido, malvidina-3-glucósido y malvidina-3- rutinósido. La petunidina-3- glucósido fue identificada como el principal pigmento, en una concentración de 24,43%.

Apaza Yucra (2017), “influencia de parámetros fisicoquímicos en la extracción de pigmentos de ayraimo (*opuntia soehrensii*), sobre el contenido de fenoles totales, betacianinas totales y capacidad antioxidante”. En este estudio, el airampo se pesó, se secó y se selló en bolsas de polietileno para garantizar su integridad. Se diluyeron etanol al 96% y agua en una proporción de 0:100 y 80:20, ajustados con una solución de ácido cítrico al 1% para alcanzar un pH de 3 y 5, con el fin de examinar el impacto de la extracción. Según los datos, el contenido en fenoles y la capacidad antioxidante están inversamente correlacionados con el pH, y las altas concentraciones de etanol (>50%) facilitan la extracción de antocianinas. Además, los datos sugieren que, por encima de 50 °C, disminuyen la isomerización y la descarboxilación de las betacianinas, los fenoles y la capacidad antioxidante.

Aranibar Aguilar (2013), “Extracción de antocianinas a partir del fruto de tankar (*berberis boliviano* L.) y determinación del contenido por el método del pH- diferencial”. Originario de la región, el tankar (*Berberis boliviana* L.) crece en elevaciones entre 33000 y 3800 metros sobre el nivel del mar. Su fruto es una baya pequeña, comestible, de color púrpura intenso y con un alto contenido potencial de antocianinas. En este estudio, el pigmento investigado se midió mediante el método de pH diferencial, obteniéndose un contenido máximo de $1234,38 \pm 4,59$ mg/100g de antocianinas en base húmeda. Se propusieron tres parámetros tecnológicos, incluyendo tiempo, pH y temperatura, para la extracción de antocianinas del fruto del tankar (*Berberis boliviana* L.).

Para este objetivo se empleó un DCA factorial (diseño completamente aleatorizado) y para el análisis de los datos se utilizó el software estadístico STATGRAPHICS Centurion Versión XVI.I. Utilizando el análisis de varianza (ANOVA) y el TUKEY, se pudo demostrar que los tres parámetros investigados tienen un impacto estadísticamente significativo sobre la cantidad de antocianinas en el fruto de tankar, con una fiabilidad

del 95,0%. Tras una cuidadosa consideración, se determinó que las condiciones tecnológicas ideales (tiempo, pH y temperatura) para la extracción de antocianinas del fruto tankar (*Berberis boliviana* L.) son durante un periodo de 24 horas a un pH de 4, una temperatura de 20°C y un tratamiento 12. Además, el estudio fisicoquímico del fruto arrojó los siguientes resultados: Humedad (%) 56.11; pH 3.01; Sólidos solubles totales (0 Brix) 1 0.25; Acidez titulable (Expresado en ácido cítrico) 2.86; Índice de madurez (SST/acidez) 3.59.

Justo, Condori (2018), “Obtención de extracto colorante por maceración a partir de las semillas de ayrampo (*Opuntia soehrensii*) procedentes de la provincia de Candarave”. Las semillas secas de ayrampo se extrajeron de frutos recolectados en la provincia de Candarave y se emplearon en esta investigación para crear el extracto colorante. Primero se aplicaron tres condiciones de maceración: tiempo (30, 60, 90 min), velocidad de agitación (0, 90, 180 rpm) y temperatura (20, 30, 40 °C). Utilizando un diseño factorial 3 2, se decidió realizar pruebas adicionales para los factores relevantes, como la duración (30, 35, 40 min) y la velocidad de agitación (190, 195, 200 rpm), tras concluirse estadísticamente que la temperatura no es significativa para las condiciones experimentales. Basándose en el análisis estadístico, se determinó que los parámetros de maceración ideales para obtener el extracto colorante óptimo son: 38,35 minutos y 198,82 rpm de agitación. En estas condiciones, se obtuvieron 177,927 mg de betacianinas/100 g, 69,073 mg de betaxantinas/100 g y 246,9 mg de betalaínas/100 g.

Jorge, P. y Troncoso, L (2016), “Capacidad antioxidante del fruto de la *Opuntia apurimacensis* (ayrampo) y de la *Opuntia ficus-indica* (tuna)”. Menciona que realizaron estudios para determinar el potencial antioxidante de la tuna y el ayrampo, el contenido total de polifenoles y la concentración de vitamina C. En los extractos acuosos se midieron la vitamina C, los polifenoles totales y la capacidad antioxidante (FRAP). Tras un análisis de los datos con un nivel de confianza del 95% mediante la prueba de Mann-Whitney, se llegó a las siguientes conclusiones. En comparación con la tuna, el ayrampo presentó mayores niveles de vitamina C (49,9 y 36,1 mg de ácido ascórbico/100 g ff), polifenoles totales (107,3 y 68,7 mg de ácido gálico equivalente/100 g ff) y capacidad antioxidante (1,1 y 0,7 mmoles Fe-II/100 g ff). La capacidad antioxidante y la vitamina C se correlacionaron mejor para el ayrampo (0,91 y 0,56), aunque los polifenoles totales y la capacidad antioxidante se correlacionaron mejor para las tunas (0,98 y 0,82). En resumen, el ayrampo mostró una mayor capacidad antioxidante en comparación con las chumberas.

Alarcón (2015) en su trabajo denominado “optimización de parámetros de extracción de antocianinas del maíz morado (*zea mays l.*) por el método de superficie de respuesta y verificación experimental” explica que se obtuvieron los siguientes datos de optimización utilizando la metodología de superficie de respuesta (RSM): temperatura de 73,35 °C, tiempo de 33,41 mnt y pH de 3,17. Además, afirma que el método de superficie de respuesta de la aplicación STATGRAFICS PLUS® es una herramienta útil para optimizar varias variables con resultados muy próximos a la perfección y un alto grado de gestión estadística.

Ruiz y Cormilluni (2021) realizaron una investigación denominada “Antocianinas en corontas y extractos de maíz morado (*Zea Mays L*) “INIA 615” conservados en anaquel” donde identificaron y cuantificaron por cromatografía UPLC antocianinas en corontas de maíz morado (*Zea mays L*) “INIA 615” o “Negro Canaán” y sus extractos conservados en envases de vidrio en anaquel. Se aplicó el método del pH diferenciado para antocianinas totales y el Diseño Factorial de Variables Mixtas 3×2^2 con 14 tratamientos, utilizando el software Statgraphics Centurión XVII para el análisis estadístico, siendo las variables independientes: tiempo de almacenaje/muestro: 15, 52 y 90 días; envases ámbar, verde e incoloro con iluminación permanente de 470 lux /m²; c) pH 3, 3,5 y 4, mientras que la variable dependiente fue la degradación de antocianinas totales. En corontas se encontró 12,98 mg/g de antocianinas totales siendo 4,94 mg/g de cianidina-3-glucósido y 3,38 mg/g de cianidina-3- (6”malonilglucósido). En los extractos se encontraron principalmente cianidina-3-glucósido (93,56 µg/mL) y cianidina-3-(6”malonilglucósido) (48,15 µg/mL). Las variables tuvieron un nivel de significancia $p < 0,05$. A 90 días ambas cianidinas se degradaron: cianidina-3- glucósido (69,63%, ámbar, pH 3; 79,05%, incoloro, pH 4) y cianidina-3-(6”malonilglucósido) (91,61%, ámbar, pH 3; 95,35% incoloro, pH 4).

Hoyos (2019) realizó un estudio en la INIA de Cajamarca con el título de “INIA identifica variedad de maíz morado con mayor contenido de antocianina y potencial de rendimiento” donde nos indica que Se ha determinado que el maíz morado INIA 601 es superior a las demás, pues tiene rendimientos de hasta 5.2 toneladas por hectárea, frente a las 3.5 toneladas de las otras. Además, contiene 6.34 % de antocianinas en coronta y 3.03 % en panca, el contenido de antocianinas del maíz morado es una gran ventaja que favorece varios aspectos de nuestra salud, como por ejemplo disminuye la presión alta y el colesterol, y previene varios tipos de cáncer.

Barraga (2023) realizó una investigación denominada “Cuantificación de Antocianinas y Compuestos Fenólicos en *Muehlenbeckia Volcanica* (Benth) Endlicher (*Mullaca*)-Recuay, Ancash” *Muehlenbeckia volcanica* (Benth) es una planta medicinal silvestre, se encuentra en la categoría de especie amenazada, además el fruto presenta propiedades tintóreas por lo cual es utilizada desde épocas prehispánicas por la población andina, sin embargo son escasas las investigaciones sobre su composición química, por lo que el objetivo de la presente investigación fue realizar un tamizaje fitoquímico y determinar el contenido de antocianinas totales (CAT) y compuestos fenólicos totales (CFT) en la parte aérea de *M. volcánica*; para la cuantificación de antocianinas se utilizó el método del pH diferencial y la determinación de fenoles se realizó con la prueba de Folin-Ciocalteu en muestra seca. Los resultados revelan un alto CAT en el fruto (460,58 mg de cianidina-3-glucósido /100 g m.s.) comparable al de especies de importancia comercial; en tanto que el de CFT, expresado en equivalentes de ácido gálico (EAG), fue muy similar para hojas, fruto y tallo (1536,22, 1501,44 y 1461,79 mg EAG/100 g m.s. respectivamente), todo lo cual convierte a *M. volcánica* en una fuente potencial de antocianinas naturales y de compuestos fenólicos que le otorgan un futuro promisorio para su aprovechamiento agroindustrial y medicinal.

Heras, Alvis y Arrazola (2013) realizaron una investigación titulada “Optimización del Proceso de Extracción de Antocianinas y Evaluación de la Capacidad Antioxidante de *Berenjena* (*Solana melonera* L.)” El objetivo de esta investigación fue optimizar el proceso de extracción de antocianinas obtenidas de berenjena (*Solanum melongena* L.) y evaluar su capacidad antioxidante. A extractos de piel y pulpa se le realizaron análisis fisicoquímicos, contenido en fenoles y antocianos. Para la optimización del proceso de extracción de las antocianinas se empleó la metodología de superficie de respuesta con tres factores: concentración de solvente etanol acidificado 1% ácido ortofosfórico (50 a 90% v/v), temperatura extracción (30 a 60°C) y tiempo extracción (4 a 12 horas) se utilizó muestra fresca para la extracción. La evaluación de la capacidad antioxidante se realizó empleando el método ABTS (6-sulfonato-3-etilbenzotiazolina). El proceso de extracción de antocianinas de la cáscara sigue un modelo cuadrático, mientras que la capacidad antioxidante tuvo un comportamiento lineal. La optimización del modelo mostró que las condiciones de extracción con 50% de solvente acidificado, tiempo de proceso de 4 horas y temperatura de 30 °C presentó los mayores contenidos de antocianinas, alcanzando 62 mg/100g.

Gorriti, Quispe y Arroyo (2009) realizaron una investigación con el título de “Extracción de antocianinas de las corontas de *zea mays* L. Maíz morado” .En el presente

trabajo se investigaron las condiciones óptimas de extracción de antocianinas de las corontas del maíz morado mediante el empleo de un diseño completo al azar con arreglo factorial 2A3B4C4D. Los factores estudiados fueron pH, solvente, tiempo y temperatura. Los resultados mostraron antocianinas entre 8,404 y 47,984 mg/g de coronta, determinados según el método de pH diferencial. Se presenta el análisis de los cuatro factores.

Rabanal y Medina (2021) realizaron una investigación en “*Análisis de antocianinas en el maíz morado (Zea mays L.) del Perú y sus propiedades antioxidantes*” El maíz morado (*Zea mays L.*), es un importante cereal del Perú, el cual contiene polifenoles, entre los que se encuentran los flavonoides, siendo los más importantes, las antocianinas. La mazorca (olote y grano) está constituida en un 85% por grano y un 15% de olote. Su alto contenido en antocianina, principalmente como cianidina-3-glucosido (C3G), hace que actúe como un poderoso antioxidante natural, anticancerígeno, y antiinflamatorio. Determinaron antocianinas en coronta (elote) de maíz morado proveniente de Arequipa entre 23,4 a 48 mg/g. Por tanto, la cantidad encontrada de antocianinas en la coronta de maíz morado INIA 615 está dentro del rango de las investigaciones mencionadas, lo que indica que la técnica utilizada en nuestro análisis permite validar adecuadamente el resultado.

2.2 AYRAMPO

Entre las diversas especies silvestres que se encuentran en Perú está el ayrampo, que crece sobre todo como protección alrededor de los campos de cultivo debido a sus enormes y afiladas espinas, sus flores amarillas y sus frutos morados.

Se conocen datos sobre esta especie en Perú desde la conquista; en concreto, el cronista Bernabé Cobo la denominó quisca-quisca, que significa planta espinosa. Tiene pequeñas flores amarillas y espinas afiladas, y cuando sus frutos se utilizan como tinte, dan un suave color púrpura. Además, existen tradiciones orales que indican que las ñustas utilizaban estos frutos como champú colorante natural para lavar y cuidar su cabello durante el Incanato Giusti (2009).

2.2.1 Clasificación taxonómica

División : Magnoliophyta

Clase : Magnoliopsida

Orden : Ranunculales

Familia : Berberidaceae

Género : Berberis

Especie: Berberis commutata Eichler

Figura 1. Ayrampo (*Berberis commutata* Eichler)



Nota. Extraído de Giusti (2019).

2.2.2 Descripción botánica

El ayrampo tiene un Arbusto de 1.5 a 3 m de altura, con ramas fuertes, con espinas trífidas, agudas, rígidas, la espina central frecuentemente ganchoso y los laterales más rectos. Hojas en grupos de 4 a 6 oval lanceoladas, nervaduras poco pronunciadas. Flores amarillas, formando racimos simples. Los frutos tipo baya negra, esférica; la baya aloja generalmente cuatro semillas negras semilunares comprimidas lateralmente.

2.2.3 Composición química del ayrampo

Tabla 1. Características fisicoquímicas del fruto de ayrampo.

Características	Valores/Descripción
Color	Azul violáceo
Olor	Suigéneris
Sabor	Suigéneris
Densidad del zumo (g/cc)	1.089
PH	2.5

Sólidos solubles totales (°Bx)	17
Acidez (g/100 ml)	2.3
Índice de madurez (SST/acidez)	7.39

Nota. Extraído de CCatamayo (2011).

2.3 ANTOCIANINAS

El nombre "antocianina" procede de las palabras griegas "anthos" (flor) y "kyanos" (azul oscuro). Las antocianinas, que se depositan en la vacuola celular, son el pigmento más esencial después de la clorofila y son responsables de los colores rojos, azules o violetas de la mayoría de frutas y flores (Leyva, 2009). Todos los metabolitos secundarios denominados conjuntamente flavonoides incluyen las antocianinas. Las antocianinas naturales más abundantes son los tres-O-glicósidos y los tres-cinco di-O-glicósidos (Giusti,1996).

Las antocianinas son un grupo de metabolitos secundarios denominados colectivamente flavonoides. Los tipos de antocianinas más frecuentes en la naturaleza son los glucósidos de tres-O y los glucósidos de tres-O y cinco di-O.

Las antocianinas son pigmentos solubles en agua, lo que facilita su incorporación en los sistemas acuosos alimentarios. Estas cualidades hacen que estos colorantes naturales sean atractivos como pigmentos naturales inocuos con considerable potencial en la industria alimentaria de productos con un rango de pH ácido.

Aparte de su tonalidad, se dice que las antocianinas ofrecen ventajas para la salud como potentes antioxidantes y podrían mejorar la claridad de la visión. Además, se ha descubierto que tienen propiedades hepatoprotectoras, antiinflamatorias, vasotónicas y antineoplásicas (Giusti,1996).

2.3.1 Contenido de antocianinas en el Ayrampo

Tabla 2. Actividad antioxidante y compuestos bioactivos del fruto de ayrampo fresco.

Características	Valor
Actividad antioxidante	45,70% de inhibición de radicales libres
Actividad antioxidante de antocianinas	116,84 +/- 0,36 mM de ácido ascórbico/mL de jugo
Contenido de fenoles totales	98,67 +/- 0.48 mg de ácido clorogénico/100 ml de extracto
Polifenoles	525,02 mg/mL de ácido gálico
Antocianinas	298,56 ± 0,35 mg de antocianinas/100 g de muestra fresca

β -caroteno	4,98 mg/mL
Azúcares reductores	2,29 g/100 g
Vitamina C	2,97 mg/mL
Ácido cítrico	0,67/100 g de muestra

Nota. Extraído de Ccatamayo (2010).

2.3.2 Composición química del ayrampo

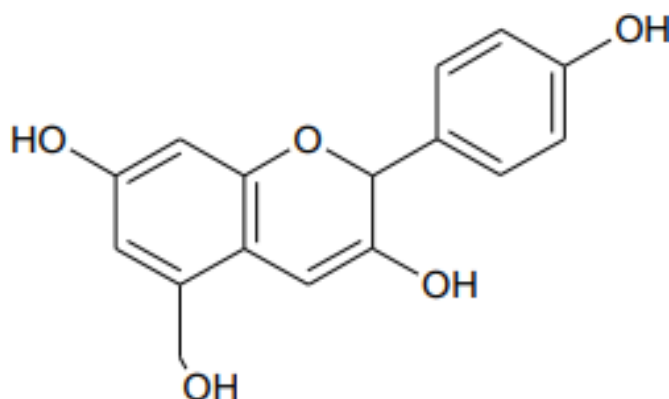
Tabla 3. Composición química proximal en 100 g de fruto de ayrampo.

Características	Valor (g)
Proteína	1,11
Ceniza	2,68
grasa	1,35
Humedad	79,52
Fibra (Kcal)	3,08
Carbohidratos	12,63

Nota. Extraído Ccatamayo (2010).

Las antocianinas poseen una estructura química que contiene un grupo flavilio que está formado por un anillo de benzopirano unido a un anillo fenólico.

Figura 2. Estructura básica de las antocianinas.



Nota. Extraído de Alfaro (2019).

2.3.3 Clasificación

- Delfinidina (Df)
- Cianidina (Cy)

- Petunidina (Pt).
- Pelargonidina (Pg)
- Peonina (Pn)
- Malvidina (Mv)

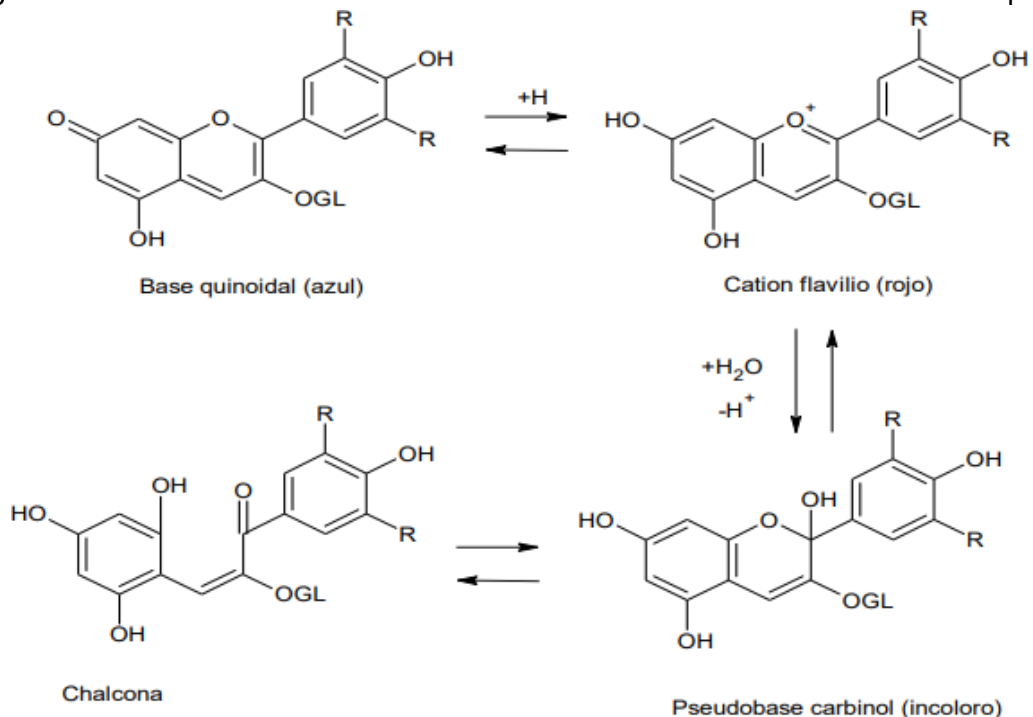
2.3.4 Factores que alteran la estabilidad de las antocianinas

Diversos factores pueden influir considerablemente en su estabilidad. Se puede ver afectada en cualquier etapa de un proceso químico, térmico y almacenamiento.

a) Efectos del pH:

Dado que el color resultante es función de la estructura que está presente en mayor proporción a un pH determinado, puede afirmarse que las antocianinas funcionan como indicadores ácido-base. El catión flavilium rojo se crea a niveles de pH muy bajos, y el carbinol incoloro surge en una solución alcalina. Al aumentar el pH, se forma la base quinoidal azul (anhidra). La degradación irreversible del pigmento da lugar a la formación de una chalcona amarillo pálido en circunstancias muy básicas (pH 7) (Alfaro, 2019).

Figura 3. Transformación estructural de las antocianinas a diversos valores de pH



Nota. Extraído de Mamani y Arias, (2011).

b) Efectos de la temperatura:

Es otro elemento importante que afecta a la descomposición de las antocianinas. Las transformaciones estructurales de las antocianinas son procesos endotérmicos. Pueden soportar altas temperaturas durante breves periodos de tiempo y operaciones térmicas con buena resistencia. A temperaturas superiores a 60°C, se descomponen siguiendo una cinética de primer orden cuando se exponen al calor. La mayor estabilidad al pH suele atribuirse a las mismas propiedades estructurales que la mayor estabilidad al calor Alfaro (2019).

c) Efectos del oxígeno:

Cuando las antocianinas se encuentran principalmente en su forma quinoidal, se oxidan y degradan rápidamente, y la eliminación del oxígeno evita la descomposición por calor Alfaro (2019).

d) Efectos del ácido ascórbico:

Dado que el ácido ascórbico crea peróxido de hidrógeno durante su oxidación, se ha demostrado que el oxígeno mata las antocianinas. Esta reacción se acelera en presencia de cobre y se inhibe en presencia de flavonoles como la quercetina. Al atacar nucleofílicamente el anillo de pirilio de la antocianina en la posición C2, el peróxido de hidrógeno rompe el anillo y produce ésteres incoloros Alfaro (2019).

e) Efecto de la luz:

Es un hecho ampliamente reconocido que la luz hace que las antocianinas se degraden más rápidamente. Este efecto negativo se ha demostrado en el vino tinto y en varios zumos de frutas. Las isoflavonas, las auronas y los sulfonatos de flavona polihidroxilados ofrecen resistencia contra la fotodegradación. El ion flavilium cargado positivamente y la creación de contacto son responsables de la función protectora Alfaro (2019).

f) Efecto de los azúcares:

Las cantidades elevadas de azúcar, como las que se encuentran en las conservas de frutas, estabilizan las antocianinas. Se cree que este efecto se debe a una disminución de la actividad del agua. La descomposición de las antocianinas puede verse acelerada por los carbohidratos o sus productos de degradación cuando están presentes en concentraciones lo suficientemente bajas como para tener un impacto mínimo en la actividad del agua Alfaro (2019).

