

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**Cuantificación del contenido total de antocianinas y  
capacidad antioxidante en dos especies del género  
*Berberis*, del distrito de Vinchos - Ayacucho 2018.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

**Presentado por:**

**Bach. ALFARO AYVAR, Katherine Maritza**

**AYACUCHO – PERÚ**

**2019**

*A Dios por darme todo en esta vida.*

*A mi familia en especial a mi madre por darme todo su amor, apoyo incondicional para lograr todas mis metas profesionales.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi *alma mater*, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, que en sus aulas se me brindó todos los conocimientos necesarios para forjarme en mi carrera, a través de la Facultad de Ciencias de la Salud y la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica.

A mi asesor, el Mg. Q.F. Aronés Jara, Marco Rolando asesor principal del presente trabajo de investigación quien estuvo presente en todo el proceso y me brindó con su experiencia laboral la asesoría necesaria para lograr completar este trabajo de investigación.

Al “Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos”, CEDACMEF y a todos aquellos profesores adjuntos que me brindaron su orientación y apoyo.

Y a quienes estuvieron presente y brindándome el apoyo necesario para lograr un paso más en mi carrera profesional.

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del estudio	3
2.2. Aspectos botánicos de <i>Berberis lutea</i> “tankar”	5
2.3. Aspectos botánicos de <i>Berberis flexuosa</i> “ayrampu”	6
2.4. Compuestos fenólicos	7
2.5. Flavonoides	8
2.6. Antocianinas	9
2.7. Estrés oxidativo	12
2.8. Capacidad antioxidante	12
2.9. Microencapsulación	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Ubicación	21
3.2. Población y muestra	21
3.3. Métodos instrumentales para la recolección de datos	21
3.4. Tipo y diseño de investigación	27
3.5. Análisis de datos	27
IV. RESULTADOS	29
V. DISCUSIÓN	35
VI. CONCLUSIONES	43
VII. RECOMENDACIONES	45
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
ANEXOS	53

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Importancia biológica de los radicales libres	13
Tabla 2. Mecanismo de algunos antioxidantes	14
Tabla 3. Clasificación de los métodos para evaluar la actividad antioxidante de acuerdo a las reacciones involucradas	15
Tabla 4. Algunos de los principales agentes encapsulantes	18
Tabla 5. Características fisicoquímicas del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género <i>Berberis</i> . Ayacucho, 2018.	31
Tabla 6. Contenido de antocianinas totales del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género <i>Berberis</i> . Ayacucho, 2018	33

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Clasificación de los compuestos fenólicos	8
Figura 2. Estructura básica de los flavonoides	8
Figura 3. Estructura química de algunos flavonoides	9
Figura 4. Estructura básica de las antocianinas	9
Figura 5. Transformación estructural de las antocianinas a diversos valores de pH	10
Figura 6. Mecanismo de acción para el mecanismo FRAP	15
Figura 7. Estructura del ABTS*+ antes y después de la reacción con el antioxidante	16
Figura 8. Estructura del DPPH* antes y después de la reacción con el antioxidante	17
Figura 9. Estructura química de la maltodextrina	18
Figura 10. Contenido de fenoles del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género <i>Berberis</i> , Ayacucho, 2018	32
Figura 11. Porcentaje de la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género <i>Berberis</i> . Ayacucho, 2018	34

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Certificado de la clasificación taxonómica de <i>Berberis lutea</i> “tankar”.	55
Anexo 2. Certificado de la clasificación taxonómica de <i>Berberis flexuosa</i> “ayrampu”.	56
Anexo 3. Flujograma del procedimiento experimental del extracto atomizado de las dos especies del género <i>Berberis</i> . Ayacucho, 2018	57
Anexo 4. Metodología para la cuantificación de antocianinas totales por el método de pH diferencial	58
Anexo 5. Protocolo para la determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género <i>Berberis</i> .	59
Anexo 6. Procedimiento para la obtención del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género <i>Berberis</i> . Ayacucho, 2018	60
Anexo 7. Procedimiento para la obtención de un polvo fino por medio del secado por aspersión, del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género <i>Berberis</i> . Ayacucho, 2018	61
Anexo 8. Cuantificación de fenoles totales del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género <i>Berberis</i> . Ayacucho, 2018	62
Anexo 9. Cuantificación del contenido total de antocianinas del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género <i>Berberis</i> . Ayacucho, 2018	63
Anexo 10. Determinación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género <i>Berberis</i> . Ayacucho, 2018	64
Anexo 11. Análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género <i>Berberis</i> . Ayacucho, 2018	65
Anexo 12. Comparaciones múltiples de Duncan de las medias de actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de los frutos de las especies del género <i>Berberis</i> . Ayacucho, 2018	66
Anexo 13. Matriz de consistencia	67

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de las Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF). El objetivo fue determinar el contenido total de antocianinas y la capacidad antioxidante en dos plantas del género *Berberis*. Los frutos fueron recolectados en el distrito de Vinchos, provincia de Huamanga en el departamento de Ayacucho. La cuantificación del contenido de antocianinas se determinó por el método de pH diferencial mientras que para medir la capacidad antioxidante se optó por el método de DPPH utilizando para ello al Trolox como estándar. La *Berberis flexuosa* "ayrampu" presenta un color guindo, olor sui géneris, sabor ácido y aspecto de polvo fino, mientras que la *Berberis lutea* "tankar" presenta un color guindo claro, olor sui géneris, sabor ácido y aspecto de polvo fino. El contenido de fenoles totales fue de 34,1 mg. EAG/g.EA en *Berberis flexuosa* "ayrampu" y 29,21 mg. EAG/g.EA en *Berberis lutea* "tankar". El contenido de las antocianinas fue de 13,25 mg/100 g de antocianina extraída en *Berberis flexuosa* y 4,73 mg/100 g de antocianina extraída en *Berberis lutea*. Finalmente se determinó la capacidad antioxidante del extracto atomizado de las dos plantas del género *Berberis* mediante el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo). Se concluye que el extracto atomizado de los frutos de las dos plantas del género *Berberis* presenta antocianinas con capacidad antioxidante.

**Palabras clave:** *Berberis flexuosa* "ayrampu", *Berberis lutea* "tankar", fenoles, antocianinas, capacidad antioxidante.

## I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha investigado frutos andinos, en función a sus propiedades alimenticias, medicinales y nutraceuticas; donde se han difundido resultados de altos componentes nutritivos y de alta capacidad antioxidante, el cual es de gran importancia para su ingesta y así mismo a la prevención de enfermedades congénitas, malformación celular, cardiovascular, entre otros y así coadyuvar a la tendencia de las industrias que se ocupan de promover la salud y la prevención de enfermedades.

Tal es el caso de las especies pertenecientes al género *Berberis*, cuyo fruto es una pequeña baya azul negruzca comestible alta en azúcares y vitaminas. Este género presenta alrededor de 600 especies distribuidas en el hemisferio norte y extendiéndose a través de los andes hasta la región Austral de Sudamérica, creciendo de manera silvestre, siendo el gran problema de su producción, el escaso conocimiento que existe hasta el momento.

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas que pertenecen a la familia de los flavonoides, el interés de estos pigmentos se ha incrementado en los últimos años, debido no solo al color que producen sino también a la reducción de problemas coronarios, cáncer, diabetes, sus efectos antiinflamatorios y antioxidantes.

Las principales fuentes de estas antocianinas son los frutos, en esta investigación tenemos a dos tipos de frutos, a la *Berberis lutea* "tankar" y a la *Berberis flexuosa* "ayrampu" que son originarias del Perú, estas crecen como plantas silvestres en zonas alto andinas exactamente en la provincia de Vinchos- Ayacucho.

La técnica utilizada para la cuantificación de antocianinas fue por el método de pH diferencial, que permite la estimación alternativa del contenido de antocianinas, incluso en la presencia de pigmentos polimerizados y otras interferencias mediante el empleo de un agente tampón y la medición por

espectroscopia UV-Vis. La medición de la capacidad antioxidante se realizó mediante las técnicas de DPPH (2,2 difenil -1- picrilhidracilo), utilizando para ello el reactivo de patrón Trolox (ácido-6-hidroxil-2,5,7,8,-tetrametilcroman-2-carboxílico).

El presente trabajo de investigación cuenta con estudios previos a cerca de las diferentes especies de este género, así que los resultados obtenidos serán plasmados en el siguiente informe, de acuerdo a un estudio minucioso de técnicas y procedimientos en base a principales objetivos.

### **Objetivo general**

Determinar el contenido total de antocianinas y la capacidad antioxidante de las dos especies del género *Berberis*.

### **Objetivos específicos**

- Determinar el contenido total de antocianinas presentes en el extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis*.
- Determinar la capacidad antioxidante del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis*.
- Determinar las características fisicoquímicas del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis*.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes del estudio

Hasta el momento se ha encontrado estudios previos realizados a cerca de algunas de sus más de 600 especies y las metodologías utilizadas hasta el momento.

Del Carpio *et al*<sup>1</sup>., realizó una investigación cuyo título es “Evaluación de las antocianinas presentes en los frutos de *Berberis boliviana* Lechler” en el año 2009; donde se estudiaron las antocianinas en los frutos de la *Berberis boliviana*, el análisis preliminar del pigmento se determinó por el método de pH diferencial. El análisis de HPLC-PDA de la muestra hidrolizada mostró la presencia de 5 aglicones: delfinidina, cianidina, petunidina, y malvidina, las cuales fueron identificadas por comparación de los picos del cromatograma obtenido del correr simultáneamente una muestra de pigmento de los frutos. El análisis por HPLC-Espectrofotometría de masas Tandem, confirmó la presencia de 10 picos y los pesos moleculares permitieron conocer las antocianinas presentes en *Berberis boliviana*, las cuales fueron la delfinidina-3-glucósido, delfinidina-3-rutinósido, cianidina-3-glucósido, cianidina-3-rutinósido, petunidina-3-glucósido, petunidina-3-rutinósido, peonidina-3-glucósido, peonidina-3-rutinósido.

Aranibar<sup>2</sup>, realizó una investigación cuyo título es “Estudio de la actividad antioxidante del zumo del fruto de tankar (*Berberis boliviana* L.), en diferentes condiciones de almacenado”, en el año 2014, donde se estudió al fruto del tankar (*Berberis boliviana* L.), al cual se le realizó un análisis fisicoquímico, estudio de la actividad antioxidante del zumo del fruto fresco de tankar (*Berberis boliviana* L.), dando como resultado  $15,573 \pm 0,214$  ~molTE/g. Finalmente se realizó el estudio de la actividad antioxidante del zumo del fruto de tankar (*Berberis boliviana* L.) almacenado en diferentes condiciones de tiempo y temperatura. Las condiciones de almacenado en cuanto al tiempo fueron 1 y 2

meses, y en cuanto a la temperatura fueron en refrigeración a 1°C y congelación a -10°C.

Se hizo el análisis de varianza (ANOVA) y se pudo comprobar que los dos parámetros en estudio son estadísticamente no significativos sobre el tiempo y temperatura de almacenamiento del zumo del fruto de tankar (*Berberis boliviana* L.) con un 95.0% de confiabilidad, este resultado es muy bueno ya que nos permite saber que en los tiempos y temperaturas almacenadas el zumo del fruto en estudio no varía su actividad antioxidante significativamente.

Aranibar<sup>3</sup>, realizó una investigación cuyo título es “Extracción de antocianinas a partir del fruto de tankar (*Berberis boliviana* L.) y determinación del contenido por el método del pH diferencial, en el año 2013, donde se realizó la extracción de antocianinas a partir del fruto de “tankar” (*Berberis boliviana* L.), para ello se planteó tres parámetros tecnológicos como son tiempo, pH y temperatura; y se determinó el contenido del pigmento en estudio por el método del pH diferencial, obteniendo como resultado un contenido máximo de  $1234,38 \pm 4,59$  mg/100 g de antocianinas en base húmeda, y se pudo comprobar que los tres parámetros en estudio son estadísticamente significativos sobre la cantidad de antocianinas del fruto de “tankar” con un 95% de confiabilidad, también se realizó la prueba múltiple de rangos mediante el TUKEY. Concluyendo que los parámetros tecnológicos (tiempo, pH y temperatura) adecuados para la extracción de las antocianinas a partir del fruto de “tankar” (*Berberis boliviana* L.) son para un tiempo de 24 horas, pH 4 y temperatura de 20°C.

Aroni<sup>4</sup>, realizó una investigación cuyo título es “Evaluación de la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schltld “capachu”, *Berberis cummutata* Eichler “huancachu”, *Berberis humbertiana* J.F. Macb “cheqche” y *Vaccinium floribundum* Kunth “alaybilí” frente al pH y temperatura” en el año 2013, donde se evaluó la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos de “capachu”, “huancachu”, “cheqche” y “alaybilí” frente al pH y temperatura, donde se utilizó la metodología de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), también se cuantificó las antocianinas totales mediante el método del pH diferencial. Se obtuvo resultados después de la evaluación de la estabilidad de las antocianinas donde se encontró menor variación y mejor estabilidad en el fruto “capachu”, a una temperatura de 20°C y pH de 3, para “huancachu” y “alaybilí” se identificó solo una antocianidina, cianidina, finalmente se cuantificó el contenido total de antocianinas de “capachu” (2026,201 mg/100

g), “huancachu” (1271,809 mg/100 g), “cheqche” (2306,297 mg/100 g) y “alaybili” (319,170 mg/100 g).

Esquivel *et al*<sup>5</sup>, realizaron un estudio cuyo título es “Microencapsulación mediante secado por aspersion de compuestos bioactivos” en el año 2015; donde se estudió a la microencapsulación, sus ventajas y desventajas, entre sus principales ventajas encontraron, enmascarar sabores y olores desagradables de los productos encapsulados, proteger los compuestos bioactivos de la oxidación y de reacciones indeseables, así como de condiciones adversas a la luz, calor y gases, además de alargar su vida útil. También se estudió al secado por aspersion como un proceso ampliamente utilizado en la industria de alimentos debido a las ventajas que presenta, especialmente cuando se desea proteger aquellos compuestos que presentan una actividad antioxidante y que se encuentran dentro de una matriz alimentaria y a cada uno de los procesos que involucra.

Cosavalente<sup>6</sup>, realizó una investigación cuyo título es “Antocianinas totales y capacidad antioxidante in vitro de extractos de diferente grado etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* “Arándano” en el año 2016; donde se analizó la relación que existe entre el contenido de antocianinas totales y la capacidad antioxidante in vitro de extractos de diferente grado etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosun* “Arándano”, la metodología para la cuantificación de antocianinas totales fue el método de pH diferencial con lectura espectrofotométrica a 520 nm y para la valoración de la capacidad antioxidante una solución molar de 0,1 mM del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), la cual se enfrentó a 100 µL de cada uno de los extractos siendo la longitud de onda de 517 nm.

## **2.2. Aspectos botánicos de *Berberis lutea* “tankar”**

### **2.2.1. Clasificación sistemática**

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	: MAGNOLIIDAE
ORDEN	: RANUNCUNALES
FAMILIA	: BERBERIDACEAE
GÉNERO	: BERBERIS
ESPECIE	: <i>Berberis lutea</i>
NOMBRE VULGAR	: “tankar”

Fuente: Certificado emitido por el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. UNMSM (ANEXO 01)

### 2.2.2. Descripción botánica

Arbusto de 50-70 cm de altura, ramificado desde la base, densamente espinoso y enmarañado, formando una copa irregular de ramas rígidas; es distinguible por sus hojas espinosas, espinas tridentadas y flores pequeñas.<sup>7</sup>

Hojas simples, en fascículos alternos, de 7-15 mm de longitud y 3-5 mm de ancho, con borde entero, el ápice terminado en 1-3 espinas de 1 mm de longitud, en la base de los fascículos hay espinas tridentadas, de 8-10 mm de longitud. Inflorescencias en fascículos o en pequeños racimos axilares de 3-8 flores, frutos tipo drupa de 2,8-5 mm de diámetro, color azul negruzco o violáceo, con una semilla.<sup>7</sup>

### 2.2.3. Distribución geográfica

En Perú, todo el ámbito andino, entre los 2500-4860 msnm<sup>7</sup>. Habita quebradas boscosas, laderas rocosas, pendientes escabrosas, matorrales, laderas secas, cerca de carreteras, caminos, y corrientes de agua.<sup>7</sup>

### 2.2.4. Usos tradicionales

Los frutos son alimenticios, empleados para preparar mermeladas, y dar color a las bebidas.

Se emplea como medicina; toda la planta es usada en infusión para tratar hemorragias, males nerviosos, anemia y fiebre, entre otros.<sup>7</sup>

### 2.2.5. Composición química

El género *Berberis* contiene principalmente compuestos de tipo isoquinolina, lignano y flavonoide. Su composición química característica muestra alcaloides derivados de la L-tirosina, siendo la berberina el compuesto más representativo de los alcaloides de tipo isoquinolínico presentes en esta familia.

## 2.3. Aspectos botánicos de *Berberis flexuosa* “ayrampu”

### 2.3.1. Clasificación taxonómica

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	MAGNOLIIDAE
ORDEN	:	RANUNCUNALES
FAMILIA	:	BERBERIDACEAE
GÉNERO	:	BERBERIS
ESPECIE	:	<i>Berberis flexuosa</i> .
NOMBRE VULGAR	:	“ayrampu”

Fuente: Certificado emitido por el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos UNMSM. (ANEXO 02).