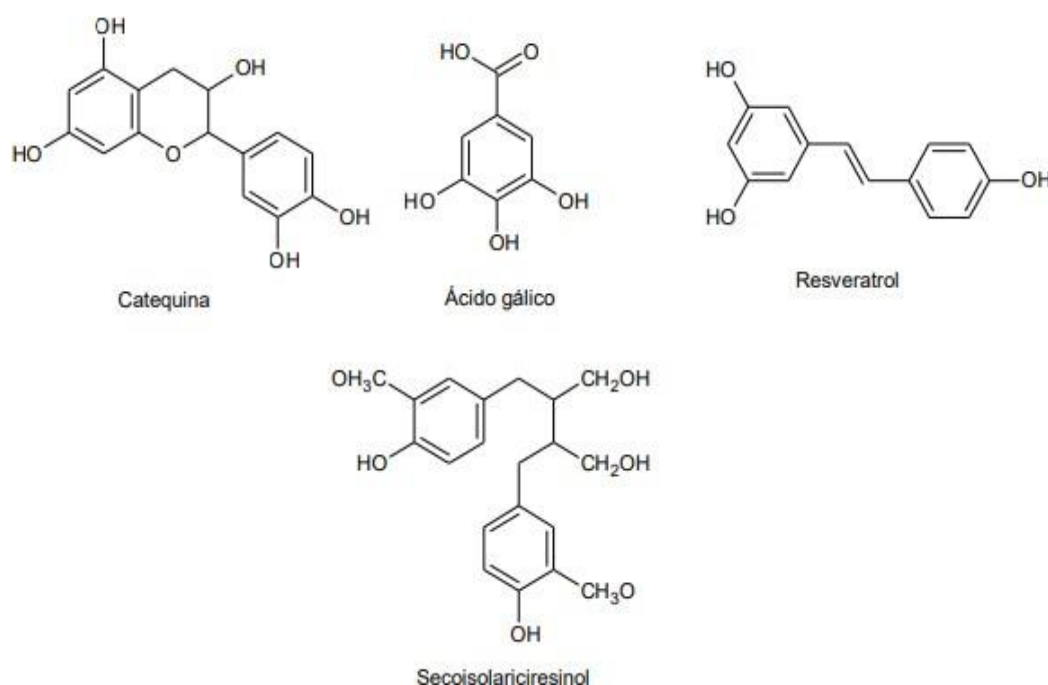
g) Efecto de las enzimas:

Se ha determinado que la glicosidasa y la polifenoloxidasas, ambas conocidas como antocianinas, son los dos conjuntos de enzimas responsables de la decoloración de las antocianinas. Las glicosidasas hidrolizan los enlaces glicosídicos, liberando la aglicona y el (los) azúcar(es). La conversión de las antocianidinas en compuestos incoloros y la disminución de la solubilidad son las causas de la pérdida de intensidad del color. En presencia de o-difenol, las polifenoloxidasas convierten la o-benzoquinona, que luego interactúa de forma no enzimática con las antocianinas para generar antocianinas oxidasas y productos de degradación Alfaro (2019).

2.3.5 Clasificación de los compuestos fenólicos

Se clasifican en cuatro familias en función del número de anillos fenólicos y de los elementos estructurales unidos a esos anillos:

Figura 4. Clasificación de los compuestos fenólicos.



Nota. Extraído de Mamani y Arias (2011).

2.3.6 Presencia de pigmento de antocianinas en la naturaleza

La presencia del pigmento de antocianinas se puede reportar en diversas frutas y vegetales en diversas concentraciones; a continuación, se presenta algunos materiales que contienen antocianinas.

Tabla 4. Contenido de antocianinas y fenoles en diferentes materias primas.

Muestra	Antocianinas	Fenoles	Fuente
Baya de goji negra		17,92 mg GAE/g en base seca.	Qinghua et al. (2018),
fruto de tankar (berberis boliviano l.)	4,59 mg/100g de antocianinas en base húmeda		Aranibar Aguilar (2013),
Opuntia apurimacensis (ayrampo)		107,3 mg de ácido gálico equivalente/100 g ff	Jorge, P. y Troncoso, L (2016),
Opuntia ficus-indica (tuna)".		68,7 mg de ácido gálico equivalente/100 g ff	Jorge, P. y Troncoso, L (2016),
Anil trepador (cissus sicyoides	0,120 %		Toledo et. Al (1983)
Uvas trosseau	0,085 %		Carreño y luh (1969)
Cereza roja	0,040 %		Dekasos (1970)
Arandano fresco	0,100 %		Fuleki y Francis (1968)
Orujo de vino francés	0,157 %		Yokohama et. Al (1981)
maíz morado INIA 601	6.34 %		Hoyos (2019)
Muehlenbeckia Volcanica (Bentham)	460,58 mg de cianidina-3-glucósido /100 g base seca	1501,44 EAG/100 g base seca	Barraga (2023)
Berenjena (Solana melonera L.)	antocianinas, alcanzando 62 mg/100g base seca		Heras, Alvis y Arrazola (2013)
corontas de zea mays L. Maíz morado	47,984 mg/g		Gorriti, Quispe y Arroyo (2009)
Anil trepador (cissus sicyoides linn)	12,00 mg/g base seca		Toledo et. Al (1983)
Ayrampo (Berberis commutata Eichler)	35,80 mg/g base seca		Ccaccya (2020)
Tusa del maíz morado (negro Canaán)	50,17 mg/g		Ruiz y Cormilluni (2021)
Ayrampo liofilizado	50,22 mg GAE/g		Ruiz y Cormilluni (2021)

Nota. Elaboración propia.

2.4 COMPUESTOS FENOLICOS

El grupo hidroxilo es el grupo funcional de los fenoles, que son compuestos orgánicos aromáticos. Los compuestos fenólicos, por su parte, son compuestos orgánicos cuyas estructuras moleculares tienen al menos un grupo fenol, es decir, un anillo aromático unido al menos a un grupo hidroxilo. Numerosas sustancias se clasifican como metabolitos secundarios, que son compuestos que se biosintetizan en las plantas y tienen el rasgo biológico de ser subproductos secundarios de su metabolismo. Según Huaranga (2014), suelen producirse por cualquiera de las dos vías bioquímicas: la vía del ácido malónico o la vía del ácido shikímico (o por ambas, en el caso de los flavonoides).

Las sustancias químicas fenólicas están ampliamente dispersas en el epicarpio, las semillas, las hojas y los tallos de las uvas y son un componente del metabolismo secundario de las plantas. Según los informes, el contenido de fenoles de las semillas y el epicarpio es de aproximadamente 2178,8 y 374,6 mg/g GAE (equivalentes de ácido gálico), respectivamente Sonora (2010).

2.5 METODOS DE EXTRACCIÓN

A continuación, veremos los métodos más comunes de extracción de las antocianinas del ayrampo.

2.5.1 Método de extracción acelerada con solventes (ASE)

ASE puede extraer automáticamente muestras sólidas y semisólidas rápidamente mediante la aplicación de solventes comunes.

La temperatura del ASE está muy por encima del punto de ebullición de la mayoría de los solventes, mientras que la alta presión mantiene al solvente en una fase líquida. Por lo tanto, la técnica ASE posiblemente logre automatización, bajo volumen de solvente y propiedades de extracción reducidas Benayad., et. (2014).

La extracción acelerada por solventes, o ASE, es una técnica de preparación de muestras que ayuda a generar resultados cromatográficos de alta calidad mediante el uso de solventes orgánicos a altas temperaturas y presiones para eliminar de manera rápida y eficiente los componentes de matriz no deseados de su muestra. La temperatura elevada aumenta la eficiencia de extracción de analitos de la matriz. El aumento de la presión mantiene líquido el solvente, incluso cuando la temperatura supera su punto de ebullición. La menor viscosidad del solvente mejora la difusión del analito en el solvente, lo que hace que la extracción sea más rápida y eficiente. En última instancia, esta técnica proporciona una muestra más limpia para la separación y

detección de los componentes de la muestra durante el análisis cromatográfico posterior, lo que brinda resultados más precisos Benayad., et. (2014).

ASE está aceptado en el Método 3454A de la EPA de EE. UU. para extraer PAH y compuestos semi volátiles, PCB, dioxinas, furanos, TPH y compuestos explosivos, así como en CLP OLM 04.2A para semi volátiles y pesticidas.

Esta técnica se puede utilizar para analizar productos alimenticios en busca de residuos de pesticidas, lípidos después de la hidrólisis ácida, contenido de grasa y aditivos, y perfiles de sabor.

Los instrumentos se pueden utilizar para automatizar el proceso ASE, mitigando la variabilidad inherente a la preparación manual de muestras y asegurando resultados reproducibles. La automatización hace que ASE sea un proceso rápido, seguro y fácil. Mientras que las técnicas tradicionales como Soxhlet y la sonicación requieren de 8 a 10 horas y cientos de mililitros de solvente, el ASE automatizado requiere solo de 15 a 30 minutos y 10 a 30 ml de solvente, según la aplicación, y permite que las muestras se extraigan durante la noche Benayad., et. (2014).

2.5.1.1 ASE 150 Extractor de Solvente Acelerado

El ASE 150 Extractor de Solvente Acelerado es un sistema para extraer o bien compuestos inorgánicos u orgánicos de una variedad de muestras sólidas o semisólidas en una variedad de valores de pH. El ASE 150 puede ser usado con solventes orgánicos, buffer acuoso, agua, y pequeñas cantidades de ácidos minerales. El ASE 150 acelera el proceso tradicional de extracción usando solventes a temperaturas y presiones elevadas. La presión es mantenida en la celda de muestra para mantener el solvente calentado en un estado líquido durante la extracción. Después del calentamiento, el extracto es enjuagado de la celda de muestra en un recipiente de colección y está listo para análisis.

El ASE 150 está diseñado para minimizar la cantidad de solvente usado sin sacrificar la velocidad de la extracción o la facilidad de operación. Las muestras son extraídas una a la vez, y el proceso de extracción es típicamente completada en 15 a 25 minutos. Todas las funciones son controladas desde el panel frontal del ASE 150. El diagnóstico de seguridad incorporado supervisa el sistema durante la operación. Si un problema ocurre, el panel frontal muestra un mensaje de error que identifica el problema. Además, el método actualmente en ejecución es abortado y las funciones básicas del sistema son apagadas hasta que la situación es corregida. Extraído del Manual de operador ASE 150. (s.f).

Figura 5. Principales características de operación del ASE 150 extractor de solvente acelerado.



Nota. Extraído del Manual de operador ASE 150. (s.f).

- **Reservorio de solvente** Un reservorio de solvente de 2 litros está instalado en el descanso de la parte superior del ASE 150. El descanso contiene un revestimiento de plástico que recoge todas las fugas o derrames de solvente que pueden ocurrir y son dirigidos a través de un tubo de drenaje en la parte posterior del panel. Una manguera de drenaje se conecta al tubo de drenaje y se dirige a un contenedor de residuos.
- **Celda de Muestra** Antes de que una muestra se ejecute ó un ciclo de enjuague se realice, una celda de muestra o celda de enjuague debe estar instalado en el soporte de celda dentro de la puerta de celda. Para acceder al soporte de celda, presione hacia abajo la manija para abrir y luego jale para abrir la puerta.
- **Horno** El horno está situado detrás de la puerta de la celda. Esta zona también alberga puntas AutoSeal TM , los cuales sellan la celda durante la corrida.
- **Panel de control** El panel de control del ASE 150 incluye una pantalla y un teclado de membrana, que son usados para controlar la operación del ASE 150.

Botella de desperdicios La botella de desperdicios es una 6 botella de colección de 250 ml que está sellado con un montaje de tapa incorporado.

- **Interruptor de Aguja UP/DOWN (arriba/abajo)** El interruptor conmutador UP/DOWN (ARRIBA/ABAJO) controla la posición de las agujas fuente y de ventilación. Cuando las agujas están en la posición "abajo", perfora la septa del recipiente de colección. La aguja de la fuente permite al extracto fluir desde la celda de muestra dentro del recipiente de recolección. Las agujas de ventilación permiten al gas desplazado escapar a la botella de desperdicios y al sistema de ventilación.
- **Bandeja de goteo** Una bandeja de goteo para jalar está instalado debajo del horno para recoger cualquier fuga de líquido que pueda ocurrir durante una corrida o un ciclo de enjuague.
- **Recipiente de colección** Después de cada extracción, el recipiente de recolección (ya sea una botella de recolección de 250 ml o un vial de recolección de 60 ml) contiene al solvente y los analitos extraídos de la muestra.
- **Escudos de Seguridad** Las puertas sobre los compartimientos del recipiente de residuos y de recolección son escudos de seguridad que protegen a los operadores en el caso raro de una rotura de frasco o vial. Las puertas estarán cerradas para una operación segura.

2.5.1.2 Proceso de Extracción del ASE 150

Preparando para ejecutar una extracción, seguir los siguientes pasos son necesarios antes de que el ASE150 pueda realizar una extracción.

- Llene el reservorio de solvente.
- Prepare la muestra y cárguelo en la celda de muestra.
- Instale la botella de residuos y el recipiente de recolección.
- Seleccionar o crear un método.
- Presione el botón START.
- Compruebe que STATUS sobre la pantalla STATUS esté en OVEN READY (véase la Figura 2-5) y el LEO sobre el botón START parpadea.
- Instale la celda de muestra en el soporte de celda y cierre la puerta de la celda.
- Presione el botón START.

Extraído del Manual de operador ASE 150. (s.f).

2.5.2 Extracción directa

Cuando la materia prima y el disolvente entran en contacto directo, el proceso de extracción se conoce como extracción directa. Como disolventes pueden utilizarse agua o alcohol, y con cada uno de estos disolventes pueden realizarse diversas técnicas de extracción:

- Una maceración básica, o inmersión de la materia prima en el disolvente durante unas horas, es el primer método de extracción. Aunque el rendimiento es escaso, el colorante puede extraerse de este modo sin degradarse.
- El calentamiento del disolvente es otro método de extracción; sin embargo, esta extracción debe realizarse a una temperatura inferior a 100 °C para evitar que el colorante se degrade gravemente. Como normalmente se añade ácido para realizar la extracción a un pH entre 3 y 5, donde se reduce la degradación de la antocianina, cada una de las técnicas de extracción comentadas anteriormente tiene una variación adicional. El alcohol es el disolvente recomendado para las extracciones de laboratorio, mientras que el agua es el mejor disolvente para la aplicación industrial porque es menos costoso. Apaza (2016).

2.5.3 Extracción Soxhlet

Con un dispositivo conocido como Soxhlet, este tipo de extracción se realiza sin que la materia prima y el disolvente entren en contacto directo. En su lugar, la extracción es posible gracias al contacto de los vapores del disolvente con la materia prima. Como el alcohol tiene un punto de ebullición más bajo que el agua, debe utilizarse como disolvente en este método de extracción, lo que permite una mayor concentración de la solución. Si se utilizara agua, herviría a 100°C durante un tiempo prolongado, degradando las antocianinas debido a su baja estabilidad a la temperatura. Apaza (2017).

2.6 El método de superficie respuesta

En los ensayos cuyo objetivo es determinar la relación entre los componentes (2 a 6) y la variable dependiente dentro de la zona experimental, los diseños de superficie de respuesta son la solución más adecuada. "Metodología de superficie de respuesta" (RSM) es el nombre que recibe el conjunto de planes estadísticos e instrumentos analíticos utilizados en las fases posteriores:

- La planificación y recopilación de datos experimentales, que se utilizan para calcular una ecuación cuadrática general con fines de previsión.
- Aplicación de técnicas de regresión lineal múltiple para seleccionar la mejor ecuación que represente el comportamiento de los datos.
- Análisis de la superficie ajustada mediante gráficas de contorno y otras técnicas matemáticas y numéricas Alarcón (2015).

El objetivo de la metodología de superficie de respuesta (también conocida como MSR o RSM) es identificar las condiciones de funcionamiento óptimas de un proceso para producir el mejor resultado posible. Este enfoque ayuda a aclarar las características del sistema operativo del proceso Giovanini (1983).

Debe existir una relación de causa-efecto entre las leyes que rigen el mecanismo básico del sistema y el denominado "proceso" (fenómeno o acontecimiento). Para ilustrar estas leyes puede utilizarse una conexión matemática (modelo teórico) que exprese el resultado, también conocido como respuesta de la variable dependiente, en función de las condiciones operativas. Las cantidades de los numerosos componentes causales, o variables, se combinan para formar las circunstancias operativas. Algunas de estas variables pueden estar bajo el control del investigador Alarcón (2015).

2.7 Software Desing-Expert

Design-Expert es un software extremadamente fácil de usar para la optimización de procesos y el diseño de experimentos que cuenta con características difíciles de descubrir en otros productos de tipo similar. Para visualizar más fácilmente las superficies de respuesta, basta con mover los gráficos de contorno bidimensionales interactivamente con el ratón o ajustar los factores de cada posición en los gráficos tridimensionales giratorios Gonzales (2018).

Cualquier ingeniero de desarrollo o jefe de producción que desee mejorar un proceso o producto, independientemente de sus características, encontrará en Design Expert una herramienta inestimable. Con una facilidad inigualable, el software estadístico Design-Expert permite identificar las variables e interacciones que tienen un impacto significativo en las respuestas que interesan económicamente a la empresa, así como las combinaciones viables que pueden utilizarse para reducir los costes de producción o maximizar la utilización de los insumos. Con Design-Expert, puede ver simultáneamente dónde rinde mejor un proceso -químico, biológico, metalúrgico, textil, etc Gonzales (2018).

Ofrece una gama asombrosa de opciones de optimización y diseño experimental. Gracias a su flexibilidad, puede utilizarse para manipular mezclas y/o variables de proceso (numéricas) además de datos de categoría. El software crea y sugiere un procedimiento aleatorio para el trabajo experimental a realizar basado en las necesidades del usuario. Gonzales (2018) afirma que el programa permite al editor del diseño agregar, sustraer, duplicar y/o alterar corridas en cualquier diseño.

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

La extracción de los frutos de ayrampo (*Berberis Commutata* Eichler) liofilizado fueron ejecutadas en el Laboratorio de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Los análisis físicos y químicos de la cuantificación de fenoles totales y antocianinas se realizó en el Laboratorio de Investigación de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2 PLANTEAMIENTO METODOLÓGICO

3.2.1 Nivel de investigación

El nivel de la investigación es experimental debido a que se tiene variables independientes (tiempo y temperatura) que fueron manipuladas con el fin de obtener la cantidad de antocianinas y fenoles.

3.2.2 Tipo de investigación

El presente estudio pertenece a un tipo de investigación cuantitativa según el manejo de las variables.

3.2.3 Tipo de análisis estadístico

Para el presente trabajo de investigación se utilizó el software Design – Expert.

3.3 MATERIALES

3.3.1 Equipos

- Estufa.
- Agitador mecánico.
- Balanza analítica.
- Espectrofotómetro UV-VIS. GENESYS 6.
- ASE Dionex ASE 150.
- PH metro.
- Liofilizador de laboratorio.
- Selladora.

3.3.2 Materiales

- Bureta de 10 ml.
- Fiola de 10 ml, 50 ml, 250 ml y 1L.
- Micropipetas de 100 a 1000 μ l.
- Probeta de 100 y 250 ml
- Tubos de ensayo.
- Vasos precipitados de 10 ml, 50 ml y 250 ml.
- Papel filtro.
- Embudo.
- Cubetas para espectrofotómetro.
- Placa Petri.
- Bisturí.
- Potes de vidrio.
- Bolsas de papel Kraft.
- Alcoholímetro.
- 17 frascos de color ámbar.

3.3.3 Reactivos

- Alcohol metílico.
- Ácido clorhídrico 1.5 N.
- Agua destilada.
- Cloruro de potasio 0.025 M.
- Acetato de sodio 0.4 M.
- Folin 1N.
- Carbonato de sodio.
- Tierra de diatomeas.
- Etanol 50%, 70% y 80%.
- Metanol.

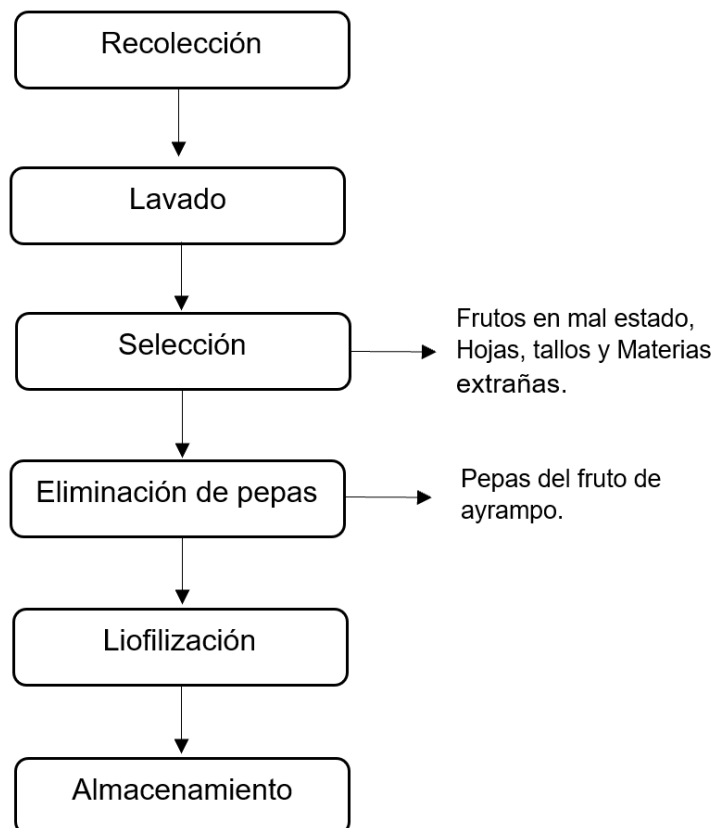
3.3.4 Software

- Design – Expert

3.4 METODOS

3.4.1 Tratamiento inicial de los frutos del ayrampo liofilizado

Figura 6. Diagrama de bloques del proceso de liofilización del ayrampo.



3.4.1.1 Recolección

La recolección de los frutos del ayrampo se realizó a 3 kilómetros del centro poblado de Liriopata, distrito de Chiara, provincia de Huamanga y departamento de Ayacucho que se encuentra a una altitud de 3711 m s.n. m. y aun ubigeo de 050105.

Figura 7. Recolección de los frutos en el centro poblado de Liriopata en el distrito Chiara.



3.4.1.2 Selección

La selección y clasificación de los frutos del ayrampo se basó en sus características físicas, ya que algunos fueron maltratados por el transporte, otros fueron atacados por aves que los picotearon y dejaron en mal estado. Además, se tomó en cuenta su estado de madurez.

Figura 8. Selección de los frutos del ayrampo.



3.4.1.3 Eliminación de pepas

Se retiraron las pepas del fruto de ayrampo porque su alto contenido de taninos dificultaba la investigación.

Figura 9. Eliminación de pepas del fruto del ayrampo.



3.4.1.4 Liofilización

211,41 gramos de frutos de ayrampo sin pepa se dividieron en tres grupos de 70,43 gramos, 70,78 gramos y 70,20 gramos para una liofilización más efectiva. Se mantuvo a una temperatura de -5°C durante 24 horas a una presión de 2 bar.

Figura 10. Liofilización de los frutos del ayrampo sin pepa.



3.4.1.5 Almacenamiento

Las muestras liofilizadas se pesaron, se evaluó la humedad final de las muestras de ayrampo y luego se almacenaron en bolsas de papel kraf ziploc de 10.5 cm x 15 cm. A pesar de que las bolsas estaban cerradas de manera hermética para evitar la entrada de humedad, se sellaron con una maquina selladora. Finalmente, las bolsas se guardaron en pots de vidrio hasta el día de la extracción.

Figura 11. Almacenamiento de la muestra de ayrampo liofilizado.



3.4.1.6 Determinación de humedad

El contenido de humedad de un alimento puede determinarse mediante diversas técnicas (como el secado, la liofilización y el equilibrio por infrarrojos), pero el protocolo número 964.22 de la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC, 1990) es el método que se utilizó.

Procedimiento

Para determinar la humedad, se pesó una muestra de aproximadamente 5 gramos de fruto fresco de ayrampo sin pepas en una balanza analítica en una placa de Petri y se desecó en una estufa de aire forzado a 110 °C hasta alcanzar un peso constante durante 16 horas. El mismo procedimiento se hizo con la muestra de ayrampo liofilizado sin pepas. La pérdida de peso se define como el contenido de humedad, mientras que la materia seca es el residuo desecado de los alimentos. Se realizan los siguientes cálculos a partir de los resultados, que se expresan en porcentaje.

- $\% \text{ humedad} = \frac{P_i - P_f}{P_i}$
- $\% \text{ de materia seca} = 100 - \% \text{ de humedad}$

donde

Pi: Peso inicial

Pf: Peso final

Figura 12. Muestras de ayraupo después de retirar de la estufa.

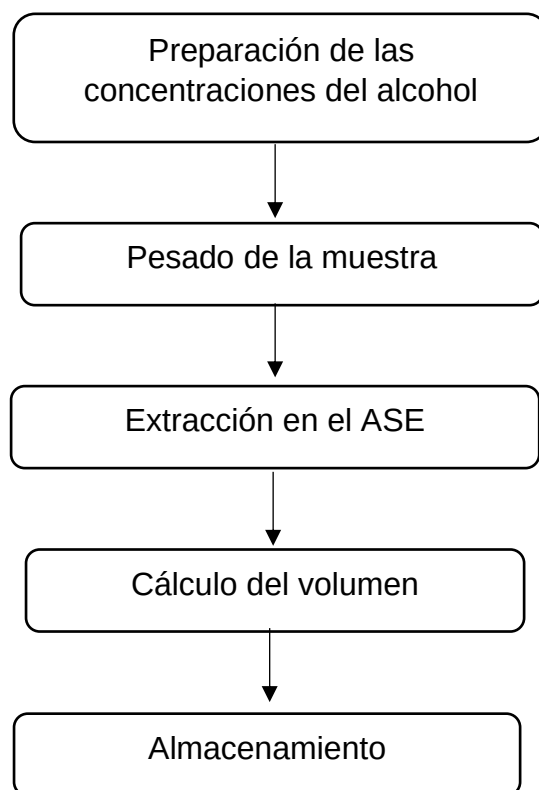


Pruebas preliminares de extracción de antocianina por maceración.

- Primeramente, se pesa 2 g de ayraupo liofilizado.
- Se prepara una solución de 100 ml de 85% de etanol y 15% de HCL.
- Seguidamente se coloca en un frasco con la solución preparada y se deja reposar por 24 horas.
- Después del tiempo transcurrido se procede a agitar y filtrar.
- Una vez teniendo el extracto se procede a realizar la preparación de la muestra para la lectura tal como se muestra en la figura 24.

3.4.2 Extracción de antocianinas y fenoles

Figura 13. Proceso de extracción de las antocianinas y fenoles de los frutos liofilizados del ayraimo.



3.4.2.1 Preparación de las concentraciones del etanol

Se prepararon las concentraciones de etanol del 50%, 60% y 70% descritas en el diseño, para las cuales se utilizó un alcoholímetro.

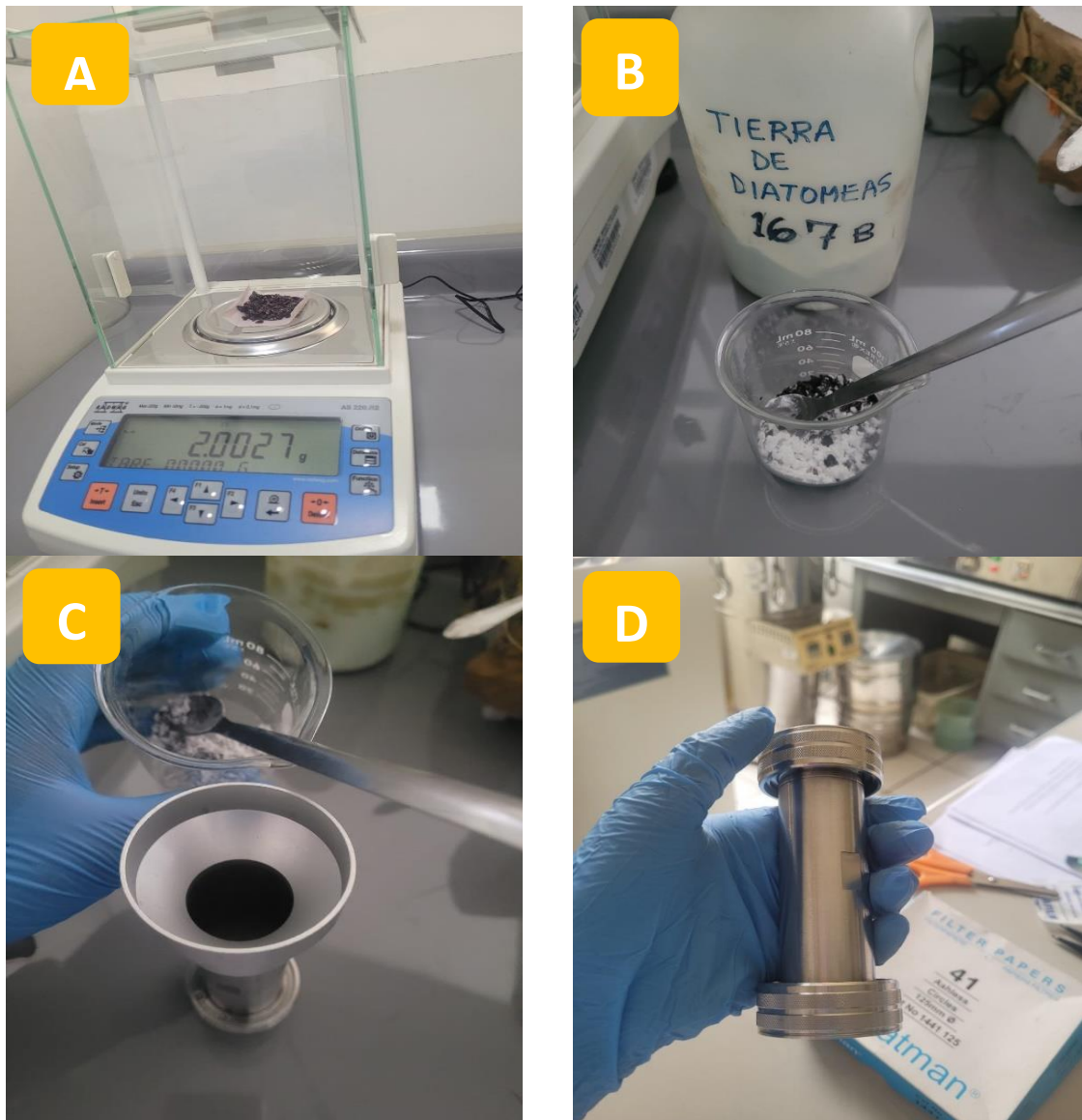
Figura 14. Preparación de las concentraciones de etanol.



3.4.2.2 Pesado de la muestra

Primero, se trituro la muestra manualmente porque los frutos del ayrampo liofilizado estaban muy secos. Luego, se pesó 2 gramos de muestra y 1 gramo de diatomea. Después, se hizo una mezcla y se agregó a la celda de muestra para continuar con el proceso de extracción.

Figura 15. Preparación de la muestra para luego realizar la extracción.



3.4.2.3 Extracción en el ASE

Para la extracción de las antocianinas y fenoles se utilizó un diseño de Box-Behnken (BBD) de tres variables y tres niveles. En este experimento, se diseñaron 17 corridas como se puede observar en la (Tabla 6).

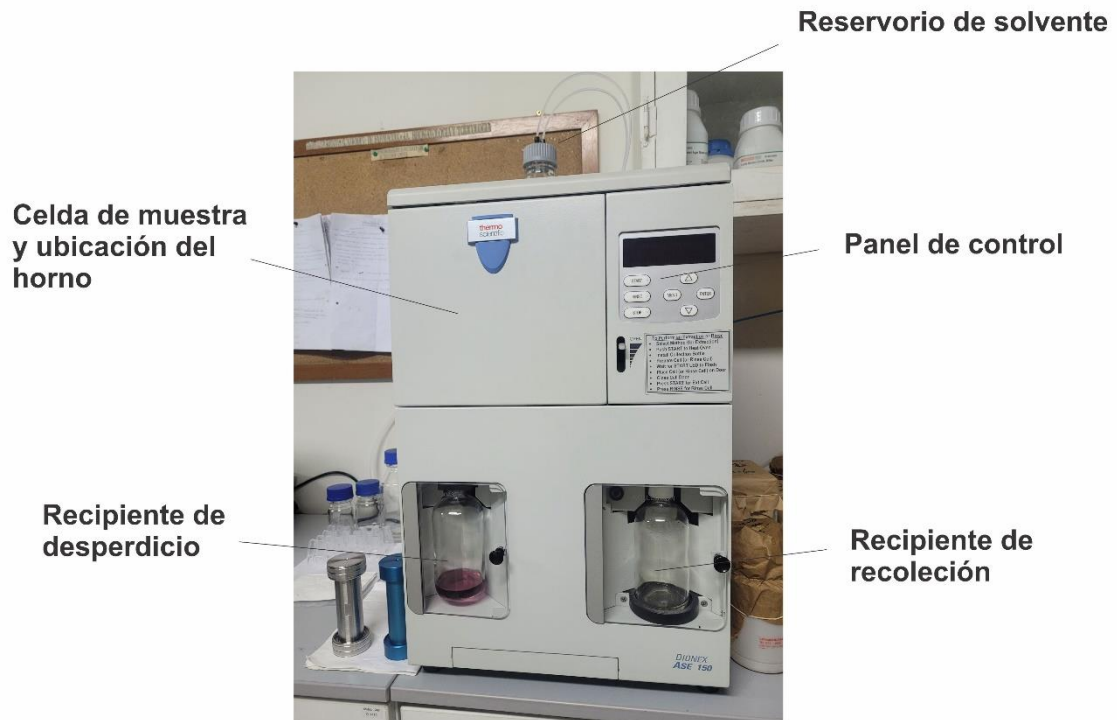
La concentración de etanol es de 50%, 60%, 70% y el tiempo de extracción es de 9 min, 11 min, y 13 min y la temperatura de extracción de 80 °C, 90 °C y 100 °C se realizará a través de una sola prueba, y luego se determinará las condiciones óptimas de extracción de fenoles totales y antocianinas del ayrampo (*Berberis Commutata Eichler*).

Tabla 5. Factores y niveles experimentales

Código	Corrida	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Respuesta 1	Respuesta 2
		A: Concentración de Etanol	B: Tiempo de extracción	C: Temperatura de extracción	Contenido de Antocianinas	Contenido de fenoles totales
		%	min	°C	mg GAE/g	mg/L
A1	1	50	11	100		
B1	2	60	11	90		
B2	3	60	11	90		
B3	4	60	11	90		
C1	5	70	11	100		
C2	6	70	9	90		
D1	7	60	9	100		
D2	8	60	13	80		
B4	9	60	11	90		
A2	10	50	11	80		
A3	11	50	9	90		
D3	12	60	13	100		
C3	13	70	13	90		
C4	14	70	11	80		
B5	15	60	11	90		
D4	16	60	9	80		
A4	17	50	13	90		

El equipo de ASE 150 se programó en el panel frontal de acuerdo con el diseño establecido. Después, se colocaron la celda de muestra o enjuague, la botella de etanol, un recipiente de colección y finalmente se recibió la extracción final del ayrampo. Tal como se muestra en la figura 16, se utilizó una botella de desperdicio para recibir el extracto del lavado final.

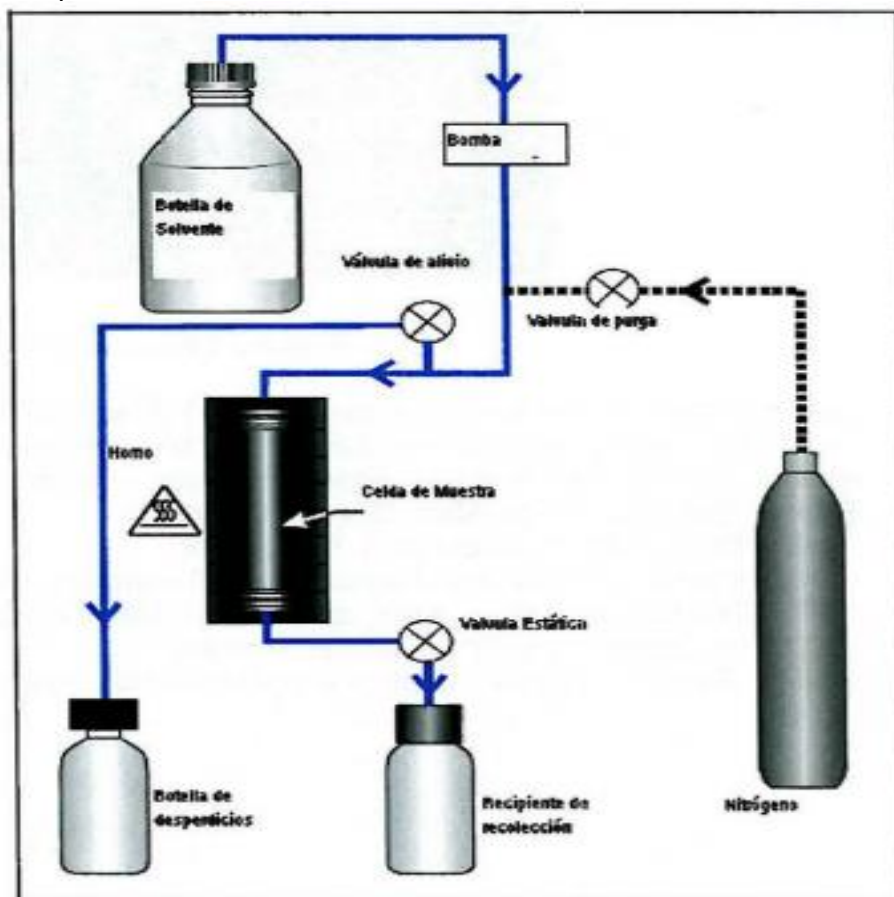
Figura 16. Partes importantes del ASE 150 Extractor de Solvente Acelerado.



Para el proceso de extracción se procedió de la siguiente manera:

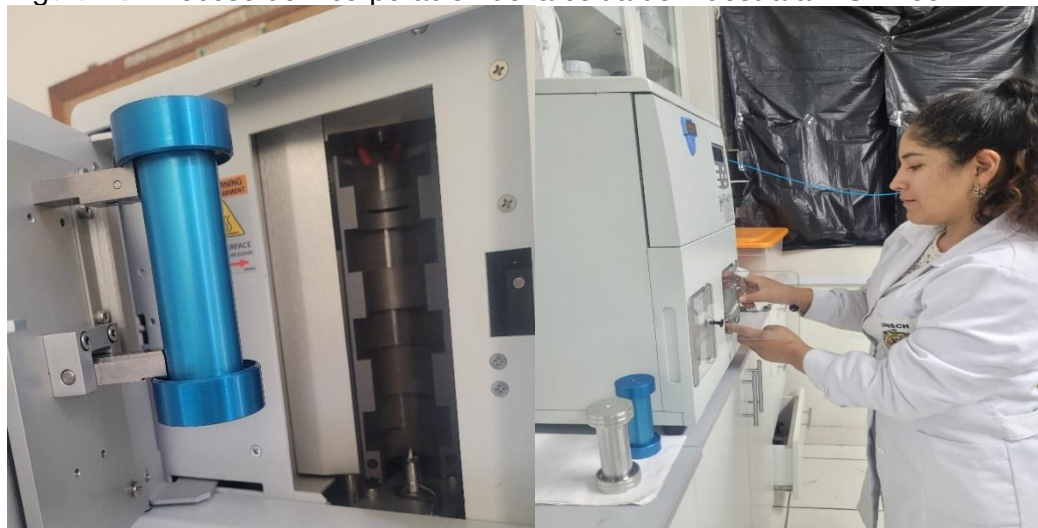
- Se lleno la celda de solvente con el % de etanol establecido seguidamente se prendió la bomba de nitrógeno, el solvente es bombeado a la celda de la muestra hasta que la presión alcance los 10,35 MPa y sea constante.
- Seguidamente la celda de la muestra es calentada a la temperatura programada y llena de solvente
- Cuando el tiempo programado termino la válvula estática se abre y el extracto fluye al recipiente de recolección.
- Seguidamente se realiza la purga se abrió la válvula de la purga y el gas purga el solvente remanente de la celda de muestra al recipiente de recolección.
- Finalmente se abrió la válvula de presión de alivio y la presión residual es liberado de la celda a la botella de desperdicio.

Figura 17. Esquema del proceso de extracción de las antocianinas y fenoles del ayraimo liofilizado.



Nota. Extraído del Manual de operador ASE 150. (s.f).

Figura 18. Proceso de incorporación de la celda de muestra al ASE 150.



3.4.2.4 Medición del volumen

Una vez finalizada la extracción, se mide el volumen de las 17 muestras utilizadas en este procedimiento en un área oscura y el recipiente de recolección se envuelve en una bolsa negra para evitar la pérdida de sus componentes, ya que las antocianinas se degradan cuando están en contacto con la luz.

Figura 19. Proceso de medición del volumen.



3.4.2.5 Almacenamiento

El almacenamiento se realizó en frascos de color ámbar previamente rotulados y fueron almacenados en la refrigeradora a una temperatura de 6 °C. Para luego realizar la evaluación.

Figura 20. Almacenamiento del extracto de las muestras.



3.4.3 Determinación del contenido de las antocianinas monoméricas

Para la evaluación de las antocianinas se utilizó el método oficial de la AOAC 2005,02 contenido total de pigmento antocianina monomérico de jugos de frutas, bebidas, colorantes naturales, y vinos.

3.4.3.1 Preparación de reactivos

- **Tampón de pH1.0 (Cloruro de potasio 0.025M)**

Se pesaron 0.465 g de KCL en un vaso precipitado y se agregaron 245 ml de agua destilada. Después, se midió el pH y se ajustó a un pH de 1,0 con 1.575 ml de HCL. Luego se transfirió a una fiola de 250 y se mantuvo en un lugar fresco hasta la realización de las evaluaciones.

Figura 21. medición del pH 1.0.



- **Tampón de pH 4.5 (acetato de sodio, 0.4 M).**

En un vaso precipitado se pesaron 13,60 g de $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ y se agregó agua destilada 245 ml. Después, se midió el pH y se ajustó a un pH de 4,5 con tres mililitros de HCl. Luego se pasó a una fiola de 250 y se mantuvo en un lugar fresco hasta que se realizaron las evaluaciones.