### **2.3.2. Descripción botánica**

Es una planta herbácea perenne a veces semi arbustiva, propio de zonas frías, posee hojas ovaladas de color verde intenso los cuales sirven como forraje para los animales los cuales varían entre 3 a 5 cm.<sup>8</sup>

Sus tallos son pequeños trozos de madera que sirve también de combustible en las zonas altas varían entre 3 a 10 cm, cuya principal función es la de sintetizar alimentos, las flores son bisexuales, homoclamídeas, actinomorfas y nacen de los tallos, sus frutos son unas bayas carnosas con 2 a más semillas que contienen abundante colorante del grupo de las antocianinas, cuando maduran se vuelven de color vinoso o rojizo y son muy jugosos de sabor ligeramente dulces.<sup>8</sup>

### **2.3.3. Usos tradicionales**

Las semillas, raíces, hojas y tallos se utilizan para prevenir y curar enfermedades, emplastos en inflamaciones, afecciones renales, estomacales, afecciones del corazón, heridas, cicatrices, combate la anemia, escorbuto, ardor en el vientre, manos y pies, etc.<sup>8</sup>

## **2.4. Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas y son cruciales para muchos de los aspectos importantes de la vida funcional de la planta, contribuyen al sabor, color, astringencia y amargor de frutas y verduras. Estos incluyen funciones estructurales en los diferentes tejidos de soporte o de protección, la participación en las estrategias de defensa y las propiedades de señalización especial existente en las interacciones entre las plantas y su medio ambiente.<sup>9</sup>

### **2.4.1. Estructura de los compuestos fenólicos**

Químicamente los compuestos fenólicos son sustancias que poseen un anillo aromático, con uno o más grupos hidroxilo incluyendo derivados funcionales (ésteres, metilésteres, glicósidos, etc.). La naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos. Se presentan en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque en algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático.<sup>10</sup>

## 2.4.2. 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:

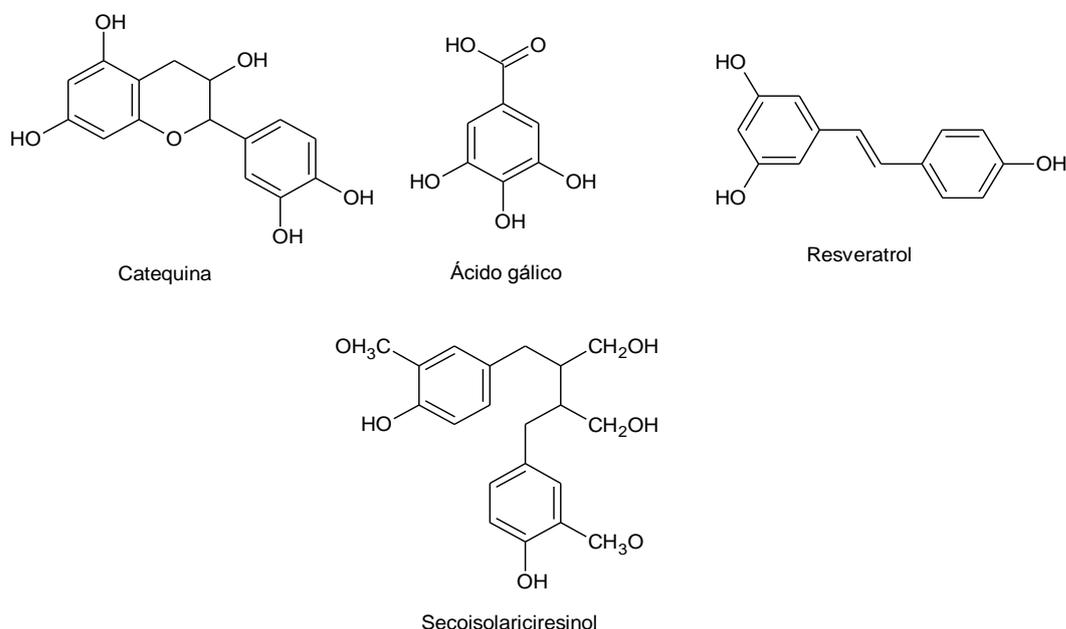


Figura 1. Clasificación de los compuestos fenólicos<sup>10</sup>

## 2.5. Flavonoides

Su estructura básica corresponde al difenilpropano ( $C_6-C_3-C_6$ ) que consta de dos grupos fenilo (A y B) unidos por un puente de tres carbonos que forma un anillo heterocíclico oxigenado anillo C.<sup>11</sup>

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos UV, sustancias químicas presentes en los alimentos. Los flavonoides retiran el oxígeno reactivo especialmente en aniones superóxidos, radicales hidroxilos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos.<sup>12</sup>

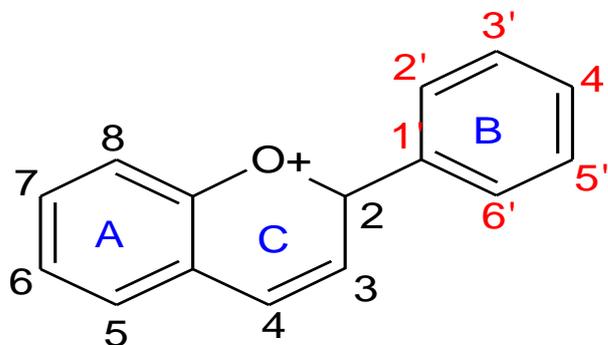
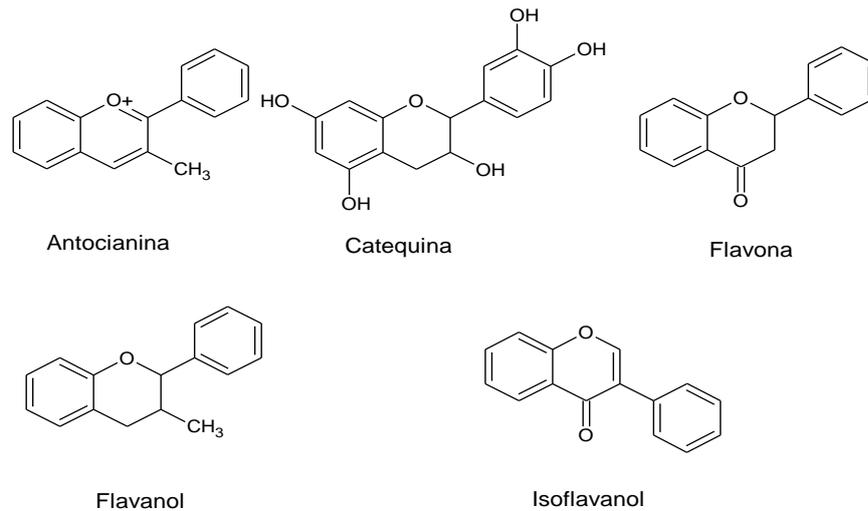


Figura 2. Estructura básica de los flavonoides<sup>10</sup>



**Figura 3.** Estructura química de algunos flavonoides<sup>10</sup>

## 2.6. Antocianinas

La palabra antocianina deriva del griego anthos (flor) y kyanos (azul oscuro), las antocianinas son las responsables de los colores rojos, azulados o violetas de la mayoría de las frutas y flores, es el pigmento más importante después de la clorofila, que se encuentran acumulados en la vacuola celular<sup>11</sup>.

Las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas perteneciente a la familia de los flavonoides, compuestos por dos anillos aromáticos A y B.

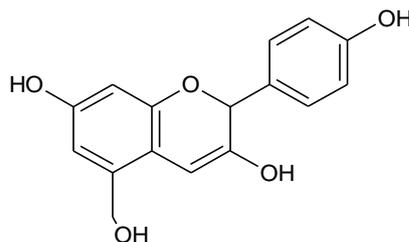
### 2.6.1. Distribución

Las antocianinas están presentes en diferentes órganos de las plantas tales como frutas, flores, hojas y raíces. Estos pigmentos son normalmente encontrados disueltos uniformemente en la solución vacuolar de células epidérmicas. Sin embargo, en ciertas especies las antocianinas son localizadas en regiones discretas de la vacuola celular llamadas antocianoplastos.<sup>13</sup>

La principal fuente de antocianinas son frutas rojas, principalmente bayas y uvas rojas, maíz morado, vegetales y vino rojo entre otras bebidas.<sup>13</sup>

### 2.6.2. Estructura química

La estructura química de las antocianinas consiste en un grupo flavilio formado por un anillo de benzopirano unido a un anillo fenólico.<sup>14</sup>



**Figura 4.** Estructura básica de las antocianinas<sup>14</sup>

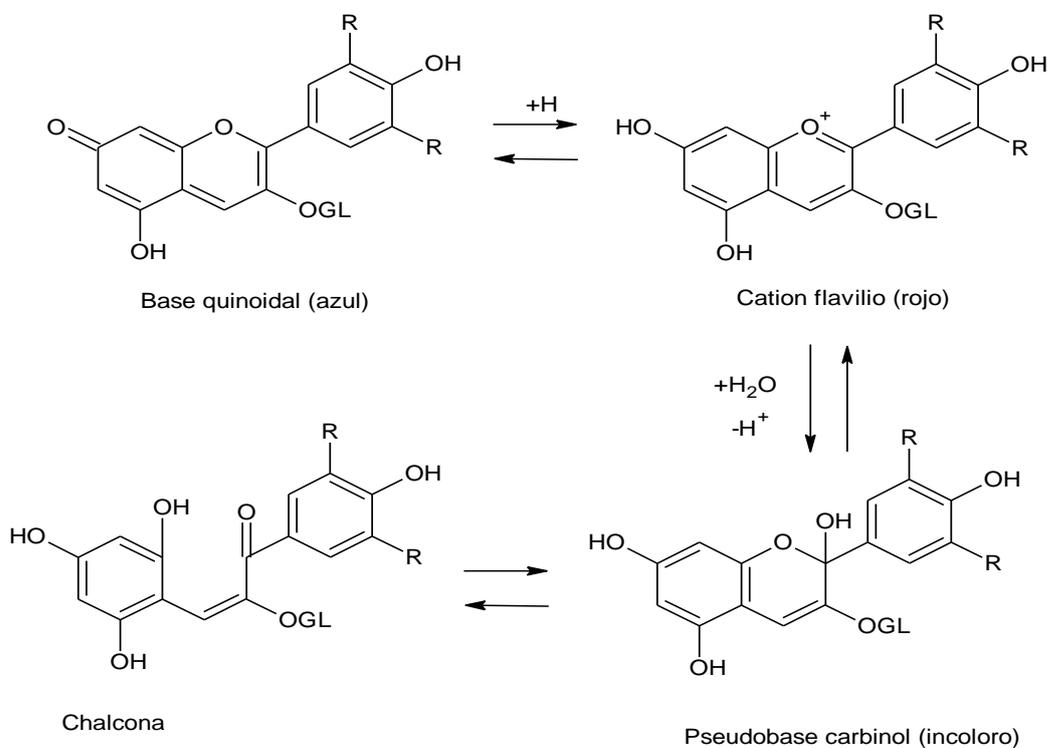
### 2.6.3. Clasificación

- Delfinidina (Df)
- Cianidina (Cy)
- Petunidina (Pt).
- Pelargonidina (Pg)
- Peonina (Pn)
- Malvidina (Mv)<sup>14</sup>

### 2.6.4. Factores que la 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:** Se puede decir que las antocianinas actúan como indicadores ácido base puesto que el color resultante está en función de la estructura que se encuentra en mayor proporción a determinados pH. A pH muy bajos se forma el catión flavilio (rojo), a medida que se incrementa el pH se forma la base quinoidal (anhidra) del color azul, en un medio alcalino aparece el carbinol incoloro. En condiciones básicas fuertes (pH 7) se produce daño irreversible en el pigmento de la aparición de una chalcona de color pálido amarillo.<sup>14</sup>



**Figura 5.** Transformación estructural de las antocianinas a diversos valores de pH<sup>14</sup>

- b) Efectos de la temperatura:** Es otro de los factores críticos que influyen en la degradación de antocianinas. Las conversiones estructurales de las antocianinas son reacciones endotérmicas. Resisten bien procesos térmicos y altas temperaturas durante cortos periodos de tiempo. Por efecto del calor a temperaturas por encima de los 60°C, se degradan según una cinética de primer orden. En general las características estructurales que conducen a una mayor estabilidad al pH son las mismas que conducen a una mayor estabilidad térmica.<sup>14</sup>
- c) Efectos del oxígeno:** Las antocianinas son rápidamente oxidadas y degradadas cuando se encuentran principalmente en su forma quinoidal y la remoción de oxígeno protege contra la degradación térmica.<sup>10</sup>
- d) Efectos del ácido ascórbico:** Se ha observado que en presencia de oxígeno, el ácido ascórbico destruye a las antocianinas, ya que forma peróxido de hidrógeno durante la oxidación del mismo; esta reacción se acelera en presencia de cobre y es inhibida en presencia de flavonoles como la quercitina. El peróxido de hidrógeno actúa rompiendo el anillo de pirilio de la antocianina por un ataque nucleofílico en el C<sub>2</sub> produciendo ésteres incoloros.<sup>15</sup>
- e) Efecto de la luz:** Se acepta generalmente, que la luz acelera la degradación de las antocianinas. Este efecto adverso se ha demostrado en diferentes zumos de frutas y el vino tinto. Los sulfonatos de las flavonas polihidroxiladas, las isoflavonas y las auronas ejercen un efecto protector contra la foto degradación. El efecto protector es atribuible a la formación de interacciones y el ión flavilio cargado positivamente.<sup>15</sup>
- f) Efecto de los azúcares:** Los azúcares en altas concentraciones, como ocurre en las conservas de frutas, estabilizan las antocianinas. Este efecto se cree que es debido a la disminución de la actividad de agua. Cuando los azúcares están presentes en condiciones lo suficientemente bajas como para tener poco efecto sobre la actividad del agua, ellos o sus productos de degradación pueden acelerar la degradación de las antocianinas.<sup>15</sup>
- g) Efecto de las enzimas:** Se han identificado dos grupos de enzimas implicadas en la decoloración de las antocianinas: glicosidasa y polifenoloxidasa, en conjunto se les conoce como antocianinasas. Las glicosidasas hidrolizan los enlaces glicosídicos, dando el azúcar o azúcares y la aglicona. La pérdida de intensidad de color se debe al descenso de la

solubilidad de las antocianidinas y su transformación en productos incoloros. Las polifenoxidasas actúan en presencia de o-difenol a o-benzoquinona, que a su vez reacciona con las antocianinas por un mecanismo no enzimático para formar antocianinas oxidasas y productos de degradación.<sup>15</sup>

## **2.7. Estrés oxidativo**

Es una situación bioquímica que se caracteriza por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno (radicales libres y los peróxidos) y la capacidad de un sistema biológico de decodificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante, el estrés oxidativo se presenta en diversos estados patológicos en los cuales se altera la funcionalidad celular, contribuyendo o retroalimentando el desarrollo de enfermedades degenerativas como la aterosclerosis, cardiomiopatías, enfermedades neurológicas y cáncer.<sup>16</sup>

## **2.8. Capacidad antioxidante**

La capacidad antioxidante en los alimentos depende de muchos factores, incluyendo las propiedades de los sustratos, las condiciones y etapas de la oxidación y a la localización de los antioxidantes en diferentes fases, hidrofílica o lipofílica.<sup>17</sup>

### **2.8.1. Radicales libres**

Radical libre es cualquier especie química capaz de existir de forma independiente y que presenta uno o más electrones desapareados en su estructura. Como consecuencia, son altamente reactivos lo que hace que tengan una vida media del orden de milisegundos, aunque varía según el tipo de radical libre.

Químicamente los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre, por lo que son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que este a su alrededor, provocando un gran daño a moléculas, membranas celulares y tejidos.<sup>17</sup>

### **2.8.2. Importancia biológica de los radicales libres**

Los radicales libres también son conocidos como especies reactivas oxigénicas o del oxígeno (ERO) y especies reactivas del nitrógeno (ERN).<sup>17</sup>

Una gran variedad de procesos metabólicos deriva de la producción de radicales libres y compuestos reactivos de oxígeno. En la siguiente tabla se presenta la importancia biológica de algunos radicales libres.

**Tabla 1.** Importancia biológica de los radicales libres<sup>11</sup>

Moléculas radicales	Fórmula	Moléculas no radicales	Fórmula
<b>Ion superóxido</b>	O <sub>2</sub> •	Peróxido de hidrogeno	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
<b>Radical de hidroxilo</b>	OH•	Oxígeno singulete	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>
<b>Radical alcoxilo</b>	RO•	Peroxinitrito	ONOO <sup>-</sup>
<b>Radical de peróxilo</b>	ROO•		
<b>Óxido de nitrógeno</b>	NO•		

### 2.8.3. Antioxidantes

Un antioxidante es definido como cualquier sustancia que cuando está presente en bajas concentraciones comparado con el sustrato oxidable, reduce o previene significativamente la oxidación de este sustrato.