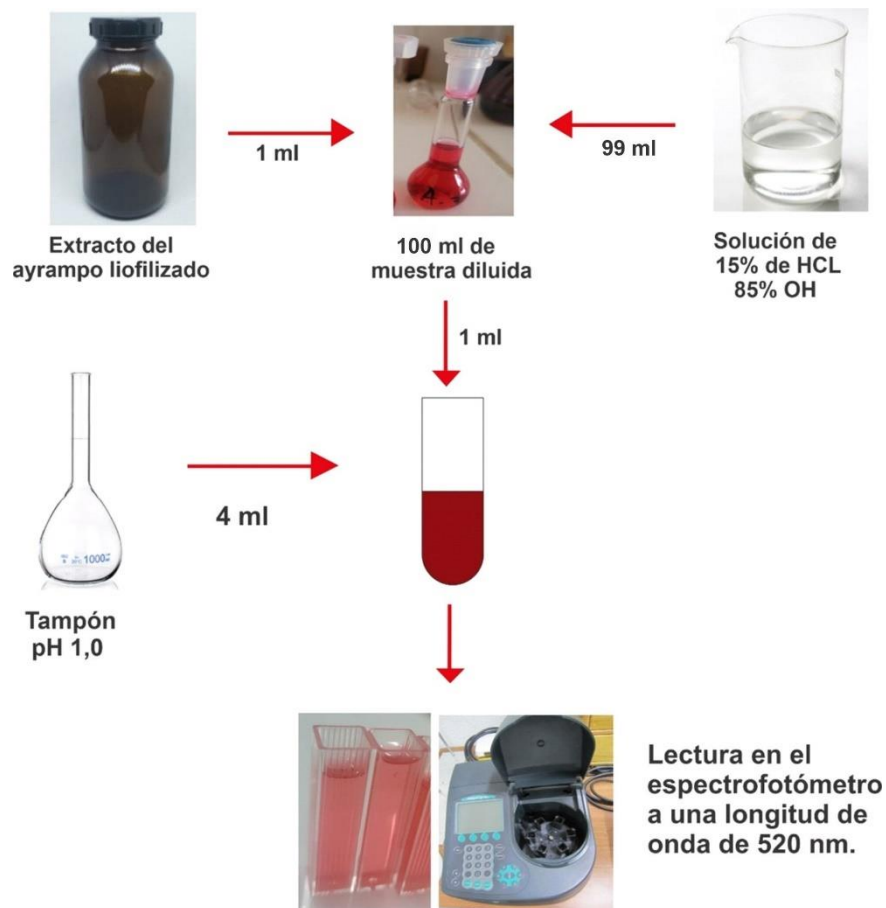
Figura 22. medición del pH 4.5.



3.4.3.2 Preparación de la solución de prueba

Después de preparar los tampones con un pH de 1 y un pH de 4,5, realice las diluciones necesarias siguiendo el método establecido (1 porción de prueba, 4 porciones de tampón). Las pruebas se realizaron con un tampón de pH 1 con una longitud de onda de 520 nm, y la absorbancia debería estar entre 0,2 y 1,4. La figura 23 muestra cómo se logró esta condición.

Figura 23. Proceso de la preparación de la solución de prueba.



3.4.3.3 Determinación de las absorbancias.

Después de determinar el factor de dilución de 1/100, se evaluaron las absorbancias de las 17 muestras y luego se prepararon las muestras para la lectura. 1 mililitro de extracción de ayrambo liofilizado se colocó en una fiola de 100 mililitros, se mezcló con una solución de alcohol de 85 % y 15 % de HCL, y luego se colocó 1 mililitro de la muestra diluida en los tubos de ensayo. Para cada muestra se utilizaron 2 tubos de ensayo, donde se colocaron 1 mililitro de muestra en cada tubo y 4 mililitros de tampón con un pH de 1 y 4,5, respectivamente. Luego se agitaron y se dejó reposar por 20 minutos. Después, cada muestra preparada se colocó en cubetas para la lectura en el

espectrofotómetro para obtener los datos de absorbancia. El proceso se muestra en la Figura 24.

Figura 24. Proceso para realizar la lectura de las absorbancias de las antocianinas.

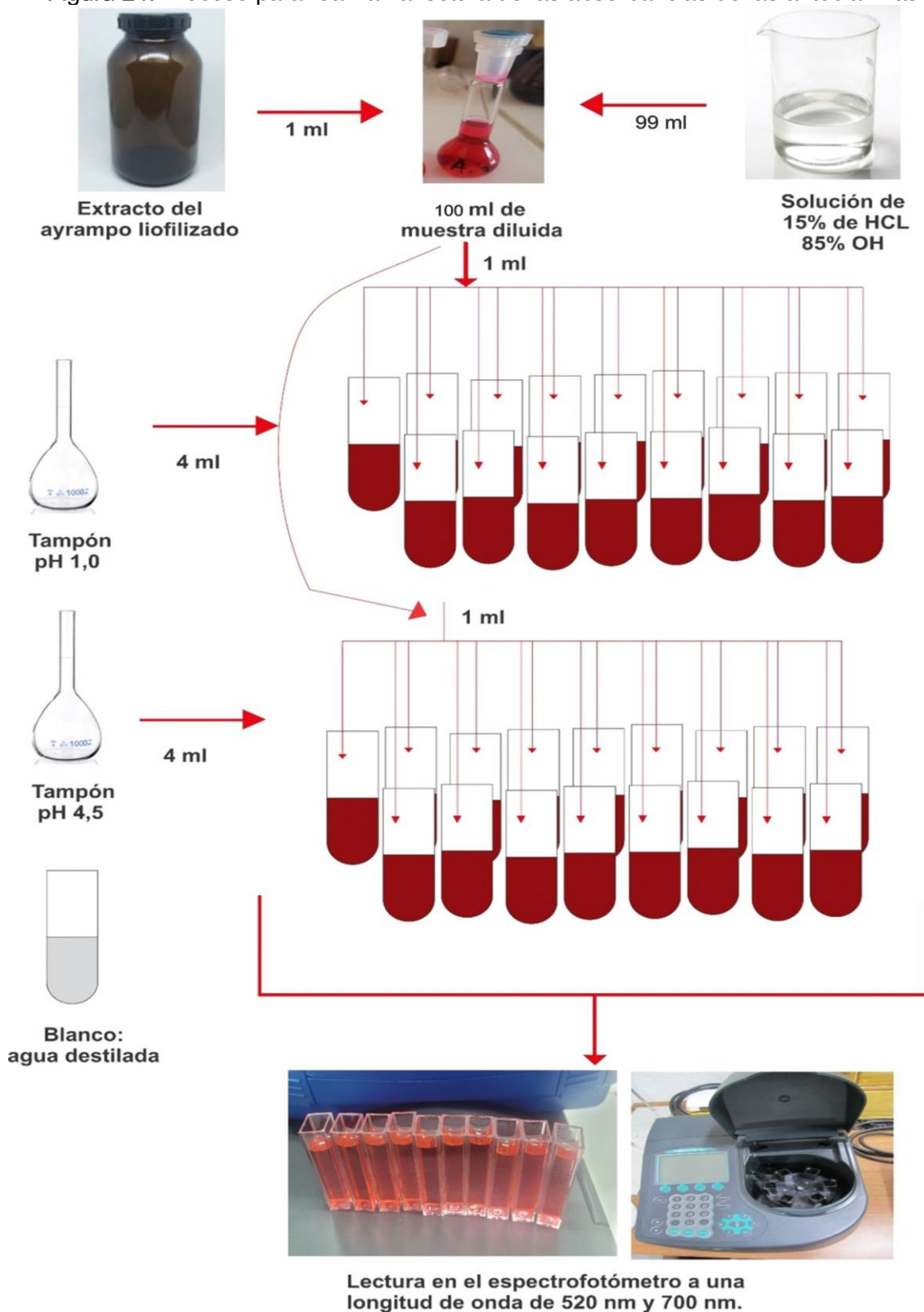
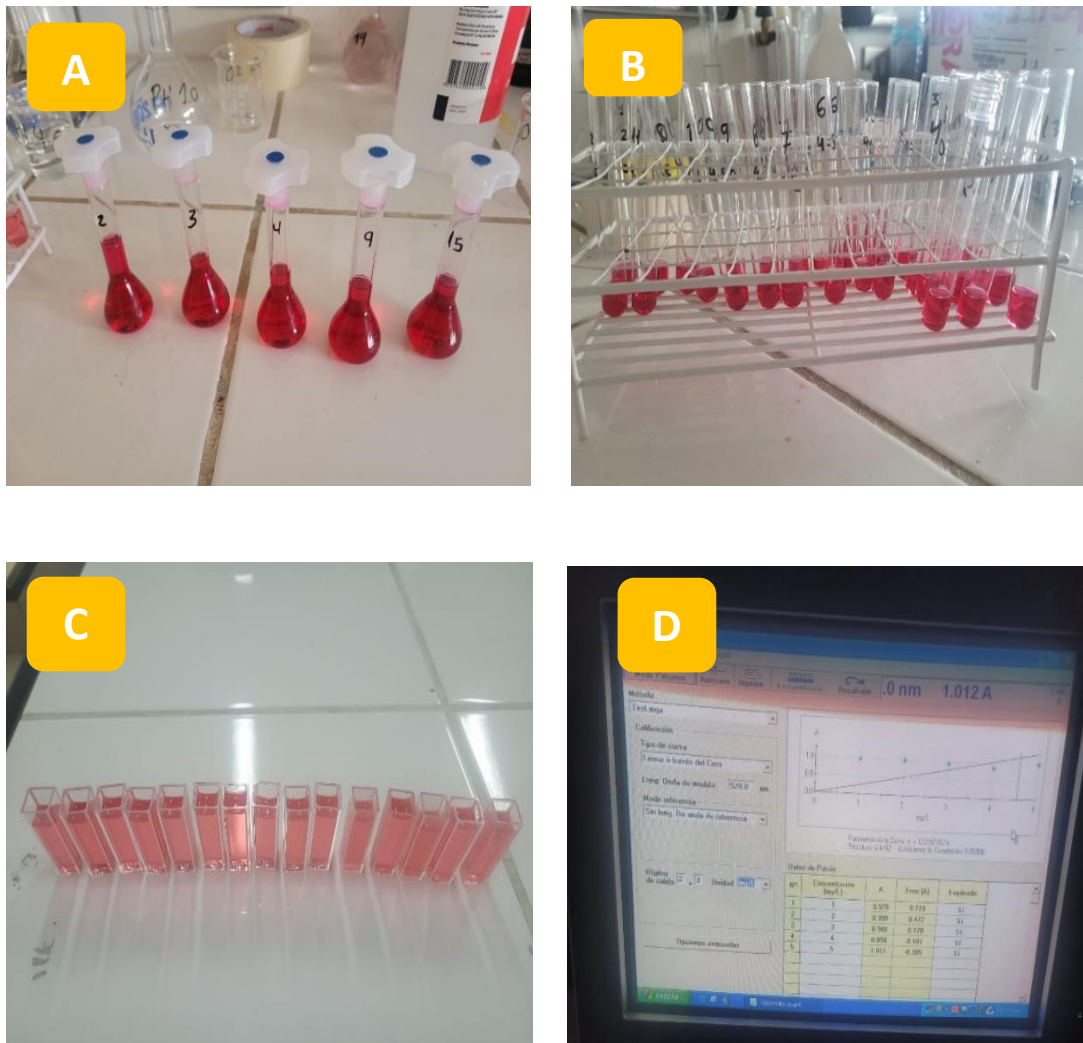


Figura 25. Proceso para la lectura de la absorbancia.



3.4.3.4 Cálculos

Para determinar el contenido de las antocianinas utilizamos las siguientes formulas descritas, para lo cual se necesita contar con los datos de las absorbancias del tampón pH 1.0 y tampón 4,5 PH a una longitud de onda de 520 nm y 700 nm.

Pigmento de antocianina (equivalentes de cianidina – 3 – glucósido, ($\frac{mg}{L}$)

$$= \frac{A * PM * DF * 10^3}{E * 1}$$

Donde:

$A = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 1,0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 4,5}$.

$PM = \text{Peso molecular} = 449,2 \frac{g}{mol}$ para cianidina – 3 – glucósido.

$DF =$ Factor de dilución establecido.

$10^3 =$ Factor de conversión de g a mg.

$E = 26900$ coeficiente de extinción molar, en $\frac{L}{mol} * cm$, para cianidina – 3 – glucósido.

$1 =$ Longitud de trayecto en cm.

3.4.4 Determinación del contenido de fenoles totales

Para la determinación de los fenoles totales se utilizó el método de (Singleton, V. L& Rossi, J.A. 1965, Am. J. Enol.Vitic). para cual se empezó con la preparación de los reactivos que son carbonato de sodio 1.2 N y Folin Cicoateau 1N. en esta evaluación se va a utilizar las extracciones que realizo en el ASE del fruto de ayrampo liofilizado.

a. Preparación de carbonato de sodio 1.2 N

Se peso 4,7.5 g de Carbonato de Sodio y se incorporó a un matraz de 100 ml. Luego se añadió 100 ml de agua destilada, se mezcló hasta formar la solución. Finalmente se almacena hasta realizar las pruebas.

b. Preparación de Folin Cicoateau 1N

Apartir del reactivo inicial Folin 2N se preparó 20 ml de reactivo Folin, 10 ml de Folin 2N más 10 ml de agua destilada.

• Preparación de los estándares

- En una fiola se pesó 12 mg de ácido gálico (rectivo puro), luego se añadió 100 ml de agua.
- Luego de esta mezcla, se extrajo una alícuota de 0, 20, 40, 60, 80,100, 120, 140 y 160 ul de solución y se incorporó en frascos viales, luego en cada vial se añadió agua destilada hasta completar un volumen de 500 ul.

- De esta manera se obtuvieron las concentraciones de 0,005, 0.01, 0.015, 0.02, 0.025, 0.03, 0.035 y 0.04 mg/ml.
- **Curva de calibración**
 - A cada vial con los 0.5 ml de estándar, se le añadió 0.25 ml de reactivo de Folin 1N y 1.25 ml de Carbonato de sodio 1.2 N. Se homogenizó en un vortex (Recomendable realizar este procedimiento protegidos de la luz).
 - Se dejó reposar por 30 minutos en la oscuridad.
 - Se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 755 nm.
- **Procedimiento de la determinación de los fenoles**

Los siguientes procedimientos se utilizaron para calcular las absorbancias de las muestras:

Se realizaron diluciones en fioles de 50 ml, se extrajo un mililitro de muestra (extracción líquida de los frutos del ayraimo), se agita y se dejó reposar.

Se emplearon tubos de ensayo para trabajar después; se utilizaron tres tubos de ensayo para cada muestra, lo que totalizó 51 tubos de ensayo. En cada tubo se agregaron 0,5 ml de muestra junto con 0,2 ml de Folin 1N, y luego se agregó 1,025 ml de carbonato de sodio. Por lo tanto, se utilizó un tubo de ensayo para el blanco, donde se agregó 0,5 ml de agua destilada más 0,2 ml de Folin 1N y, finalmente, 1,025 ml de carbonato de sodio.

Después, se agitaron por 30 segundos y se dejó reposar por 30 minutos. Luego, se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 755 nm y se determinó la concentración extrapolando el valor de la absorbancia de la curva de calibración estándar, como se muestra en la Figura 26.

Figura 26. Proceso de la determinación de las absorbancias.

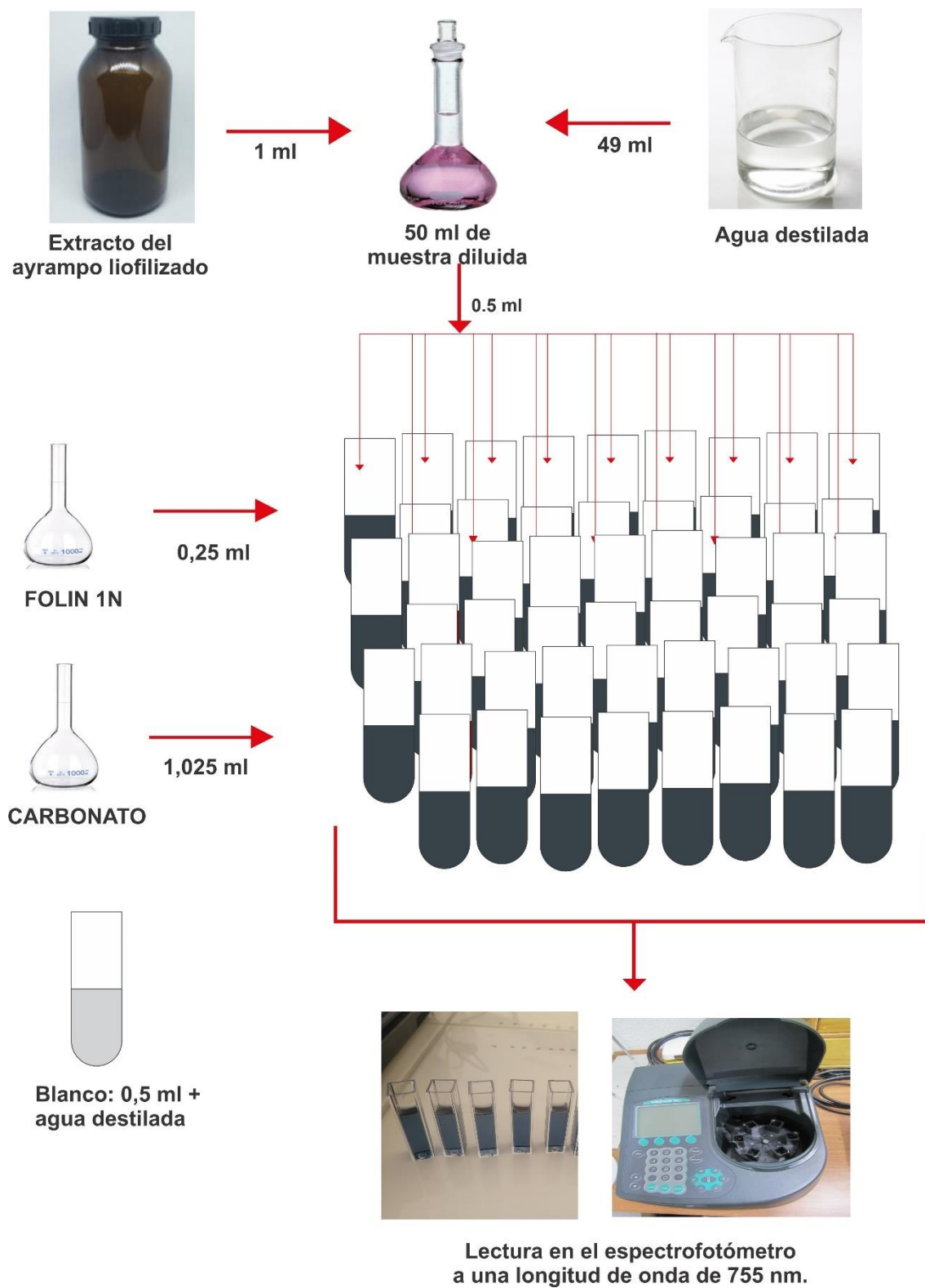


Figura 27. Proceso para la lectura de la absorbancia de los fenoles.



Después de leer la absorbancia se procede a realizar el TPC para determinar la cantidad de fenoles con los siguientes pasos.

- Se determina la curva patrón de ácido gálico.
- Se determina la concentración (mg GAE/ml) según curva de calibración.

$$\text{Concentración} \left(\text{mg} \frac{\text{GAE}}{\text{ml}} \right) = \frac{(\text{abs} - 0.0103)}{30.65}$$

- Se determina la concentración (mg GAE/ml) aplicando el factor de dilución correspondiente que es de 1/50 en las 17 muestras.

$$\text{Concentración de la dilución} \left(\text{mg} \frac{\text{GAE}}{\text{ml}} \right) = \text{Concentración} \left(\text{mg} \frac{\text{GAE}}{\text{ml}} \right) * 50$$

- Tener a la mano los datos de los mL totales de extracto obtenido de cada extracción en el ASE 150 seguidamente se determinó los mg GAE en los mL totales de extracto obtenido con el siguiente calculo.

mg GAE en los mL totales

$$= \text{Concentración de la dilución} \left(\text{mg} \frac{\text{GAE}}{\text{ml}} \right) \\ * \text{mL del extracto obtenido por el ASE 150}$$

- Finalmente se tiene que contar con los datos de los g de ayrampo liofilizado usado en la extracción. Y obtener los mg GAE/g de ayrampo liofilizado con el siguiente calculo.

$$\text{mg} \frac{\text{GAE}}{\text{g}} \text{ de ayrampo liofilizado} \\ = \left(\frac{\text{mg GAE en los mL totales de extracto}}{\text{g de ayrampo liofilizado usado en la extracción}} \right)$$

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 ANÁLISIS INICIAL DE LOS FRUTOS DEL AYRAMPO (*Berberis Commutata Eichler*).

4.1.1 Análisis de acidez y °Brix del fruto de ayrampo fresco.

Tabla 6. Resultados experimentales de los °Brix y del % de acidez.

Vol. Gasto (ml)	Vol. Promedio (ml)	° Brix	% Acidez
3,0	3,2	12	1,97
3,2			
3,4			

La tabla 6 se puede observar los °Brix 12 y % de acidez 1,97%.

4.1.2 Resultados de la humedad antes y después de la liofilización

Tabla 7. Resultados de la humedad de las muestras antes y después de la liofilización.

Peso de Ayrampo fresco	% Humedad	Peso del ayrampo liofilizado	% Humedad
M1: 70,43g	78,98%	M1: 16,69g	9%
M1: 70,78g	78,69%	M1: 16,90g	10%
M1: 70,20g	79,82%	M1: 16,76g	9.6%
Total: 211,41g	Promedio: 79,16%±0,005	Total: 50,35g	Promedio: 9,5%±0,005

En la Tabla 7, se observa que el contenido inicial de humedad del ayrampo fresco es 79,16% $\pm$ 0,005. Este resultado es similar a lo reportado por Ccatamayo (2010), los frutos del ayrampo tienen un alto contenido de humedad, para conservar las propiedades intactas del ayrampo se llevó a la liofilización para eliminar el contenido de agua, lo que permitió obtener una muestra seca y realizar las evaluaciones con éxito. La muestra de ayrampo liofilizado, cuyo peso final es de 50,35 gramos y tiene una humedad del 9,5% $\pm$ 0,005, estas muestras liofilizadas se utilizaron para determinar las antocianinas y fenoles. Por lo tanto, tendremos mejores resultados al usar muestra seca.

4.1.3 Resultados de las antocianinas de maíz morado y ayrampo liofilizado

Tabla 8. Contenido de antocianinas y fenoles en el maíz morado negro Canaán y ayrampo.

Muestra	g de muestra	mL de la extracción	Absorbancia	Antocianinas mg/g	Fenoles mg GAE/g
Maíz morado (negro Canaán) INIA 615	2.0468	100	0.615	50,17 $\pm$ 0,98	-
Ayrampo liofilizado	2.0555	100	0.812	65,97 $\pm$ 0,62	50,22 $\pm$ 0,54

La tabla 8 muestra los resultados de la determinación de antocianinas y fenoles totales mediante maceración de etanol 85% y HCL 15%. Se utilizaron muestras de ayraampo liofilizado y maíz morado (negro canaán INIA 615) seco; se encontraron 50,17 mg/g de antocianinas en el maíz morado y 65 mg/g de antocianinas en el ayraampo liofilizado.

Según Hoyos (2019) la coronta del maíz morado INIA 601, contiene 6,34 % de antocianinas, equivalente a 6,34 mg/g. Asimismo otras investigaciones como la de Rabanal y Medina (2021) determinaron antocianinas en coronta (elote) de maíz morado proveniente de Arequipa entre 23,4 a 48 mg/g. Por tanto, la cantidad encontrada de antocianinas en la coronta de maíz morado INIA 615 está dentro del rango de las investigaciones mencionadas, lo que indica que la técnica utilizada en nuestro análisis permite validar adecuadamente el resultado.

Carpio et al. (2014) Han determinado que el contenido de antocianina monomérica de *Berberis boliviana* L. una media de 7 g de antocianina/100 g (70 mg/g) de muestra seca, como equivalentes de cianidina-3-glucósido. El ayraampo (*Berberis commutata* E.) analizado nos reporta un dato de $50,17 \pm 0,98$ mg/g el cual es cercano al dato anterior.

4.2 ANÁLISIS DE EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS MONOMERICAS Y FENOLES TOTALES.

La extracción se llevó a cabo en el equipo ASE 150 utilizando los factores y niveles experimentales indicados en la Tabla 5. Todas las corridas fueron extraídas a una presión de 10,35 Mpa. Se realizaron 17 corridas con concentraciones de etanol del 50%, 60% y 70%. El tiempo de extracción fue de 9 minutos a 13 minutos y las temperaturas de extracción fueron de 80 °C, 90 °C y 100 °C. Finalmente, tenemos un volumen de extracción de 75 ml a 78 ml, lo que se debe a variaciones en el tiempo, la temperatura y el porcentaje de etanol. Tenemos cinco extracciones con los factores iguales, que son las siguientes corridas: 2, 3, 4, 9 y 15 con un volumen de 78 ml, 78 ml, 76 ml, 76 ml, y 75 ml la diferencia de volúmenes se debe a que la cantidad de muestra del ayraampo liofilizado no se pesó con exactitud, los volúmenes de la extracción detallada se pueden observar en la Tabla 9.

Tabla 9. Volumen final de la extracción.

°N	Peso del ayrampo liofilizado (g)	Peso de tierra de diatomeas (g)	Volumen final del ayrampo extraído (ml)
1	2,0006	1	78
2	2,0017	1	78
3	2,0024	1	78
4	2,0014	1	76
5	2,0069	1	76
6	2,0014	1	77
7	2,0035	1	76
8	2,0014	1	78
9	2,0039	1	76
10	2,0049	1	76
11	2,0082	1	75
12	2,0030	1	76
13	2,0028	1	75
14	2,0014	1	76
15	2,0025	1	75
16	2,0007	1	75
17	2,0014	1	78

4.3 CONTENIDO DE ANTOCIANINAS EN EXTRACTOS OBTENIDOS DEL ASE.

Tabla 10. Resultado del contenido de antocianinas en mg/L.

código	Corrida	Concentración de Etanol: %	Tiempo de extracción: min	Temperatura de extracción: °C	Contenido de antocianinas: mg/g
A1	1	50	11	100	55,41 ± 0,99
B1	2	60	11	90	48,93 ± 0,45
B2	3	60	11	90	49,18 ± 0,23
B3	4	60	11	90	48,51 ± 0,56
C1	5	70	11	100	48,69 ± 0,60
C2	6	70	9	90	47,41 ± 0,41
D1	7	60	9	100	53,08 ± 0,61
D2	8	60	13	80	54,08 ± 0,68
B4	9	60	11	90	47,50 ± 0,75
A2	10	50	11	80	47,41 ± 0,96
A3	11	50	9	90	47,83 ± 0,68
D3	12	60	13	100	56,33 ± 0,57
C3	13	70	13	90	51,71 ± 0,39
C4	14	70	11	80	48,13 ± 0,39
B5	15	60	11	90	47,34 ± 0,50
D4	16	60	9	80	48,51 ± 0,34
A4	17	50	13	90	55,56 ± 0,33

En la tabla 9 se reporta los resultados del contenido de antocianinas en las 17 muestras evaluadas a distintas concentraciones de etanol, tiempo y temperatura.

Para una mejor evaluación se ha dividido en los siguientes grupos de acuerdo a los factores que posee cada extracción.

- **Grupo A** tenemos 4 corridas que fueron extraídas a un **50% de etanol** y a diferentes tiempos y temperaturas:

A1 = Tiempo 11 mnt, temperatura 100 °C / contenido de antocianinas monoméricas: 55,41 ± 0,99 mg/g.

A2 = Tiempo 11 mnt, temperatura 80 °C / contenido de antocianinas monoméricas: 47,41 ± 0,45 mg/g.

A3 = Tiempo 9 mnt, temperatura 90 °C / contenido de antocianinas monoméricas: 47,83 ± 0,68 mg/g.

A4 = Tiempo 13 mnt, temperatura 90 °C / contenido de antocianinas monoméricas: 55,56 ± 0,33 mg/g.

La muestra A1 con las características indicadas tiene un máximo de absorbancia de 0,851 y a una longitud de onda de 527 nm.

La muestra A2, A3 y A4 pose menor cantidad de antocianinas esto posiblemente a que fue a un tiempo y temperatura inferior

- **Grupo B** tenemos 5 corridas que es denominado extracción de control que fueron extraídas a un **60% de etanol**, a un tiempo y temperatura igual.

B1 = Tiempo 11 mnt, temperatura 90 °C / contenido de antocianinas monoméricas: 48,93 ± 0,45 mg/g.

B2 = Tiempo 11 mnt, temperatura 90 °C / contenido de antocianinas monoméricas: 49,18 ± 0,23 mg/g.

B3 = Tiempo 11 mnt, temperatura 90 °C / contenido de antocianinas monoméricas: 48,51 ± 0,56 mg/g.

B4 = Tiempo 11 mnt, temperatura 90 °C / contenido de antocianinas monoméricas: 47,50 ± 0,75 mg/g.

B5 = Tiempo 11 mnt, temperatura 90 °C / contenido de antocianinas monoméricas: 47,34 ± 0,50 mg/g.

Las muestras B1, B2, B3, B4 y el B5 se encuentran en una longitud de onda de 525 a 529 nm y el contenido de absorbancia se encuentra en un rango de 0,750 a 0,757 estos resultados son semejantes esto se debe a que son pruebas de control.

De manera similar, las concentraciones de antocianinas oscilan entre 47,34 ± 0,50 y 49,18 ± 0,23 mg/g. Debido a que las cinco muestras se extrajeron al mismo tiempo, la temperatura y la concentración de etanol deberían haber sido idénticas. Es el único factor que altera las lecturas, se debe a una pequeña discrepancia en el método de pesaje y medición de cada muestra. Todos los procesos mencionados se llevaron a cabo en un lugar oscuro y se cubrieron con una bolsa negra en ese momento. Sin embargo, en algunas muestras, esto no se hizo correctamente, y Alfaro (2019) encontró que la luz deterioraba las antocianinas. Como resultado, los resultados varían.

- **Grupo C** tenemos 4 corridas que fueron extraídas a un **70% de etanol** y a diferentes tiempos y temperaturas.

C1 = Tiempo 11 mnt, temperatura 100 °C / contenido de antocianinas monoméricas: 48,69 ± 0,60 mg/g.

C2 = Tiempo 9 mnt, temperatura 90 °C / contenido de antocianinas monoméricas:
 $47,41 \pm 0,41 \text{ mg/g}$.

C3 = Tiempo 13 mnt, temperatura 90 °C / contenido de antocianinas monoméricas:
 $51,71 \pm 0,39 \text{ mg/g}$.

C4 = Tiempo 11 mnt, temperatura 80 °C / contenido de antocianinas monoméricas:
 $48,13 \pm 0,39 \text{ mg/g}$.

En el grupo C tenemos mayor contenido de antocianinas en la muestra C3 esto se debe a que el tiempo de extracción es mayor a las muestras de C1, C2 t C3. En este grupo podemos observar que el contenido de antocianinas es inferior que el grupo A y D.

- **Grupo D** tenemos 4 corridas que fueron extraídas a un 60% de etanol y a diferentes tiempos y temperaturas.

D1 = Tiempo 9 mnt, temperatura 100 C° / contenido de antocianinas monoméricas:
 $53,08 \pm 0,61 \text{ mg/g}$.

D2 = Tiempo 13 mnt, temperatura 80 °C / contenido de antocianinas monoméricas:
 $54,08 \pm 0,68 \text{ mg/g}$.

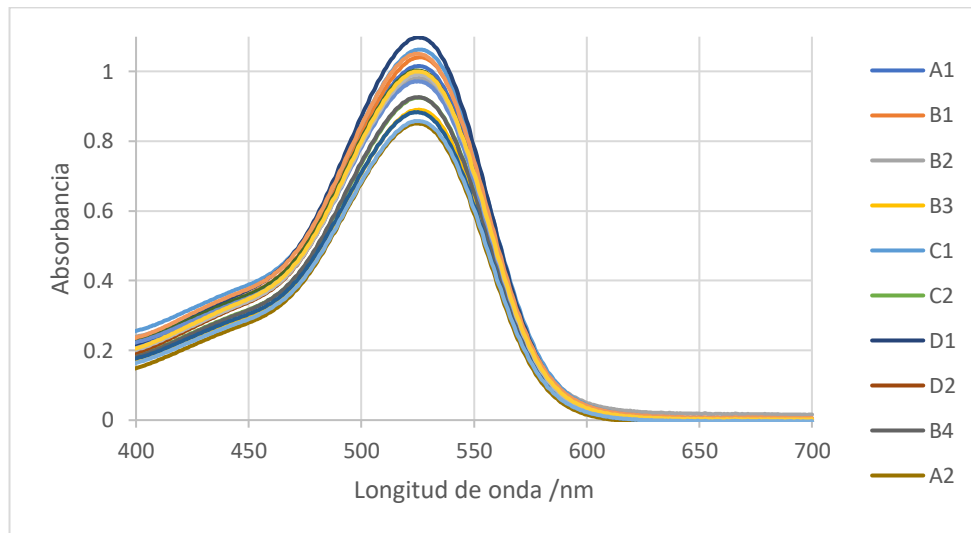
D3 = Tiempo 13 mnt, temperatura 100 °C / contenido de antocianinas monoméricas:
 $56,33 \pm 0,57 \text{ mg/g}$.

D4 = Tiempo 9 mnt, temperatura 80 °C / contenido de antocianinas monoméricas:
 $48,51 \pm 0,34 \text{ mg/g}$.

En este grupo se puede observar que el contenido de antocianinas se encuentra en un rango de $48,51 \pm 0,34$ a $56,33 \pm 0,57 \text{ mg/g}$ que es superior al grupo B y C.

En la Tabla 9. Se observa el contenido de antocianinas que se encuentra en un rango de $48,13 \pm 0,34 \text{ mg/g}$ a $56,33 \pm 0,57 \text{ mg/g}$ la diferencia del contenido se debe a que las muestras fueron sometidos a diferentes temperaturas, tiempo y % de etanol.

Figura 28. Barrido espectral de las 17 muestras de antocianinas.



El barrido espectral de los 17 extractos resultantes del ASE se muestran en la Figura 28. Para obtener esta gráfica, primero se leyó la muestra a 520 nm, donde se puede ver que la absorbancia oscila entre 0,847 y 1,289. La cianidina 3-glucósido, una de las antocianinas más conocidas, que encuentra en ese rango. Barragan et al. (2018) Nos indica que en la posición de estas bandas entre 500-550 nm corresponden a las antocianinas monoméricas. Así mismo evaluó el *mio mio* realizando una comparación de la cianidina con la uva morada y la fresa, que también se encuentran en ese rango de la longitud de onda mencionada.

Tabla 11. Resultado del mínimo y máximo contenido de antocianinas monoméricas a diferentes factores extraídos en el ASE.

Factor	Mínimo	Máximo
Etanol	60%	60 %
Tiempo	11 min	13 min
Temperatura	90 °C	100 °C
Antocianinas mg/g	47,34± 0,50	56,33± 0,57

En la Tabla 10 se puede observar que el parámetro óptimo es el D3 la corrida 12 que se utilizó un 60% de etanol, tiempo de 13 minutos y una temperatura de 100 °C donde se tuvo un contenido de antocianinas de 56,33± 0,57 mg/g.

Con menos contenido de antocianinas es el B5 que es la corrida 15 donde se utilizó un 60% de etanol, un tiempo de 11 minutos y una temperatura de 90 °C donde se obtuvo un contenido de $47,34 \pm 0,50$ mg/l/g. Como se puede observar en la tabla a mayor tiempo y temperatura de extracción se puede obtener un mayor contenido de antocianinas el % de etanol no afecta en la extracción ya que el equipo de ASE 150 es muy eficiente.

Los parámetros óptimos para extracción y obtención de antocianinas es un tiempo de 13 minutos, una temperatura de 100 °C y a una concentración de etanol de 60%.

Apaza (2017) nos dice que la extracción de las antocianinas es mejor con 80:20 de agua y alcohol por maceración, pero esta investigación demuestra que el contenido de alcohol no es importante y que necesitamos más tiempo y temperatura para una extracción eficiente.

Carpio et al. (2014) encontraron en el *berberis Boliviana L.* las siguientes antocianinas más comunes la cianidina, delfinidina, peonidina, petunidina y malvidina. Es posible que estas antocianinas se encuentren presentes en el ayrampo (*Berberis commutata E*).

Según Alfaro (2019), indica que es posible que las antocianinas se degraden a mayor temperatura y tiempo, pero las antocianinas son resistentes si se someten a altas temperaturas y a cortos tiempos. Esta investigación corrobora el trabajo que se realizó y concluye que las antocianinas del ayrampo (*Berberis commutata E*) no se degradaron en lo más mínimo porque la extracción se realizó a cortos tiempos.

4.4 ANÁLISIS ESTADISTICO DEL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS EN LA EXTRACCIÓN CON ASE.

4.4.1 Análisis de varianza de la extracción antocianinas

El análisis de varianza (ANOVA) permite conocer cuanta variación produce cada factor con respecto a la variable respuestas. Las variables independientes tiempo de extracción (min), concentración de etanol (%) y temperatura de extracción (T°).

El contenido total de antocianinas monoméricas y fenoles totales en este estudio fue significativo, lo que sugiere que el modelo funcionó bien y que la falta de ajuste no es relevante en la evaluación de antocianinas y fenoles. Para las antocianinas y los fenoles totales, el coeficiente de regresión del modelo de determinación (R²) fue del 93% y del 95%, respectivamente.

Esto tiene sentido, ya que los resultados experimentales muestran que la variabilidad de los datos se ajusta bien al modelo, dejando sólo un 8% y un 5% de variabilidad residual para las antocianinas monoméricas y los fenoles totales, respectivamente, en los datos. De los datos estadísticos anteriores se desprende claramente que el diseño Box-Behnken fue adecuado para pronosticar la cantidad de fenoles y antocianinas dentro de la gama de variables examinadas.

Tabla 12. Tabla de ANOVA del contenido total de antocianinas

Fuente	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	Valor F	Valor P	
Modelo	65117.89	7	9302.56	32.68	< 0.0001	Significativo
A-Etanol	5345.73	1	5345.73	18.78	0.0019	Significativo
B-Tiempo	21533.39	1	21533.39	75.65	< 0.0001	Significativo
C-Temperatura	12057.69	1	12057.69	42.36	0.0001	Significativo
Residual	2561.94	9	284.66			
Falta de ajuste	1489.73	5	297.95	1.11	0.4724	No significativo
Error puro	1072.21	4	268.05			
Cor total	67679.83	16				
R ² : 0.96	Ajustado:					
	R ² 0.93					

En la Tabla 11 se reporta el análisis de varianza del contenido de las antocianinas monoméricas en el fruto del ayrampo (*Berberis commutata E*) liofilizado donde se considera lo siguiente. La concentración de etanol es significativa, es decir hay diferencia significativa (es menor al $\alpha = 0.05$), el tiempo de extracción es significativo, es decir hay diferencia significativa (es menor al $\alpha = 0.05$), la temperatura es significativa, es decir hay diferencia significativa (es menor al $\alpha = 0.05$).

El valor F del modelo de 32,68 implica que el modelo es significativo, sólo hay un 0,01% de posibilidades de que se produzca un valor F tan grande debido al ruido. Los valores de P inferiores a 0,0500 indican que los términos del modelo son significativos. El valor F de falta de ajuste es de 1,11 implica que la falta de ajuste no es significativa en relación con el error puro, una falta de ajuste no significativa es buena.

4.4.2 Análisis de superficie de respuesta (RSM) en antocianinas

Después de aplicar el software Design-Expert, construimos la superficie de respuesta 3D y los gráficos de contorno 2D sobre este modelo para explicar la relación entre el tiempo de extracción, la concentración de etanol, la temperatura de extracción y el rendimiento de las antocianinas y fenoles.

Como se muestra en las figuras 27 y 28, se obtuvo la interacción que influye en el rendimiento de las antocianinas entre la concentración del disolvente de extracción y la temperatura de extracción. Cuando el tiempo de extracción se fijó en cero, el rendimiento de las antocianinas mejoró con la concentración de etanol aumentada de 50 a 60%, en cambio, con la temperatura de extracción aumentando de 80 a casi 100 °C, la extracción de las antocianinas alcanzó el valor máximo, y este valor luego incremento, seguido por el crecimiento continuo de la temperatura de extracción.

Con base en esta observación, tanto la temperatura de extracción como la concentración de etanol impartieron un efecto positivo en la extracción de antocianinas cuando los rangos de estas dos variables fueron 80–100°C y 50-60%, respectivamente.

Se observan Gráficos de superficie de respuesta que muestran el efecto de la temperatura de extracción, la concentración de etanol y el tiempo de extracción sobre el contenido de antocianinas del ayraimo y gráficos de contorno que muestran el efecto de la temperatura de extracción, la concentración de etanol y el tiempo de extracción sobre el contenido de antocianinas monoméricas en el ayraimo.

Figura 27. Efectos interactivos de la concentración del etanol y la temperatura de extracción.

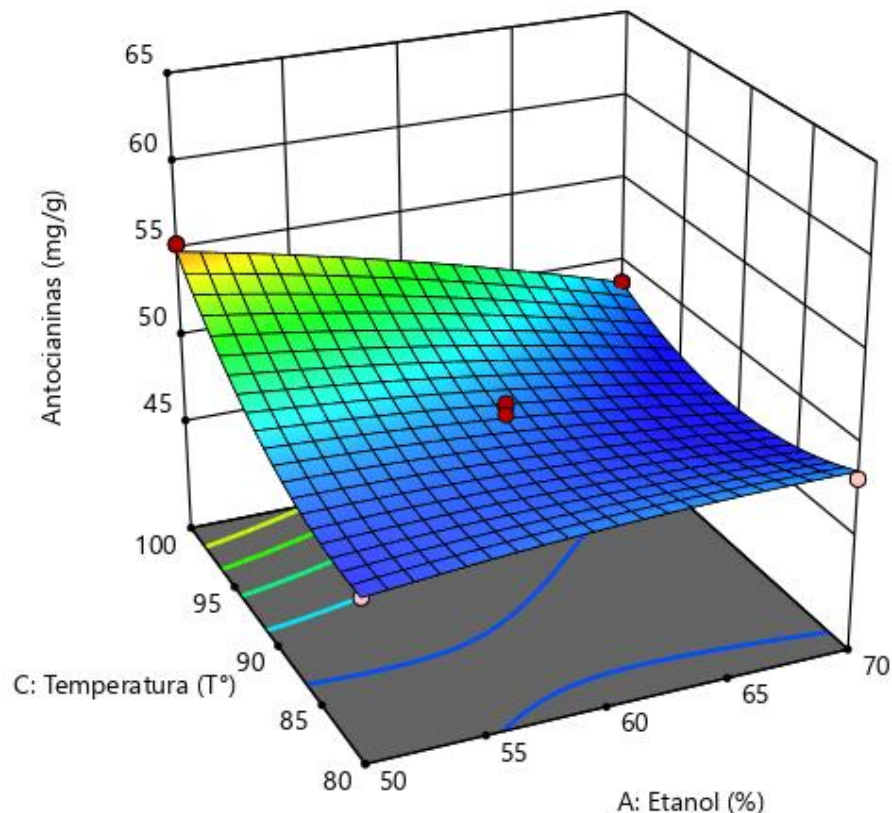
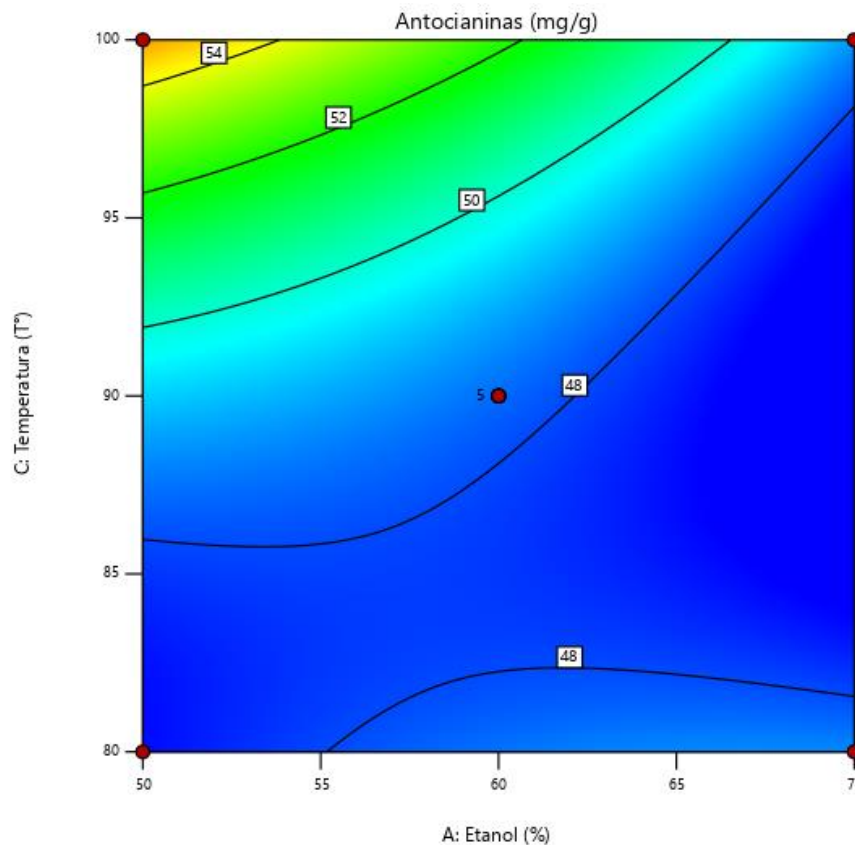


Figura 28. Contorno de efectos interactivos de la concentración del etanol y la temperatura de extracción.