Se caracterizan por ser muy heterogéneos, pueden ser hidrosolubles y liposolubles, localizarse intra y extracelularmente, y proceder de diferentes fuentes ya que algunos son nutrientes o proceden de éstos y otros son productos del metabolismo.<sup>18</sup>

Los antioxidantes pueden actuar:

- Previniendo la formación de las sustancias reactivas de oxígeno (ERO).
- Interceptando el ataque de ERO.
- Secuestrando los metabolitos reactivos y convirtiéndolos en moléculas menos reactivas.
- Facilitando la reparación del daño causado por las ERO.
- Manteniendo un ambiente favorable para la actuación de otros antioxidantes.
- Amplificando la resistencia de las dianas biológicas sensibles al ataque de las ERO.<sup>18</sup>

### 2.8.4. Clasificación de los antioxidantes

Según el modo de acción, los antioxidantes se clasifican en primarios, secundarios o terciarios:

- **Primarios:** Impiden la formación de radicales libres, frenan la reacción en cadena de los radicales libres, especialmente de las especies reactivas del oxígeno. Se comportan como captadores de ERO.
- **Secundarios:** Interrumpen la reacción de propagación de los radicales libres o desplazan las especies reactivas del oxígeno (ácido ascórbico, carotenoides, glutatión y la mayoría de las enzimas antioxidantes).
- **Terciarios:** Reparar el daño causado a las moléculas por los radicales libres o eliminan aquéllas que se han estropeado.

Son numerosos los estudios que han mostrado que los polifenoles poseen propiedades antioxidantes, captando radicales libres.<sup>19</sup>

Según su mecanismo de acción los antioxidantes se pueden dividir en los siguientes grupos.<sup>20</sup>

**Tabla 2.** Mecanismo de algunos antioxidantes

Tipo de antioxidante	Mecanismo de acción	Ejemplos
<b>Los antioxidantes que rompen la cadena por reacción con radicales peroxilo</b>	Estos son compuestos reductores con relativamente enlaces O-H y enlaces N-H débiles que reaccionan fácilmente con los radicales peroxilo para la formación de radicales intermedios de baja actividad.	Fenoles Naftoles Hidroquinonas Aminofenoles Diaminas
<b>Los antioxidantes que rompen las cadenas por reacción con radicales alquilo</b>	Estos son los compuestos que aceptan fácilmente los radicales alquilo. Estos antioxidantes son e eficaces en concentraciones muy bajas de di-oxígeno y en polímeros	Quinonas Nitronas Radicales estables Nitroxilo Óxidos
<b>Antioxidantes que desactivan metales</b>	Ligando compuestos metálicos a compuestos inactivos.	hidroperóxidos Diaminas Hidroxíidos
<b>Cadena cíclica, terminación por los antioxidantes</b>	En otras palabras, la terminación de la cadena se produce como un proceso cíclico catalítico (los antioxidantes se regeneran en las reacciones de terminación de la cadena). La terminación de la cadena múltiple puede tener lugar, por ejemplo, en los polímeros.	Aminas aromáticas, los radicales nitroxilo, y compuestos que poseen metales de valencia variable.
<b>Los inhibidores de la acción combinada</b>	Algunos antioxidantes pueden interactuar con los radicales R* y RO <sub>2</sub> *. Sin embargo una molécula de inhibidor puede tener dos o más grupos funcionales, cada uno de los que puede someterse a su propia reacción.	Antraceno Metilenequinona Carbonatos Tiofosfatos
<b>Sinergismo de varios antioxidantes</b>	Cuando dos inhibidores mutuamente mejoran sus efectos inhibitorios, es una acción sinérgica.	Ácido cítrico Ácido ascórbico

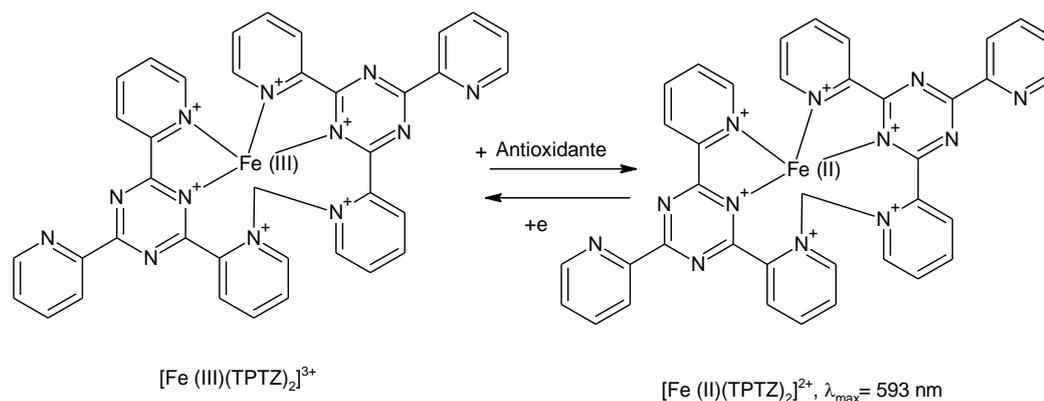
## 2.8.5. Métodos para la determinación de capacidad antioxidante

**Tabla 3.** Clasificación de los métodos para evaluar la actividad antioxidante de acuerdo a las reacciones involucradas<sup>21</sup>

Mecanismo	Método
Transferencia de hidrogeno	<b>TRAP</b> (del ingles Total Radical Trapping Antioxidant Parameter).
	<b>ORAC</b> (del inglés Oxygen Radical Absorbance Capacity). Inhibición de la oxidación de las LDL (Low Density Lipoprotein).
	<b>TEAC</b> (del ingles Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).
Transferencia de un electrón	<b>ABTS</b> (acido 2,2 azinobis (6-sulfonato-3-etilbenzotiazolina)).
	<b>FRAP</b> (del ingles Ferric-Reducing Antioxidant Power)
	<b>DPPH</b> (2, 2-difenil-1-picrilhidracilo).

## 2.8.6. Método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant of Power)

Es un potente antioxidante de radicales libres a menudo actúa como un potente agente reductor tal es el caso del principio del método FRAP. El ensayo FRAP, se presenta como un método que evalúa la reducción del ión férrico a ferroso, a pH bajo, provocando la formación de un complejo coloreado ferroso-tripirydyltriazine (FeII-TPTZ) a partir del complejo férrico-tripirydyltriazine (FeIII-TPTZ), formando un color azul intenso con un máximo de absorción a 593 nm.<sup>21</sup> Las condiciones del ensayo favorecen la reducción del complejo y, por lo tanto, el desarrollo de color, siempre que un agente reductor (antioxidante) esté presente.



**Figura 6.** Mecanismo de acción para el mecanismo FRAP<sup>21</sup>

## 2.8.7. ORAC (Capacidad de absorbancia del radical oxígeno)

Consiste en la cuantificación de la capacidad antioxidante mediante la inhibición del ataque radicalario a la fluorescencia por parte del radical (AAPH) 2,2'-azobis-2-methyl-propanimidariide, dihydrochloride.<sup>22</sup>

### 2.8.8. ABTS<sup>•+</sup> (Radical catiónico ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)

Se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS<sup>•+</sup>, debido a la interacción con donantes de hidrogeno o de electrones. El radical catiónico ABTS<sup>•+</sup> es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda a 734 nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS<sup>•+</sup>(2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) con persulfato de amonio.

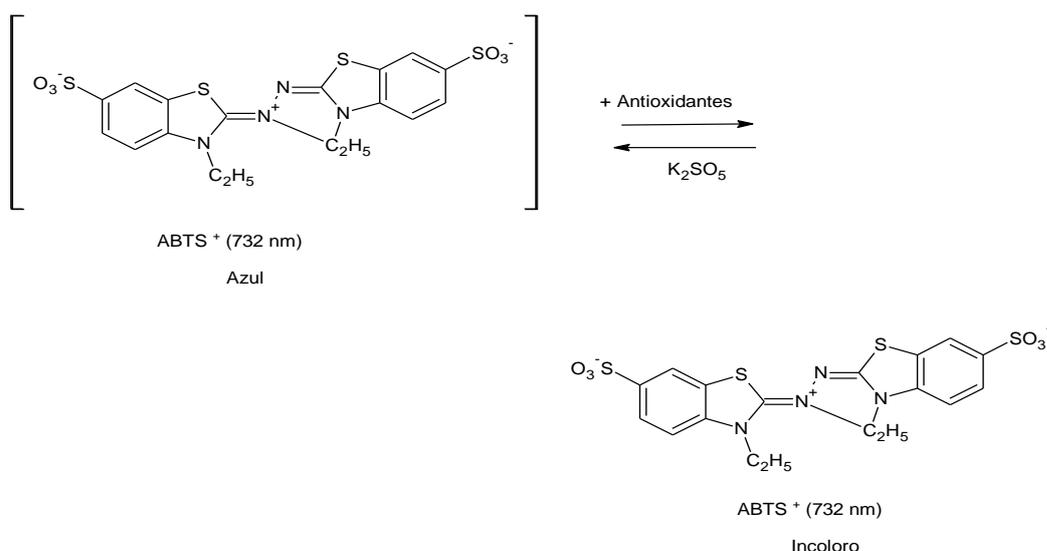
La generación del radical ABTS<sup>•+</sup> constituye una de las base de los métodos espectrométricos que han sido aplicados para medir la actividad antioxidante total de soluciones o sustancias puras y mezclas acuosas. El ensayo consiste en la decoloración, en la cual el radical es generado directamente en una forma estable antes de la reacción con los antioxidantes.<sup>19</sup>



$$\lambda_{Max} = 754 \text{ nm}$$



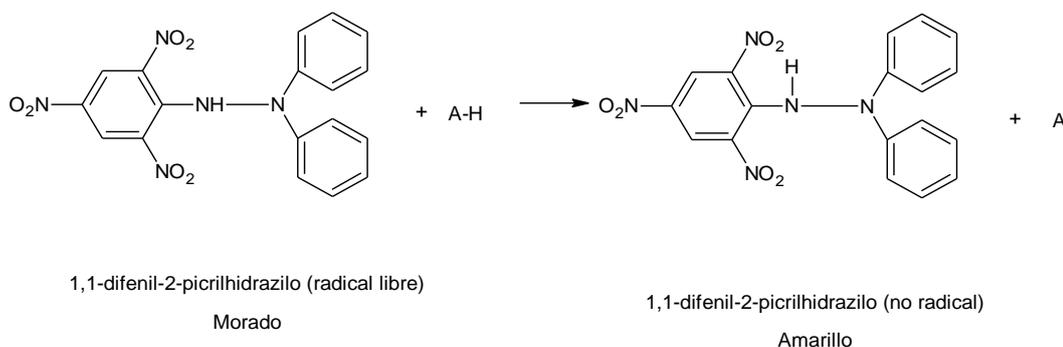
La técnica mejorada para la generación del radical catión ABTS<sup>•+</sup> implica la producción directa del cromóforo ABTS<sup>•+</sup> verde-azul a través de la reacción entre ABTS y el persulfato de potasio ( $K_2S_2O_8$ ). Este presenta un máximo de absorción a longitudes de onda de 645 nm, 734 nm y 815 nm. La adición de los antioxidantes al radical preformado lo reduce a ABTS. De esta manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical catión ABTS<sup>•+</sup>, está determinado en función de la concentración y el tiempo, así como del valor correspondiente usando el Trolox como estándar.<sup>22</sup>



**Figura 7.** Estructura del ABTS<sup>•+</sup> antes y después de la reacción con el antioxidante<sup>23</sup>

### 2.8.9. DPPH (Radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo)

Este método fue propuesto por Blois (1958) en el cual se demostró por primera vez la capacidad del radical libre DPPH\* para aceptar un átomo de hidrogeno (H+) proveniente de una molécula de cisteína. La molécula 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) es conocida como un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres. La deslocalización del electrón también se intensifica al color violeta intenso típico del radical, el cual absorbe el metanol a 517 nm. Cuando la solución DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que pueden donar un átomo de hidrogeno, el color violeta intenso que se observa se desvanece. El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado en la determinación de los parámetros para las propiedades antioxidantes.<sup>19</sup>



**Figura 8.** Estructura del DPPH\* antes y después de la reacción con el antioxidante<sup>24</sup>

### 2.9. Microencapsulación

La microencapsulación de compuestos de actividad biológica (ADN, fármacos, proteínas, probióticos, enzimas, etc.) desde el punto de vista tecnológico, podría definirse como el proceso de recubrimiento de dichos compuestos, bajo la forma de moléculas, partículas sólidas o glóbulos líquidos, con materiales de distinta naturaleza, para dar lugar a partículas de tamaño micrométrico. El producto resultante de este proceso tecnológico recibe la denominación de “microesfera” o “microcápsula”, dependiendo de cuál sea su morfología y estructura interna.<sup>25</sup>

#### 2.9.1. Ventajas de la microencapsulación

Las microencapsulación posee ventajas como:

- Protege al agente activo de la degradación que pueden causar factores externos como (calor, aire, luz, humedad).
- Las características físicas del material original pueden ser modificadas para facilitar su manejo.

- Se puede enmascarar el sabor del material original.
- Ayuda a separar distintos componentes, con el fin de que no se mezclen o que estos no reaccionen entre sí.
- Se pueden diluir cantidades pequeñas del contenido del núcleo, y aun así lograr una dispersión uniforme en el solvente.<sup>25</sup>

### 2.9.2. Agentes encapsulantes

El agente encapsulante está diseñado para proteger al material contenido en el núcleo de factores externos que pueden causar su deterioro, evitar la interacción prematura entre el material del núcleo con otros ingredientes, evitar pérdidas por volatilidad, y permitir la liberación controlada y sostenida. Los más utilizados en la industria de alimentos son:

**Tabla 4.** Algunos de los principales agentes encapsulantes<sup>25</sup>

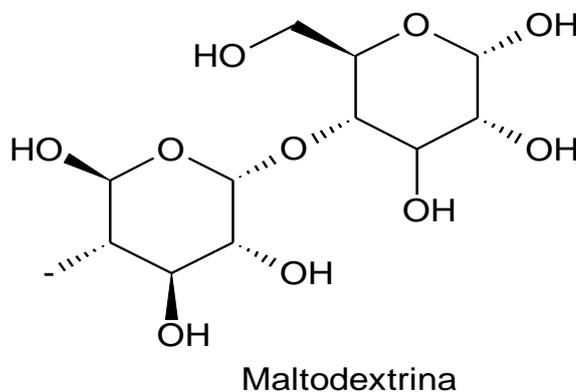
Productos	Ejemplos
<b>Gomas naturales</b>	Goma arábiga, alginatos, carragenanos, etc.
<b>Proteínas</b>	Proteínas lácteas, proteínas de soya, gelatina, etc.
<b>Carbohidratos</b>	Maltodextrinas y derivados de la celulosa).
<b>Lípidos</b>	Ceras, emulsionantes.

### 2.9.3. Maltodextrina

La maltodextrina se ha denominado como EC 232-940-4, son productos obtenidos por la hidrólisis del almidón y usualmente clasificadas de acuerdo con su equivalencia de dextrosa, la cual determina su capacidad reductora y ha sido considerada inversamente a su peso molecular promedio.<sup>27</sup>

#### 2.9.3.1. Estructura de la maltodextrina

La estructura de la maltodextrina está conformada por unidades de glucosa unidos por puentes glucosídicos (1 y 4) con una longitud de cadena de 5 a 10 unidades de glucosa por molécula.<sup>26</sup>



**Figura 9.** Estructura química de la maltodextrina<sup>27</sup>

### **2.9.3.2. Propiedades de la maltodextrina**

La maltodextrina es utilizada principalmente en materiales que presentan dificultades para su deshidratación, tales como jugo de frutas, condimentos y endulzantes, ya que reducen los problemas de adherencia y aglomeración durante el almacenamiento, mejorando así la estabilidad del producto.<sup>29</sup>

### **2.9.4. Secado por atomización**

El secado por atomización o secado en spray es una operación de transferencia simultánea de calor y masa. La atomización se define también como la transformación de un alimento desde un estado líquido a un estado seco en forma de partícula. El alimento puede ser de igual manera una suspensión, resultando como producto final un polvo, un aglomerado o gránulos.<sup>28</sup>

### **2.9.5. Las principales ventajas de la atomización por *spray-drying***

- Los alimentos sensibles al calor, los productos biológicos, y los productos farmacéuticos se pueden secar a presión atmosférica y a bajas temperaturas. A veces, se emplea la atmósfera inerte.
- El secado por atomización permite la producción de grandes cantidades de sólido deshidratado en la operación continua y con un equipo relativamente simple.
- Produce partículas relativamente uniformes, esféricas y con casi la misma proporción de compuestos que en la alimentación líquida.<sup>29</sup>



### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Ubicación**

El presente trabajo de investigación, se llevó a cabo en el Centro de Desarrollo Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

#### **3.2. Población y muestra**

##### **3.2.1. Población**

Frutos frescos de las dos plantas del género *Berberis*, *Berberis lutea* “tankar” y la *Berberis flexuosa* “ayrampu”, que crece en las zonas altoandinas en el distrito de Vinchos, provincia de Huamanga en el departamento de Ayacucho.

##### **3.2.2. Criterios de inclusión y exclusión**

Se tomó en consideración a los frutos de las dos plantas del género *Berberis*, que estén en un buen estado de conservación excluyendo a aquellas que estén en un mal estado con traumas y lesiones.