Además, las figuras 29 y 30 revela el efecto del tiempo de extracción y la temperatura en el rendimiento de antocianinas. Cuando la concentración del disolvente de extracción era cero, se mostraron tanto la interacción mutua como los efectos cuadráticos del tiempo y la temperatura de extracción.

La temperatura fue incrementando de 80 °C a 100 °C y el aumento del tiempo de extracción de 9 a 13 minutos aumentaron drásticamente el valor de las antocianinas y luego lo mantuvieron constantemente. Además, como el tiempo de extracción se mantuvo en 13 min, el valor de las antocianinas aumentó bruscamente, seguido por el aumento de temperatura de 80 a 100°C de manera similar se observa en las en las Figuras 31 y 32.

Figura 29. Efectos interactivos del tiempo de extracción y la temperatura.

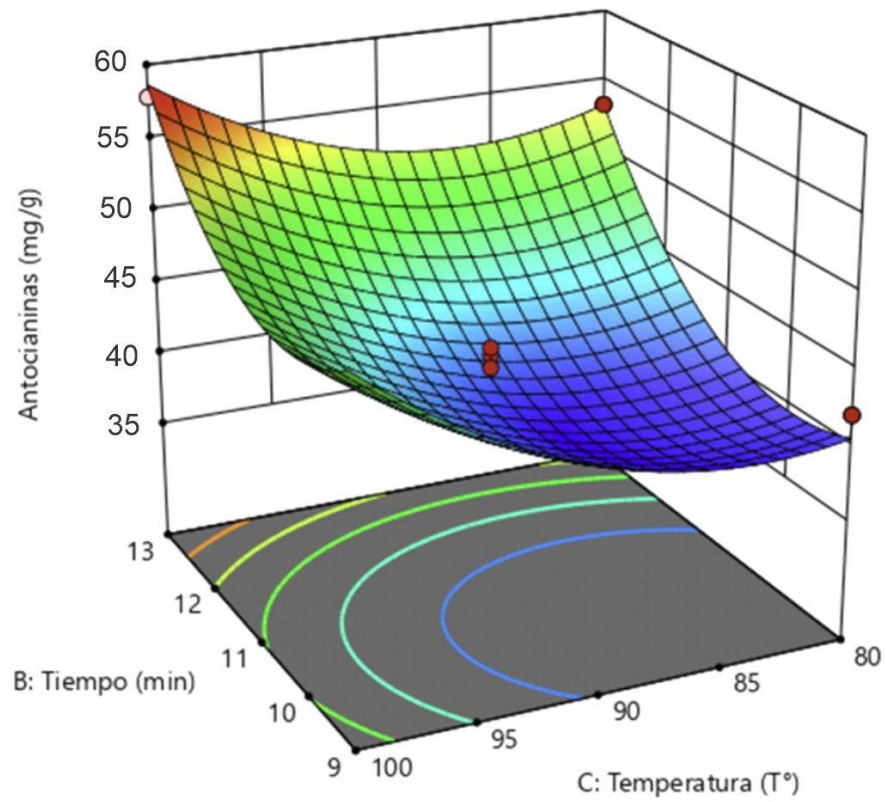
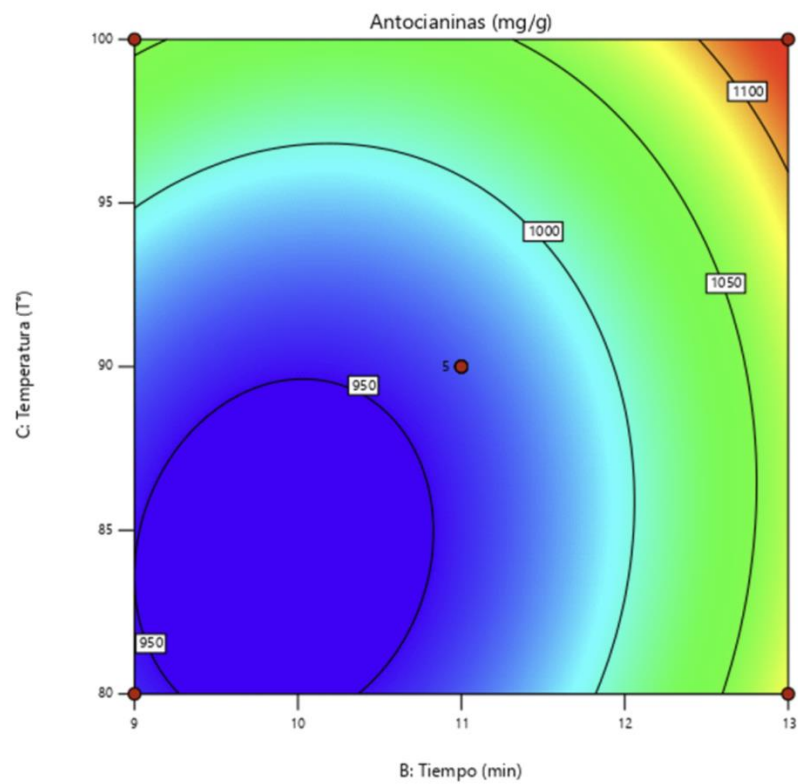


Figura 30. Efectos interactivos del tiempo de extracción y la temperatura.



Además, un esquema general de esos gráficos de superficie de respuesta 3D establece que cuando la temperatura de extracción estaba en un nivel cero, el rendimiento de las antocianinas se vio afectado por la interacción del tiempo de extracción y la concentración de etanol. Tanto el tiempo de extracción como la concentración de etanol tuvieron un efecto positivo en el rendimiento de las antocianinas.

Se observa la Figura 31 y 32 donde el etanol incremento de 50 % a 60 % y el aumento del tiempo de extracción de 9 a 13 minutos aumentaron drásticamente el valor de las antocianinas monoméricas y luego lo mantuvieron constantemente. Además, como el tiempo de extracción se mantuvo en 13 min, el valor de las antocianinas aumentó bruscamente, por el seguido aumento de temperatura de 80 a 100°C.

Figura 31. Efectos interactivos del tiempo de extracción y la concentración del etanol.

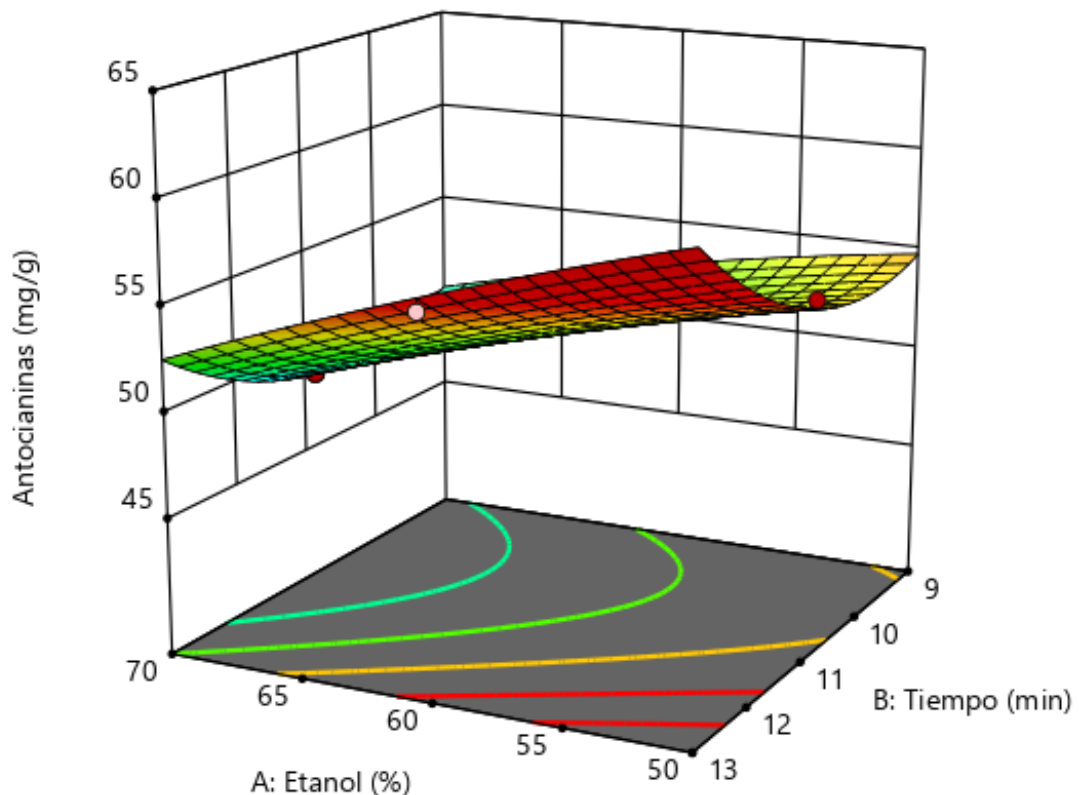
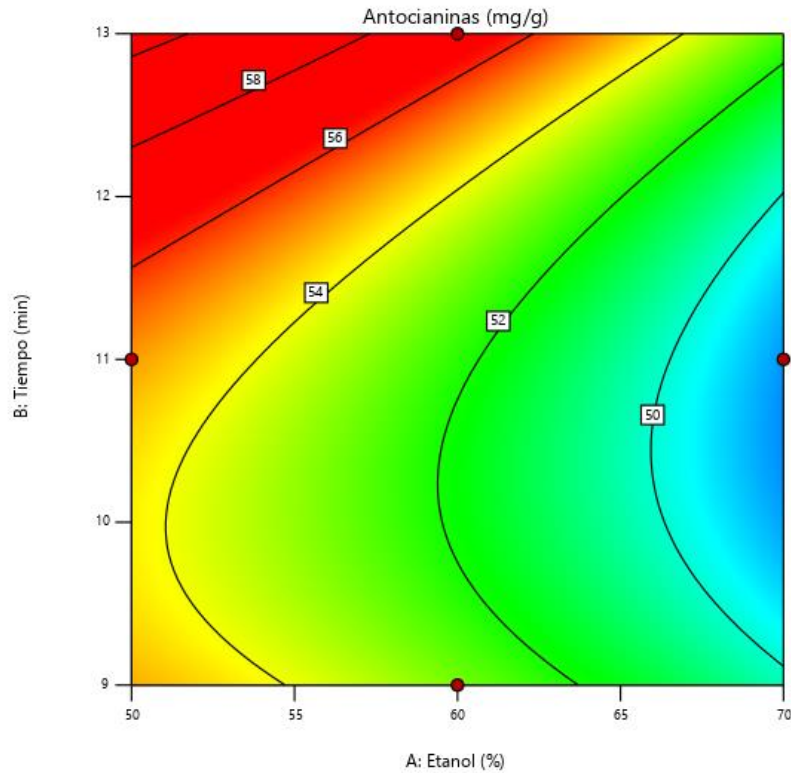


Figura 32. Efectos interactivos del tiempo de extracción y la concentración del etanol.



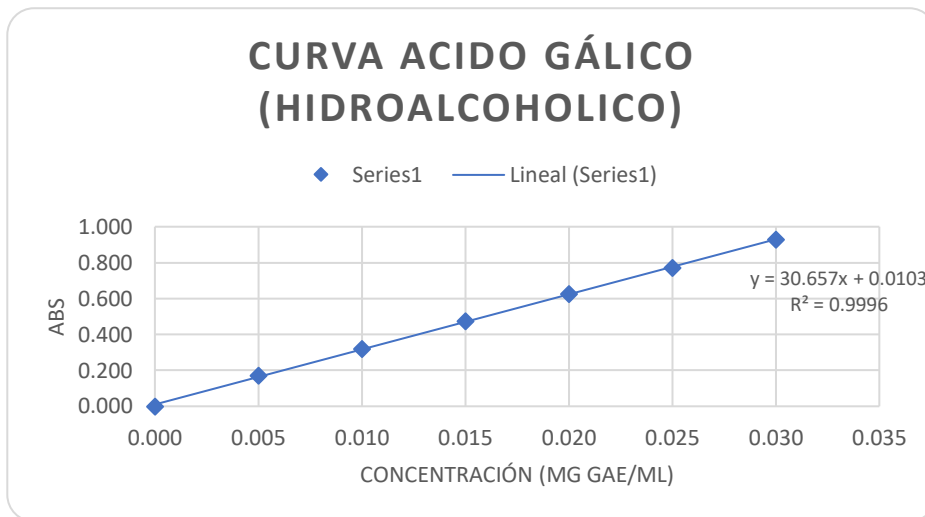
4.5 CONTENIDO DE FENOLES EN EXTRACTOS OBTENIDOS DEL ASE.

En la Tabla 12 se observa los datos de la concentración del ácido gálico para poder realizar la curva de calibración se realizó la lectura de las absorbancias a una longitud de onda 755 nm se hicieron 3 lecturas para finalmente tener un promedio final.

Tabla 12. Concentración de (mg G.A./ml)

Concentración (mg G.A./ml)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Promedio
0,000	0,000	0,000	0,000	0,000 ± 0,000
0,005	0,167	0,168	0,180	0,172 ± 0,007
0,010	0,317	0,320	0,321	0,319 ± 0,002
0,015	0,471	0,472	0,477	0,473 ± 0,003
0,020	0,638	0,626	0,619	0,628 ± 0,010
0,025	0,774	0,771	0,768	0,771 ± 0,003
0,030	0,933	0,936	0,916	0,928 ± 0,011
0,035	1,054	0,951	1,044	1,016 ± 0,057
0,040	1,219	1,195	1,232	1,215 ± 0,019

Figura 35. Curva Acido Gálico (hidroalcoholico).



En la Tabla 13 se reporta los resultados de la cantidad de fenoles en mg GAE/g de las 17 corridas que se realizó a una presión de 10,35 MPa.

Tabla 13. Resultados del contenido de fenoles totales de las 17 muestras.

código	Corrida	Concentración de Etanol: %	Tiempo de extracción: min	Temperatura de extracción: °C	Contenido de fenoles totales: mg GAE/g
A1	1	50	11	100	42,52 ± 0,25
B1	2	60	11	90	51,09 ± 1,09
B2	3	60	11	90	53,74 ± 1,18
B3	4	60	11	90	50,91 ± 1,14
C1	5	70	11	100	50,60 ± 0,74
C2	6	70	9	90	49,69 ± 1,19
D1	7	60	9	100	55,43 ± 0,68
D2	8	60	13	80	55,49 ± 0,89
B4	9	60	11	90	51,03 ± 0,94
A2	10	50	11	80	41,40 ± 1,73
A3	11	50	9	90	46,98 ± 1,10
D3	12	60	13	100	55,98 ± 0,31
C3	13	70	13	90	59,96 ± 1,66
C4	14	70	11	80	40,59 ± 0,75
B5	15	60	11	90	53,51 ± 1,71
D4	16	60	9	80	54,70 ± 1,34
A4	17	50	13	90	49,75 ± 0,57

Tabla 14. Resultado del mínimo y máximo contenido de fenoles en las 17 muestras.

Factor	Mínimo	Máximo
Etanol	50%	70 %
Tiempo	11 mnt	13 mnt
Temperatura	80 °C	90 °C
Fenoles mg GAE/g	41,40± 1,73	59,96± 1,66

En la tabla 14. Se puede apreciar que la extracción óptima es del código D2 que es a un 70 % de etanol, a un tiempo de 13 minutos y a una temperatura de 90 °C donde se obtuvo 59,96± 1,66 mg GAE/g con este resultado se puede determinar a que a mayor tiempo y temperatura se puede extraer mayor cantidad de compuestos fenólicos. Dentro de las 17 corridas tenemos compuestos fenólicos en un rango de 41,40± 1,73 a 59,96 ± 1,66 mg GAE/g.

En la tabla se puede observar el parámetro bajo y óptimo de los factores analizados y la cantidad de los fenoles totales extraídos, estos resultados son similares a la investigación realizada por Qinghua (2018) donde el rendimiento máximo de contenido fenólico total (TPC) fue de 17,92 mg GAE/g en las mejores condiciones de extracción: una temperatura de extracción de 89,38 °C, una concentración de etanol del 70% y un tiempo de extracción de 13 min. Este estudio indica que las condiciones óptimas

Jorge, P. y Troncoso, L (2016), realizaron un estudio en la capacidad antioxidante del fruto de la *Opuntia apurimacensis* (ayrampo) y de la *Opuntia ficus-indica* (tuna). Donde se obtuvo las siguientes concentraciones de polifenoles totales (107,3 y 68,7 mg de equivalente ácido gálico/100 g ff) realizando una comparación con el contenido de fenoles que se obtuvo del ayrampo (*Berberis commutata Eichler*) es de 59,90± 1,66 mg GAE/g. Este resultado es mayor ya que son diferentes métodos de extracción, son materias primas distintas, así mismo Jorge, P. y Troncoso, L (2016), realizan todo el desarrollo de la investigación con fruta fresca.

Para poder evaluar la cantidad de antocianinas y fenoles se realizó diferentes experimentos utilizando el diseño Box-Behnken como se observa en la Tabla N° 10 y 13 donde se ve reflejado cada corrida, el contenido de antocianinas monoméricas y

fenoles totales se encuentran en un rango de $47,34 \pm 0,50$ y $56,33 \pm 0,57$ mg/g y $41,40 \pm 1,73$ y $59,96 \pm 1,66$ mg GAE/g de fenoles.

4.6 ANALISIS ESTADISTICO DE FENOLES

4.6.1 Análisis de varianza de fenoles totales del ayrampo

Tabla 15. Tabla de ANOVA del contenido total de fenoles

Fuente	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	Valor F	Valor P	
Modelo	321.97	9	35.77	39.37	< 0.0001	Significativo
A-Etanol	46.56	1	46.56	51.25	0.0002	Significativo
B-Tiempo	16.05	1	16.05	17.66	0.0040	Significativo
C-Temperatura	50.95	1	50.95	56.08	0.0001	Significativo
Residual	6.36	7	0.9086			
Falta de ajuste	6.03	3	2.01	24.43	0.0049	No significativo
Error puro	0.3291	4	0.0823			
Cor total	328.33	16				
R ² : 0.98	Ajustado R ² : 0.95					

En la Tabla 15 se observa el análisis de varianza del contenido total de fenoles totales donde se reporta lo siguiente. El tiempo de extracción no es significativo, es decir no hay diferencia significativa (es mayor al $\alpha = 0.05$), el tiempo es significativa, es decir hay diferencia significativa (es menor al $\alpha = 0.05$), la concentración de etanol es significativa, es decir hay diferencia significativa (es menor al $\alpha = 0.05$).

El valor F del modelo de 39,37 implica que el modelo es significativo. Sólo hay un 0,01% de posibilidades de que se produzca un valor F tan grande debido al ruido, los valores de P inferiores a 0,0500 indican que los términos del modelo son significativos.

4.6.2 Análisis de superficie de respuesta (RSM) en fenoles totales.

Se puede observar las figuras 34 y 35, se obtuvo la interacción que influye en el rendimiento de los fenoles entre la concentración del etanol y la temperatura de extracción. Cuando el tiempo de extracción se fijó en cero, el rendimiento de los fenoles mejoró con la concentración de etanol aumentada de 50 a 70%, en cambio, con la temperatura de extracción incremento de 80 a 90 °C, la extracción de fenoles alcanzó

el valor máximo. La temperatura de extracción como la concentración de etanol nos dio un efecto positivo en la extracción de fenoles.

Se observa los gráficos de superficie de respuesta que muestran el efecto de la temperatura de extracción, la concentración de etanol y el tiempo de extracción sobre el contenido de fenoles del ayraimo y gráficos de contorno que muestran el efecto de la temperatura de extracción, la concentración de etanol y el tiempo de extracción sobre el contenido de fenoles en el ayraimo.

Figura 34. Efectos interactivos de la concentración del etanol y la temperatura de extracción.

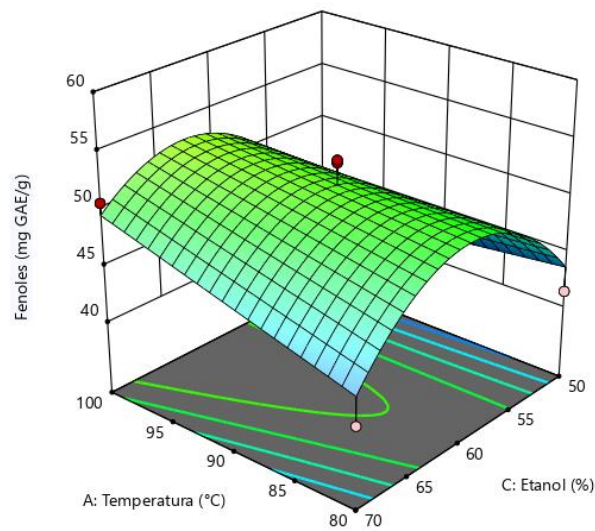
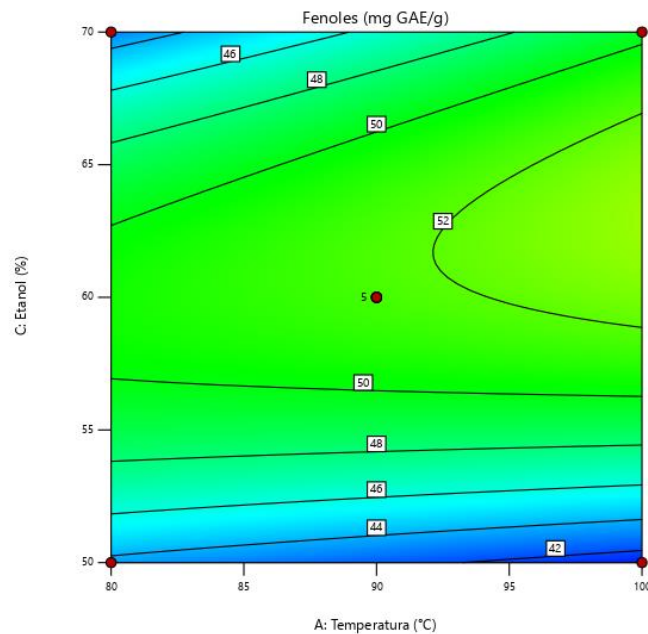


Figura 35. Efectos interactivos de la concentración del etanol y la temperatura de extracción.



Las figuras 36 y 37 nos demuestra el efecto del tiempo de extracción y la temperatura en el rendimiento de fenoles totales. Cuando la concentración del disolvente de extracción era cero, se mostraron tanto la interacción mutua como los efectos cuadráticos del tiempo y la temperatura de extracción.

Claramente se observa que la temperatura aumento de 80 a 90 °C y el tiempo de extracción de 11 a 13 minutos incremento el rendimiento de fenoles totales. Además, como el tiempo de extracción se mantuvo en 13 min, el valor de los fenoles aumentó.

Figura 36. Efectos interactivos del tiempo de extracción y la temperatura.

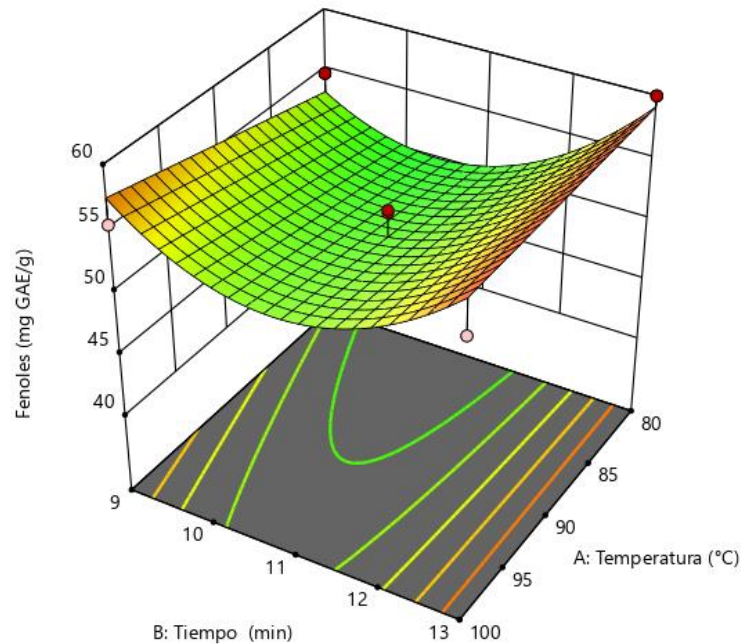
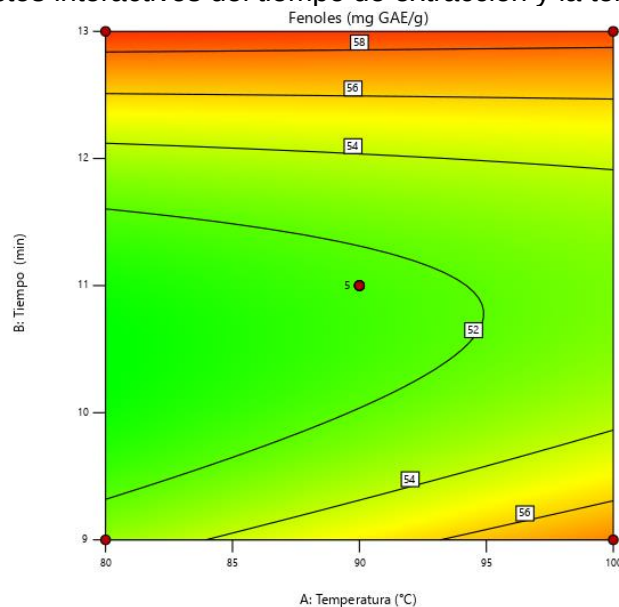


Figura 37. Efectos interactivos del tiempo de extracción y la temperatura.



Se observa la Figura 38 y 39 donde el etanol incremento de 50 % a 70 % y el aumento del tiempo de extracción de 11 a 13 minutos aumentaron drásticamente el valor de las antocianinas monoméricas y luego se mantuvieron constantemente, el tiempo se mantuvo constante y el valor de los componentes fenólicos incremento, por el segundo aumento de temperatura de 80 a 90°C.

Figura 38. Efectos interactivos del tiempo de extracción y la concentración del etanol.

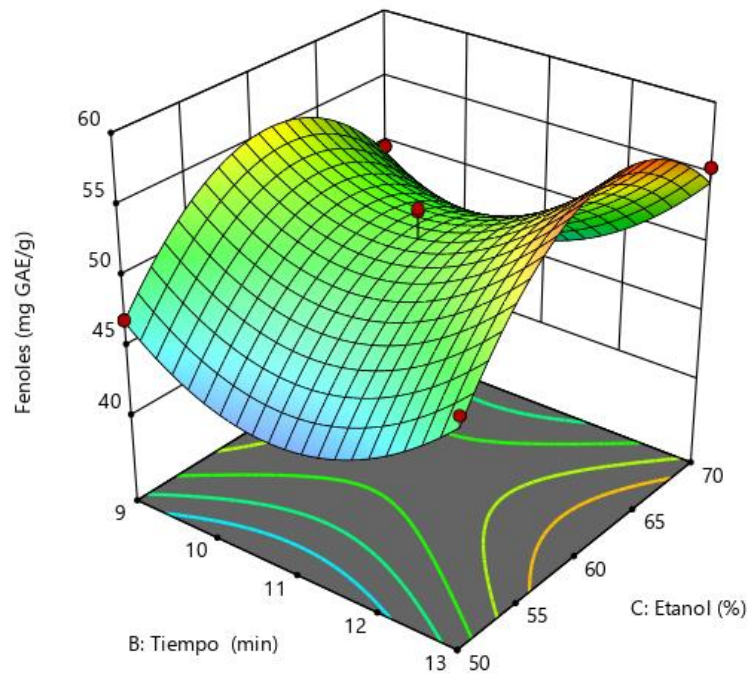
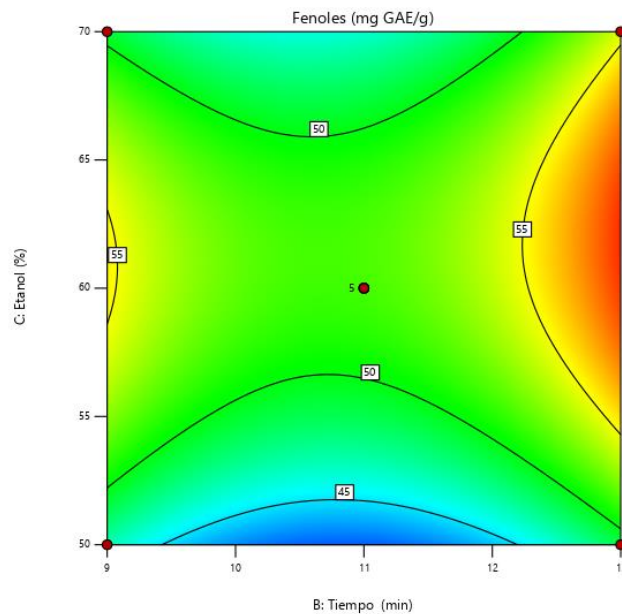


Figura 39. Efectos interactivos del tiempo de extracción y la concentración del etanol.



4.7 EFECTO DE LOS PARÁMETROS

Según los resultados de los experimentos preliminares, todos los parámetros experimentales (la concentración de etanol, la temperatura de extracción y el tiempo de extracción) facilitaron la extracción de las antocianinas monoméricas y fenoles totales del ayrampo a través del ASE 150 en un cierto rango de parámetros.

- El tiempo de extracción y la temperatura fueron los factores dominantes. Las mejores condiciones de estos factores individuales fueron 100°C y 13 min en etanol al 60% para la extracción de las antocianinas y para los fenoles fueron 90 °C, 13 min y 70% de etanol.
- Incremento el rendimiento de las antocianinas monoméricas y fenoles totales por el aumento de las temperaturas de 80 a 100°C y de 80 a 90 °C respectivamente la solubilidad mejoro y mayores velocidades de difusión del solvente de extracción y otros compuestos.
- La capacidad única de ASE para mantener la extracción a alta temperatura y alta presión de 10 Mpa impidió la degradación de los compuestos del extracto de ayrampo. Además, la extracción se favoreció debido a un mejor contacto entre los analitos y el disolvente debido a la reducción de la viscosidad del disolvente y la disminución de la tensión superficial del disolvente, el soluto y la matriz a temperaturas más altas.

4.8 ANÁLISIS DEL GRÁFICO DE SUPERFICIE RESPUESTA

Se pudo observar en los gráficos de superficie de respuesta 3D y contornos 2D creados por el software Design-Expert para examinar los efectos de los parámetros (el tiempo de extracción, la temperatura de extracción y la concentración de etanol) y sus interacciones sobre el rendimiento de las antocianinas y fenoles.

En la figura 27, 29, 34, 36 y figura 28, 30, 35 37 nos indica que existieron interacciones significativas entre la temperatura de extracción y el tiempo de extracción o la concentración de etanol en la extracción de antocianinas y fenoles debido a que un gráfico de contorno elíptico indicó la interacción significativa entre estos parámetros.

Sin embargo, existían algunos puntos anormales en las figuras. 32, 33, 38 y 39 que impidió el análisis de la relación entre la concentración de etanol y el tiempo de extracción en la extracción. Las causas probables de esta condición fueron; la imprecisión de algunos instrumentos como la balanza que podrían distorsionar el cálculo

de los resultados. Además, durante la preparación de la muestra, al cortar el fruto del ayrampo para eliminar las pepas se eliminaron una cierta cantidad de pulpa quedaron algunas muestras huecas, lo que influiría en los resultados de los experimentos. Generalmente, si se cumplen los requisitos de homogeneidad y sensibilidad de la muestra, se prefiere el tamaño de muestra pequeño y seca.

Estas figuras 27, 29, 34, 36, 28, 30, 35 y 37 muestran las condiciones óptimas de extracción de antocianinas monoméricas y fenoles totales del ayrampo fueron la concentración de etanol del 60% y 70%, el tiempo de extracción de 13 min y la temperatura de extracción de 90 y 100°C.

4.9 VALIDACIÓN DEL MODELO PREDICTIVO

Este estudio tuvo como objetivo determinar las condiciones de extracción óptimas que podrían maximizar los rendimientos de antocianinas y fenoles totales del ayrampo. De este modo, las condiciones fueron (la concentración de etanol del 60% y 70%, la temperatura de extracción de 90 °C y 100 °C y el tiempo de extracción de 13 min) pudieron producir el valor máximo de ($56,33 \pm 0,57$ mg/g de antocianinas y $59,96 \pm 1,66$ mg GAE/g de fenoles) generado por el software Design-Expert. En consecuencia, la optimización de este modelo fue precisa y confiable.

4.10 OPTIMIZACIÓN DE LOS PARAMETROS

Se utilizó el software Design-Expert para determinar (l- óptimo), que incluyó 17 corridas experimentales, se predice un rendimiento de antocianinas 55,07 mg/g y fenoles 59,54 mg GAE/g.

Tabla 16. Tabla 17. Predicción del rendimiento de las antocianinas.

N°	Etanol (%)	Tiempo (t)	Temperatura (C°)	Antocianinas mg/g
1	50	13	90	55,07

Tabla 17. Tabla 18. Predicción del rendimiento de los fenoles.

N°	Etanol (%)	Tiempo (t)	Temperatura (C°)	Antocianinas mg/g
1	68,53	12,96	94	59,54

CONCLUSIONES

- La extracción de antocianinas y fenoles se mejora grandemente utilizando el método de ASE en comparación a métodos tradicionales. El uso del ASE permite obtener concentraciones altas del contenido de antocianinas monoméricas y fenoles totales sin el uso de ácidos fuertes u otros agentes químicos.
- Los frutos liofilizados de ayrampo (*Berberis Commutata Eichler*) tiene un contenido de antocianinas monoméricas de $65,97 \pm 0,62$ mg/g y $50,22 \pm 0,54$ mg GAE/g de fenoles totales en muestra seca.
- Con diseño experimental de Superficie de Respuesta (RSM) - Box-Behnken (BBD) con 17 ejecuciones, con las siguientes variables: Etanol a una concentración de 50%, 60%, 70%, tiempos de extracción 9 min, 11 min, y 13 min y temperatura 80 °C, 90 °C y 100 °C, se obtuvieron extractos con contenido de antocianinas monoméricas entre $47,34 \pm 0,50$ mg/g a $56,33 \pm 0,57$ mg/g y fenoles totales entre $41,40 \pm 1,73$ mg GAE/g a $59,96 \pm 1,66$ mg GAE/g. El mayor contenido de antocianinas monoméricas ($56,33 \pm 0,57$ mg/g) se obtuvo con las condiciones óptimas de 100 °C, 13 minutos y 60% de etanol. El mayor contenido de fenoles totales ($59,96 \pm 1,66$ mg GAE/g) se obtuvo con las condiciones óptimas de 90 °C, 13 minutos y una concentración de 70% de etanol.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda seguir la investigación y realizar una extracción por ASE y seguidamente determinar los tipos de antocianinas y fenoles presentes.
- Se recomienda realizar una extracción por ASE a distintos parámetros como el tiempo mayor de 30 minutos, etanol mayor de 70 % y a una temperatura de 100 °C.
- Evaluar la estabilidad de las antocianinas en los alimentos como en ellos helados, licor, néctar, etc.

BIBLIOGRAFIA:

- Alfaro, A. (2019). *Cuantificación del contenido total de antocianinas y capacidad antioxidante en dos especies del género Berberis, del distrito de Vinchos-Ayacucho 2018* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga].
- Apaza, Y. (2017). *Influencia de parámetros fisicoquímicos en la extracción de pigmentos de ayrampo (opuntia soehrensii), sobre el contenido de fenoles totales, betacianinas totales y capacidad antioxidante* [tesis de pregrado, Universidad Nacional de Moquegua].
- Aranibar, A. (2013), *Extracción de antocianinas a partir del fruto de tankar (berberis boliviano l.) y determinación del contenido por el método del pH- diferencial* [tesis de pregrado, Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac].
- Alarcón, C. (2015) *optimización de parámetros de extracción de antocianinas del maíz morado (zea mays l.) por el método de superficie de respuesta y verificación experimental* [tesis de Maestría, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C].
- Barragan, C. Aro, A. Huamaní, M. y Cartagena, C. (2018) *Antocianinas, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del mio – mio (Coriaria ruscifolia L).* Revista de Investigaciones Antocianinas. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2313-29572018000400005
- Barraga, R. (2023) *Cuantificación de Antocianinas y Compuestos Fenólicos en Muehlenbeckia Volcanica (Bentham) Endlicher (Mullaca)-Recuay, Ancash.* Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar.
- Benayad, Z., Martínez, V., y Frías, J. (2014) *Composición fenólica, actividades antioxidantes y antiinflamatorias de extractos de flores de Opuntia ficus indica de Marruecos obtenidos por diferentes métodos de Extracción.* Pag. 62, 412 - 420.
- Carpio, C., Serrano, C., y Giusti, M. (2014). *Caracterización de las antocianinas de los frutos de Berberis boliviana lechler.* Revista de Investigaciones Antocianina. https://www.researchgate.net/publication/262776253_Caracterizacion_de_las_antocianinas_de_los_frutos_de_Berberis_boliviana_Lechler.

- Castañeda, V. (2010) *Inducción de antocianinas y capacidad antioxidante por oligogalacturónidos en uvas de mesa cv. 'Flame Seedless'* [Tesis de Maestría, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C.]. <https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1006/295/1/CASTA%C3%91EDA-VAZQUEZ-BI10.pdf>
- Ccaccya, C. Soberón, y L. Arnao, S. (2008) *Estudio comparativo del contenido de compuestos bioactivos y cianidina-3- glucósido del maíz morado (Zea mays L.) de tres regiones del Perú*. Revista de la Sociedad Química del Perú. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810634X2019000200008&script=sci_arttext
- Ccatamayo, J. (2011) *Aprovechamiento agroindustrial del ayrampu (Berberis sp.) en el proceso de una bebida funcional para la seguridad alimentaria* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Huancavelica].
- Gamarra, C. (2003). *Extracción de Betaninas de las Semillas de Ayrampo (Opuntia Soherensii Britton & Rose), Evaluación de la capacidad Antioxidante y Compuestos Fenólicos de los Extractos*. 125, 135 - 14.
- Giusti, M. y Wrolstad, R. (1996) *Characterization of red radish anthocyanins*. 61, 322 - 326.
- Gorriti, A. Quispe, F. y Arroyo, J. (2009) *Extracción de antocianinas de las corontas de zeamays L. Maíz Morado*. Ciencia e Investigación 2009; 12(2): 64-74 Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM 2009.
- Huaccho, H. (2016) *Capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, carotenoides y antocianinas de 84 cultivares de Mashua (tropaolum tuberosum ruiz y pavón)* [Maestría en Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional Agraria la Molina]. <http://bit.ly/CapAntioxAntoc84CultMashua>
- Hoyos, A. (2019) INIA identifica variedad de maíz morado con mayor contenido de antocianina y potencial de rendimiento. <https://www.inia.gob.pe/2019-nota-075/#:~:text=%E2%80%9CSe%20ha%20determinado%20que%20el,la%20investigadora%20responsable%20del%20proyecto>.
- Heras, I. Alvis, A. y Arrazola, A. (2013) *Optimización del Proceso de Extracción de Antocianinas y Evaluación de la Capacidad Antioxidante de Berenjena (Solana melonera L.)*. https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642013000500011

- Justo, C. (2018), *Obtención de extracto colorante por maceración a partir de las semillas de ayrampo (Opuntia soehrensii) procedentes de la provincia de Candarave* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann - Tacna].
- Jorge, P. y Troncoso, L. (2016), Capacidad antioxidante del fruto de la *Opuntia apurimacensis* (ayrampo) y de la *Opuntia ficus-indica* (tuna).
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S102555832016000200002&script=sci_abstract
- Leyva, D. (2009) *Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora* [tesis de pregrado, Universidad Tecnológica de la Mixteca].
- Mamani, D. y Arias, J. (2011) *Antocianinas, polifenoles totales y capacidad antioxidante en dos clones de papa nativa del género Solanum de pulpa azul y roja* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco].
<http://bit.ly/AntPolifCapAntioxPapaNatGenSolanum>
- Manual de operador ASE 150. (s.f).
- Moreno, Á. y García, P. (2008) *Análisis bromatológico de la tuna Opuntia elatior Miller (Cactaceae)*. Revista de la Facultad de Agronomía. (68) 80.
- Rabanal y Medina (2021) *“Análisis de antocianinas en el maíz morado (Zea mays L.) del Perú y sus propiedades antioxidantes”*
- Ruiz, S y Cormilluni, L. (2021) *Antocianinas en corontas y extractos de maíz morado (Zea Mays L) “INIA 615” conservados en anaquel*. Revista de la Sociedad Química del Perú. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2021000300217
- Xia, E. (2010). *Biological activities of polyphenol*.

ANEXOS

ANEXO 1. Descripción botánica del ayrampo.

CERTIFICA

Que, Daysi Mitma Enciso, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal. Dicha muestra ha sido revisada, identificada. Para la determinación de los niveles de orden, familia, y género se siguió el sistema de clasificación de Angiosperm Phylogeny Group IV (APG IV). En tanto, para los niveles superiores (división y clase) se siguió el sistema tradicional de Cronquist (1988).

Clasificación taxonómica.

DIVISIÓN : Magnoliophyta
CLASE : Magnoliopsida
ORDEN : Ranunculales
FAMILIA : Berberidaceae
GENERO : Berberis
ESPECIE : *Berberis commutata* Eichler

Descripción botánica.

Arbusto de 1.5 a 3 m de altura, con ramas fuertes, con espinas trifidas, agudas, rígidas, la espina central frecuentemente ganchoso y los laterales más rectos. Hojas en grupos de 4 a 6 oval lanceoladas, nervaduras poco pronunciadas. Flores amarillas, formando racimos simples. Los frutos tipo baya negra, esférica; la baya aloja generalmente cuatro semillas negras semilunares comprimidas lateralmente.

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 21 de junio de 2022



Marleny Prada De La Cruz
C.B.P 882
Mag.(t) Biología vegetal

ANEXO 2. Desarrollo de los cálculos de las antocianinas en mg/g.

Extracto	Los mL totales de extracto obtenido de cada extracción	g de ayrampo lío­filizado usado en la extracción	Abs	PM	DF	10*3	E	I	Antocianinas mg/g
1	78	2,0006	0,851	449,2	100	1000	26900	1	55.41
2	78	2,0017	0,752	449,2	100	1000	26900	1	48.93
3	78	2,0024	0,756	449,2	100	1000	26900	1	49.18
4	76	2,0014	0,765	449,2	100	1000	26900	1	48.51
5	76	2,0069	0,770	449,2	100	1000	26900	1	48.69
6	77	2,0014	0,738	449,2	100	1000	26900	1	47.41
7	76	2,0035	0,838	449,2	100	1000	26900	1	53.08
8	78	2,0014	0,831	449,2	100	1000	26900	1	54.08
9	76	2,0039	0,750	449,2	100	1000	26900	1	47.50
10	76	2,0049	0,749	449,2	100	1000	26900	1	47.41
11	75	2,0082	0,767	449,2	100	1000	26900	1	47.83
12	76	2,0030	0,889	449,2	100	1000	26900	1	56.33
13	75	2,0028	0,827	449,2	100	1000	26900	1	51.72
14	76	2,0014	0,759	449,2	100	1000	26900	1	48.13
15	75	2,0025	0,757	449,2	100	1000	26900	1	47.34
16	75	2,0007	0,775	449,2	100	1000	26900	1	48.51
17	78	2,0019	0,854	449,2	100	1000	26900	1	55.56

Procedimiento:

Pigmento de antocianina (equivalentes de cianidina – 3 – glucósido, ($\frac{mg}{L}$))

$$= \frac{A * PM * DF * 10^3}{E * 1}$$

Donde:

$$A = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 1,0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 4,5}.$$

$$PM = \text{Peso molecular} = 449,2 \frac{g}{mol} \text{ para cianidina – 3 – glucósido.}$$

DF = Factor de dilución establecido.

10^3 = Factor de conversión de g a mg.

E = 26900 coeficiente de extinción molar, en $\frac{L}{mol} * cm$, para cianidina – 3 – glucósido.