##### **3.2.3. Muestra**

- Frutos secos de *Berberis lutea* “tankar” 23,5034 g.
- Frutos secos de *Berberis flexuosa* “ayrampu” 23,5097 g.

##### **3.2.4. Unidad de análisis**

Extracto atomizado del fruto de las dos plantas del género *Berberis*.

##### **3.2.5. Sistema de muestreo**

Libre por conveniencia.

#### **3.3. Métodos instrumentales para la recolección de datos**

##### **3.3.1. Recolección y preparación de la muestra**

Se recolectaron al azar las dos plantas del género *Berberis* en horas de la mañana para luego separar los frutos de las plantas.

Estos frutos fueron lavados con agua limpia y secados a temperatura ambiente, en un lugar con buena ventilación, cambiando el papel de soporte y removiendo los frutos para evitar su descomposición, por un periodo de 14 días. Luego se seleccionaron los frutos más adecuados para proceder a su molienda.<sup>30</sup>

### **3.3.2. Obtención del extracto atomizado de los frutos de las dos plantas del género *Berberis***

Se seleccionó los frutos de las dos plantas del género *Berberis*, tomando en cuenta en cuenta que no tuviera traumas ni lesiones.

Una cantidad de 23,5034 g de *Berberis lutea* “tankar” y 23,5097 g de *Berberis flexuosa* “ayrampu” de muestra, se sometieron a maceración en 300 mL de etanol 70°C acidulado con ácido clorhídrico a un pH 3,18 se agitó durante 30 minutos, para luego macerarlo durante 24 horas a temperatura ambiente fuera de la luz. Transcurrido este tiempo se homogenizó nuevamente y se filtró al vacío, el sobrenadante se concentró en un rotavapor a 60°C.

Se microencapsularon las muestras con la ayuda de un agente encapsulante en este caso la maltodextrina, se pesó 1g de maltodextrina para 50 mL de muestra, y se le adicionó directamente a la muestra, se agitó constantemente durante 10 minutos.<sup>31</sup>

Finalmente se atomizó para obtener un polvo fino utilizando al atomizador Mini Spray Dryer B-290 y el producto obtenido se envasó en un recipiente herméticamente cerrado, ya que el extracto atomizado es muy higroscópico.<sup>30</sup>

Parámetros a considerar:

- Temperatura de entrada: 120°C
- Temperatura de Salida: 79°C
- Aspirador 100%
- Porcentaje de Bomba: 15 a 30%
- Flujo de muestra: 3-4 cm<sup>3</sup>/ min

De esta manera se obtuvo un total de 1,0036 g de muestra sólida (polvo fino) de *Berberis lutea* “tankar”.

Y un total de 1,2159 g de muestra sólida (polvo fino) de *Berberis flexuosa* “ayrampu”.

### **3.3.3. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado** **a) Determinación de las características organolépticas**

**Color:** Se colocó la muestra en un tubo de ensayo hasta las tres cuartas partes y se obtuvo un color característico.<sup>30</sup>

**Olor:** Se tomó una tira de papel secante aproximadamente de 1 cm de ancho por 10 cm de largo y se introdujo en un extremo de la muestra del tubo de ensayo.

**Sabor:** Se tomó una cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, para luego hacer contacto con la lengua y determinar el tipo de sabor (dulce, amargo, ácido, salino, astringente, punzante, nauseabundo, aromático, etc).<sup>30</sup>

**Aspecto:** Se tomó la cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, para luego determinar el aspecto de la muestra.<sup>30</sup>

#### **b) Determinación de la solubilidad**

Para determinar la solubilidad del extracto se secó y se pesó un gramo de muestra y se vaciar en un tubo de ensayo, al cual se le adicionó 1 mL de disolvente (agua, alcohol o cloroformo), se agitó y observó, en caso de no disolverse se hubiese adicionado el disolvente a 10 mL, 30 mL, 100 mL, 1L y a más de 10L.<sup>32</sup>

#### **c) Determinación de pH**

La medición del pH se llevó a cabo del pH-metro de mesa, para ello se preparó una solución reguladora de pH, para un rango de 0 a 7. Una vez preparada la solución reguladora, se ajustó el equipo al rango en que se realiza la determinación. Posteriormente se determinó el valor del pH de la muestra.<sup>32</sup>

#### **d) Determinación del contenido de humedad**

Se pesó 500 mg de muestra con desviación permisible de 5 mg y se llevó a una cápsula de porcelana tarada y desecada, seguidamente se desecó a 105°C durante tres horas. La cápsula se colocó en la desecadora donde se deja enfriar a temperatura ambiente y se pesa, colocándose nuevamente en la estufa durante una hora, volviéndose a pesar hasta obtener un peso constante.<sup>32</sup>

$$Hg = \frac{M2 - M1}{M2 - M} \times 100$$

Dónde:

Hg = Pérdida en peso por desecación (%)

M = Masa de la cápsula vacía (g)

M1 = Masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g)

M2 = Masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

100 = Factor matemático

### e) Determinación del contenido de cenizas

Se pesó no menos de 2 g y no más de 3 g de la muestra con desviación permisible de 5 mg en un crisol de porcelana o platino previamente tarado. Se calentó suavemente la muestra de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente incinerar en una mufla a una temperatura de 700 a 750 °C, si no se señala otra temperatura en la norma específica, durante dos horas. Se enfrió el crisol en una desecadora y se pesó repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 5 mg por gramo para obtener la masa constante los intervalos entre el calentamiento y pesada son de 30 minutos. Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de peróxido de hidrogeno concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio al 10% m/v y se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco o casi blanco.<sup>32</sup>

Cálculo:

$$C = \frac{M2 - M1}{M2 - M} \times 100$$

Dónde:

C = Porcentaje de cenizas totales en base hidratada

M = Masa del crisol vacío (g)

M1 = Masa del crisol con la ceniza (g)

M2 = Masa del crisol con la porción del ensayo (g)

100 = Factor matemático

### 3.3.4. Determinación del contenido de fenoles totales

#### Procedimiento

Preparar una solución stock de ácido gálico de concentración 60 µg/mL en agua. Preparar soluciones estándar de ácido gálico de 10; 20 y 40 µg/mL, medir 100 µL de cada solución estándar y adicionar 500 µL de reactivo de Folin Ciocalteu (1:10), 400 µL de carbonato de sodio al 7,5%. Reposar durante 30 minutos y leer la absorbancia a 765 nm.<sup>33</sup>

Medir 100 mg de extracto atomizado y añadir etanol 70° acidulado a pH 3,18 cantidad suficiente para 10 mL (solución A). Medir 2 mL de la solución A y adicionar etanol 70° acidulado cantidad suficiente para 25 mL (solución B). Medir 2 mL de la solución B y adicionar etanol 70° cantidad suficiente para 5 mL (solución C). Medir 2 mL de la solución C y adicionar 500 µL de reactivo de Folin Ciocalteu

(1:10), 400 µL de carbonato de sodio al 7,5%. Reposar durante 30 minutos y leer la absorbancia a 765 nm.<sup>33</sup>

### **Cálculos**

Calcular el porcentaje de fenoles totales expresados en miligramos equivalentes de ácidos gálico por gramo de muestra.

### **3.3.5. Determinación del contenido total de antocianinas mediante el método de pH diferencial**

#### **Procedimiento**

Preparar un buffer ajustado a un pH 1,0 y un buffer ajustado a pH 4,5.

La concentración total de antocianina se determinó por el método de pH diferencial.<sup>34</sup>

Para ello, se pesó 0,2796 g de cloruro de potasio, se diluyó en 150 mL de agua destilada y se ajustó a pH 1,0 con ácido clorhídrico, de igual manera se pesó 4,9218 g de acetato de sodio, se diluyó en 150 mL de agua y se ajustó a pH 4,5 con ácido clorhídrico.

Se pesó 100 mg del polvo atomizado de cada muestra y se diluyó en 150 mL de agua destilada se agitó, se tomó 1 mL de cada muestra por duplicado, para proceder al aforado con buffer de pH 1,0 y buffer pH 4,5.

Finalmente se procedió a la lectura en el UV-Vis a 520 nm y 700 nm.

La concentración de las antocianinas se expresó como mg cianidina-3-glucósido/100mL de extracto de acuerdo a la expresión siguiente:

(Ecuaciones 1 y 2):

$$A = (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700})_{pH1} - (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700})_{pH4.5}$$

En donde  $A_{vis-m\acute{a}x}$  es la lectura del pico más alto a pH 1,0, pH 4,5 y  $A_{\lambda_{700}}$  es la lectura a 700 nm, tanto para pH 1,0 como pH 4,5. Para calcular la concentración en la muestra original se sigue la siguiente fórmula:

$$\text{Antocianina monomérica (mg/L)} = \frac{Ax PM xFD x1000}{\epsilon \times l}$$

Dónde:

A: Absorbancia antes calculada

FD: Factor de dilución.

PM: Masa molecular para cianidina-3-glucósido, 449,2 g/mol.

$\epsilon$ : Coeficiente de extinción molar para cianidina-3-glucósido, 26900 L/mol $\times$ cm<sup>-1</sup>.

1000: factor de conversión de gramos a miligramos.

### 3.3.6. Determinación de la capacidad antioxidante según el método DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo)

#### Procedimiento

Se preparó una solución de DPPH de 40 µg/mL en una solución etanólica de 96° y soluciones estándar de DPPH de 1; 5; 10; 15; 20; 25; 30; 35 y 40 µg/mL, a los 30 minutos se procedió a leer su absorbancia a 515 nm, utilizando como blanco la solución de etanol 96°. <sup>34</sup>

Se preparó una solución stock de Trolox de 500 µg/mL en etanol de 96° y soluciones estándar de 25; 50; 100; 150; 200 y 250 µg/mL. Se midió una alícuota de 300 µL de solución estándar y se adicionó 2700 µL de solución de DPPH, se leyó su absorbancia a 515 nm a los 30 minutos, utilizando como blanco 300 µL de solución estándar y 2700 µL de etanol de 96°.

Se preparó una solución stock del atomizado a una concentración de 500 µg/mL en solución etanólica de 70° acidulado, calculado a partir de la concentración de fenoles totales expresados en ácido gálico y soluciones de extracto de 25; 50; 100; 150; 200 y 250 µg/mL. Se midió una alícuota de 300 µL de solución estándar y adicionó 2700 µL de solución de DPPH, se leyó su absorbancia a 515 nm a los 30 minutos, utilizando como blanco 300 µL de solución de extracto y 2700 µL de etanol de 96°.

A partir de la curva de calibración de la ecuación y los valores de tiempo de absorbancia de 30 minutos, se calculó el porcentaje de DPPH restante (%DPPH<sub>REM</sub>), de acuerdo a la ecuación: <sup>35</sup>

$$\%DPPH_{REM} = \left[ \frac{DPPH_{T=t}}{DPPH_{T=0}} \right] \times 100$$

#### Ecuación 1. Determinación del DPPH remanente

Dónde:

DPPH<sub>T=t</sub>: Concentración de DPPH en el medio después de la reacción con el extracto.

DPPH<sub>T=0</sub>: Concentración inicial del DPPH

Calcular el porcentaje de DPPH remanente versus concentración Trolox y extractos atomizados, utilizando el software OriginPro. <sup>35</sup>

Calcular la actividad antioxidante expresada en equivalente de Trolox en miligramos por gramo de fenoles totales.

### **3.4. Tipo y diseño de investigación**

#### **3.4.1. Tipo de investigación**

##### **Básico- Descriptivo**

**Básico:** Se realiza con el propósito de acrecentar los conocimientos teóricos para el progreso de una determinada ciencia, se ocupa de las aplicaciones prácticas que pueden hacer referencia los análisis teóricos, es más formal y persigue propósitos teóricos en el sentido de aumentar el acercamiento de conocimientos de una determinada teoría.<sup>36</sup>

**Descriptivo:** Los estudios descriptivos buscan especificar las propiedades, las características y los perfiles de personas, grupos, comunidades, procesos, objetos o cualquier otro fenómeno que se someta a un análisis. Es decir, únicamente pretenden medir o recoger información de manera independiente o conjunta sobre los conceptos o las variables a las que se refieren, esto es, su objetivo no es indicar cómo se relacionan éstas.<sup>37</sup>

#### **3.4.2. Diseño de investigación**

Diseño descriptivo simple.<sup>37</sup>

$$M - O$$

Dónde:

M: muestra

O: información (observaciones)

### **3.5. Análisis de datos**

Los datos obtenidos fueron procesados y analizados mediante el programa Microsoft Excel y el Software OriginPro. Para identificar diferencias significativas de las muestras fueron evaluadas mediante el análisis de varianza (ANOVA), comparaciones múltiples de Duncan para muestras independientes, el Trolox y las muestras con un nivel de confianza de 95% (para ello se utilizó el programa SPSS versión 19.0).<sup>37</sup>

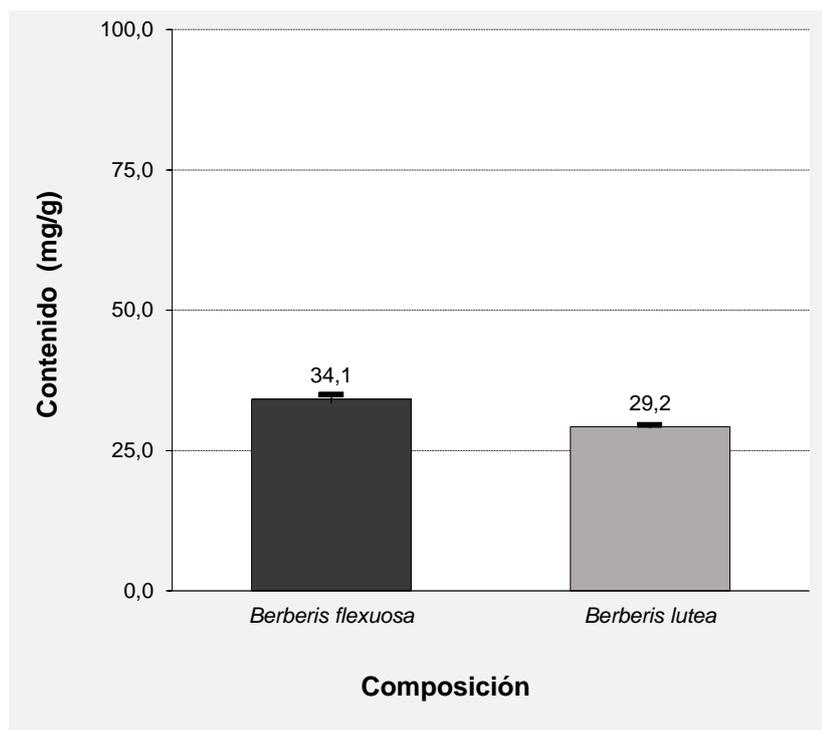


#### **IV. RESULTADOS**



**Tabla 5.** Características fisicoquímicas del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis*. Ayacucho, 2018

Parámetros	Ensayos	Resultados	
		<i>B. flexuosa</i>	<i>B. lutea</i>
<b>Organoléptico</b>	Color	Guindo	Guindo claro
	Olor	<i>Sui generis</i>	<i>Sui generis</i>
	Sabor	Ácido	Ácido
	Aspecto	Polvo fino	Polvo fino
	Agua	Altamente soluble	Altamente soluble
<b>Solubilidad</b>	Metanol	Insoluble	Insoluble
	Acetona	Poco soluble	Poco soluble
	Cloroformo	Poco soluble	Insoluble
	Butanol	Insoluble	Insoluble
	Etanol	Poco soluble	Insoluble
<b>pH</b>	Extracto hidroalcohólico	5,40	4,59
<b>Humedad</b>	Perdida por desecación	0,0468%	0,0369%
<b>Cenizas totales</b>	Cenizas totales	1,9891%	1,9868%
<b>Rendimiento</b>	Solidos totales	5,17%	4,27%



Muestra	X (mg EAG/g.EA)
<i>Berberis flexuosa</i>	34,1 +/- 0,76
<i>Berberis lutea</i>	29,2 +/- 0,28

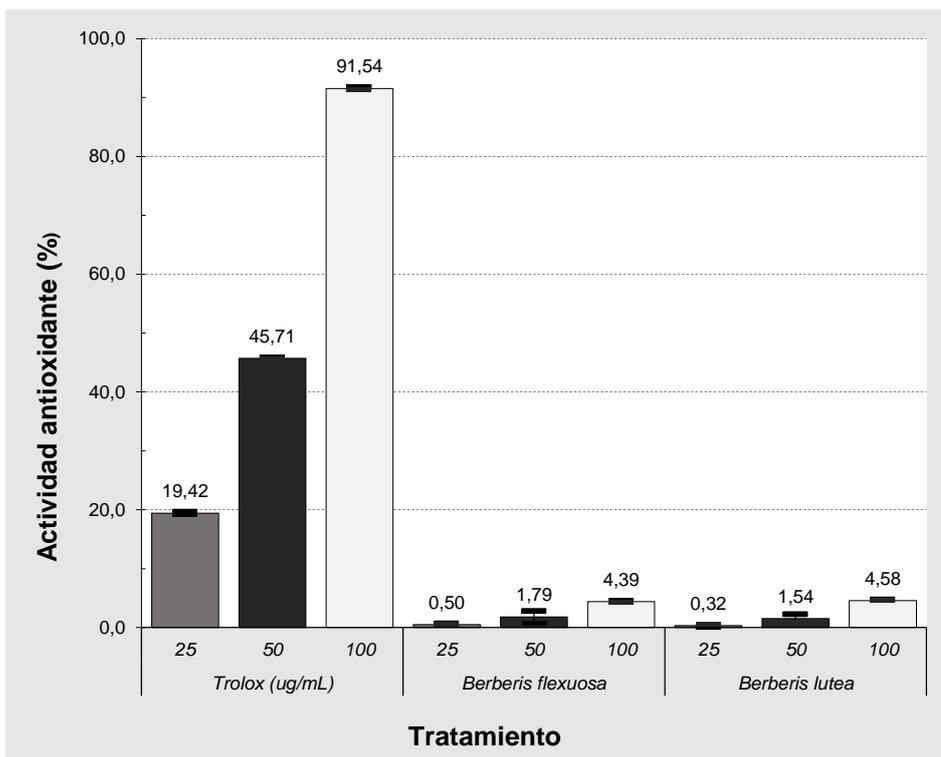
**Leyenda**

*Berberis flexuosa* ■  
*Berberis lutea* ■

**Figura 10.** Contenido de fenoles del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis*, Ayacucho, 2018

**Tabla 6.** Contenido de antocianinas totales del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis*. Ayacucho, 2018

<b>Muestra</b>	<b>Total de antocianinas (mg/100 g de antocianina extraída)</b>	
	<b><i>Berberis flexuosa</i></b>	<b><i>Berberis lutea</i></b>
<b>M1</b>	13,36	4,17
<b>M2</b>	12,86	4,84
<b>M3</b>	13,53	5,16
<b>X</b>	13,25	4,73



Tratamiento	Concentración (µg/mL)		
	25	50	100
<b>Trolox</b>	19,42 ± 0,20	45,70 ± 0,11	91,54 ± 0,20
<b><i>Berberis flexuosa</i></b>	0,50 ± 0,11	1,79 ± 0,98	4,39 ± 0,11
<b><i>Berberis lutea</i></b>	0,32 ± 0,30	1,54 ± 0,68	4,59 ± 0,11

**Figura 11.** Porcentaje de la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis*. Ayacucho, 2018

## V. DISCUSIÓN

Los colorantes naturales presentan una demanda considerada en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica para reemplazar a los colorantes sintéticos, debido a su naturaleza química, inocuidad y funcionalidad. Entre estos colorantes naturales se encuentran las antocianinas que se distribuye ampliamente en el reino vegetal y están presentes en raíces, tallos, hojas, flores y frutos de las plantas superiores.<sup>38</sup>

En la tabla 5, observamos los resultados obtenidos a cerca de la evaluación de los parámetros fisicoquímicas del extracto atomizado de los frutos de las dos especies de plantas del género *Berberis*.

Dentro de la evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de la *Berberis flexuosa* “ayrampu” se pudo observar una coloración guinda, un olor *sui generis*, sabor ácido y un aspecto de polvo fino; es altamente soluble en agua, poco soluble en acetona, cloroformo y etanol e insoluble en butanol y metanol. De la misma manera tiene un pH de 5,4, humedad de 0,0468%, cenizas totales de 1,9891% y un porcentaje de rendimiento de 5,17%.

Mientras que en los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de la *Berberis lutea* “tankar” se pudo observar una coloración guinda claro, un olor *sui generis*, sabor ácido y un aspecto de polvo fino; es altamente soluble en agua, poco soluble en acetona e insoluble en butanol, metanol, cloroformo y etanol. De la misma manera tiene un pH de 4,59, humedad de 0,0569%, cenizas totales de 1,9868% y un porcentaje de rendimiento de 4,27%.

Bakowska-Barczaka et al<sup>43</sup>., señala que el encapsulante que mantiene el color en todas las muestras experimentales son las maltodextrinas, el resto de los agentes encapsulantes tienen un comportamiento muy similar, por lo que se puede observar, que el uso del agente encapsulante y su solubilidad están directamente relacionados con su microestructura, es por esta razón que Almeida<sup>52</sup>, en su tesis menciona que el estudio es crítico, debido a la higroscopia

inherente del extracto atomizado y a la cantidad de extracto añadido. Las medidas utilizadas para evitar estos inconvenientes es adecuar un área de trabajo controlado el porcentaje de humedad en el medio.

Según Urueta<sup>39</sup>, menciona que la humedad es un indicativo de la frescura del fruto, que se relaciona con la firmeza e impacta directamente sobre la textura y la apariencia, se menciona también que en la composición química de los alimentos el agua se encuentra en mayor porcentaje, este compuesto es parte inherente de la mayoría de las sustancias biológicas y constituye más del 90% del material fresco en algunas materias vegetales. Laguado *et al*<sup>40</sup>, mencionan que, durante el desarrollo de los frutos, el pH incrementa hacia el rango ácido, manteniéndose relativamente entre 3,7 a 4 y conforme el fruto va madurando la concentración de ácidos disminuye como pueden ser el ácido cítrico, málico, según sea el fruto.

Andrew *et al*<sup>41</sup>, indican que el método de Folin-Ciocalteu permite medir fenoles totales y puede realizarse con ácido gálico (EAG), porque este es un compuesto estable y pierde solo 5% de su valor real después de dos semanas de refrigerado y cubierto.

En la figura 10, se observan los resultados del contenido de fenoles totales en el extracto atomizado de los frutos de las dos especies de plantas del género *Berberis*, la *Berberis flexuosa* “ayrampu” presenta 34,1 mg EAG/g.EA ( $p > 0,05$ ), mientras que la *Berberis lutea* “tankar” presenta 29,2 mg EAG/g.EA ( $p > 0,05$ ). En la misma línea de investigación, Huaccho<sup>9</sup>, en su investigación capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, carotenoides y antocianinas de 84 cultivares de Mashua, reporta que existe una variación en el contenido de compuestos fenólicos varió entre 5,5 y 16,7 mg EAG/g.EA.

July *et al*<sup>10</sup>, en su investigación antocianinas, polifenoles totales y capacidad antioxidante en dos clones de papa nativa del género *Solanum* de pulpa azul y roja, se reporta que los dos clones de la papa presentan 5,938 mg EAG/g.EA y 4,283 mg EAG/g.EA respectivamente.

Leyva<sup>11</sup>, en su estudio determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y frutos de mora, reporta 16,11 mg EAG/g.EA. Todos estos frutos contienen compuestos fenólicos, los compuestos fenólicos son uno de los grupos principales de compuestos que se basa en su capacidad secuestradora de radicales libres y que guarda relación con su capacidad antioxidante.

Por ello, se puede observar que el extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis* presenta igual o mayor cantidad de fenoles totales, que da como resultado que si posee capacidad antioxidante.

En la tabla 6, se muestra el contenido total de antocianinas, en el extracto atomizado de los frutos de la *Berberis flexuosa* “ayrampu” se obtuvo 13,25 mg/100 g de antocianina extraída lo cual le confiere un color guindo, mientras que el extracto atomizado de los frutos de la *Berberis lutea* “tankar” obtuvo 4,73 mg/100 g de antocianina extraída, donde se observa una coloración guinda claro.

Según Aroni<sup>4</sup>, en su estudio evaluación de la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* Schldl (Capachu), *Berberis cummutata* eichler (Huancachu), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) y *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) frente al pH y temperatura, el contenido de antocianinas en los frutos evaluados varía de acuerdo a la especie vegetal en fruto seco sin semillas de *Hesperomeles escalloniifolia* Schldl (Capachu) tiene un contenido total de antocianinas de 2026,201 mg/100 g, en el fruto seco sin semillas de *Berberis cummutata* Eichler (Huancachu) tiene un contenido total de antocianinas de 1271,809 mg/100 g, en el fruto seco con semillas de *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (Cheqche) tiene un contenido total de antocianinas de 2306,297 mg/100 g, en el fruto seco con semillas de *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) tiene un contenido total de antocianinas que es de 319,170 mg/100 g.

Aranibar<sup>3</sup>, en su estudio extracción de antocianinas a partir del fruto de “tankar” (*Berberis boliviana* L.) y determinación del contenido por el método del pH diferencial, se obtuvo un contenido de 1234,38 mg/100 g de antocianina.

Sotacuro<sup>14</sup>, en su estudio caracterización fitoquímica y concentración de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav)) Sleumer se reportó una concentración de antocianinas presentes en los frutos de *Lacca lacca* en la siguiente concentración; 6,98 g /100 g de muestra y 7,10 g /100 g de muestra en estado pintón y maduro respectivamente.

Gorriti<sup>38</sup>., menciona que en relación a la extracción, el método usual de extracción, es la extracción sólido líquido. El método de extracción debe ser el más adecuado para cada aplicación concreta, las condiciones de extracción, tales como relación sólido líquido, temperatura, tiempo, tipo y concentración de disolvente influyen la estabilidad de las antocianinas, así como también en la

concentración de estos metabolitos en el extracto. Así se debe maximizar la extracción de pigmentos y li

mitar la degradación o alteración del estado natural del extracto. El conocimiento de los factores involucrados en la estabilidad y de los mecanismos de degradación es sumamente vital para una eficiente extracción, y uso de las antocianinas como colorantes de alimentos.

Zapata<sup>42</sup>, si bien es cierto las antocianinas son altamente hidrofílicas, son moléculas polares por la presencia de grupos hidroxilo en su molécula y son altamente extraídas en soluciones alcohólicas como etanol. El agua causa degradación de las antocianinas probablemente debido a una mayor interacción entre el agua y el catión flavilio para formar la pseudobase inestable, en cuanto al pH está siendo favorecido por un medio ácido en donde existe una mejor estabilización y protección de la molécula antocianina a los cambios de pH, esto se debe a que el núcleo flavilio es deficiente en electrones y por lo tanto muy reactivo. En el caso de medios con pH por encima de 7, podría producirse una degradación rápida de las antocianinas, produciendo hemiacetal y chalcona, ambas inestables por lo que probablemente que gran parte de estas (antocianinas) se perdieran en el proceso extractivo.

Las antocianinas son compuestos hidrosolubles pero sensibles a varios factores eso podría explicar también la baja concentración en la extracción. Andrés<sup>54</sup>, uno de los factores fue el incremento en la exposición a la temperatura, las antocianinas soportan altas temperaturas (sobre 60°C), pero por corto tiempo y su degradación es en primer orden. Por lo tanto, las antocianinas altamente hidroxiladas son más sensibles al tratamiento térmico que las metiladas, glicosidadas y acetiladas. La temperatura es un factor determinante en la degradación de las antocianinas, incrementos en la temperatura provocan pérdidas en el azúcar glicosidante en la posición 3 de la molécula y apertura de anillo, con la inevitable producción de chalconas incoloras. Esto podría explicar también la pérdida de color además de la dilución.

Por otro lado, la disminuida concentración de antocianinas en los frutos de ambas especies del género *Berberis* en comparación a otras investigaciones ya realizadas, pudo darse por el tipo de extracción, estado de maduración de ambos frutos, humedad, pH, etc., que pudieron haber alterado el contenido de mg de cianidina, en los frutos de la *Berberis flexuosa* "ayrampu" y la *Berberis lutea* "tankar", pese a que fueron sometidos a un proceso de microencapsulación

con maltodextrina al 2%, con su adición directa en la muestra, antes de ser atomizados hasta un polvo fino.

Dziedzic<sup>44</sup>, la microencapsulación es una forma de conservar estos pigmentos mediante secado por aspersion, una técnica que se ha aplicado para preservar y/o proteger diversos pigmentos alimentarios.

Zapata<sup>42</sup>, refiere que los tiempos cortos de secado, temperatura de entrada al atomizador y el tipo de encapsulante, son factores que influyen directamente con las características de solubilidad del producto.

Esquivel *et al*<sup>5</sup>, en su estudio microencapsulación de compuestos bioactivos, microencapsulación es un proceso que se usa para convertir líquidos en sólidos, agregar funcionalidad y mejorar la estabilidad oxidativa de alimentos y extractos e ingredientes alimenticios. Las frutas y vegetales son fuentes importantes de compuestos bioactivos cuyos beneficios en la salud se ha documentado ampliamente, principalmente debido a la actividad antioxidante que posee. Sin embargo su perecibilidad hace necesaria la aplicación de procesos de conservación que permitan mantener los compuestos de interés y alargar su vida de anaquel. Posteriormente se revisa sobre la microencapsulación de compuestos bioactivos como betalaínas, polifenoles, carotenoides y antocianinas.

Yañez *et al*<sup>45</sup>, señala que la microencapsulación inhibe reacciones enzimáticas especialmente oxidasas, polifenoloxidasas, peroxidasa y catalasa, y con ello mejora la calidad y el valor nutricional evitando la alteración no deseadas en color y sabor.

Alvarez<sup>28</sup>, en su estudio microencapsulación del extracto de betanina del *Beta vulgaris* por atomización y evaluación de sus propiedades funcionales como colorante natural, donde se evaluó el efecto de la microencapsulación del extracto de betanina del *Beta vulgaris* por atomización microencapsulando con maltodextrina en concentraciones de 10%, 15% y 20% mediante un secado por atomización a diferentes temperaturas de entrada entre 130 °C, 140°C y 160°C, este producto atomizado se caracterizó por sus propiedades funcionales y fisicoquímicas con respecto a higroscopicidad, solubilidad e índice de insolubilidad no encontrándose diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre los tratamientos.

Arrazola *et al*<sup>46</sup>, en su estudio microencapsulación de antocianinas de Berenjena (*Solanum melongena* L) mediante secado por aspersion y evaluación de la

estabilidad de su color y capacidad antioxidante, evaluaron la influencia de las condiciones de secado por aspersión en las propiedades fisicoquímicas de los polvos, microencapsulando la muestra con maltodextrina en concentraciones de 15%, 20% y 30%. Obteniendo 115mg/100g de antocianina, se tomó como conveniente solo incorporar 2% de maltodextrina, ya que se realizó pilotos con 2%, 5%, 10% y 20% y se observó mediante la evaluación de parámetros fisicoquímicos que todas estas concentraciones cumplían con la función de microencapsular, y eso es lo que tiene como objetivo, mantener estable al microencapsulado frente a factores como luz, humedad, temperatura, pH, etc.

En la figura 11, se observa los resultados de la capacidad antioxidante del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis*, evaluado según el método de DPPH, para ello se tomaron diferentes concentraciones de 25 µg/mL, 50 µg/mL y 100 µg/mL donde, la muestra de *Berberis flexuosa* "ayrampu" presentó una actividad antioxidante de  $0,50 \pm 0,11\%$ ;  $1,79 \pm 0,98\%$  y  $4,39 \pm 0,11\%$ , mientras que la *Berberis lutea* "tankar" presentó una actividad antioxidante de  $0,32 \pm 0,30\%$ ;  $1,54 \pm 0,11\%$  y  $4,59 \pm 0,11\%$ . El Trolox a las mismas concentraciones presentó una actividad antioxidante de  $19,42 \pm 0,20\%$ ;  $45,70 \pm 0,11\%$  y  $91,54 \pm 0,20\%$  a ( $p > 0,05$ ), ambas muestras presentaron poca actividad antioxidante así se tomó la mayor la concentración de 100 µg/mL para ambas muestras, donde se obtuvieron las mayores inhibiciones de  $4,39 \pm 0,11\%$  y  $4,59 \pm 0,11\%$  respectivamente.

Según Njemenak et al<sup>47</sup>., en su investigación, estudio comparativo de los diferentes clones de granos de cacao (*Theobroma cacao* L) el contenido de fenoles totales y antocianinas indican que la actividad antioxidante, calidad y cantidad de los compuestos fenólicos es variable, obedece a la genética, diversidad del medio ambiente (microclimas), condiciones de crecimiento tales como la intensidad de luz, humedad, temperatura, uso de fertilizantes y factores de estrés. Los contenidos de polifenoles totales en granos de cacao comerciales variaron entre  $4,150 \pm 0,07$  a  $6,356 \pm 0,05$  g EAG/100 g. Con respecto a la capacidad antioxidante frente al radical DPPH se encontró un  $51,310 \pm 0,72\%$  a  $85,380 \pm 0,32\%$ , y la capacidad antioxidante con el radical peroxilo fluctuó entre,  $17,4 \pm 0,07$  a  $14,289 \pm 0,05\%$ .

Oliveira<sup>50</sup>., en su investigación, capacidad antioxidante de *Averrhoa carambola* L. (carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres. Se determinó la actividad antioxidante del extracto acuoso del fruto y hoja de *Averrhoa carambola*

L.(carambola) observando resultados de la capacidad antioxidante por el método de DPPH en frutos  $3,75 \pm 0,20\%$  y hojas  $2,91 \pm 0,01\%$ .

Thomas<sup>48</sup>, los antioxidantes tienen un efecto benéfico, básicamente debido a su capacidad de inhibir radicales libres ejerciendo su acción en todos los procesos en los que se reduce o detiene el proceso de oxidación.

Magalhaes et al<sup>49</sup>., la capacidad de inhibición de los radicales libres por parte del antioxidante bajo diferentes condiciones ha sido evaluada por diferentes métodos en diferentes condiciones y se ha expresado bajo los términos de capacidad, actividad, eficacia, parámetros fisicoquímicos, potencial, poder y reactividad.

Muedas et al<sup>51</sup>., en su estudio, fundamenta que el método de DPPH se basa en que el radical libre estable DPPH de un color azul intenso, y este sustrae un átomo de hidrógeno proveniente de una sustancia donadora de electrones, y como consecuencia de ello se produce una disminución del color del DPPH\* hasta tornarlo pardo claro.

Mathias et al<sup>53</sup>., determinó que el mejor tiempo de extracción para obtener una máxima concentración en equivalentes Trolox (TE) es de 30 minutos en jugo de murtila congelada, lo que indica que independientemente si la fruta estuvo fresca o almacenada no hubo diferencias significativas en el tiempo óptimo de extracción.

En este sentido, el extracto atomizado de los dos frutos del género *Berberis*, tanto la *Berberis flexuosa* "ayrampu" como la *Berberis lutea* "tankar", presenta poca o igual capacidad antioxidante por el método de DPPH, en comparación a otros estudios realizados. Este resultado podría ser debido al tipo de extracción que no fue óptima para conservar las propiedades bioactivas de ambos frutos.

Njemenak et al<sup>47</sup>., menciona que la capacidad antioxidante frente al radical DPPH es de un  $51,310 \pm 0,72\%$  a  $85,380 \pm 0,32\%$ , y la capacidad antioxidante con el radical peroxilo fluctuó entre,  $17,4 \pm 0,07$  a  $14,289 \pm 0,05\%$ , y el estudio hecho por Oliveira<sup>52</sup>, en su investigación capacidad antioxidante de *Averrhoa carambola* L. (carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres, donde se determinó la actividad antioxidante del extracto acuoso del fruto y hoja de *Averrhoa carambola* L. (carambola) se observó que los resultados de la capacidad antioxidante por el método de DPPH en frutos fue de  $3,75 \pm 0,20\%$  y hojas  $2,91 \pm 0,01\%$ . Todos estos estudios fueron hechos bajo las mismas condiciones, se puede decir que los frutos de las dos especies del género

*Berberis* presentan baja o igual capacidad antioxidante, y que estos compuestos bioactivos podrían proteger a las células contra el daño oxidativo en una baja intensidad, pero según Magalhaes *et al*<sup>49</sup>., la capacidad antioxidante de los alimentos depende de muchos factores, incluyendo las propiedades de los sustratos, las condiciones y etapas de la oxidación y la localización de los antioxidantes en diferentes fases: hidrofílica o lipofílica. De otro lado la capacidad antioxidante medida en una muestra también depende de la tecnología empleada, del generador de los radicales libres o agente oxidante que se utiliza en la medición y de las condiciones de ensayo.

Lo que nos demuestra que tanto el contenido de fenoles, antocianinas y la capacidad antioxidante se encuentran relacionados tanto con factores externos como la técnica de extracción, rangos de pH en el que la muestra se pueda encontrar susceptible a ataques nucleofílicos, rangos de pH 1 demuestra que la antocianina se encuentra como catión flavilio con la coloración roja, evitando la degradación de las antocianinas, se ha demostrado que temperaturas mayores a 60°C pueden provocar que el catión flavilio pase a una chalcona donde ya no existe coloración alguna, estado de maduración de los frutos, ya que se menciona que la variación en el contenido de antocianinas totales en las frutas es explicable en el sentido de que la maduración de las frutas está típicamente acompañada por cambios sustanciales en el perfil de compuestos fenólicos antioxidantes. Por ejemplo, los cambios en el color de las frutas durante la maduración incrementan el contenido de antocianinas, tipo de agente encapsulante, entre otros aspectos.

## VI. CONCLUSIONES

1. Se pudo determinar con la ayuda del método del pH diferencial el contenido total de antocianinas y la capacidad antioxidante con el método del DPPH (2,2- difenil-1-picrilhidracilo), en el extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis*.
2. Se determinó el contenido total de antocianinas en el extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis* por el método de pH diferencial, obteniendo 13,25 mg/100 g de antocianina extraída en la *Berberis flexuosa* “ayrampu” y 4,73 mg/100 g de antocianina extraída en *Berberis lutea* “tankar”.
3. Se determinó la capacidad antioxidante en el extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis* por el método de DPPH (1,1 difeni-2-picril-hidracilo) utilizando para ello al Trolox como estándar, obteniendo el porcentaje de capacidad antioxidante a diferentes concentraciones de 25µg/mL, 50µg/mL y 100 µg/mL, para *Berberis flexuosa* “ayrampu”  $0,50 \pm 0,11\%$ ;  $1,79 \pm 0,98\%$  y  $4,39 \pm 0,11\%$ , mientras que en la *Berberis lutea* “tankar” fue de  $0,32 \pm 0,30\%$ ;  $1,54 \pm 0,68\%$  y  $4,59 \pm 0,11\%$ .
4. Se determinó las características fisicoquímicas en ambos extractos, concluyendo que la *Berberis flexuosa* “ayrampu” presenta un color guindo, olor *sui géneris*, sabor ácido y un aspecto de polvo fino, es altamente soluble en agua y poco soluble en alcoholes, presenta un pH de 5,40, un porcentaje de humedad de 0,0468%, cenizas totales de 1,9891% y un rendimiento de 5,17%, mientras que la *Berberis lutea* “tankar” presenta un color guindo claro, olor *sui géneris*, sabor ácido y un aspecto de polvo fino, es altamente soluble en agua e insoluble en alcoholes, presenta un pH de 4,59, un porcentaje de humedad de 0,0369%, cenizas totales de 1,9868% y un rendimiento de 4,27%.



## VII. RECOMENDACIONES

- Es recomendable realizar más estudios a cerca de estas dos especies del género *Berberis*, especialmente en los frutos, ya que no solo posee antocianinas si no también una gran cantidad de compuestos bioactivos, actividad antioxidante e importancia a nivel medicinal, antiinflamatoria, anticancerígena y a nivel comercial.
- Es importante investigar factores externos que nos permitirían saber cuál es el tratamiento más adecuado para realizar este tipo de extracción, como estado de maduración de los frutos, tipo de fruto, si este debe extraerse en un fruto seco o fresco, etc.
- En la extracción de antocianinas, especialmente en frutos con características higroscópicas, es necesario utilizar la maltodextrina como agente encapsulante ya que éste permite conservar y estabilizar a este tipo de compuestos bioactivos, es recomendable para ello realizar ensayos que permitan determinar la cantidad exacta de maltodextrina que debe utilizarse en cada tipo de prueba.
- Por otro lado, también se recomienda realizar un adecuado tratamiento que permita conservar y preservar el contenido total de antocianinas y su capacidad antioxidante, factores que podrían alterarlo, como mantenerlo alejado de la luz, humedad, temperaturas elevadas, pH adecuado, etc.



### VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Del Carpio C, Serrano C, Giusti M. Evaluación de antocianinas presentes en los frutos de *Berberis boliviana* Lechler Cheqche. Rev. Soc. Química del Perú Lima. 2009; v.75 n.1 ener./mar. [revista en internet]. Disponible en <http://bit.ly/EvalAntocBerberBolivCheqche>
2. Aranibar Aguilar F. Estudio de la actividad antioxidante del zumo del fruto del tankar (*Berberis boliviana* L.) en diferentes condiciones de almacenado [tesis en internet]. Abancay. Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac; 2013 [citado el 15 de julio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/EvalActAntioxZumoTankar>
3. Aranibar Aguilar E. Extracción de antocianinas a partir del fruto de tankar (*Berberis boliviana* L.) y determinación del contenido por el método de pH diferencial [tesis en internet]. Abancay. Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac; 2013. [citado el 15 de julio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/ExtAntFrutTankar>
4. Aroni Huaman J. Evaluación de la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos de *Hesperomeles escalloniifolia* schldl (capachu), *Berberis cummutata* Eichler (huancachu), *Berberis humbertiana* J.F. (cheqche) y *Vaccinium floribundum* Kunth (alaybili) frente al pH y temperatura [Internet] [Tesis]. Andahuaylas. Universidad Nacional José María Arguedas; 2013 [citado el 15 de julio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/EvalEstabAntocFrutHesperomeles>
5. Esquivel B, Ochoa L, Rutiaga A. Microencapsulación mediante secado por aspersion de compuestos bioactivos. Rev. Iber. Tec. Méx [revista en internet] 2015 [citado el 15 de febrero del 2018] 16(2):180-192. Disponible en <http://bit.ly/MicroencapMedSecAspersion>
6. Cosavalente K. Antocianinas totales y capacidad antioxidante in vitro de los extractos de diferente grado etanólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* Arándano. UCV Scientia [revista en internet], 2016 [citado el 17 de febrero del 2018]. Disponible en <http://bit.ly/AntCapAntioxinvitroFrutVaccinium>
7. Terreros S, Reynel C. Arbustos del Valle del Mantaro, Dp de Junin (Perú) y su potencial para la protección de los suelos: Herbario de la Facultad de Ciencias Sociales 1<sup>era</sup> ed. [revista en Internet] 2016 [citado el 22 de junio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/ArbustValleMantDpJunin>
8. Rodríguez D. Flora vascular y vegetación de la cordillera Huaytapallana Rev. Flora.Vas [revista en internet].2010 [citado el 22 de junio del 2019]. 2015.199(19)2 Disponible en <http://bit.ly/FlorVascVegetCordHuaytpall>
9. Huaccho Huamán C. Capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, carotenoides y antocianinas de 84 cultivares de Mashua (*tropaeolum tuberosum* ruiz y pavón) [Tesis en internet].Lima: Escuela de posgrado Maestría en Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional Agraria la Molina; 2016. Disponible en <http://bit.ly/CapAntioxAntoc84CultMashua>
10. July Mamani D, Arias Jordan A. Antocianinas, polifenoles totales y capacidad antioxidante en dos clones de papa nativa del género *Solanum* de pulpa azul y roja [Tesis en internet]. Cusco: Facultad de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2011. Disponible en <http://bit.ly/AntPolifCapAntioxPapaNatGenSolanum>
11. Leyva D. Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora [tesis]. México: Universidad Tecnológica de la Mixteca; 2009.
12. Martínez J, Gonzales J, Culebras M. Tuñon M. Los flavonoides, propiedades y acciones antioxidantes. [revista en internet] 2002 [citado el 22 de junio del 2019] 17: 271-278. Disponible en <http://bit.ly/LosFlavPropAntioxid>

13. Limaymanta Solano M, Ramos Ibañez I. Extracción y cuantificación de antocianinas monoméricas totales del cultivo Macha macha *sp* [Tesis]. Tarma: Facultad de Ciencias Aplicadas. Universidad del Centro del Perú; 2016.
14. Sotacuro de la Cruz R. Caracterización fitoquímica y concentración de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca* (*Gaultheria glomerata* (Cav)) Sleumer [tesis]. Huancavelica: Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Huancavelica; 2012.
15. Fennema O. Química de los alimentos, Rev. Esp 1° edición. Vol. 1 Tech. Camb.Inst. [revista en internet]; 2000. [citado el 22 de junio del 2019] Disponible en <http://bit.ly/quimicadelosalimentos>
16. Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Rev. Iber. pp.161-172. [revista en internet] 2006 [citado el 21 de junio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/RadicalLibrAntioxNatMecProtec>.
17. Frankel E, Meyer A. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. Journal Science Food Agriculture. 2000; 80, 1925-1941. [revista en internet] 2010. [citado el 21 de junio del 2019] Disponible en <http://bit.ly/TheProbUsingDimensMetEval>
18. Moscoso Moscoso E. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de cinco clones de papa nativa (*Solanum tuberosum*) y del puré deshidratado. [Tesis en internet]. Apurímac: Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional José María Arguedas; 2014. Disponible en <http://bit.ly/DetCapAntioxCompBioactClonPapa>
19. Kuskoski E, Asuero A, Morales M, Fett R. Actividad antioxidante, polifenoles y antocianinas. [Internet]. 2006 [citado el 03 de julio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/ActAntioxPolifenAntoc>
20. Orjuela Rodriguez A. Determinación de actividad antioxidante de extractos y fracciones de hojas de *Chromolaena perglabra* (B. L. Robinson) R. M. King & H. Robinson. [Tesis en internet] Bogotá: Facultad de Ciencias Productos Naturales U.D.C.A. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A; 2010 [citado el 21 de junio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/DetActAntioxCromolaena>
21. Benzie I, Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. 1996; 239, 70-76. [revista en internet] 1996 [citado el 21 de junio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/Theferringreducingabilityofplasma>
22. Arrete C. Antioxidantes en alimentación en diferentes formas de expresar su actividad antioxidante. Tipos de unidades y métodos de análisis. 2007; 17-02-2011. [revista en internet] 2011 [citado el 21 de junio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/AntioxFormasExpre>
23. Zuleta A. Wheat antioxidants by Liangly Yu. The University of Maryland Department of Nutrition and food science. Rev. Dep. NutCien [revista en internet] 2008 [citado el 21 de junio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/UnivofMarylDepNutritandFood>
24. Alam M, Bristi N, Rafiquzzaman M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal. 2012; 21:143-152. [revista en internet] 2012 [citado el 21 de junio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/ReviewinVivoandInvitroMethods>
25. Caez Fuentes K, Jaraba Castro N. Microencapsulación del jugo de Mango (*Mangifera indica* L) para la obtención del concentrado con la utilización de la maltodextrina como material pared. [Tesis en internet]. Ecuador: Facultad

- de Ingeniería Programa de Ingeniería de Alimentos; 2011 [citado el 21 de junio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/MicroencapJugoMangoMaltodex>
26. Porras Trujillo F. Microencapsulación de pulpa de carambola (*Averrhoa carambola* L.) mediante secado por liofilización. [Tesis en internet]. Tingo María. Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria de la Selva; 2012. [citado el 21 de junio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/MicroEncapPulpAverroa>
  27. Adhikari B, Howes T, Bhandari B, Troung, V. Effect of addition of maltodextrin on drying kinetics and stickiness of sugar and acid-rich foods during convective drying: experiments and modeling. *Journal of Food Engineering*. 2004;62 (1), 53-68.[revista en internet] 2004. [citado el 21 de junio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/EffectAdicMaltodextrin>
  28. Alvarez Orello R, Veliz Espiritu J. Microencapsulación del extracto de betanina del *Beta vulgaris* por atomización y evaluación de sus propiedades funcionales como colorante natural. [Tesis en internet]. Tarma. Facultad de Ciencias Aplicadas. Universidad Nacional del Centro del Perú; 2015. [citado el 21 de junio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/MicroecapExtracBetanina>
  29. Villacrez Yopez J. Desarrollo de microencapsulados por spray drying a partir de frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth). [tesis]. Bogotá. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia; 2015.
  30. Infante Oriundo N. Desarrollo de una crema elaborada a base del extracto atomizado de las vainas de *Caesalpinia spinosa* Molina kuntze “tara” [tesis]. Ayacucho. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2015.
  31. García Gutierrez C, González Maldonado M, Ochoa Martinez L, Medrano Roldan H. Microencapsulación del Jugo de cebada verde mediante secado por Aspersión. [tesis]. México. Instituto Tecnológico de Durango. Unidad Durango; [citado el 21 de junio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/MicroencapJugCebadaVerde>; 2004.
  32. Lock Sing O. Colorantes naturales Rev.PUCP.Edit, [revista en internet]. 1997;174 p [citado el 06 de julio del 2019] 1997. Disponible en <http://bit.ly/ColorantesNaturales>
  33. Gómez Salguero D. Determinación de la capacidad antioxidante del aceite de híbrido de palma en diferentes estados de maduración [Tesis en Internet] Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana; 2009. [citado el 06 de julio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/DeterCapAntioxAceiPalma>
  34. Figueroa R, Tamayo J, González S, Moreno G, Vargas L. Actividad antioxidante de antocianinas presentes en cascara de pitahaya (*Hylocersus undatus*). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*; 12(1) [revista en internet] 2011 [citado el 6 de julio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/ActAntioxAntocCascPitah>
  35. Souza M, Silva R, Vieira J, Ayres M, Costa C y Araujo D. Fenoles totales y actividad antioxidante en cinco plantas medicinales Rev.Bras.Nut [revista en internet] 2007 [citado el 06 de julio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/FenolTotalActAntiox5Plant>
  36. Gómez MM. Introducción a la metodología de la investigación científica [Internet]. 1º Edición. Argentina: Editorial brujas; 2006. 194 p. Disponible en <http://bit.ly/IntroducMetodolCientifica>
  37. Hernández Sampieri R, Fernández C, Bautista L. Metodología de la investigación [Internet]. 2010 [citado el 6 de julio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/MetodollInvestigacion>

38. Gorriti A. Extracción de antocianinas de las corontas de *Zea mays* L. "maíz morado" Rev.Cien,Inv [revista en internet] 2009 [citado el 15 de julio del 2019].12(2);64-74 Disponible en <http://bit.ly/ExracAntocZeaMays>
39. Urueta P. Calidad de frutos de Guayaba (*Psidium guajava*) en estado verde de maduración almacenados en frigorífico efecto del choque térmico y calcio en postcosecha Q.F.B. UMSNH [revista en internet] 2004 [citado el 15 de julio del 2019] 13(2);54-64. Disponible en <http://bit.ly/CaliddeFrutGuayaba>
40. Laguado N, Arenas L, Castro C. Relationship among ripen indexes of guava (*Psidium guajava* L.) Var.Dominicana Roja fruits. Rev.Ind.Dom [revista en internet] 1998 [citado el 15 de julio del 2019] p. 422-428. Disponible en <http://bit.ly/RelatAmongRipenofGuava>
41. Andrew R, De Simone. F, Pizza. C, Conti C. y Stein M. Plants metabolites, Structure and in vw-0 antrat activity af quinovic acid glicosydes from *Uncaria tomentosa* and *Guetan:la playpoda*. Journal of natural products.[revista en internet] 1989 [citado el 15 de julio del 2019] 52: 679-685. Disponible en <http://bit.ly/plantsMetabStruct>
42. Zapata L. Optimización de la extracción de antocianinas de Arándanos Ciencia Tecnología y Docencia [revista en internet] 25(49);166-192. [citado el 15 de julio del 2019] 2014. Disponible en <http://bit.ly/OptimizExracAntocArand>
43. Bakowska-Barczaka A, Kolodziejczyk P. Black currant polyphenols Their storage atability and microencapsulation, Industial Crops and Products [revista en internet] 34; 1301-1309 [citado el 15 de Julio del 2019] 2011. Disponible en <http://bit.ly/BlackCurrantPolyfen>
44. Dziezak J. Microencapsulation y encapsulation ingredients Food Technol [revista en internet] 42; 136-151 [citado el 15 de Julio del 2019] 1998. Disponible en <http://bit.ly/MicroencapFoodTechn>
45. Yañez J, Salazar J, Chaires L, Jimenez J, Marquez M, Ramos E. Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulacion. Revista avance y perspectiva [revista en internet] 21:313-319 [citado el 15 de julio del 2019] 2002. Disponible en <http://bit.ly/AplicBiotecMicroencap>
46. Arrazola G, Herazo H, Alvis A. Microencapsulación de antocianinas de Berenjena (*Solanum melongena* L) mediante secado por aspersion y evaluación de la estabilidad de su color y capacidad antioxidante Rev. Tec [revista en internet] 25(3), 31-43, 2014 [citado el 15 de junio del 2019]; 2014. Disponible en <http://bit.ly/MicroencapAntBerenjena>
47. Njemenak N, Rohsius C, Elwers S, Omokolo D, Ueberei R. Comparative study .of different cocoa (*Theobroma cacao* L) clones *in terms* .of their .phenotics and anthocyanins contents. Joumat of foodcomposition and analysis.(revista en internet) 19: 612- 19.[citado el 16 de Julio del 2019] 2006. Disponible en <http://bit.ly/CompStudofDifferCocoa>
48. Thomas M. The role of free radicals and antioxidant nutrition Rev.Bio [revista en internet] volume 16. numbers 718 [citado el 16 de Julio del 2019] 2000. Disponible en <http://bit.ly/RadicalsandAntiox>
49. Magalhaes L, Segundo M, Reis S, Lima J. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. Anal. Chim.Acta 613, 1-19. [revista en internet] [citado el 16 de Julio del 2019] 2008. Disponible en <http://bit.ly/MetodAspectAntiox>
50. Oliveira Bardales G. Capacidad antioxidante de *Averrhoa carambola* L. (carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres [Tesis en internet] Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Medicina Humana; 2012 [citado el 16 de julio del 2019]. Disponible en <http://bit.ly/CapAntioxAverrCaramb>

51. Muedas G, La Rosa A, Robles J. Evaluación electroquímica de la actividad antioxidante del extracto alcohólico de la *Bauhinia guianensis* var. *Kuntiana* Aubl. Revista de la Sociedad Química del Perú [revista en internet] 74(4), 233-246 [citado el 16 de julio del 2019] 2008. Disponible en <http://bit.ly/EvalElectroqBauhinia>
52. Almeyda R.W. Fenoles totales y actividad antioxidante del extracto atomizado de las hojas de *Calceolaria engleriana* Kraenzl "wawillay", Ayacucho 2017. [tesis]. [Ayacucho]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2017.
53. Mathias, K. Estabilidad de pigmentos naturales, polifenoles y actividad antioxidante del jugo de murta (*ugni molinae* Turcz). Tesis de Magister Cs. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 25 p. 2014.
54. Andrés, C. Determinación de Polifenoles Totales, Actividad Antioxidante y Antocianinas de Jugo de Murtilla (*Ugni molinae* Turcz) Obtenido por Condensación de Vapor. [tesis] [Chile]: Universidad Austral de Chile Facultad de Ciencias Agrarias Escuela de Ingeniería en Alimentos; 2015



## **ANEXOS**



**Anexo 1.** Certificado de la clasificación taxonómica de *Berberis lutea* "tankar".

 VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO	 UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO <b>MUSEO DE HISTORIA NATURAL</b>	 100 años Museo de Historia Natural UNMSM
--	--	---

---

**"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"**

**CONSTANCIA N° 150-USM-2018**

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (rama fértil) recibido del Centro de Desarrollo y Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos "Marco Garrido Malo", de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, Facultad de Farmacia y Bioquímica; ha sido estudiada y clasificada como: ***Berberis lutea*** Ruiz & Pav. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: MAGNOLIIDAE**

**ORDEN: RANUNCULALES**

**FAMILIA: BERBERIDACEAE**

**GENERO: *Berberis***

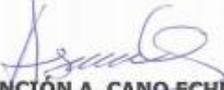
**ESPECIE: *Berberis lutea*** Ruiz & Pav.

Nombre vulgar: "Tankar"  
Determinado por Mag. Asunción A. Cano Echevarría

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que considere pertinente.

Lima, 26 de abril de 2018

ACE/ddb

  
  
**Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA**  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

**Anexo 2.** Certificado de la clasificación taxonómica de *Berberis flexuosa* "ayrampu".

	<b>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS</b> Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA VICERECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO <b>MUSEO DE HISTORIA NATURAL</b>	
---	---	---

---

**"Año del Buen Servicio al Ciudadano"**

**CONSTANCIA N° 183-USM-2017**

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (rama estéril) recibida del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos "Marco Antonio Garrido Malo", de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; ha sido estudiada y clasificada como: ***Berberis flexuosa* R. & P.**, y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: MAGNOLIIDAE**

**ORDEN: RANUNCULALES**

**FAMILIA: BERBERIDACEAE**

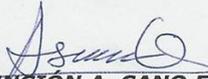
**GENERO: *Berberis***

**ESPECIE: *Berberis flexuosa* R. & P.**

Determinado por Blgo. Severo Baldeón Malpartida.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que considere pertinente.

Lima, 11 de setiembre de 2015

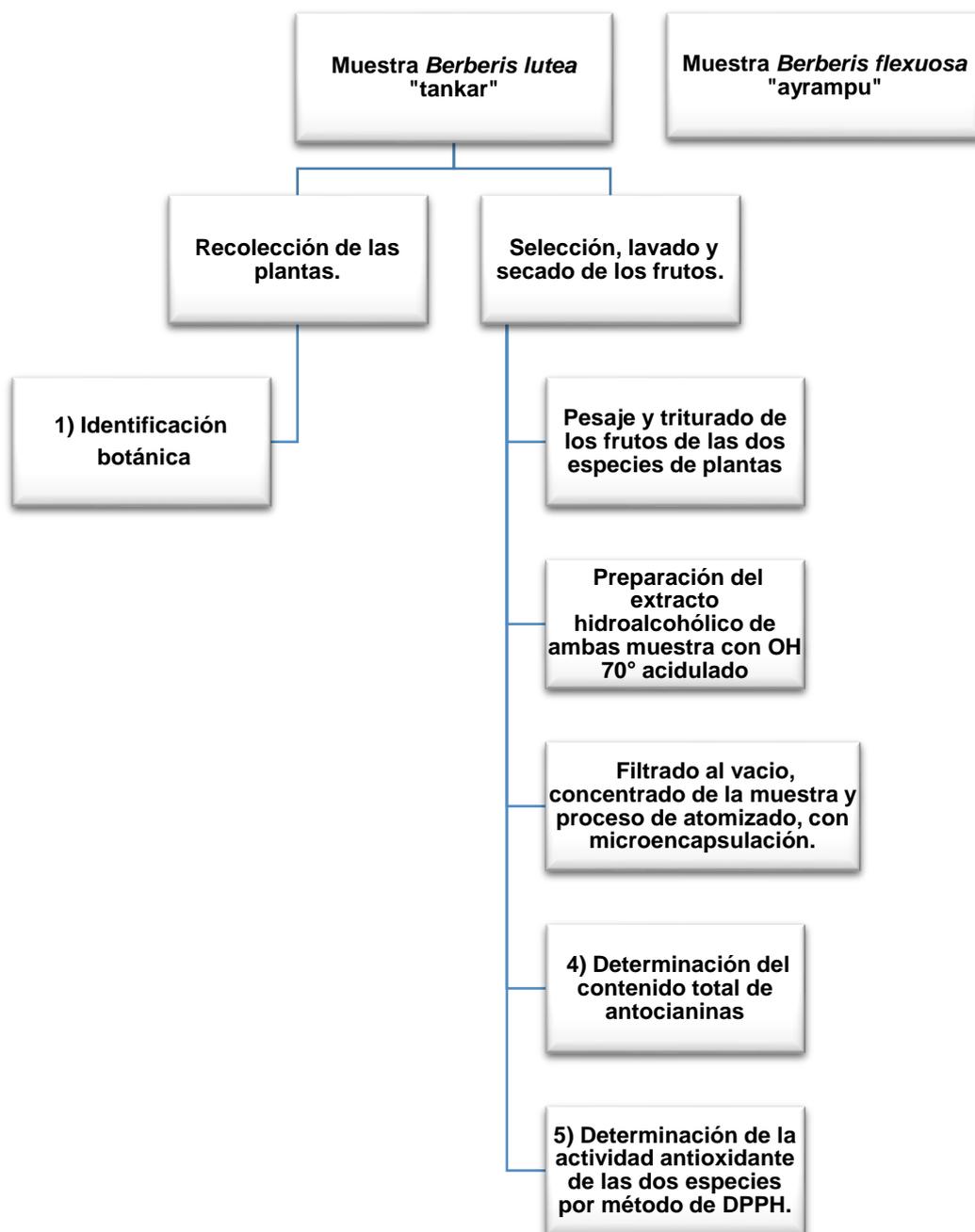
  
**Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA**  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



ACE/dab

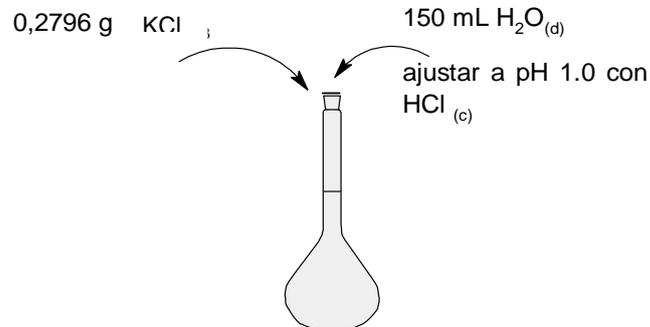
**Anexo 3.** Flujograma del procedimiento experimental del extracto atomizado de las dos especies del género *Berberis*. Ayacucho, 2018.

Diagrama del protocolo de procedimientos

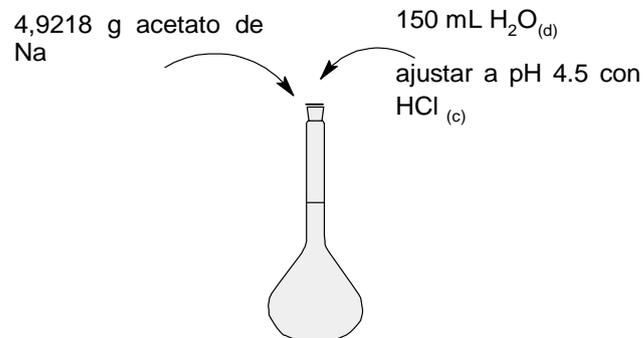


**Anexo 4.** Metodología para la cuantificación de antocianinas totales por el método de pH diferencial

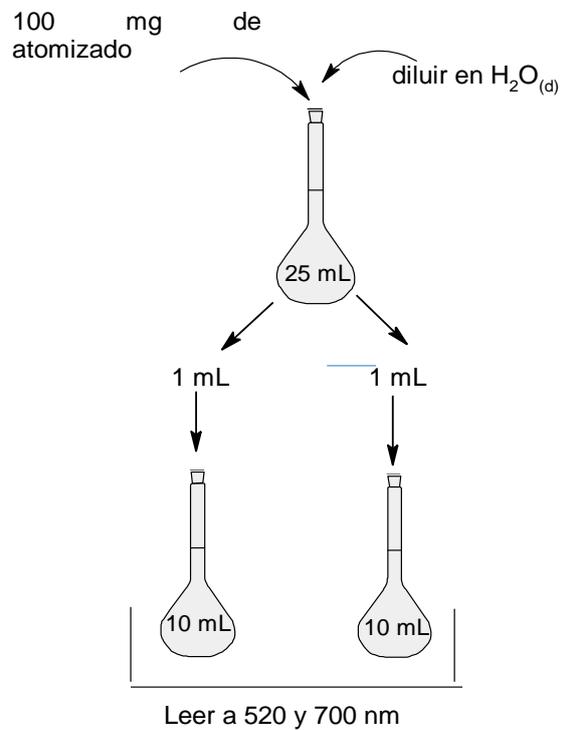
Preparación del Buffer pH= 1.0



Preparación del Buffer pH= 4.5



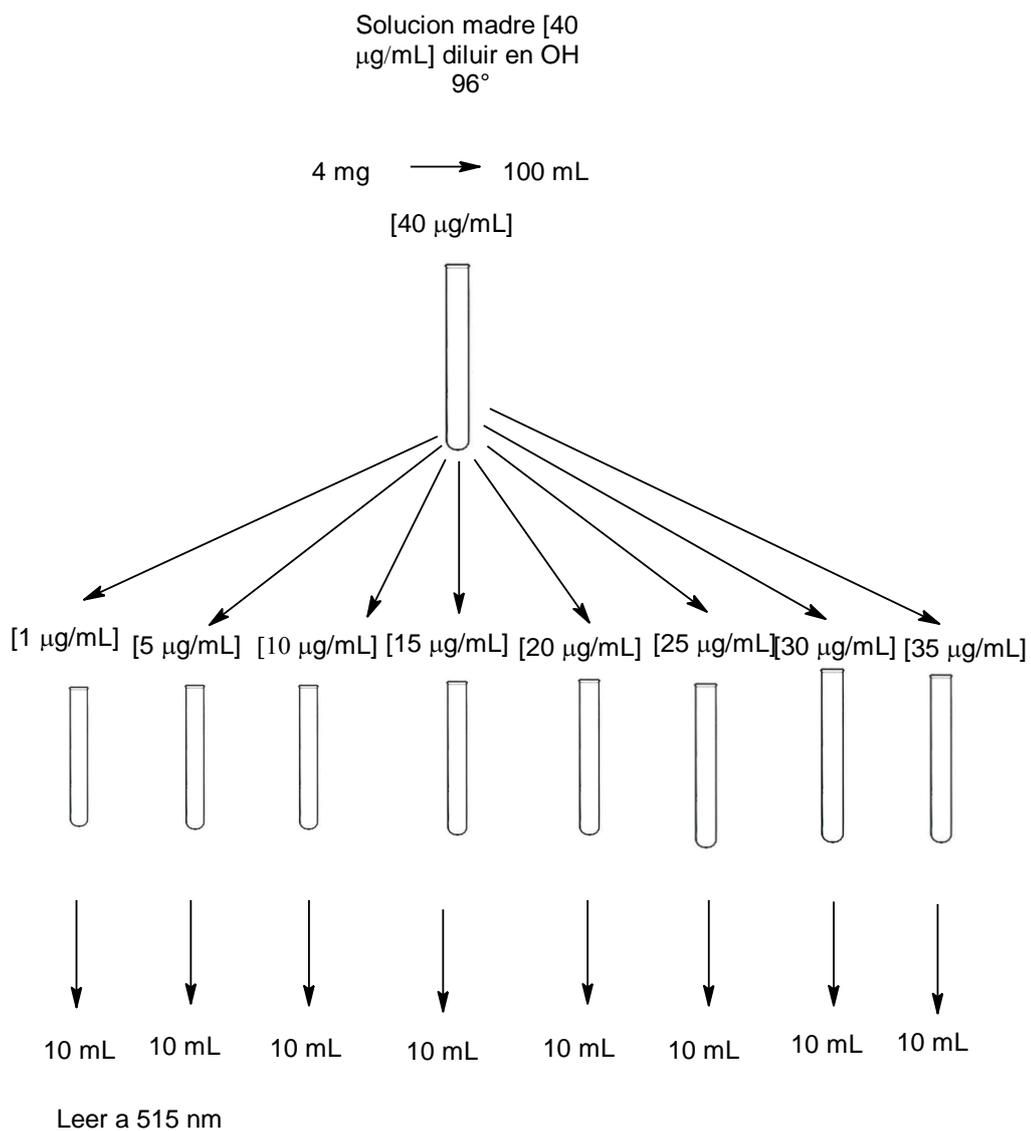
Extracción de antocianinas



**Anexo 5.** Protocolo para la determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis*.

**Método DPPH**

**Curva de calibración en DPPH**



**Anexo 6.** Procedimiento para la obtención del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis*. Ayacucho, 2018.



Recolección y secado de las muestras



Se pesó, 23,5034g de fruto de *B. lutea* y 23,5097g de *B. flexuosa*



Se procedió a filtrar con el uso de la bomba al vacío, se concentró el extracto con la ayuda evaporación en baño maría con una temperatura de 40 °C.



Se diluyó con 300 mL de OH 70° acidulado con HCl<sub>(c)</sub> a pH 3,23, se agitó durante 30 minutos y se maceró durante 24 horas a temperatura ambiente fuera de la luz

**Anexo 7.** Procedimiento para la obtención de un polvo fino por medio del secado por aspersión, del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis*. Ayacucho, 2018.



Se preparó maltodextrina al 2% para proceder al microencapsulado de las muestras



Equipo atomizador BUCHI Mini Spray Driver B290 del Centro de Desarrollo Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Ftomedicamentos



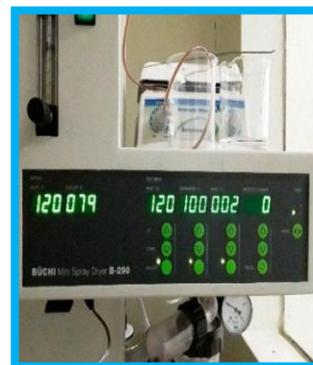
Se procede a atomizar las muestras microencapsuladas con los parámetros según metodología



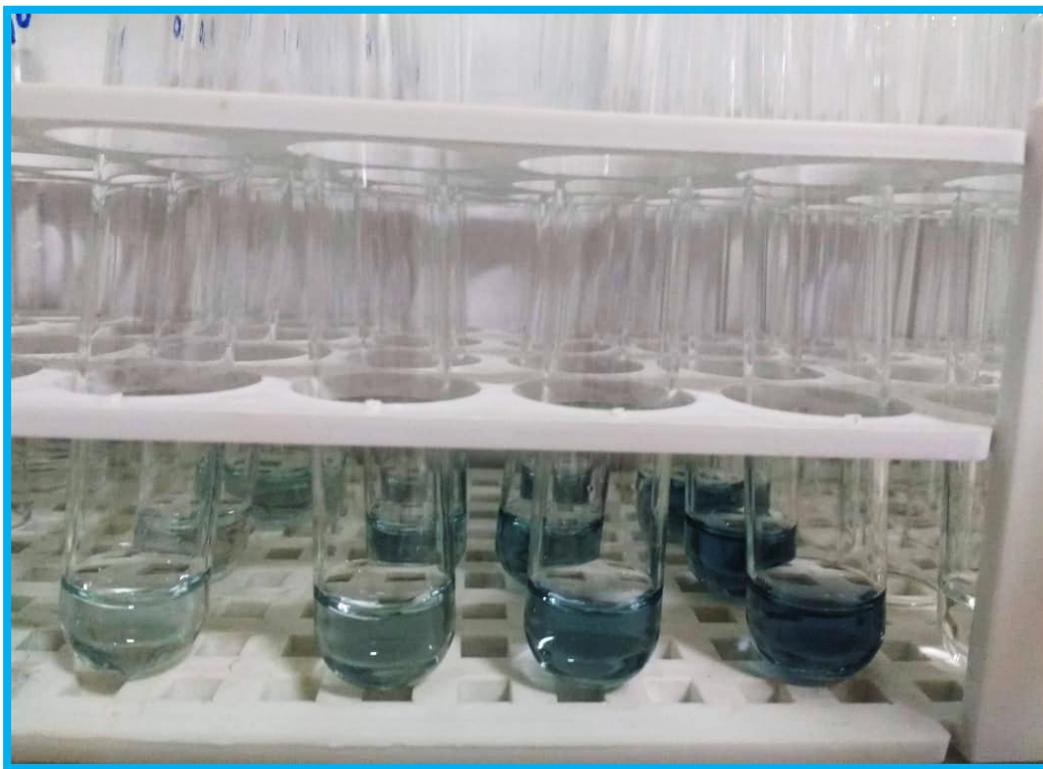
Los extractos atomizados se colocaron en tubos de vidrio transparentes con tapa hermética y fueron pesados en una balanza analítica



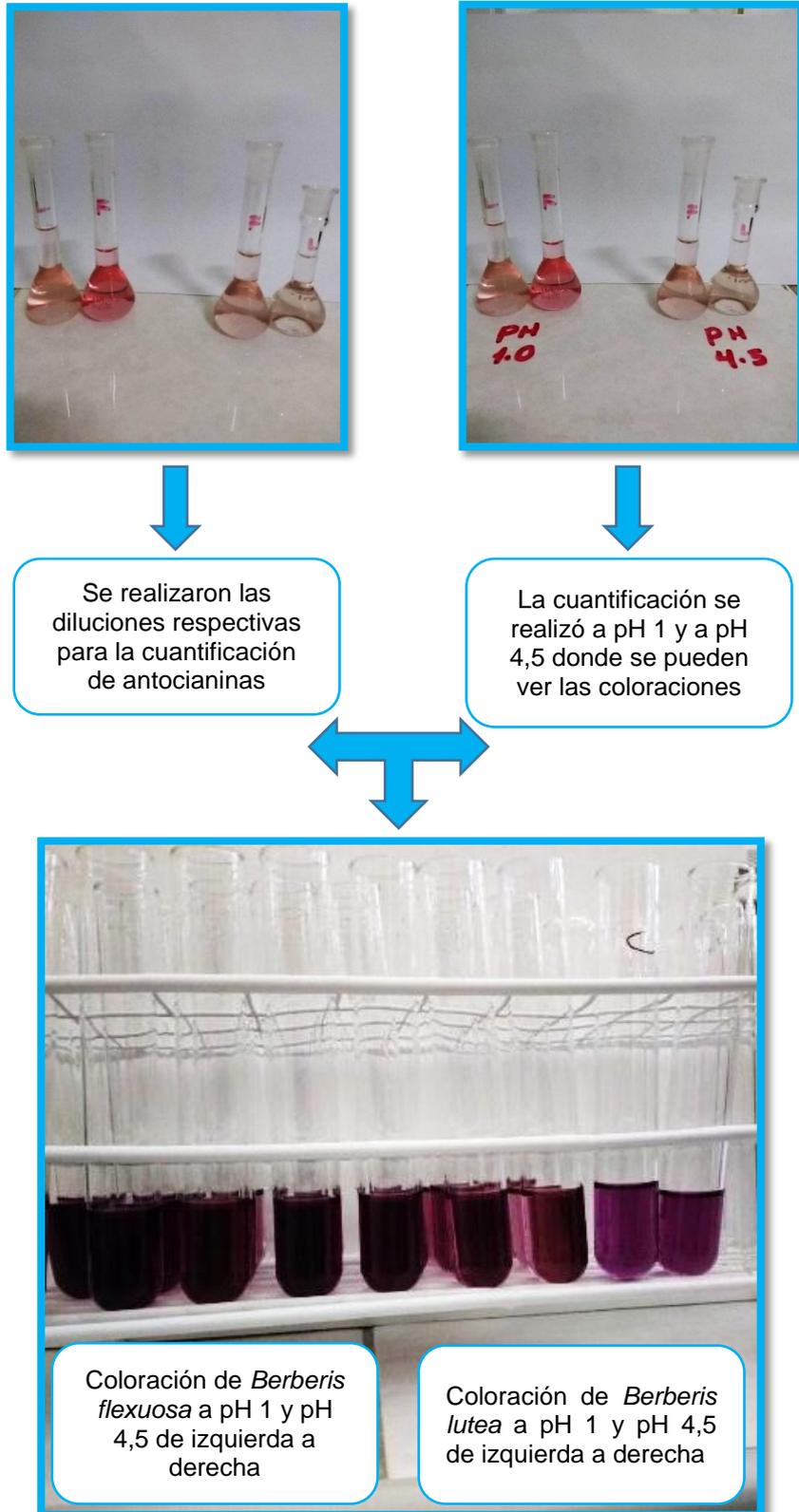
Las muestras se atomizaron durante 1 hora y se obtuvo un polvo fino.



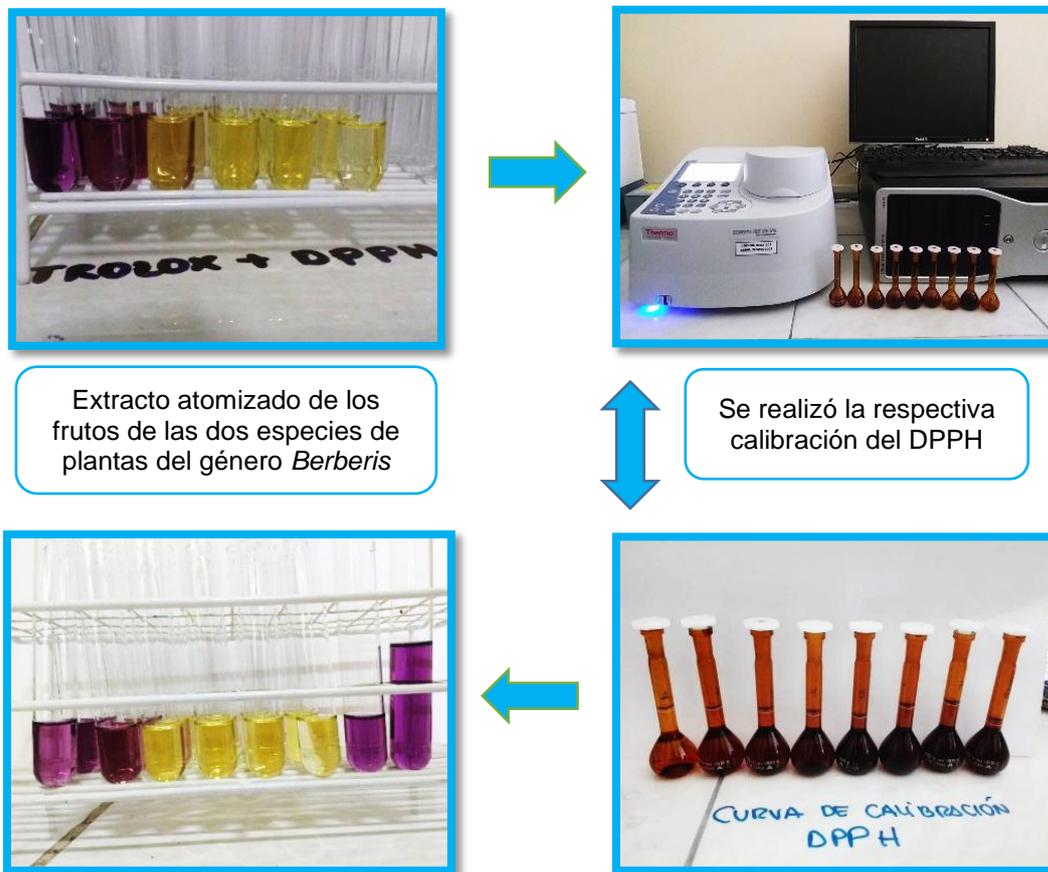
**Anexo 8.** Cuantificación de fenoles totales del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis*. Ayacucho, 2018.



**Anexo 9.** Cuantificación del contenido total de antocianinas del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis*. Ayacucho, 2018.



**Anexo 10.** Determinación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis*. Ayacucho, 2018.



<i>Berberis flexuosa</i>						
E.A. [ $\mu\text{g/ml}$ ]	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	0,51	0,04	8,83	0,11	0,62	0,40
50	1,79	0,20	11,45	0,98	2,77	0,81
100	4,39	0,04	1,03	0,11	4,50	4,27
150	5,57	0,15	2,81	0,39	5,96	5,18
200	9,86	0,25	2,55	0,63	10,49	9,24
250	12,07	0,12	0,99	0,30	12,37	11,77

<i>Berberis lutea</i>						
E.A. [ $\mu\text{g/ml}$ ]	%AA	S	%CV	+/-	LS	LI
25	0,32	0,04	12,50	0,30	0,62	0,02
50	1,54	0,19	12,66	0,68	2,21	0,86
100	4,58	0,04	0,98	0,11	4,70	4,47
150	5,77	0,27	4,71	0,68	6,44	5,09
200	6,35	0,31	4,94	0,78	7,13	5,57
250	8,37	0,15	1,87	0,39	8,76	7,98

**Anexo 11.** Análisis de varianza de la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género *Berberis*. Ayacucho, 2018.

	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Entre grupos	23062,7	8,0	2882,8	64923,4	$1,58 \times 10^{-38}$
Dentro de grupos	0,8	18,0	0,0		
<b>Total</b>	<b>23063,5</b>	<b>26</b>			

Si: sig<0,05; por lo menos uno de los tratamientos es diferente al resto

**Anexo 12.** Comparaciones múltiples de Duncan de las medias de actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto atomizado de los frutos de las especies del género *Berberis*. Ayacucho, 2018.

Tratamiento	N	Subconjuntos			Subconjuntos		
		homogéneos %AA			homogéneos %AA		
		1	2	3	4	5	6
<i>B_lutea</i> 25 µg/mL	3	0,32					
<i>B_flexuosa</i> 25 µg/mL	3	0,5					
<i>B_lutea</i> 50 µg/mL	3		1,54				
<i>B_flexuosa</i> 50 µg/mL	3		1,79				
<i>B_flexuosa</i> 100 µg/mL	3			4,39			
<i>B_lutea</i> 100 µg/mL	3			4,59			
Trolox 25 µg/mL	3				19,42		
Trolox 50 µg/mL	3					45,70	
Trolox 100 µg/mL	3						91,54
Sig.		0,276	0,158	0,260	1,000	1,000	1,000

### Anexo 13. Matriz de consistencia

**TÍTULO:** Cuantificación del contenido total de Antocianinas y la capacidad antioxidante en dos especies de plantas del género *Berberis*, del distrito de Vinchos - Ayacucho 2018.

**Personal investigador:** Bach. Katherine Maritza Alfaro Ayvar.

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	MARCO TEÓRICO	VARIABLES	METODOLOGÍA
Cuantificación del contenido total de antocianinas y capacidad antioxidante en dos especies del género <i>Berberis</i> , del distrito de Vinchos - Ayacucho 2018	¿Cuánto es el contenido total de antocianinas de las dos especies del género <i>Berberis</i> ? ¿Cuánto es la capacidad antioxidante de las dos especies del género <i>Berberis</i> ?	<b>GENERAL</b> Determinar el contenido total de antocianinas y la capacidad antioxidante de las dos especies de plantas del género <i>Berberis</i> . <b>ESPECIFICOS</b> Determinar el contenido total de antocianinas presentes en el extracto atomizado de los frutos de las dos especies de plantas del género <i>Berberis</i> . Determinar la capacidad antioxidante del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género <i>Berberis</i> . Determinar las características fisicoquímicas del extracto atomizado de los frutos de las dos especies del género <i>Berberis</i> .	Hi: El extracto atomizado de los frutos de las dos plantas del género <i>Berberis</i> contiene antocianinas totales. Hi: El extracto atomizado de los frutos de las dos plantas del género <i>Berberis</i> posee capacidad antioxidante Ho: El extracto atomizado de los frutos de las dos plantas del género <i>Berberis</i> no contiene antocianinas totales. Ho: El extracto atomizado de los frutos de las dos plantas del género <i>Berberis</i> no posee capacidad antioxidante.	<b>Aspectos Botánicos:</b> Familia Berberidaceae Clasificación taxonómica, Descripción Botánica, Composición Química, Actividades Biológicas. ANTOCIANINAS: Las antocianinas pertenecen a un gran y muy distribuido grupo de metabolitos secundarios, que se conocen colectivamente como flavonoides.	<b>Variables de interés 1:</b> Extracto atomizado del fruto de la <i>Berberis flexuosa</i> y <i>lútea</i> . <b>Indicador</b> Concentración del extracto atomizado <b>Variables de interés 2:</b> Contenido total de antocianinas del extracto atomizado del fruto de <i>Berberis lutea</i> y <i>Berberis flexuosa</i> . <b>Indicador:</b> Porcentaje de capacidad antioxidante.	<b>Tipo de investigación</b> : Básico - descriptivo <b>Diseño Experimental:</b> <b>Población:</b> <i>Berberis lutea</i> "tankar", <i>Berberis flexuosa</i> "ayrampu". <b>Muestra:</b> Frutos, hojas y tallos de <i>Berberis lutea</i> "tankar", <i>Berberis flexuosa</i> "ayrampu", en cantidades aproximadamente de 4 g. <b>Unidad experimental:</b> Extracto atomizado de los frutos de las dos especies de plantas del género <i>Berberis</i> . Análisis estadístico: Análisis de varianza (ANOVA), con un nivel de probabilidad del 95 % ( $\alpha = 0.05$ ).