1 = Longitud de trayecto en cm.

a) Determinando la absorbancia.

$$A1 = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 1,0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 4,5}.$$

$$A1 = (1,00 - 0,003)_{pH\ 1,0} - (0,116 - 0,012)_{pH\ 4,5}.$$

$$A1 = 0,838$$

$$A2 = 0,863$$

$$A3 = 0,852$$

$$\text{promedio } A: 0,851$$

b) Determinando el Pigmento de antocianina (equivalentes de cianidina – 3 – glucósido, ($\frac{mg}{L}$))

$$ACN(\frac{mg}{L}) = \frac{A * PM * DF * 10^3}{E * 1}$$

$$ACN(\frac{mg}{L}) = \frac{0,851 * 449,2 * 100 * 10^3}{26900 * 1}$$

$$ACN\left(\frac{mg}{L}\right) = 1421,07$$

c) Proceso de conversión hasta obtener las unidades $\left(\frac{mg}{g}\right)$.

$$ACN = 1421,07 \left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{1421,07 \text{ mg}}{1000 \cancel{ml}} * \frac{78 \cancel{ml}}{2,0006 \cancel{g}}$$

$$ACN = 55,41 \frac{mg}{g}$$

Se realizo 3 repeticiones:

$$ACN(1) = 55,41 \frac{mg}{g}$$

$$ACN(2) = 54,41 \frac{mg}{g}$$

$$ACN(3) = 56,40 \frac{mg}{g}$$

Promedio final:

Pigmento de antocianina (equivalentes de cianidina – 3 – glucósido, $\left(\frac{mg}{g}\right)$)

$$= 55,41 \frac{mg}{g}$$

ANEXO 3. TPC de los compuestos fenólicos.

Extracto	Abs	Concentración (mg GAE/ml) según curva de calibración	Concentración (mg GAE/ml) aplicando el factor de dilución (x50). 3 excepciones x100	Los mL totales de extracto obtenido de cada extracción	mg GAE en los mL totales de extracto obtenido	g de ayrampo liofilizado usado en la extracción	mg GAE/g de ayrampo liofilizado	Promedio	Desvest	Desvest Rela.
1	0,683	0,022	1,097	78	85,577	2,0006	42,776	42,521	0,254	0,598
	0,679	0,022	1,091	78	85,068	2,0006	42,521			
	0,675	0,022	1,084	78	84,559	2,0006	42,267			
	0,852	0,027	1,373	78	107,076	2,0017	53,493			
2	0,790	0,025	1,272	78	99,189	2,0017	49,552	51,099	2,102	4,114
	0,801	0,026	1,290	78	100,588	2,0017	50,251			
	0,888	0,029	1,431	78	111,656	2,0024	55,761			
	0,831	0,027	1,339	78	104,405	2,0024	52,140			
3	0,850	0,027	1,370	78	106,822	2,0024	53,347	53,749	1,844	3,430
	0,891	0,029	1,436	76	109,165	2,0014	54,544			
	0,804	0,026	1,294	76	98,381	2,0014	49,156			
	0,802	0,026	1,291	76	98,133	2,0014	49,032			
4	0,816	0,026	1,314	76	99,868	2,0069	49,762	50,911	3,147	6,182
	0,834	0,027	1,343	76	102,099	2,0069	50,874			
	0,839	0,027	1,352	76	102,719	2,0069	51,183			
	0,795	0,026	1,280	77	98,545	2,0014	49,238			
5	0,788	0,025	1,268	77	97,666	2,0014	48,799	49,698	1,198	2,410
	0,824	0,027	1,327	77	102,187	2,0014	51,058			
	0,905	0,029	1,459	76	110,900	2,0035	55,353			
	0,896	0,029	1,445	76	109,784	2,0035	54,796			
6	0,918	0,030	1,480	76	112,511	2,0035	56,157	55,436	0,684	1,234
	0,917	0,030	1,479	78	115,345	2,0014	57,632			
	0,954	0,031	1,539	78	120,052	2,0014	59,984			
	0,990	0,032	1,598	78	124,632	2,0014	62,272			
7	0,799	0,026	1,286	76	97,761	2,0039	48,785	59,963	2,320	3,869
	0,909	0,029	1,466	76	111,396	2,0039	55,589			
	0,798	0,026	1,285	76	97,637	2,0039	48,724			
	0,708	0,023	1,138	76	86,481	2,0049	43,135			
8	0,652	0,021	1,047	76	79,540	2,0049	39,673	51,033	3,946	7,733
	0,680	0,022	1,092	76	83,011	2,0049	41,404			
	0,798	0,026	1,285	75	96,352	2,0082	47,979			
	0,762	0,025	1,226	75	91,949	2,0082	45,787			
9	0,785	0,025	1,263	75	94,762	2,0082	47,188	46,985	1,110	2,363
	0,465	0,015	1,483	76	112,722	2,0030	56,277			
	0,460	0,015	1,467	76	111,483	2,0030	55,658			
	0,463	0,015	1,477	76	112,226	2,0030	56,029			
10	0,888	0,029	1,431	75	107,361	2,0028	53,606	55,988	0,311	0,556
	0,939	0,030	1,515	75	113,600	2,0028	56,720			
	0,930	0,030	1,500	75	112,499	2,0028	56,171			
	0,331	0,010	1,046	76	79,503	2,0014	39,724			
11	0,341	0,011	1,079	76	81,982	2,0014	40,962	41,404	1,731	4,181
	0,342	0,011	1,082	76	82,230	2,0014	41,086			
	0,449	0,014	1,431	75	107,325	2,0025	53,595			
	0,434	0,014	1,382	75	103,655	2,0025	51,763			
12	0,462	0,015	1,473	75	110,505	2,0025	55,183	53,514	1,712	3,199
	0,905	0,029	1,459	75	109,441	2,0007	54,701			
	0,927	0,030	1,495	75	112,132	2,0007	56,046			
	0,883	0,028	1,423	75	106,750	2,0007	53,356			
13	0,783	0,025	1,260	78	98,298	2,0019	49,102	49,759	0,570	1,145
	0,798	0,026	1,285	78	100,206	2,0019	50,056			
	0,799	0,026	1,286	78	100,334	2,0019	50,119			

ANEXO 4. Recolección de los frutos del ayrampo.



ANEXO 5. Liofización de la muestra de los frutos del ayrampo.



ANEXO 5. Pesado de la muestra de los frutos del ayrampo liofilizado.



ANEXO 6. Muestras de ayrampo liofilizado



ANEXO 7. Preparación de reactivos.



ANEXO 8. Preparación de las muestras para la extracción en el ASE.



ANEXO 9. Equipo de extracción ASE 150.



ANEXO 10. Manejo del equipo de extracción ASE 150.



ANEXO 11. Preparación de las muestras para la lectura.



ANEXO 12. Preparación de las muestras para la lectura.



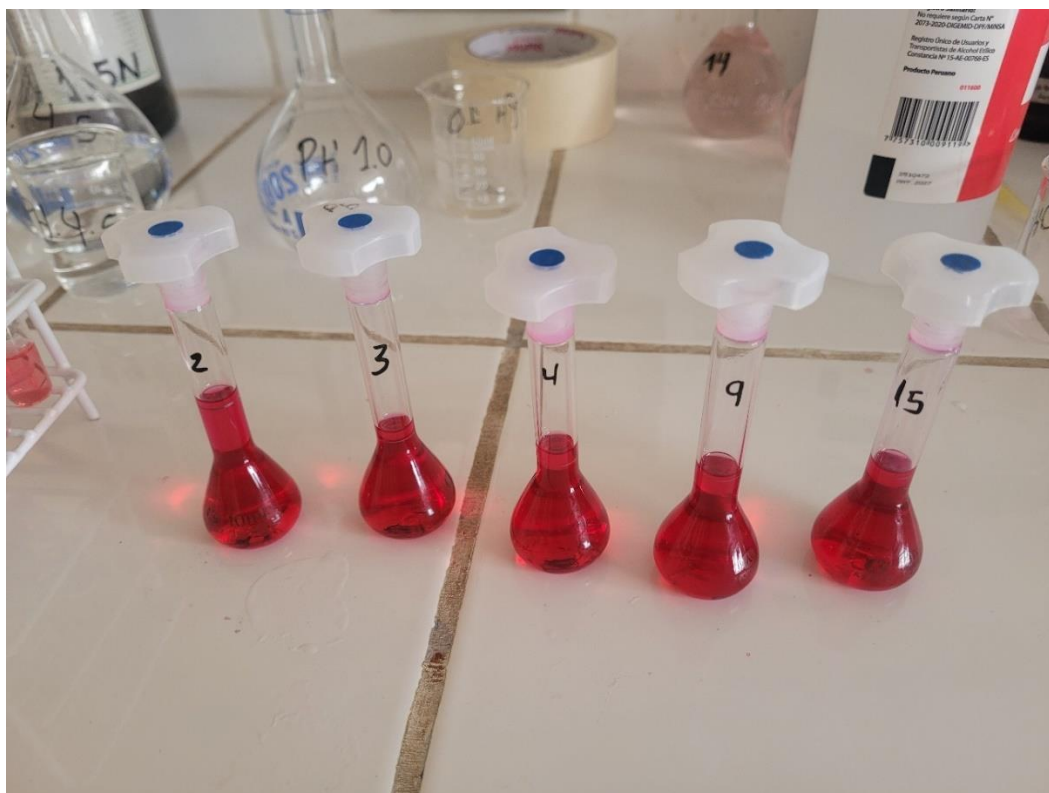
ANEXO 13. Partes de la celda de muestra.



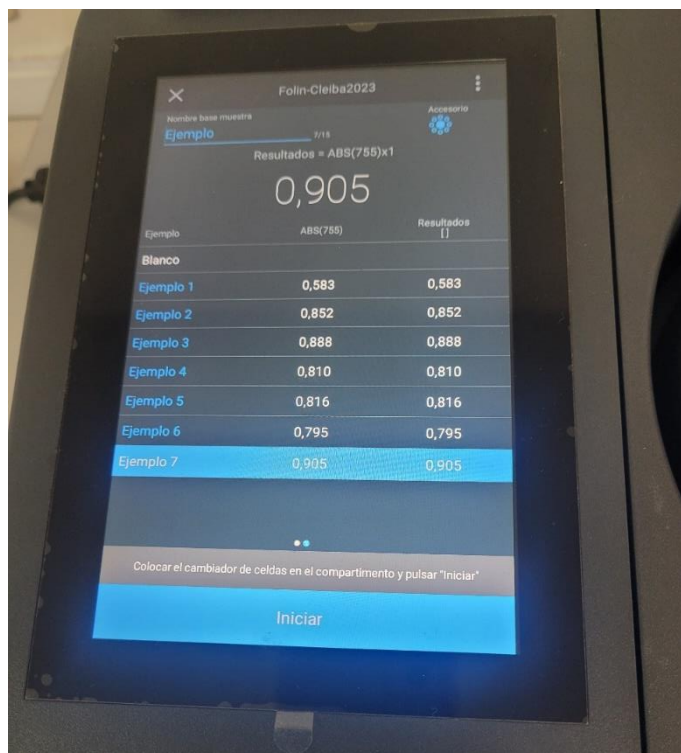
ANEXO 14. Muestra de la muestra después de la extracción.



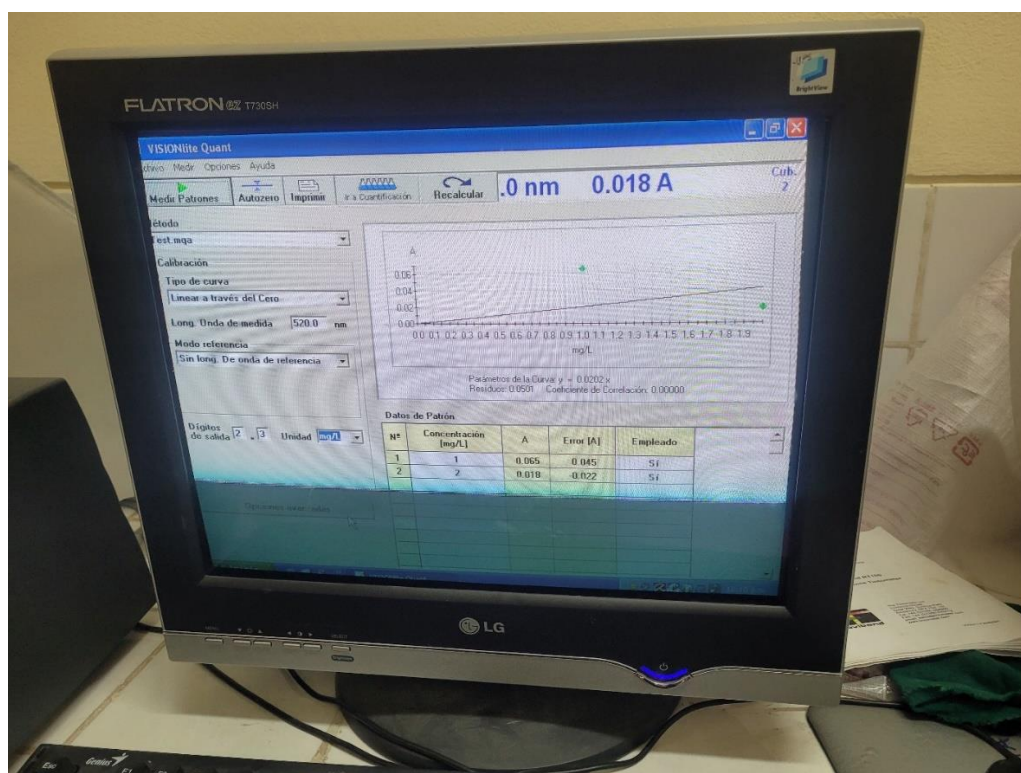
ANEXO 15. Preparación de las muestras para la lectura de las absorbancias.



ANEXO 16. Lectura de las absorbancias de los fenoles.



ANEXO 17. Lectura de las absorbancias.





UNSCH

FACULTAD DE INGENIERÍA
**QUÍMICA Y
METALURGIA**

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS PRESENCIAL:

Cuantificación de fenoles totales y antocianinas en fruto de ayrampo (*Berberis commutata Eichler*) Liofilizado, por la metodología de optimización de extracción acelerada por solventes

Expositora: Daysi Mitma Enciso
Bachiller en Ingeniería en Industrias Alimentarias

Expediente N° 2422590 Resolución Decanal N° 118-2024-UNSCH-FIQM/D Fecha: 19-06-20224

En la Sala de Conferencia "Pedro Villena Hidalgo" de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia, ubicada en la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (H-121), siendo las diez de la mañana con cinco minutos del día martes veinticinco de junio del año dos mil veinticuatro, se reunieron la Bachiller en Ingeniería en Industrias Alimentarias **Daysi Mitma Enciso**, los Docentes Miembros del Jurado de Sustentación Ingenieros: Dr. Alberto Luis HUAMANI HUAMANI, Mg. Cronwell Eduardo ALARCON MUNDACA y Mg. Edith Susan PILLACA MEDINA, bajo la Presidencia del Dr. Agustín Julián PORTUGUEZ MAURTUA (Decano de la Facultad), Ing. Jesús Javier PANIAGUA SEGOVIA (Docente Asesor de la Tesis), el Mg. Fredy Rober PARIONA ESCALANTE (Secretario-Docente).

Acto seguido, el Presidente del Jurado de Sustentación dispuso que el Secretario Docente dé lectura a los antecedentes tramitados para el presente Acto Público de Sustentación de la Tesis: **Cuantificación de fenoles totales y antocianinas en fruto de ayrampo (*Berberis commutata Eichler*) Liofilizado, por la metodología de optimización de extracción acelerada por solventes**, presentado por la Bachiller **Daysi Mitma Enciso**. A continuación, el Secretario-Docente procedió a dar lectura a la Resolución Decanal N° 118-2024-UNSCH-FIQM/D.

Luego, el Presidente del Jurado invitó a la Bachiller **Daysi Mitma Enciso**, a pasar al estrado y exponer su trabajo de Tesis en un tiempo máximo de treinta y cinco minutos.

Finalizado la exposición del Bachiller, el presidente invitó a los Señores Miembros del Jurado de Sustentación a que formulen sus preguntas y señalen sus observaciones, en el siguiente orden: Mg. Edith Susan PILLACA MEDINA, Mg. Cronwell Eduardo ALARCON MUNDACA y Dr. Alberto Luis HUAMANI HUAMANI. Luego el Presidente invitó al Ing. Jesús Javier PANIAGUA SEGOVIA para que, en su condición de Docente Asesor, se sirva levantar las observaciones del Jurado y efectuar las aclaraciones que considere conveniente.

A continuación, el presidente del jurado invitó al sustentante y al público para que se sirva abandonar la sala de conferencia con la finalidad de permitir al jurado de sustentación deliberar sobre la evaluación a otorgar. Se alcanzó el siguiente resultado. **APROBADA POR UNANIMIDAD PROMEDIO CATORCE (14).**

FACULTAD DE INGENIERÍA
QUÍMICA Y METALURGIA
Av. Independencia s/n
Ciudad Universitaria

**UNSCH**FACULTAD DE INGENIERÍA
QUÍMICA Y
METALURGIA**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS PRESENCIAL:**

Cuantificación de fenoles totales y antocianinas en fruto de ayrampo (*Berberis commutata* Eichler) Liofilizado, por la metodología de optimización de extracción acelerada por solventes

Expositora: Daysi Mitma Enciso
Bachiller en Ingeniería en Industrias Alimentarias

Expediente Nº 2422590 Resolución Decanal Nº 118-2024-UNSCH-FIQM/D Fecha: 19-06-20224

Finalmente, el Presidente del Jurado dispuso que se invite al Sustentante y al público asistente a que se sirvan ingresar a la sala de conferencias y anunció que, la Bachiller **Daysi Mitma Enciso**, ha resultado **APROBADA POR UNANIMIDAD**, y por lo tanto a partir de la fecha la Universidad y la Facultad cuenta con una flamante **INGENIERA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS** y le augura éxitos en su desempeño profesional.

Siendo las once con cincuenta minutos, se dió por finalizado este acto académico de Sustentación de Tesis. En fe de lo cual firmamos:


.....
Dr. Agustín Julián PORTUGUEZ MAURTUA
Presidente


.....
Dr. Alberto Luis HUAMANI HUAMANI
Miembro


.....
Mg. Cronwell Eduardo ALARCON MUNDACA
Miembro


.....
Mg. Edith Susan PILLACA MEDINA
Miembro


.....
Mg. Fredy Rober PARIONA ESCALANTE
(Secretario Docente)

FACULTAD DE INGENIERÍA
QUÍMICA Y METALURGIA
Av. Independencia s/n
Ciudad Universitaria



CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

El Director de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, hace CONSTAR:

Que, la Srta. Daysi MITMA ENCISO egresada de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias ha remitido, con el aval y por intermedio de su asesor el Ing. Jesús Javier Paniagua Segovia, la Tesis: Cuantificación de fenoles totales y antocianinas en fruto de ayrampo (*Berberis commutata Eichler*) Liofilizado, por la metodología de optimización de extracción acelerada por solventes; y se precisa con el Informe de Originalidad de Turnitin, que el índice de similitud del trabajo es de 19% y que se ha generado el Recibo digital que confirma el Depósito que el trabajo ha sido recibido por Turnitin con fecha setiembre 22 de 2024 e Identificador de la Entrega N° 2461551430.

Se expide la presente, para los fines pertinentes.

Ayacucho, setiembre 24 de 2024.


Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga
Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia
EP Ingeniería en Industrias Alimentarias
.....
Dr. Alberto L. HUAMANI HUAMANI
DIRECTOR

C.C.

Archivo.
Constancia N° 601

Cuantificación de fenoles totales y antocianinas en fruto de ayrampo (*Berberis commutata* Eichler) Liofilizado, por la metodología de optimización de extracción acelerada por solventes

por DAYSI MITMA ENCISO

Fecha de entrega: 22-sep-2024 08:50a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2461551430

Nombre del archivo: 5._TESIS_RECORTADO_-_DAYSI_MITMA.pdf (3.04M)

Total de palabras: 16058

Total de caracteres: 79462

Cuantificación de fenoles totales y antocianinas en fruto de ayrampo (*Berberis commutata* Eichler) Liofilizado, por la metodología de optimización de extracción acelerada por solventes

INFORME DE ORIGINALIDAD

19%	19%	6%	8%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga	2%
	Trabajo del estudiante	
2	repositorio.unsch.edu.pe	2%
	Fuente de Internet	
3	hdl.handle.net	2%
	Fuente de Internet	
4	repositorio.unh.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	
5	ciencialatina.org	1%
	Fuente de Internet	
6	www.scilit.net	1%
	Fuente de Internet	
7	pdffox.com	1%
	Fuente de Internet	

repositorio.uncp.edu.pe

8	Fuente de Internet	1 %
9	repositorio.unamba.edu.pe Fuente de Internet	1 %
10	docplayer.es Fuente de Internet	1 %
11	repositorio.unam.edu.pe Fuente de Internet	1 %
12	repositorio.unica.edu.pe Fuente de Internet	1 %
13	repositorio.unajma.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
14	Nicole Burneo, María Mora-Medina, Jorge Figueroa. "OPTIMIZACIÓN DE LA DESHIDRATACIÓN Y EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE PIEL DE MANGO", Química Nova, 2021 Publicación	<1 %
15	alicia.concytec.gob.pe Fuente de Internet	<1 %
16	www.researchgate.net Fuente de Internet	<1 %
17	es.scribd.com Fuente de Internet	<1 %

repositorio.utc.edu.ec

18

Fuente de Internet

<1 %

19

www.sqperu.org.pe

Fuente de Internet

<1 %

20

repositoriouba.sisbi.uba.ar

Fuente de Internet

<1 %

21

apirepositorio.unh.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

22

ts-xml.lsst.io

Fuente de Internet

<1 %

23

Siu, Maykabeth Wendh García. "Efecto de la Adición Integrada de un Extracto de Coronta de Maíz Morado (Zea mays L.) Obtenido Mediante Extracción con Líquidos Calientes Presurizados Sobre el Contenido de Contaminantes Neoformados en Galletas Saladas", Pontificia Universidad Católica de Chile (Chile), 2023

Publicación

<1 %

24

admi.huachos.com

Fuente de Internet

<1 %

25

Submitted to Consorcio CIXUG

Trabajo del estudiante

<1 %

26

repositorio.unap.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

27

CRISTINA VERÓNICA DAVIES. "Estudio de los procesos biotecnológicos de acetificación para la producción de vinagre de naranja y vinagre de arándanos.", Universitat Politècnica de Valencia, 2015

Publicación

<1 %

28

pdfcookie.com

Fuente de Internet

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo