

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA
EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ANTOCIANINAS
DEL PUSHGAY (*Vaccinium floribundum* HBK) EN ALMÍBAR
DURANTE SU ALMACENAMIENTO A TEMPERATURA
AMBIENTE Y EN REFRIGERACIÓN

PRESENTADA POR LA BACHILLER:
ROSA IRENE GONZÁLES ESQUÉN

ASESOR

MCs. Ing. David Ricardo Uriol Valverde

CAJAMARCA – PERÚ
2017

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico a mis padres por su paciencia, comprensión y apoyo para salir adelante, a mis hermanos Ruth y Divar por estar siempre presentes, a Isaías por ser una persona excepcional quien me ha brindado su apoyo incondicional. A mi familia y amigos en general por sus buenos deseos.

AGRADECIMIENTO

A Dios por protegerme en todo momento, por demostrarme que hay nuevos comienzos y por poner siempre en mi camino a gente tan especial que viven eternamente en mi corazón.

A mis padres y hermanos porque aprendí que la familia es una bendición. Los quiero a todos.

Mi gratitud con el Ing. David Ricardo Uriol Valverde, por brindarme su amistad, consejos y el asesoramiento en la conducción de la tesis. Gracias por sus enseñanzas y el tiempo que me brindó.

Al Dr. Juan Francisco Seminario Cunha, por brindarme su amistad y apoyo en la realización de la tesis, infinitas gracias por su valioso esfuerzo.

A Isaías, gracias por tu tiempo para la realización de la tesis. Nunca olvidaré tu apoyo incondicional en los momentos difíciles. Bendiciones para ti.

A todos mis profesores de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias, por las enseñanzas y apoyo mil gracias.

A mis amigos, compañeros y demás personas que de manera indirecta o directa apoyaron en la realización de este proyecto. Gracias por sus buenos deseos para conmigo. Porque al final solo los buenos amigos quedan.

A mi casa superior de estudios la Universidad Nacional de Cajamarca, por haberme formado profesionalmente.

LA AUTORA

ÍNDICE

RESUMEN	5
ABSTRACT	6
CAPÍTULO I	7
INTRODUCCIÓN	7
1.1. Problema de investigación.....	8
1.2. Formulación del problema	8
1.3. Objetivo de la investigación	8
1.3.1. Objetivos específicos.....	8
1.4. Hipótesis de la investigación	8
CAPÍTULO II	9
REVISIÓN DE LITERATURA	9
2.1. Antecedentes	9
2.2. Pushgay	10
2.3. Frutas en almíbar.....	14
2.4. Antocianinas.....	15
2.4.1. Definición	15
2.4.2. Estructura química.....	15
2.4.3. Biosíntesis de las antocianinas	19
2.4.4. Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas	23
2.4.5. Importancia de las antocianinas en la alimentación	25
CAPÍTULO III	27
MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1. Ubicación geográfica del trabajo de investigación.....	27
3.2. Materiales.....	27
3.2.1. Material biológico	27
3.2.2. Materiales, equipos y reactivos	27
3.3. Metodología	29
3.3.1. Procesamiento	29

3.3.2. Trabajo de laboratorio	32
3.3.3. Trabajo de gabinete	35
CAPÍTULO IV.....	37
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
4.1. Antocianinas totales durante el almacenamiento	37
4.2. Evaluación fisicoquímica	43
4.2.1. Fruto del pushgay	43
4.2.2. Pushgay en almíbar.....	43
CAPÍTULO V.....	44
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	44
5.1. Conclusiones.....	44
5.2. Recomendaciones	44
CAPÍTULO VI.....	45
BIBLIOGRAFÍA.....	45
ANEXOS	51
1. Procesamiento del pushgay en almíbar	51
2. Análisis en laboratorio	53
3. Lectura de la absorbancia	57
GLOSARIO	59

RESUMEN

En la presente investigación se evaluó la concentración de antocianinas totales del pushgay (*Vaccinium floribundum* HBK) en almíbar durante (0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 y 70 días, respectivamente) y almacenados a dos temperaturas (ambiente a 20 °C y en refrigeración a 5 °C). Se aplicó el método del pH diferencial, se evaluó los sólidos solubles (°Brix) y el potencial de hidrogeno (pH). Los resultados fueron evaluados mediante análisis de varianza y una prueba de comparación de rango múltiple (Duncan) con nivel de confianza del 95 %. El almacenamiento a temperatura ambiente (20 °C) a los 7 días incremento la concentración de antocianinas totales (245,68 mg cianidina-3-glucósido por 100 g de fruto de pushgay) en 116 % respecto al testigo. Mientras que el almacenamiento en refrigeración, produjo incremento de antocianinas totales a los 14 días (225,23 mg cianidina-3-glucósido por 100 g de fruto de pushgay) en 98 % respecto al testigo. Se observó que las concentraciones de antocianinas totales almacenadas en refrigeración son mayores que las almacenadas a temperatura ambiente. Esta investigación permite vislumbrar datos muy importantes para la industria alimentaria, los cuales sirven para poder conservar y potenciar la industrialización del fruto, ayudando a mejorar su aprovechamiento en la dieta alimenticia.

PALABRAS CLAVES: Antocianinas totales, *Vaccinium floribundum* HBK, Industria alimentaria.

ABSTRACT

In the present investigation, the total anthocyanin concentration of pushgay (*Vaccinium floribundum* HBK) in syrup was evaluated for (0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 and 70 days, respectively) and stored at two temperatures (ambient at 20 °C and cooling at 5 °C). The differential pH method was applied, soluble solids (° Brix) and hydrogen potential (pH) were evaluated. The results were evaluated by analysis of variance and a multiple range comparison test (Duncan) with 95 % confidence level. Storage at room temperature (20 °C) at 7 days increased the concentration of total anthocyanins (245,68 mg cyanidin-3-glucoside per 100 g of pushgay fruit) by 116 % with respect to the control. While refrigeration storage produced an increase in total anthocyanins at 14 days (225,23 mg cyanidin-3-glucoside per 100 g of pushgay fruit) in 98 % of the control. It was observed that the concentrations of total anthocyanins stored under refrigeration are higher than those stored at room temperature. This research allows to glimpse data very important for the food industry, which serve to be able to conserve and to promote the industrialization of the fruit, helping to improve its use in the alimentary diet.

KEY WORDS: Total anthocyanins, *Vaccinium floribundum* HBK, Food industry.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El interés por los pigmentos antociánicos se ha incrementado en los últimos años, debido a su probable papel en la reducción de enfermedades coronarias, cáncer, diabetes; a sus efectos antiinflamatorios, mejoramiento de la agudeza visual y el comportamiento cognitivo. Las antocianinas son agentes potenciales en la obtención de productos con valor agregado para el consumo humano (alimento funcional). Las ventajas que ofrecen las antocianinas como sustitutos de los colorantes artificiales, tienen su contraparte porque algunos factores de la estabilidad y extracción limitan su aplicación comercial (Durst y Wrolstad 2005).

Las frutas fuertemente coloreadas con un alto nivel de antocianinas, tales como la grosella negra, frutas tipo bayas como pushgay (*Vaccinium floribundum*), sauco (*Sambucus peruvianus*), arándanos (*Vaccinium corymbosum*), mora andina (*Rubus glaucus Benth*), etc., poseen alta capacidad antioxidante, la que es evaluada y comparada con el contenido total de compuestos fenólicos y de antocianinas (Márquez *et al.* 2007).

De acuerdo con Tapia y Fries (2007), muchos de los frutales que hoy en día se cultivan en la zona andina, se conservan en forma silvestre. Así se encuentra el fruto del pushgay en áreas comunales de bosquetes, en la zona agroecológica quechua alta y jalca.

En la región Cajamarca no existen trabajos de investigación relacionados con el estudio de antocianinas totales en productos elaborados a base de pushgay. Por otra parte, el tiempo y temperatura de almacenamiento son dos factores que podrían incidir en la concentración de estos pigmentos.

Por ello se realizó la presente investigación como finalidad evaluar la concentración de antocianinas totales del pushgay (*Vaccinium floribundum* HBK) en almíbar durante su almacenamiento a temperatura ambiente y en refrigeración. Para este propósito se usó el método del pH diferencial (Durst y Wrolstad 2005).

1.1. Problema de investigación

Cajamarca y muchos otros lugares del Perú, cuenta con diversos pisos ecológicos, en donde desde tiempos pre-hispánicos se desarrollan innumerables especies alimenticias que no han sido aprovechadas debidamente a pesar de su importancia para la alimentación, nutrición y salud, inclusive pueden constituirse en potenciales rubros de agro exportación no tradicional.

El pushgay (*Vaccinium floribundum* HBK) es un fruto silvestre muy poco estudiado, por ello se realizó la presente investigación que está orientada a determinar el efecto del tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente y en refrigeración en la concentración de antocianinas totales del pushgay en almíbar.

1.2. Formulación del problema

¿Cuál es el efecto del tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente y en refrigeración en la concentración de antocianinas totales del pushgay en almíbar?

1.3. Objetivo de la investigación

Determinar el efecto del tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente y en refrigeración sobre la concentración de antocianinas totales del pushgay en almíbar.

1.3.1. Objetivos específicos

- Determinar la concentración de antocianinas totales del pushgay (*Vaccinium floribundum* HBK) en almíbar almacenado a temperatura ambiente a intervalos de siete días durante diez semanas.
- Determinar la concentración de antocianinas totales del pushgay (*Vaccinium floribundum* HBK) en almíbar almacenado en refrigeración a intervalos de siete días durante diez semanas.
- Determinar los grados Brix y pH del pushgay en almíbar.

1.4. Hipótesis de la investigación

La concentración de antocianinas totales del pushgay en almíbar almacenado a temperatura ambiente y en refrigeración disminuye con el tiempo de almacenamiento.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Antecedentes

La investigación realizada por Valle *et al.* (2011) en “Evaluación de la estabilidad de antocianinas durante el almacenamiento de zanahoria púrpura (*Daucus carota*)” tuvo como objetivo evaluar la estabilidad de antocianinas durante el almacenamiento de zanahoria púrpura (*Daucus carota*) de la variedad Índigo winter, en estado de madurez fisiológica, se seleccionó, clasificó uniformemente y se empacó en grupos de tres: polietileno de baja densidad, polipropileno de baja densidad y sin empaque; luego fueron almacenadas a temperaturas de ambiente (20 °C), 5 °C y 10 °C. por un periodo de almacenamiento de 11 días. La variable dependiente evaluada fue la tasa de conservación de antocianinas. La zanahoria púrpura empacada en bolsa de polietileno de baja densidad y almacenada a 5 °C, conservó mejor las antocianinas (97,03 %); en comparación de la zanahoria no empacada y almacenada a temperatura ambiente (94 %).

Se realizó una investigación en “Evaluación de antocianinas de la zarzamora (*Rubus eubatus*) en fruta y en conserva” el objetivo de este trabajo fue investigar y comparar el contenido de antocianinas totales en la zarzamora y en el producto elaborado, fue transportada en cajas de plástico de las parcelas hasta el laboratorio. Se evaluó las antocianinas totales en el espectrofotómetro (longitud de onda 520-700 nm). Los resultados del producto elaborado, mermelada (MSS), fueron pH de 4,30; 65 °Brix y acidez total de 0,33 % (expresada como ácido oxálico); además, empleando el mismo método en la cuantificación de antocianinas para fruta, se compararon los resultados con dos mermeladas comerciales (MCN y MCA). Los resultados de cada uno de los tratamientos se evaluaron mediante el análisis de varianza ($P \leq 0,05$), utilizando el paquete estadístico Statgraphics. El contenido de antocianinas monoméricas expresadas como cianidina-3-glucósido y como pelargonidina-3-glucósido no disminuye significativamente con respecto al procesamiento térmico (Rodríguez *et al.* 2010).

2.2. Pushgay

Pertenece al orden Ericales, familia Ericaceae, género *Vaccinium*, especie *floribundum* y su nombre científico es *Vaccinium floribundum* HBK (Brako y Zarucchi 1993; Noboa 2010).

El género *Vaccinium* contiene cerca de 450 especies. La especie *floribundum* es emparentada al *corymbosum* que es el arándano (Figura 1), por ello se le conoce al pushgay como arándano peruano (Gutiérrez 2015).

El pushgay es un fruto silvestre que se caracteriza por ser un arbusto rastrero, presenta abundantes ramas, sus hojas son pequeñas y redondas, sus flores son de color blanco al inicio y se tornan moradas cuando empieza la fructificación. Sus frutos son bayas pequeñas, redondas que están dispuestas en racimos, son de color azul-violáceo y su jugo es de color púrpura. Su hábitat es la franja intermedia o de transición entre las zonas agroecológicas quechua alta y jalca, en la sierra norte, en altitudes que van desde los 2 350 a los 3 500 msnm; hasta ahora se ha identificado su presencia únicamente en las provincias de Chota, Bambamarca, Cajamarca, Celendín y San Marcos del departamento de Cajamarca, Perú. Hay indicios de que podría haber grupos de plantas similares, al estado silvestre, en otras partes del Perú. En Cajamarca también es conocido como uva de monte, uva del campo o simplemente uvitas. Se diferencian claramente hasta cuatro variedades comestibles: pushgay negro, pushgay colorado, pushgay menudo y pushgay blanco, los mismos que se caracterizan por el color de la piel, color de la pulpa y por el tamaño. Asimismo, existe una variedad que es tóxica y es conocida con el nombre de mío mío (Tapia y Fries 2007).

Los nombres vulgares con los cuales se conoce al pushgay en el Perú son: pirgay, macha macha, congama, uva de monte, uva del campo; en Colombia como agraz (Figura 2) y en Ecuador se le conoce como mortño (Figura 3), manzanilla de cerro, raspadura quemada, uva de los andes, uva de monte (Coba *et al.* 2012).

Composición nutricional de frutos emparentados al pushgay (*Vaccinium floribundum*).

- Arándano azul (*Vaccinium corymbosum*), crece en la zona Noreste de Estados Unidos en lo que se conoce como Nueva Inglaterra. Es un arbusto de aspecto vertical que mide hasta 1,8 m de altura. Se caracteriza por sus hojas caducas que adquieren un tono escarlata al llegar el otoño y con flores reunidas en inflorescencias péndulas de color rosa pálido (Botanical-Online).



Figura 1. Fruto del arándano azul (*Vaccinium corymbosum*)

Fuente: Tomado de la Revista Botanical-Online (1999-2017)

Tabla 1. Composición nutricional del arándano fresco por cada 100 g

Nutriente	Cantidad	Nutriente	Cantidad
Agua	84,21 g	Manganeso	0,34 mg
Calorías	60 kcal	Hierro	1 mg
Grasa	0,33 g	Zinc	0,16 mg
Proteína	0,74 g	Selenio	0,10 mg
Hidratos de carbono	14,49 g	Vitamina C	13 mg
Fibra	2,4 g	Vitamina B1 (Tiamina)	0,04 mg
Potasio	88 mg	Vitamina B2 (Riboflavina)	0,04 mg
Sodio	1 mg	Vitamina B6	0,05 mg
Fósforo	12 mg	Vitamina A	54 UI
Calcio	12 mg	Vitamina E	0,57 mg
Cobre	0,06 mg	Niacina	0,42 mg
Magnesio	6 mg	Folacina	6 mg

Fuente: Tomado de la Revista Botanical-Online (1999-2017)

- El agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz), son bayas globosas de 5 a 10 mm de diámetro, de color púrpura - oscuro en la madurez, su presencia se registra en Colombia entre las alturas comprendidas de 2 200 y 3 400 msnm. y es el único país del trópico que presenta dos cosechas al año de este fruto (Hoyos 1989).



Figura 2. Fruto de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz)

Fuente: Tomado de la Revista Agronegocios 2011

Tabla 2. Composición nutricional del agraz en 100 g de pulpa

Nutriente	Cantidad
Agua	80,4 g
Acido nicotínico	0,2 mg
Calcio	14 mg
Calorías	42 kcal
Fibra	1,7 g
Patotónico	12 mg
Potasio	72 mg
Proteína	0,3 g
Sodio	2 mg
Vitamina B1	0,014 mg
Vitamina B2	0,002 4 mg
Vitamina B6	0,012 mg
Vitamina C	12 mg

Fuente: Adaptado de la Revista Agronegocios 2011

- El mortiño tiene como nombre científico *Vaccinium floribundum*, sinonimia *Vaccinium mortinia*, es una baya esférica de 5 a 8 mm de diámetro de color azul y azul oscuro. Es una fruta nativa de los páramos ecuatoriano, mide hasta 2,5 m de alto (Coba *et al.* 2012).



Figura 3. Fruto de mortiño (*Vaccinium floribundum*)

Fuente: Tomado de Vasco *et al.* 2009

Tabla 3. Composición nutricional del mortiño fresco por cada 100 g

Nutriente	Cantidad
Agua	80 %
Carbohidratos totales	(16,9 – 18,1) %
Proteína	0,7 %
Grasas	1 %
Cenizas	0,4 %
Vitamina C	106,1 mg
Antocianinas	5 %

Fuente: Tomado de Vasco *et al.* 2009

2.3. Frutas en almíbar

Es el producto elaborado a partir de frutas sanas y generalmente en un estado de madurez intermedio entre la madurez de consumo y la fisiológica de tal modo que se encuentren relativamente firmes para soportar el manipuleo durante el procesamiento (cortado, pelado, blanqueado, tratamiento térmico). El contenido de azúcar está en función de la fruta y el mercado consumidor, en los últimos años la tendencia está en consumir frutas en almíbar con poca azúcar, los grados Brix están entre 16 y 20. El pH del almíbar dependerá de la fruta, si esta es poco ácida se recomienda un pH de 2,8 – 3,3 y si es más ácida entre 3,5 – 4,0 pH (Guevara y Cancino 2015).

Según la FAO-PRODAR (2014), son aquellas que se conservan enteras o en trozos, después de un tratamiento de escaldado luego se envasan en frascos de vidrio o en latas. Después se vierte el jarabe azucarado para su conservación, tendrá una concentración de 22 - 25 grados Brix y además se le adiciona 0,2 % de ácido cítrico como regulador de acidez. El sellado hermético del envase produce ausencia de oxígeno y la aplicación de calor, inhiben y destruyen la mayor parte de las enzimas y de los microorganismos que pueden causar deterioro.

Es el producto que se obtiene a partir de las frutas con un grado de madurez adecuado, sanas, frescas y limpias, que han sido previamente seleccionadas, mondadas o peladas, a las que se le han eliminado partes no comestibles, reducidas o no de tamaño, adicionadas junto al jarabe estándar como medio líquido este puede tener alrededor de 25 a 30 grados Brix, es decir, porcentaje de azúcares, adicionadas o no de ingredientes opcionales (edulcorantes y acidulantes), por cada kilogramo de azúcar, se agrega un gramo de ácido cítrico y son envasados en recipientes sanitarios, herméticamente cerrados y procesados térmicamente para asegurar su conservación (Salazar y López 2011).

Según Colquichagua (1999), son productos preparados con frutas en estado pintón, sanas, peladas o no descorazonadas, cortadas en mitades, trozos y envasadas con una solución de azúcar (almíbar). El objetivo de conservar las frutas en almíbar sin ninguna modificación y envasarlos herméticamente consiste en inhibir las bacterias, fermentos que ya estén presentes, esto previene que otros se propaguen en el envase. La acidez del almíbar dependerá de la fruta, para frutas poco ácidas se recomienda un pH de 2,8 a 3,3 y para frutos ácidos el pH será de 3,5 a 4,0 así se podrá conservarse mejor la fruta.

2.4. Antocianinas

2.4.1. Definición

Las antocianinas (*anthos*, flor y *kyanos*, azul), son pigmentos naturales hidrosolubles, no nitrogenados pertenecientes a la familia de los flavonoides. A pesar de contener pocos grupos cromóforos, se han identificado 300 de estos compuestos, que son responsables de una gama muy amplia de colores de las plantas, frutas y flores, que incluyen el azul, púrpura, violeta, magenta, rojo y naranja. Normalmente se encuentran en la cáscara o piel de algunas frutas como en el caso de las manzanas y uvas, también se puede encontrar en la pulpa de las fresas y las moras (Badui 2006; Fennema 2000).

2.4.2. Estructura química

Las antocianinas tienen una estructura química (Figura 4), son glucósidos de antocianidinas, pertenecientes a la familia de los flavonoides, compuestos por dos anillos aromáticos A y B unidos por una cadena de 3 C. Variaciones estructurales del anillo B resultan en seis antocianidinas conocidas. Son intensamente coloridas y solubles en agua (Lock 1997).

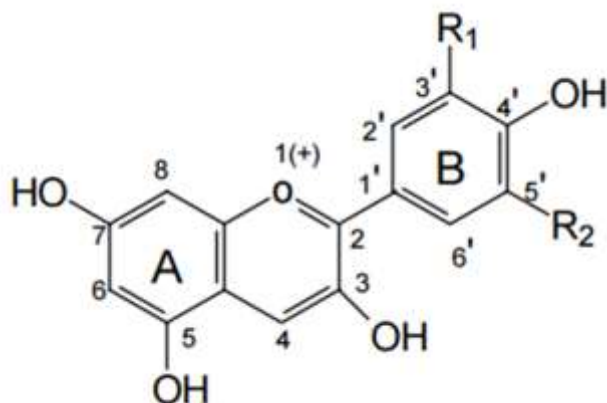


Figura 4. Estructura química básica de las antocianinas

Fuente: Tomado de Badui 2006

Una misma antocianina interacciona con más de una clase de carbohidratos para formar diferentes antocianinas; la pelargonidina es la que produce el color rojo escarlata de algunas flores y fresas; la delphinidina se encuentra en las berenjenas y la cianidina en la col roja, higos, cerezas, ciruelas y otros frutos silvestres (Badui 2006).

Tabla 4. Sustituyentes y longitud de onda visible en el espectro

Aglicona	Substitución		λ máx. (nm)
	R1	R2	Espectro visible
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH ₃	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH ₃	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃	510 (azul-rojo)

Fuente: Adaptado de Fennema 2000

El color de las antocianinas depende del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula. Incrementos en la hidroxilación producen desplazamientos hacia tonalidades azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas. En la naturaleza, las antocianinas siempre presentan sustituciones glicosídicas en las posiciones 3 y/o 5 con mono, di o trisacáridos que incrementan su solubilidad (Fennema 2000).

Todas las antocianinas están hidroxiladas en las posiciones 3, 5 y 7, pero difieren en la sustitución del anillo B. Por el fenómeno de deslocalización de electrones, a medida que el número de sustituyentes de la fracción antocianidina aumenta, el color del catión flavilo absorbe a mayores longitudes de onda, desde 520 en la pelargonidina hasta 546 nm en la delphinidina. Por otro lado, la metilación de los grupos hidroxilo promueve un efecto batocrómico, es decir, desplazamiento de la absorción máxima, por tanto, la petunidina y malvinidina absorben a 543 y 542 nm, en lugar de 546 nm en la delphinidina (Badui 2006).

Cuando se hidroliza la mitad azúcar de una antocianina, la aglicona (el producto no azúcar del hidrólisis) se conoce con el nombre de antocianidina. El núcleo central flavilo constituye la antocianidina, que unida a la fracción azúcar, forma las antocianinas. Se conocen aproximadamente 20 antocianidinas, las más importantes son pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez, como se muestra su estructura química en la Figura 5. La combinación de éstas con los azúcares más comunes como son la glucosa, galactosa, arabinosa, xilosa y di y trisacáridos homogéneos o heterogéneos formados por combinación de estos azúcares, generan aproximadamente unas 300 antocianinas. Los ácidos que participan comúnmente en la acilación de los azúcares son el cafeico, p-cumárico, sinápico, p-hidroxibenzoico, ferúlico, malónico, málico, succínico y acético. El color de antocianinas y antocianidinas resulta de la excitación de la molécula por la luz visible. (Badui 2006; Fennema 2000).

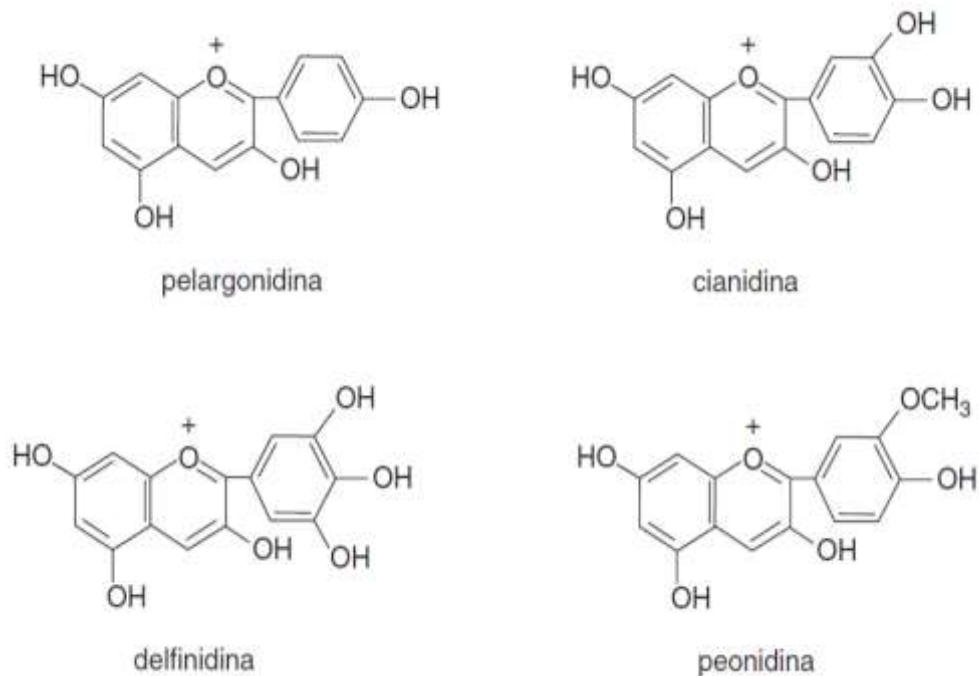


Figura 5. Estructura de algunas antocianinas de importancia en alimentos

Fuente: Tomado de Badui 2006

Tabla 5. Color y distribución de las principales antocianidinas en algunas frutas y vegetales comunes.

Compuesto	Color	Frutos y vegetales
Delfinidina	Rojo azulado	Uva concordia, mirtillo, bilberry, grosella negra.
Cianidina	Rojo naranja	Fresa, mora, ruibarbo, grosella negra, cereza, col roja, bilberry, arandino, saúco, uva concordia, maíz, ciruela, frambuesa, cebolla roja.
Pelargonidina	Naranja	Fresa, maíz.
Malvidina	Rojo azulado	Uva, mirtillo, bilberry.
Peonidina	Rojo	Cereza, arandino

Fuente: Tomado de Wang *et al.* 1997

Tabla 6. Contenido de antocianinas totales en frutas y vegetales comunes

Fruto y vegetales	Contenido de antocianinas totales mg/100 g
Manzana	83 - 326
Bilberry	300 - 320
Mora	83 - 326
Grosella negra	130 - 400
Mirtillo	25 - 495
Col roja	25
Cereza	4 - 450
Arándano	60 - 200
Sauco	450
uvas	6 - 600
kiwi	100
Cebollas rojas	7 - 21
Ciruelas	5 - 25
Rábanos rojos	11 - 60
Frambuesa negra	300 - 400
Frambuesa roja	20 - 60
fresas	15 - 35

Fuente: Tomado de Burin *et al.* 2010

2.4.3. Biosíntesis de las antocianinas

Las antocianinas se sintetizan a partir de la condensación de dos moléculas precursoras (Malonil CoA y p-cumaril-CoA), más tarde formaran anillos A y B respectivamente (Figura 6). Sobresalen dos rutas para la sintetización, la del ácido shikímico y la del ácido malónico. En la primera se convierten carbohidratos simples derivados del glicólisis, de la ruta de las pentosas fosfato y Ciclo de Cálvin en diversos ácidos orgánicos como el cinámico, pcoumárico, caféico, ferúlico, clorogénico y fenilalanina. Cabe resaltar que esta ruta sintética también es compartida por otros compuestos fenólicos. La principal reacción de biosíntesis de los flavonoides es la condensación de los acilos provenientes de cumaril-CoA y tres moléculas de malonil CoA catalizada por la enzima chalcona isomerasa que lleva a cabo la isomerización de chalcona a flavona, la misma que es convertida en flavones o antocianinas. Los pasos finales en la síntesis de antocianinas son las acilaciones y las glucosilaciones, primero en el C-3, para estabilizar el catión flavilio (Gauche *et al.* 2010).

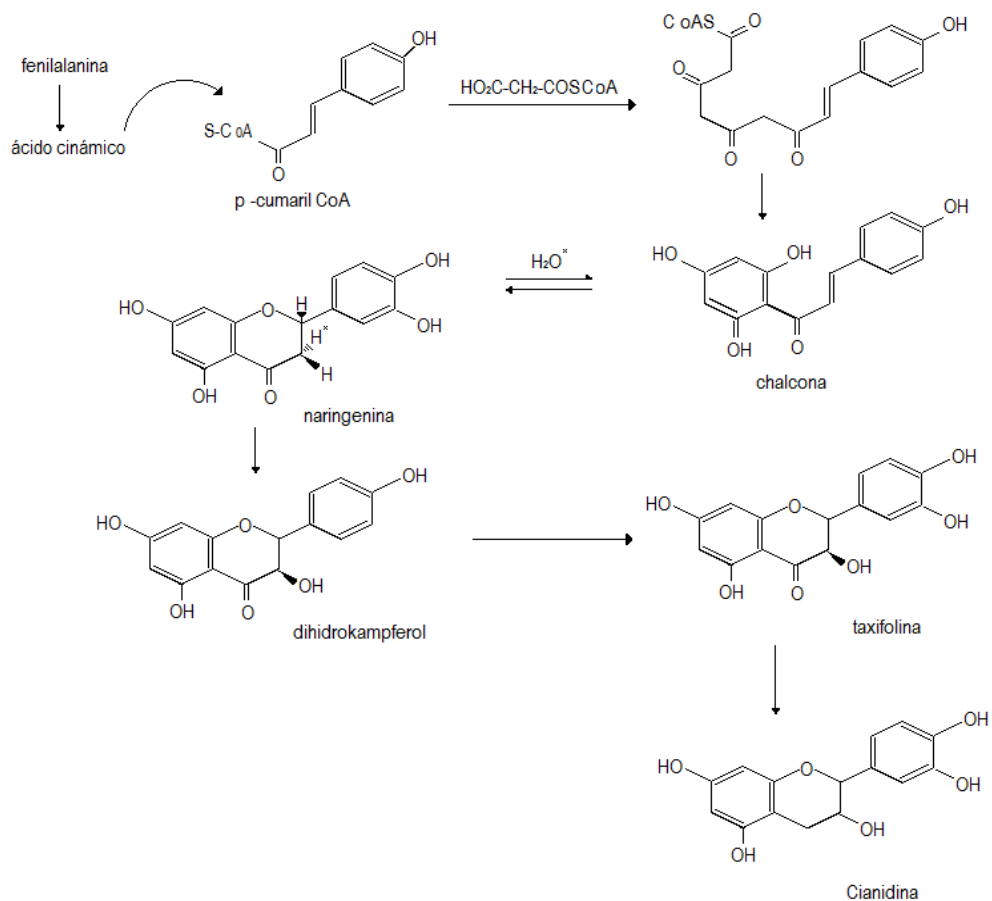


Figura 6. Biosíntesis de la cianidina

Fuente: Tomado de Gauche *et al.* 2010

a) Absorción

Las antocianinas después de ser consumidas son absorbidas muy rápidamente, tardando aproximadamente de 0,25 - 2 horas. Solo un porcentaje pequeño de las antocianinas consumidas es excretado en la orina, se ha concluido que la mayoría de las antocianinas se absorben en el tracto gastrointestinal, especialmente en el estómago y en el intestino delgado, la cantidad absorbida dependerán del tipo de antocianina ingerida. son absorbidas en su forma intacta glicosídica, al contrario de otros flavonoides. La glicosilación influencian las propiedades biológicas de los compuestos y es un factor importante en la determinación del mecanismo de absorción, es decir determina si el compuesto se difundirá de forma pasiva a través de una membrana biológica y la forma en cómo se llevará a cabo la partición del compuesto en diferentes fases celulares. Las angliconas, son principalmente hidrofóbicas por lo que pueden pasar por las membranas biológicas a través de difusión pasiva. No obstante, la unión con azúcares incrementa la solubilidad en agua y limita la difusión pasiva. Por lo tanto, se piensa que antes de la absorción de antocianinas se requiere un mecanismo de transporte activo específico o la hidrólisis del -glicósido. Diversos estudios realizados en humanos, se considera que los mecanismos de absorción y metabolismo de antocianinas son probablemente similares a los de los flavonoides hidrofóbicos glicosidados (Horbowicz *et al.* 2008).

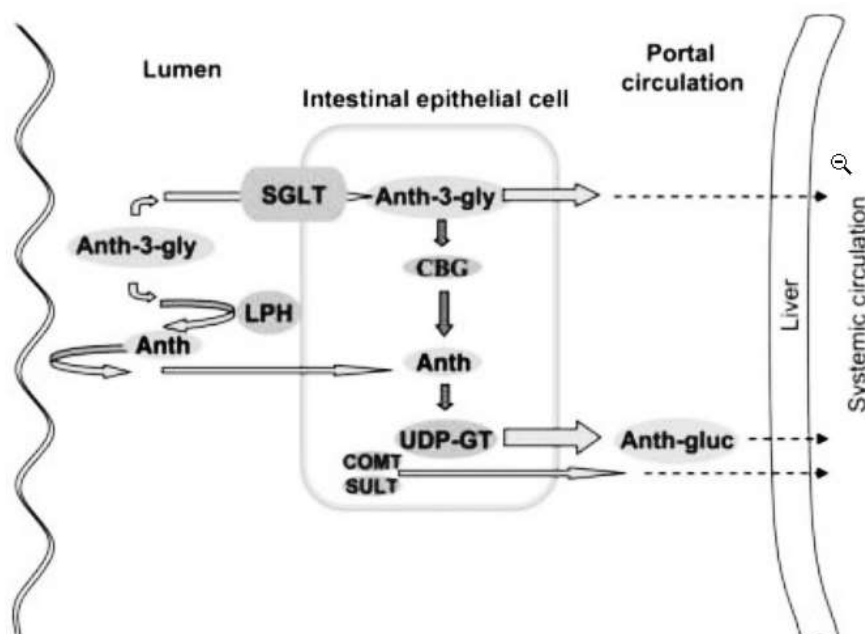


Figura 7. Mecanismo potencial de absorción de antocianinas

Fuente: Tomado de Horbowicz *et al.* 2008

b) Distribución

Una vez que han sido absorbidas las antocianinas dentro de la célula, el glicósido intacto puede cruzar directamente la membrana basolateral hacia la circulación, o puede ser hidrolizado por la -glucosidasa citosólica antes de que ocurra el metabolismo intestinal y su transporte. Los estudios de la biodisponibilidad de antocianinas, muestran que estas aparecen rápidamente en el sistema circulatorio y en los tejidos después de ser consumidas, siendo el tiempo máximo en el plasma de 1 - 4 horas. Las concentraciones en el plasma van de 55,3 a 168,3 nmol/L con un promedio de 97,4 nmol/L. No obstante, antes de ser eliminadas, estas deben de sufrir varias transformaciones. La biodisponibilidad de las antocianinas es muy baja, ya que una frecuencia menor del 0,1 % de la dosis ingerida aparece en la orina. La eliminación de las antocianinas del plasma sigue una cinética de primer orden (Escribano *et al.* 2004).

c) Metabolismo

Una porción de la antocianina se metaboliza por las reacciones de metilación y glucuronidación y algunos de los metabolitos son transportados al intestino como bilis. Las diferentes agliconas y fracciones de azúcares de las antocianinas tienen una influencia significativa en la absorción y metabolismo. Los glicósidos de antocianina que no son absorbidos en el estómago se transportan hacia el intestino delgado, donde, debido al pH más alto se convierten a una combinación de hemicetal, chalcona, y formas quinonoidal. Aunque muchos flavonoides han sido reportados de tener una baja biodisponibilidad debido a su metabolismo extensivo, sus metabolitos pueden persistir en la circulación por largos periodos de tiempo y consecuentemente tener una bioactividad significativa. Las antocianinas que alcanzan el colon se exponen a una población microbiana sustancial y pueden degradarse a azúcares y componentes fenólicos, siendo estos últimos degradados aún más por la interrupción del anillo C para producir los ácidos fenólicos y aldehídos. Estos productos, derivados de las antocianinas ingeridas, pueden contribuir a los efectos de salud de antocianinas, ya sea directamente en el tracto digestivo o después de la absorción desde el colon (Horbowicz *et al.* 2008).

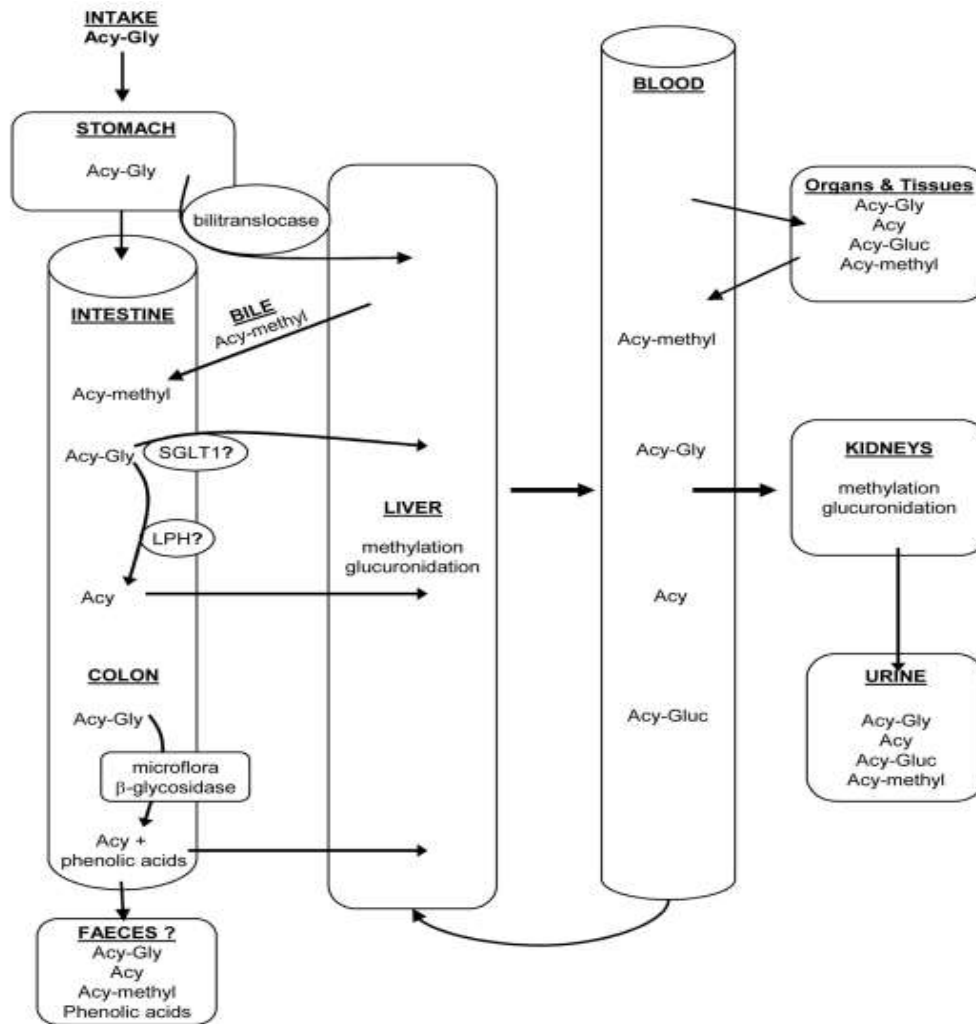


Figura 8. Absorción y metabolismo de las antocianinas

Fuente: Tomado de Horbowicz *et al.* 2008

d) Excreción

Las antocianinas que no se absorbieron en el tracto intestinal son eliminadas por medio de la orina en forma intacta, así como en sus formas metiladas, pero no se detectan agliconas o formas conjugadas. Se han reportado que la velocidad de excreción de las antocianinas es de 77 $\mu\text{g/h}$ durante las primeras 4 horas y de 13 $\mu\text{g/h}$ durante las segundas 4 horas. En sí, las antocianinas tardan de 6 - 8 horas en ser excretadas completamente. Sin embargo, la evidencia recolectada de estudios *in vitro* y de experimentación con animales muestra que alrededor del 0,01 y 3 % de la dosis ingerida de antocianinas son excretadas por medio de la orina. Por otro lado, cabe señalar que la eliminación de antocianinas por medio de las heces no ha sido probada (Escribano *et al.* 2004).

2.4.4. Factores que afectan la estabilidad de las antocianinas

Fennema (2000) señala que, la degradación de antocianinas se produce durante la extracción del tejido vegetal, procesado y almacenamiento de los tejidos alimentarios.

a) Azúcares

Fennema (2000) nos indica que, los azúcares a altas concentraciones, como ocurre en las conservas de frutas, estabilizan las antocianinas, probablemente por la disminución de actividad de agua. Cuando los azúcares están presentes en concentraciones lo suficientemente bajas como para tener poco efecto sobre la actividad de agua, ellos o sus productos de degradación pueden a veces acelerar la degradación de las antocianinas.

Hay reportes que la fructosa es más perjudicial que la glucosa y sacarosa. (Fernández 1995).

b) Actividad de agua (aw)

Incrementos en la aw del medio causan degradación de las antocianinas probablemente debido a una mayor interacción entre el agua y catión flavilio para formar la pseudobase inestable (Garzón 2008).

c) Potencial de hidrógeno (pH)

Es un factor crucial en la estabilidad de las antocianinas, siendo estable en medios ácidos que en neutros o alcalinos (Hutchings 1999).

El núcleo de flavilo es deficiente en electrones y por lo tanto muy reactivo, lo que lo hace muy sensible a cambios de pH. Al madurar las frutas, el pH cambia, y con ello el color. Estos cambios de las antocianinas se deben a modificaciones en su estructura, que en muchos casos son reversibles. (Badui 2006).

A diferencia de los pigmentos rojos sintéticos que se utilizan en la industria alimentaria, las antocianinas no son estables, especialmente en soluciones neutras alcalinas, ocurriendo fácilmente cambios durante el procesamiento de la materia prima y almacenaje. Debido a su sensibilidad a las variaciones de pH, a pH 3 el pigmento está presente como sales de flavilio de color rojo, a pH 8 es de color violeta y a pH 11 de color azul (Lock 1997).

d) Temperatura

Los tratamientos térmicos influyen significativamente en la destrucción de las antocianinas, se ha observado que las fresas presentan una relación logarítmica entre la pérdida de color y temperatura (Badui 2006).

Las antocianinas totales en los alimentos se ven notablemente afectada por la temperatura, aumentando su degradación durante su procesamiento y almacenamiento (Fennema 2000).

Timberlake (1980) menciona que, los incrementos de temperatura resultan en pérdida del azúcar glicosilante en la posición 3(C-3) de la molécula y apertura del anillo pirilio con la consecuente producción de chalconas incoloras.

e) Luz

Las antocianinas son inestables al estar expuestas a la luz ultravioleta (UV), luz visible u otras formas de radiación ionizante. Su descomposición probablemente sea fotooxidativa. Las antocianinas sustituidas en el grupo hidroxilo del C - 5 son más susceptibles a la descomposición fotoquímica que aquellas no sustituidas en esta posición (Quispe 2003).

Rein (2005) indica que, la luz afecta de dos formas, es esencial para su biosíntesis, pero también acelera su degradación; estos pigmentos conservan mucho mejor el color cuando su almacenamiento es en envases oscuros.

f) Enzimas

Se han identificado dos grupos de enzimas: glicosidasas y polifenoloxidasas. En conjunto, se las conoce como antocianasas. Las glicosidasas, como su nombre indica, hidrolizan los enlaces glicosílicos, dando el azúcar o azúcares y la aglicona. La pérdida de intensidad del color se debe al descenso de la solubilidad de las antocianidinas y su transformación en productos incoloros. Al realizar un escaldado a las frutas de 90 – 100 °C por un tiempo de 45 – 60 s. Las enzimas que destruyen las antocianinas se pueden inactivar (Fennema 2000).

g) Oxígeno

El oxígeno disuelto tiene efecto negativo en la estabilidad de las antocianinas (Badui 2006).

Kallio *et al.* (1986) menciona que la retención de color es mejorada cuando el oxígeno es removido por calentamiento y envasado al vacío.

Se recomiendan espacios de cabeza al envasar (sellado hermético) en atmósferas inertes para evitar los cambios de color durante el almacenamiento (Badui 2006).

Estos cambios de color son resultado de la formación de polímeros de color marrón producto de reacciones de polimerización (Geldenhuis 2009).

2.4.5. Importancia de las antocianinas en la alimentación

El interés en las antocianinas se ha incrementado debido a sus posibles beneficios en la salud como un excelente antioxidante.

Se ha observado que su potencial antioxidante de las antocianinas va en contra de radicales superóxidos y peróxidos de hidrógeno a través de numerosos mecanismos, por ejemplo: la cianidina protege la membrana celular de lípidos de la oxidación por una variedad de sustancias peligrosas. La cianidina es un antioxidante 4 veces más fuerte que la vitamina E. La pelargonidina protege el radical amino de la tirosina del peroxinitrilo, un antioxidante altamente reactivo. Por otro lado, la delfinidina interfiere con el radical hidroxil, uno de los oxidantes del cuerpo humano (Wrolstad 2002).

Actualmente, las antocianinas de maíz morado y azul están siendo usadas para la producción de tortillas azules coloreadas naturalmente. La incorporación de antocianinas como colorantes alimenticios son benéficas para nuestra salud. Diversos estudios presentan evidencia científica que los extractos ricos en antocianinas pueden mejorar la agudeza visual, mostrar actividad antioxidante, atrapar radicales y actuar como agentes quimioprotectores. Las antocianinas también juegan un papel en las propiedades antidiabéticas tales como control de lípidos, secreción de insulina y efectos vasoprotectores (Shipp y Abdel-Aal 2010).

Las antocianinas protegen de muchas maneras contra la inflamación; primero ellas neutralizan las enzimas que destruyen el tejido conectivo, después su capacidad antioxidativa previene los oxidantes del tejido conectivo dañado y finalmente reparan proteínas dañadas en las paredes de los vasos sanguíneos. Experimentos en animales han mostrado que los suplementos con antocianinas previenen efectivamente la inflamación y el subsecuente daño a vasos sanguíneos; también ayuda a las reacciones alérgicas (Mayer 1998).

Las antocianinas están siendo vendidas como un suplemento llamado Medox, el cual incorpora una cantidad concentrada de cianidin-3-glucósido y delphinidin-3-glucósido extraídos de bayas noruegas (*Vaccinium myrtillus*) y grosellas negras (*Ribes nigrum*) (Biolink Group 2009).

Malik *et al.* (2003), demostraron que los extractos ricos en antocianinas inhiben el crecimiento de cáncer de colon de forma selectiva, es decir, sin afectar el crecimiento de las células normales.

Dependiendo del país y de los hábitos nutricionales de los individuos, la ingesta diaria de antocianinas ha sido estimada en el rango de varios miligramos a cientos de miligramos por persona (Horbowicz *et al.* 2008).

Estudios clínicos realizados en Italia revelaron que 79 % de los pacientes diabéticos consumidores de extracto de bayas rojas (160 mg dos veces al día durante un mes) mostraron alivio en los síntomas de retinopatía diabética. Finalmente, el mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo como resultado del consumo de antocianinas han sido reportados por Ohgami *et al.* (2005), quienes suministraron extractos de frutas ricas en antocianinas a ratas con deficiencia ocular, lo cual resultó en un efecto antiinflamatorio y de aumento de la agudeza visual.

Las antocianinas son absorbidas en algún grado tanto por humanos como animales, y se encuentran como glucósidos intactos en la sangre y orina (Buchert *et al.* 2005).

Joseph *et al.* (1999) y Shukitt-Hale *et al.* (2005), han demostrado que el comportamiento cognitivo y las funciones neuronales de ratas de laboratorio puede ser mejorado a través de suplementación nutricional con extractos de arándanos y fresas.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación geográfica del trabajo de investigación

La presente investigación se realizó en la provincia de Cajamarca, localizada a una altitud de 2 737 msnm, con una temperatura promedio anual de 16 °C, una precipitación anual de 753,7 mm y una humedad relativa de 67 %.

La elaboración del producto (pushgay en almíbar) se realizó en el laboratorio de Frutas y Hortalizas de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de Cajamarca.

La evaluación de antocianinas totales se realizó en el laboratorio de Química Ambiental, 1E-207, del Departamento Académico de Ciencias Químicas y Dinámicas de la Universidad Nacional de Cajamarca.

3.2. Materiales

3.2.1. Material biológico

- Frutos de pushgay (*Vaccinium floribundum* HBK).

3.2.2. Materiales, equipos y reactivos

A. Materiales

- Beaker 100 mL
- Condensador de bolas
- Condensador de Liebig
- Embudo de vidrio
- Frasco lavador
- Gradilla para tubos de ensayo
- Jarra de 1 L
- Matraz aforado de 25 mL y 50 mL
- Matraz de fondo plano con dos bocas
- Matraz Erlenmeyer
- Ollas
- Papel filtro Whatman
- Pipeta 5 mL y 25 mL
- Probetas

B. Equipos

- Agitador magnético con calefacción y placa calefactora
- Balanza analítica
- Bomba de vacío
- Cocina industrial
- Embudo Büchner
- Espectrofotómetro UV-Vis
- pH-metro digital
- Refractómetro
- Refrigeradora
- Soporte Universal
- Termómetro digital

C. Reactivos

- Alcohol metílico
- Acetato de sodio 0,4 M
- Ácido cítrico
- Ácido clorhídrico concentrado
- Agua destilada
- Cloruro de potasio 0,25 M
- Agua tratada
- Agua destilada
- Azúcar

3.3. Metodología

3.3.1. Elaboración del producto

Descripción del proceso

- a. **Recepción:** La fruta fue procedente del Centro poblado Jucat del distrito José Manuel Quiroz, provincia de San Marcos. Ingresó con un estado de madurez fisiológica. Este proceso incluye el pesado, la medición del pH y los grados brix ($^{\circ}\text{Bx}$). La fruta que ingreso tuvo un peso de 3,5 kg; pH 3,83 y con 16 $^{\circ}\text{Bx}$ (Figura 16).
- b. **Selección:** Se escogió los frutos de tamaño uniforme ($> 0,5$ mm) con ayuda de un tamiz de 0,5 mm de diámetro de orificio (Figura 17), libres de daños mecánicos y físicos.
- c. **Desinfección:** El pushgay se lavó en un recipiente con agua potable para eliminar restos extraños al fruto, para la desinfección de los frutos se agregó en una solución de hipoclorito de sodio al 0,5 % (se coloca 5 mL en 10 litros de agua) y se sumergió por espacio de 5 minutos luego se enjuagó dos veces con abundante agua corriente para eliminar residuos de hipoclorito de sodio (Figura 18).
- d. **Estandarizado de los insumos:** Para ello se realizó los siguientes cálculos correspondientes de todos los insumos para elaborar el almíbar.
 - Determinación de la proporción de agua; fue de (1:1). Para 3 kg de fruta, se midió 3 litros de agua.
 - Determinación de azúcar; para obtener un líquido de gobierno de 20 $^{\circ}\text{Bx}$. Se utilizó 750 g de azúcar.
 - Determinación del peso de mezcla total (peso de fruta + peso de agua + peso de azúcar), el resultado fue 6 750 g.
 - Determinación de carboximetilcelulosa (C.M.C.); se empleó el 0,16 % del peso de la mezcla total. Se utilizó 10,8 g de C.M.C.
 - Determinación de ácido cítrico; según la FAO 2014 el porcentaje que se puede agregar de ácido cítrico es de 0,1 % - 0,5 % para evitar el oscurecimiento del producto. Para la evaluación se utilizó 0,25 % del peso de la mezcla total ya que la fruta fresca tuvo 3,83 pH; el resultado fue 16,88 g de ácido cítrico.
- e. **Preparación del almíbar:** Luego de realizado los cálculos para el almíbar de 20 $^{\circ}\text{Brix}$, se mezcló agua potable, azúcar, C.M.C. y ácido cítrico.

Se hirvió hasta alcanzar temperatura de 90 °C a 95 °C por 3 - 5 minutos (Figura 19).

- f. Pre cocción: Se agregó los frutos en el almíbar, a temperatura de 85 °C a 95 °C, por espacio de 2 a 4 minutos lo cual nos permitió inactivar enzimas, carga microbiana y el ablandamiento del fruto (Figura 20).
- g. Envasado: Se colocó los frutos dentro de los envases de vidrio esterilizados, esto se efectuó en caliente. Luego se adicionó el almíbar hasta cubrir los frutos. La relación de llenado es de 60 % fruto y 40 % almíbar (Figura 21).

Según la FAO 2014, la determinación del contenido de fruta por envase se procede de la siguiente manera.

- Se realizó el llenado de la fruta en cinco envases para luego ser pesados y promediar los valores.
 - La capacidad promedio de cada envase es 233 g del fruto, que equivale al llenado del 100 % del envase. Entonces para el llenado del 60 % fue de 140 g de pushgay en cada frasco.
 - El control del espacio de cabeza es de 0,5 a 0,6 cm en envase cerrado, si se produce un sobrellenado puede afectar negativamente a la eficacia de las operaciones del cerrado hermético (Sánchez 2003).
- h. Evacuado de burbujas: Técnica que consiste en eliminar las burbujas de aire del frasco. Se realizó agregando agua dentro de una olla de modo que esta no rebase al colocar los frascos, luego cuando el agua alcanza una temperatura de 60 °C se introdujo los frascos con las tapas sin ajustar y realizar el evacuado a temperatura de 90 °C a 95 °C por 5 - 10 minutos (Figura 19).
 - i. Cerrado hermético: Después de retirar los envases de la olla se esteriliza la tapa. Para ello se cerraron los frascos y se colocaron boca abajo durante 5 minutos a temperatura de 90-95 °C por 5 minutos. Esto formó un vacío, lo que reduce el riesgo de contaminación porque se extrae el aire.
 - j. Enfriamiento: Se dejó enfriar el producto a temperatura ambiente, aproximadamente durante 30 - 45 minutos.
 - k. Etiquetado: Consiste en el pegado de etiquetas con los datos siguientes, abreviaturas de las muestras y semana en que fueron evaluados.
 - l. Almacenamiento: Se realizó a temperatura ambiente (20 °C) y en refrigeración (5 °C).

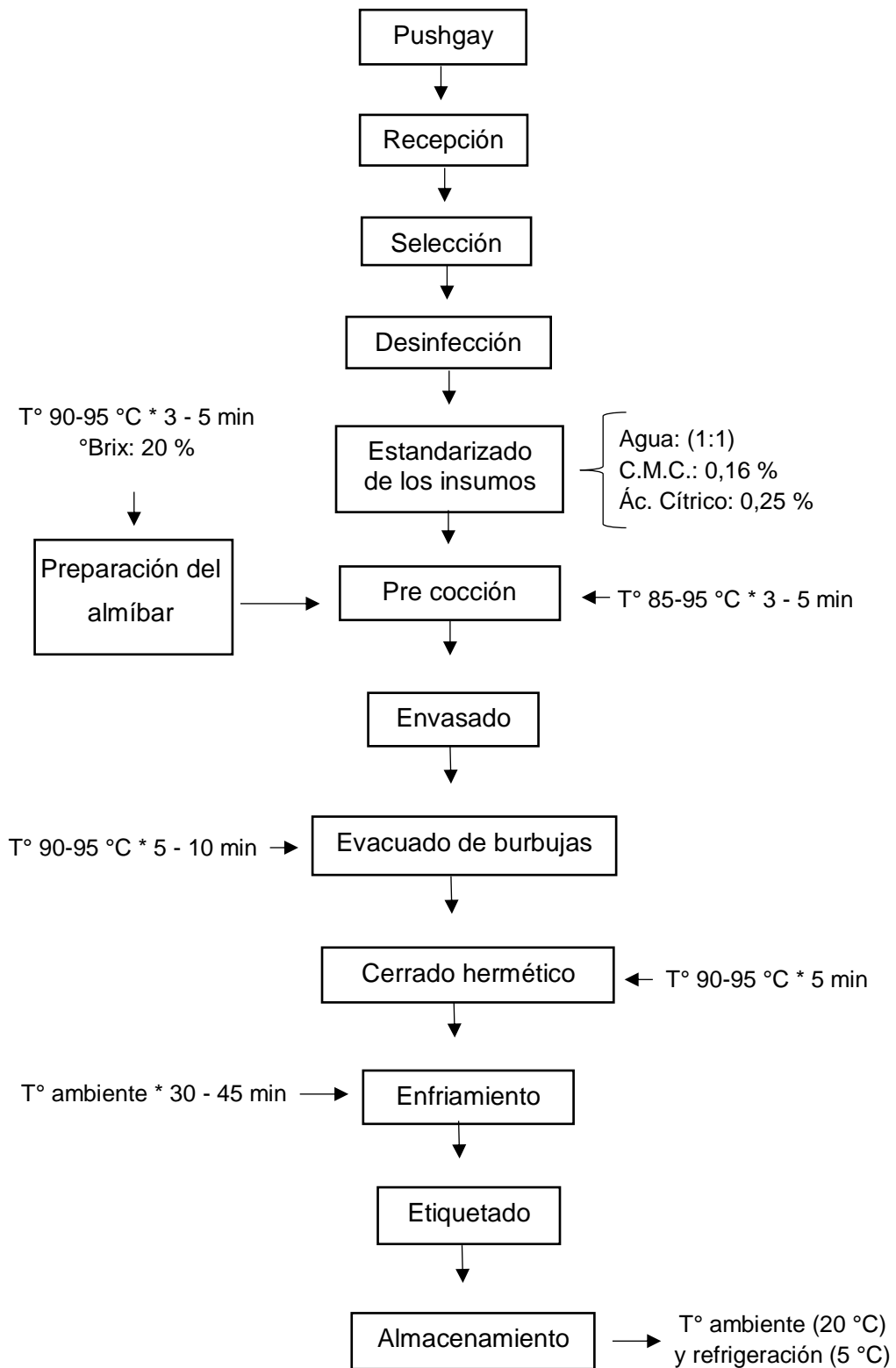


Figura 9. Diagrama de flujo para la elaboración del pushgay en almíbar

Fuente: Elaborado con base en Salazar y López 2011

3.3.2. Trabajo de laboratorio

a. Evaluación de antocianinas totales

Se realizó en el fruto, obteniendo un valor de 136,3 mg por 100 g de fruto.

Una vez elaborado el producto (pushgay en almíbar) y almacenado a temperatura ambiente (20 °C) y en refrigeración (5 °C), se evaluó la concentración de antocianinas totales mediante el método del pH diferencial (Durst y Wrolstad 2005), en intervalos de siete días por diez semanas y en cada evaluación se realizó los siguientes pasos:

• Extracción de las antocianinas totales

Irbaz y Barboza (2005), indica que la extracción sólido-líquido; es una operación unitaria básica que consiste en la separación de uno o varios componentes en la fase sólida, para esto se utiliza una fase líquida o un solvente. Se utilizó el sistema de destilación a reflujo (Figura 28). Descripción de la extracción de las antocianinas totales (Figura 10).

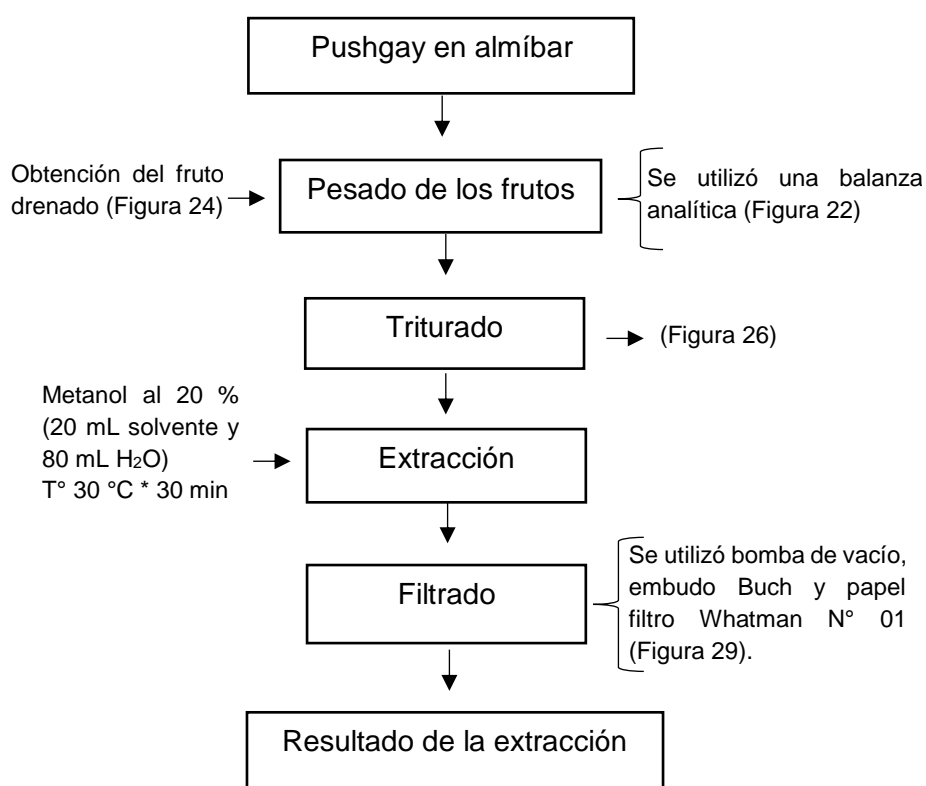


Figura 10. Flujo de la extracción de las antocianinas totales del pushgay

Fuente: Adaptado de García 2014

- **Concentración de las antocianinas**

Para esta investigación se realizó la concentración por destilación al vacío (Figura 30) el cual consistió en:

Se colocó el líquido filtrado producto de la extracción en un balón al cual se le instaló un condensador que va conectado a un matraz kitasato y este a la bomba de vacío. La temperatura fue de 30 °C hasta obtener aproximadamente a 50 mL de concentrado.

- **Determinación de la concentración de antocianinas totales**

Para la obtención de la concentración de las antocianinas totales se utilizó el método de pH diferencial (Figura 11). Las antocianinas experimentan una transformación reversible con los cambios de pH manifestado por un llamativo cambio en la absorbancia. La forma oxonium coloreado predomina a pH 1 y el hemiacetal incolora a pH 4,5. El pH diferencial es un método basado en esta reacción, y permite una rápida y exacta medida de las antocianinas totales, incluso en la presencia de pigmentos degradados polimerizados y de otros compuestos interferentes (Durst y Wrolstad 2005).

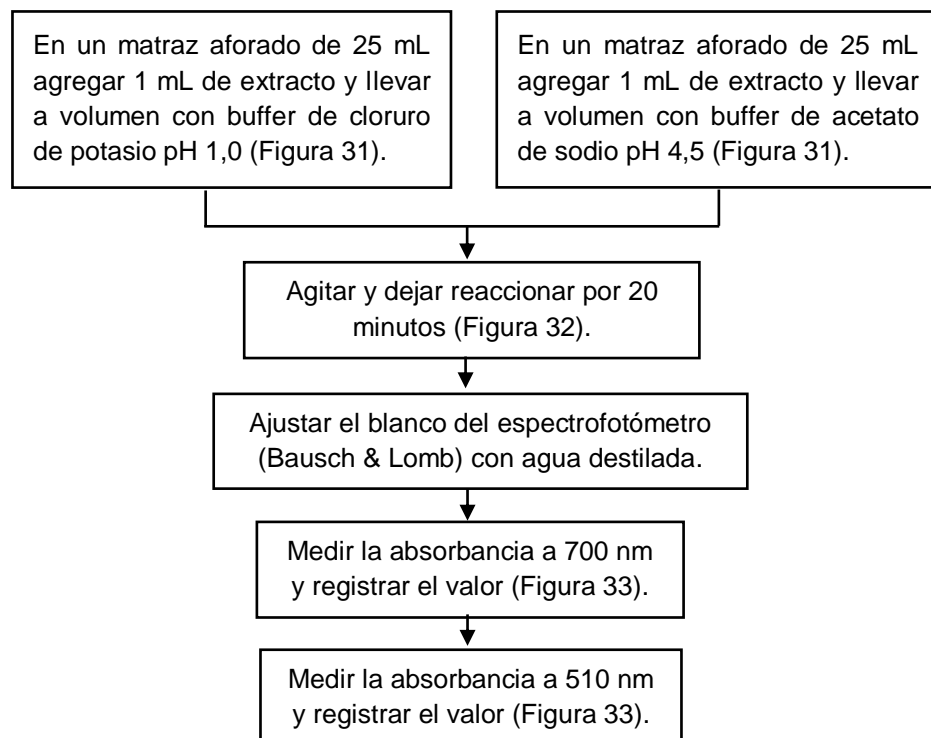


Figura 11. Diagrama de flujo para la determinación de antocianinas totales

Fuente: Elaborado con base en Giusti y Wrolstad 2001

La diferencia en la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción (510 nm) es proporcional al contenido de antocianinas (Wrolstad 1993). Posteriormente y con el propósito de efectuar la corrección de la medida debida a la presencia de compuestos degradados o sustancias interferentes, se midió la absorbancia a 700 nm. Las mediciones se realizaron con un espectrofotómetro (Bausch & Lomb), contra un blanco de agua ultra pura. La concentración de las antocianinas totales se expresó como mg cianidina-3-glucósido/100 mL de extracto de acuerdo con la expresión siguiente (Wrolstad *et al.* 2005) (Ecuaciones 1 y 2):

$$A = (A_{\lambda 510} - A_{\lambda 700})_{\text{pH 1}} - (A_{\lambda 510} - A_{\lambda 700})_{\text{pH 4,5}} \dots\dots\dots \text{Ecuación 1}$$

donde:

$A_{\lambda 510}$ es la lectura a 510 nm tanto para pH 1 como pH 4,5

$A_{\lambda 700}$ es la lectura a 700 nm tanto para pH 1 como pH 4,5

$$AT \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = (A * M.M. * FD * 1000) / (\epsilon * \ell) \dots\dots\dots \text{Ecuación 2}$$

donde:

A = Absorbancia calculada

AT = Antocianinas totales

Masa molar (M.M.) de la antocianina de referencia = 449,2 g/mol

FD: Factor de dilución = 25

ϵ : Coeficiente de extinción molar = 26 900

ℓ = Ancho de la celda

1 000 = Factor de conversión de g a mg

Para representarlo en mg de cinidina-3-glucósido por 100 g de fruto del pushgay, se reemplazó en la siguiente conversión.

$$\frac{(\dots) \text{ cianidina - 3 - glucósido mg}}{1000 \text{ mL extracto de pushgay}} \times \frac{50 \text{ mL extracto de pushgay}}{5 \text{ g de fruto de pushgay}}$$

b. Evaluación fisicoquímica

Se evaluó el pH y °Bx (grados Brix) del pushgay al momento de la recepción para estandarizar su procesamiento. También se evaluó durante su almacenamiento (70 días), en intervalos de siete días. Se utilizó un pH-metro marca HANNA y un refractómetro marca ATAGO.

3.3.3. Trabajo de gabinete

Metodología del análisis estadístico

Temperatura: La selección de los niveles de temperatura se dio según los criterios que continuación se describe:

- Ambiente (20 °C): Esta temperatura es la que genera menor gasto durante el almacenamiento en un alimento de consumo directo, este valor se determinó con un termómetro en el lugar de almacenamiento, se hizo la medición en la mañana (16,5 °C), al medio día (25,7 °C) y por la tarde (17,8 °C). Por lo tanto, el promedio del resultado fue (20 °C).
- Refrigeración (5 °C): Según Barreiro y Sandoval (2006) la temperatura de refrigeración comercial es de (0 - 7,2 °C), se consideró la temperatura de 5 °C ya que es la temperatura más usual para la conservación de un producto.

Tiempo: La selección del tiempo de evaluación se determinó en comparación de la evaluación de antocianinas en un producto elaborado. García (2014) en su investigación "Evaluación de la estabilidad del colorante antocianínico extraído a partir del fruto silvestre capachu (*Hesperomeles escalloniifolia schldl*) durante el almacenamiento de una bebida gasificada", evaluó cada 15 días por un lapso de 60 días. Por ello se analizó cada 7 días durante el tiempo de 70 días, ya que los valores podrán determinar mejor la evaluación de la concentración de antocianinas totales.

Factores de Estudio:

- La temperatura de almacenamiento del pushgay en almíbar, fue a temperatura ambiente (20 °C) y en refrigeración (5 °C).
- Tiempo de almacenamiento del pushgay en almíbar con 11 niveles (0; 7; 14; 21; 28; 35; 42; 49; 56; 63 y 70 días).

VARIABLES DE RESPUESTA:

- Concentración de las antocianinas totales del pushgay en almíbar (cianidina-3-glucósido mg/100 g de fruto de pushgay).

Análisis de varianza (ANOVA)

Es una técnica estadística, con base en el principio de la t de Student, permite estudiar si existe diferencia significativa entre la media de las calificaciones asignadas a más de dos muestras. También explica, en diversos niveles, el comportamiento de los datos propios de un experimento (Espinoza 2009).

Para el análisis se utilizó los tratamientos (Tabla 7) en el programa InfoStat.

Tabla 7. Tratamientos de la investigación

Tratamientos	Temperatura	Tiempo (días)
T1	Ambiente	0
T2	Refrigeración	0
T3	Ambiente	7
T4	Refrigeración	7
T5	Ambiente	14
T6	Refrigeración	14
T7	Ambiente	21
T8	Refrigeración	21
T9	Ambiente	28
T10	Refrigeración	28
T11	Ambiente	35
T12	Refrigeración	35
T13	Ambiente	42
T14	Refrigeración	42
T15	Ambiente	49
T16	Refrigeración	49
T17	Ambiente	56
T18	Refrigeración	56
T19	Ambiente	63
T20	Refrigeración	63
T21	Ambiente	70
T22	Refrigeración	70

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Antocianinas totales durante el almacenamiento

Tabla 8. Análisis de la varianza (ANVA) para la concentración de antocianinas totales almacenada a temperatura ambiente (20 °C) y en refrigeración (5 °C) durante 70 días

F.V.	GL	SG	CM	F	p-valor
Temperatura (T)	1	18 910,74	18 910,74	194,59	< 0,000 1
Tiempo (D)	10	19 552,24	1 955,22	20,12	< 0,000 1
T X D	10	23 327,19	2 332,72	24,00	< 0,000 1
Error	22	2 138,03	97,18		
Total	43	63 928,20			

CV = 6,03 %

La Tabla 8 muestra que el p-valor para el factor temperatura (ambiente 20 °C y en refrigeración 5 °C) y el p-valor para el tiempo (días), así como la interacción de las mismas es menor a 0,05; esto indica que es altamente significativa, entonces se puede decir que si influye en la concentración de las antocianinas totales presentes en el producto (pushgay en almíbar).

El análisis de varianza indica que hay diferencia significativa entre los veintidós tratamientos en la evaluación de la concentración de antocianinas totales del pushgay en almíbar. Para determinar bajo que niveles de los factores (tiempo y temperatura) en estudio hay una mayor concentración de antocianinas se realiza la prueba Duncan para la interacción de estos.

Tabla 9. Prueba de significación de Duncan al 5 % de probabilidades para la interacción de los factores tiempo por temperatura

Tiempo	Temperatura	Promedio	Significación				
7	A	245,68	A				
14	R	225,23	A				
35	R	196,01		B			
49	R	196,00		B			
42	R	196,00		B			
28	R	195,59		B			
56	R	192,87		B	C		
63	R	186,61		B	C		
21	R	184,94		B	C		
70	R	177,22		B	C	D	
21	A	170,33			C	D	
7	R	162,19				D	
14	A	139,65				E	
56	A	133,38				E	F
49	A	132,97				E	F
35	A	129,00				E	F
42	A	129,00				E	F
28	A	127,33				E	F
63	A	126,91				E	F
70	A	122,32				E	F
0	R	113,97					F
0	A	113,97					F

A= Temperatura ambiente (20 °C)

R= Refrigeración (5 °C)

La Tabla 9 indica que hay una mayor concentración de antocianinas totales bajo la influencia de los factores 7 y 14 días a temperatura ambiente (20 °C) y en refrigeración (5 °C) respectivamente, esto significa que estadísticamente son iguales y superiores a los demás tratamientos. A su vez se observa que los valores más altos de la concentración de antocianinas totales son para los tratamientos bajo la influencia de temperatura de refrigeración durante todos los días evaluados.

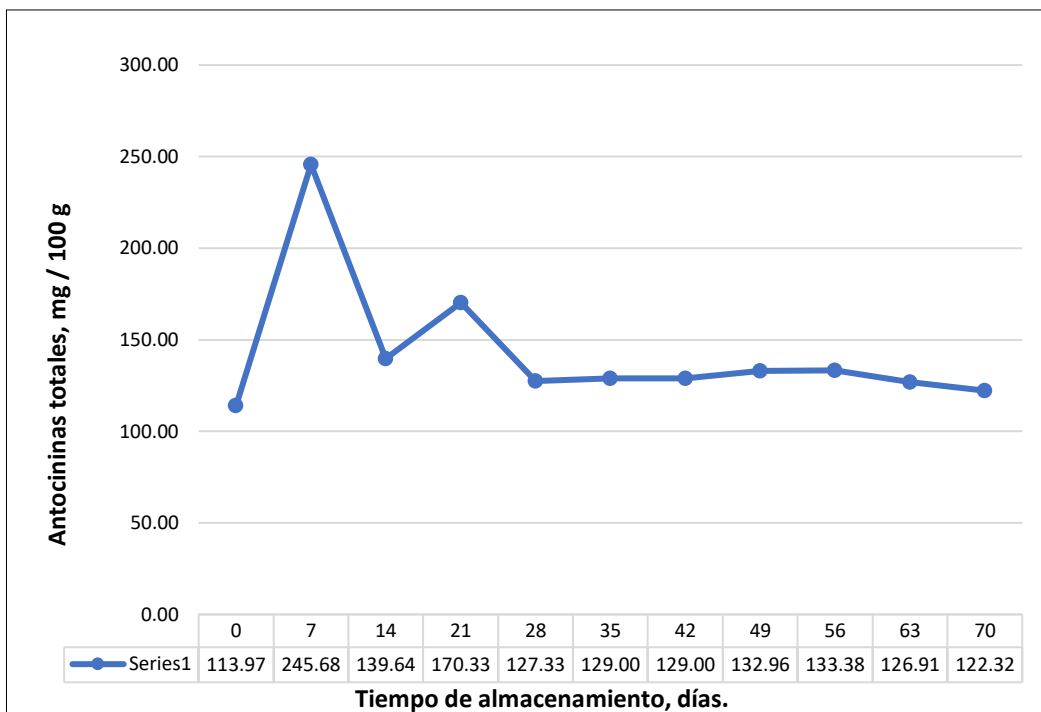


Figura 12. Concentración de antocianinas totales del pushgay en almíbar almacenado a temperatura ambiente (20 °C)

Los valores más altos de antocianinas totales en el producto almacenado a temperatura ambiente (20 °C), se obtuvo en los días 7 y 21 siendo los valores: 245,68 y 170,33 mg por 100 g de fruto del pushgay esto representa un 116 y 50 % de incremento, respectivamente, a partir del día 28 hasta el día 70 los valores no superan el 25 % de incremento con un valor promedio de 128,70 mg por 100 g de fruto del pushgay (Figura 12).

Hoshino *et al.* (1992), demostró que cuando la concentración de antocianinas alcanza valores altos, se presentan fenómenos de autoasociación entre dos cationes flavilio, dos formas hemicetal, dos bases quinoidales, e inclusive, entre una base quinoidal y un catión flavilio y protegiendo la molécula de antocianinas.

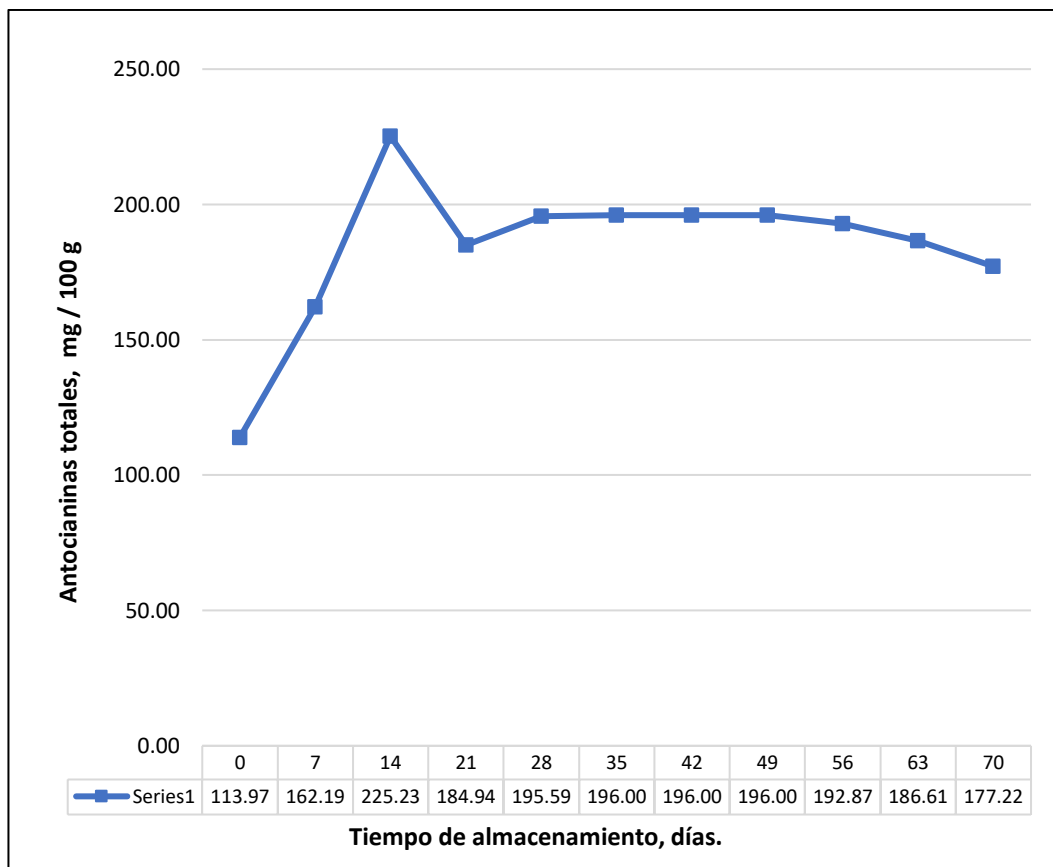


Figura 13. Concentración de antocianinas totales del pushgay en almíbar almacenado en refrigeración (5 °C)

El valor más alto de la concentración de antocianinas totales se observó en día 14 con 225,23 mg por 100 g de fruto del pushgay, esto representa un 98 % de incremento (Figura 13), esto es un comportamiento similar a la investigación de Zapata *et al.* (2014) en el “Efecto del tiempo de almacenamiento sobre las propiedades fisicoquímicas, probióticas y antioxidantes de yogurt saborizado con mortiño (*Vaccinium meridionale Sw*)” que determinó un comportamiento ascendente en los primeros 8 a 12 días y luego descendente, almacenados a una temperatura de 4 °C.

Desde el día 28 hasta el día 70 la concentración de antocianinas totales desciende y se mantiene en un 72 % con un valor de 191,47 mg de fruto del pushgay.

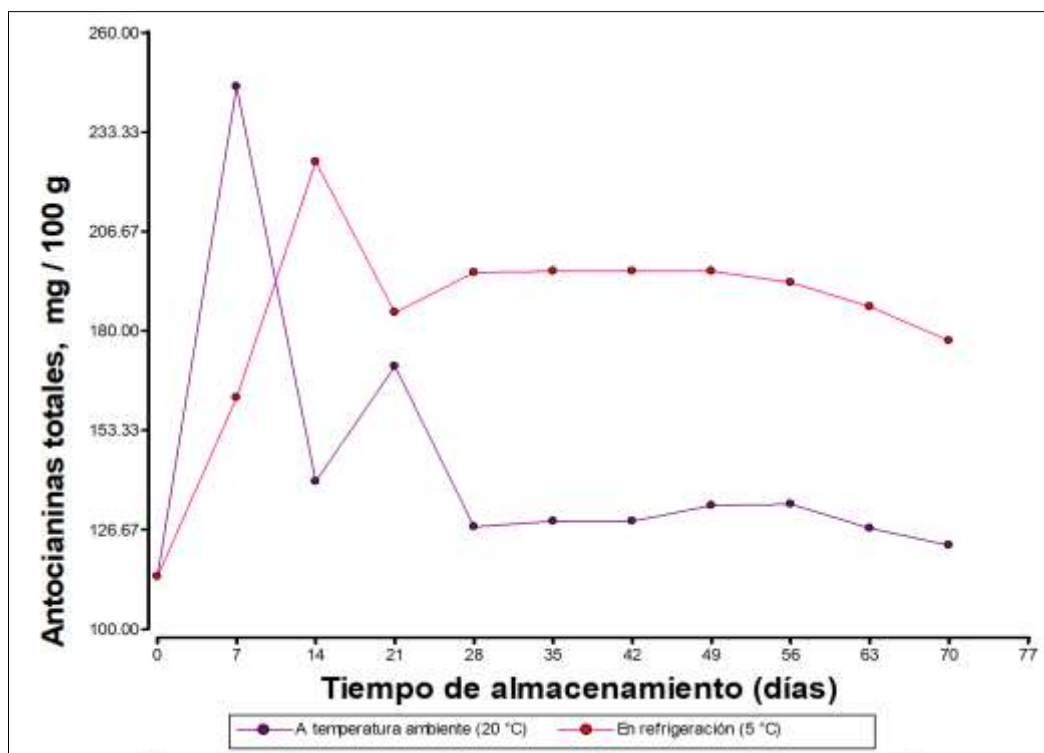


Figura 14. Variación en la concentración de antocianinas totales durante el almacenamiento bajo la influencia de la temperatura ambiente (20 °C) y en refrigeración (5 °C)

En la Figura 14 se observa que el tiempo que obtuvo mayor concentración de antocianinas totales fue en el día 7 almacenado a temperatura ambiente (20 °C) con un valor de 245,68 mg cianidina-3-glucósido por 100 g de fruto de pushgay, esto representa un incremento de 116 %, en cambio la concentración de antocianinas totales almacenado en refrigeración (5 °C) se observó un incremento mayor en el día 14 con un valor de 225,23 mg por 100 g de fruto del pushgay, esto representa un incremento de 98 %.

El incremento de los compuestos polifenólicos y otros componentes bioactivos en respuesta al estrés provocado durante el almacenamiento, este efecto probablemente está relacionado con una mayor producción de azúcares reductores durante el almacenamiento a lo que se refieren como “edulcorante en almacenamiento”, y que son estos utilizados como sustratos para la síntesis de compuestos polifenólicos futuros aumentó en la actividad fenil alanina monoliasa, que se traduce en un incremento en la concentración de compuestos polifenólicos libres, junto con el bajo nivel de actividad polifenoloxidasa que pueden reducir la oxidación de sustratos fenólicos a quinonas (Zapata 2014).

La concentración de antocianinas totales del pushgay en almíbar almacenado en refrigeración (5 °C) son mayores al producto almacenado a temperatura ambiente (20 °C) desde el día 14 hasta finalizar con la evaluación; los resultados concuerdan con Aguilera *et al.* (2009) ya que en su investigación “Caracterización y estabilidad de antocianinas totales de higo, variedad Mission”, la concentración de antocianinas totales de los higos almacenados a temperatura de 4 °C y en oscuridad, se observó mayor concentraciones con respecto a los almacenados a temperatura ambiente y en presencia de luz, evaluados en los 0 y 14 días.

Almeida (2012), determinó que las antocianinas para un extracto líquido de maíz morado al igual que para otros pigmentos de origen natural, si se almacenan sellados al vacío en envases color ámbar y en un lugar fresco y seco. estos tienden a ser sensibles a la temperatura, tiempo de almacenamiento y su vida útil de estos pigmentos son 60 días, lo que no ocurre en esta investigación ya que el valor obtenido de la concentración de antocianinas almacenadas a temperatura ambiente todavía es mayor al primer día del análisis.

4.2. Evaluación fisicoquímica

4.2.1. Fruto del pushgay

El valor del pH fue de 3,83; la FAO (2004) nos indica que está dentro de los valores de la fruta fresca (pH 3,0 - 4,1).

El grado Brix es definido a la temperatura de 20 °C, donde los °Bx equivalen al porcentaje de peso de la sacarosa (azúcar) en una solución (Suárez 2003). El jugo del pushgay tiene 16 °Brix, entonces esta solución contiene 16 % de sacarosa.

4.2.2. Pushgay en almíbar

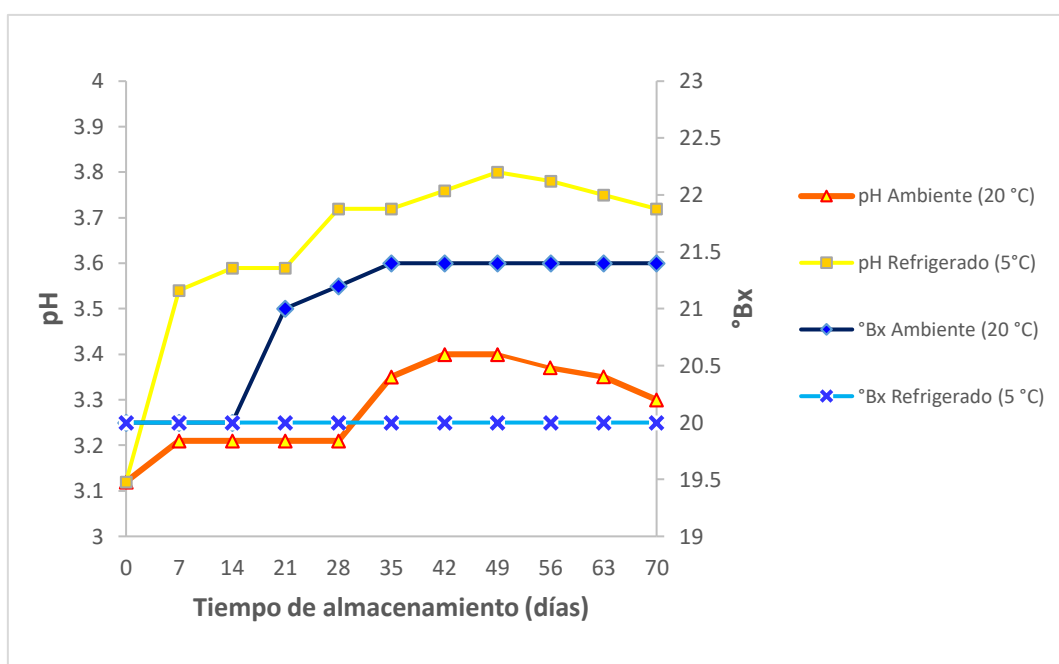


Figura 15. Interacción del pH y °Bx del pushgay en almíbar durante su almacenamiento a temperatura ambiente (20 °C) y en refrigeración (5 °C)

Observamos que en la Figura 15 los valores de pH del pushgay en almíbar almacenado a temperatura ambiente (20 °C) son menores a los obtenidos del pushgay en almíbar almacenado en refrigeración (5 °C), esto nos indica que almacenado a temperatura ambiente es ligeramente más ácido.

Los grados Brix del pushgay en almíbar almacenado a temperatura ambiente sufrieron un incremento en el día 21 y 28 con los siguientes valores de 21 °Bx a 21,2 °Bx respectivamente, para luego mantenerse con un valor de 21,4 °Bx hasta el término de la evaluación, en cambio los valores de °Bx del pushgay en almíbar almacenados en refrigeración no sufrieron ninguna variación.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- La variación de la concentración de antocianinas totales del pushgay en almíbar almacenado tanto a temperatura ambiente (20 °C) como en refrigeración (5 °C) tiene un comportamiento similar, siendo el valor más alto para el producto almacenado a temperatura ambiente de 245,68 mg por 100 g de fruto y almacenado en refrigeración de 177,33 mg por 100 g de fruto; estos valores se dieron en la primera y segunda semana respectivamente.
- La concentración de antocianinas totales tanto para temperatura ambiente (20 °C) y en refrigeración (5 °C) a partir de la cuarta semana de almacenamiento tuvo una variación mínima siendo los valores promedio de 128,7 y 191,47 mg por 100 g de fruto respectivamente. Por lo tanto, el producto almacenado en refrigeración tiene un mayor promedio de concentración de antocianinas totales.
- Los °Bx en el producto almacenado a temperatura ambiente (20 °C) tuvo una variación a en el día 21 con un valor de 21 °Bx, en el día 28 con un valor de 21,2 °Bx y desde los 35 hasta los 70 días con un valor de 21,4 °Bx mientras que el almacenado en refrigeración (5 °C) no tuvo ninguna variación.
- El pH en el producto almacenado en refrigeración (5 °C) tuvo una mayor variación con un valor promedio de 3,64 mientras que el almacenado a temperatura ambiente (20 °C) se obtuvo un valor promedio de 3,28.

5.2. Recomendaciones

- El pushgay en almíbar almacenado a temperatura ambiente debe consumirse durante la primera semana de almacenamiento ya que aporta un alto contenido de antocianinas para la dieta humana.
- Realizar estudios microbiológicos y organolépticos para establecer el tiempo de vida útil del producto para su consumo.
- Realizar análisis a los azúcares reductores presentes en el producto, sobre la influencia en la concentración de las antocianinas totales.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

- Agronegocios “Cultivo del agraz”. 2011. La república. Bogotá, Colombia; 18 abr. 2017. https://issuu.com/diario_larepublica/docs/agronegocios-20110524.
- Aguilar, M; Reza, Alanis, MG; García, CL; Hernández, CM. 2009. Caracterización y estabilidad de antocianinas de higo, variedad Mission. (en línea, sitio web). Universidad y Ciencia trópico húmedo. 25(2):151-158. Consultado 01 jul. 2016. Disponible en <http://www.scielo.org.mx/pdf/uc/v25n2/v25n2a5.pdf>.
- Almeida, G. 2012. Extracción y caracterización del colorante natural del maíz negro (*Zea mays* L.) y determinación de su actividad antioxidante. Tesis de pregrado, Facultad de ingeniería química y agroindustrial, carrera profesional de ingeniería agroindustria. Escuela Politécnica Nacional. Ecuador.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists, USA). 2012. Official Methods of Analysis: total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines (sitio web). 19 ed. Latimer, GW (ed.). Consultado 16 may. 2016. Disponible en http://www.techstreet.com/standards/oficial-methods-of-analysis-of-aoac-international-19th-edition-2012?product_Id=1881941.
- Badui, S. 2006. Química de los Alimentos: pigmentos (en línea, sitio web). 4 ed. México. Pearson educación. 716p. consultado 18 may. 2016. Disponible en http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Libro-Badui2006_26571.pdf.
- Barreiro, JA; Sandoval, AJ. 2006. Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas (en línea, sitio web). Venezuela. Equinoccio. 313 p. consultado 18 may. 2016. Disponible en https://books.google.com.pe/books?id=r7y3XuFAB8UC&pg=PR2&lpg=PR2&dq=Barreiro+y+Sandoval+2006&source=bl&ots=VOWEplvWhw&sig=75lMialpvwa_7THLli_xWRxdddDs&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjSIIDpi7zTAhVBRSYKHdwXCzsQ6AEIIDAA#v=onepage&q=Barreiro%20y%20Sandoval%202006&f=false.
- Biolink Group [homepage on the internet]. Sandnes, NO: Biolink Group, AS.; [cited 2009 Oct 15] Available from: <http://www.biolink.no/products/profesional-dietary-supplementarticle86-111.html>

- Botanical-Online (1999-2017). Propiedades alimentarias del arándano (en línea, sitio web). Texas. Revista online. Consultado 18 de abr. 2017. Disponible en <http://www.botanical-online.com/propiedadesarandanos.htm>.
- Buchert, J; Koponen, JM; Suutarinem, M; Mustranta, A; Lile, M; Torronen, M; Poutanen, K. 2005. Efecto of enzyme-aided pressing on anthocyanin yield and profiles in bilberry and blackcurrant juices. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (85):2548-2556.
- Burin, B; Falcao, L; Valdemoro, L; Color. 2010. Contenido fenólico y actividad antioxidante del jugo de uva. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 30 (4):1-6.
- Brako, L; Zarucchi, J. 1993. *Catalogue of the Flowering Plant and Gymnosperms of Peru*. USA. Editorial Assistant DianiaGUnter. 45 v. (Serie ISBN 0-915279-19-3/ISSN 0161-1542).
- Colquichagua, D. 1999. Frutas en almíbar (en línea, sitio web). Lima, Perú. *Soluciones Prácticas-ITDG*. 30 p. (Serie procesamiento de alimentos, v. 15). Consultado 05 jul. 2016. Disponible en http://www.solucionespracticas.org.pe/ns_publicaciones.
- Durst, R; Wrolstad, R. 2005. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study (en línea, sitio web). s. n. t. *Journal of AOAC International (Dietary Supplements)*88(5):1269-1278. Consultado 20 may. 2016. Disponible en <https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/37108/PDF/LEEJAOAC.pdf>.
- Escribano, MT; Beulga, C; Rivas, JC. 2004. Anthocyanins in cereales. *Journal Chromatography*. 1054:129-141.
- Espinoza, E. 1997. *Elaboración sensorial de los alimentos*. Tacna, Perú. 89 p.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) / PRODAR (Programa Cooperativo de Desarrollo Rural para América Latina y el Caribe). 2014. Fichas técnicas: procesados de frutas (en línea, sitio web). consultado 04 jul. 2016. Disponible en <http://www.fao.org/3/a-au168s.pdf>.
- Fennema, OR. 2000. *Química de los Alimentos* (en línea, sitio web). Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 1258 p. Consultado 15 may. 2016. Disponible en <https://sceqa.files.wordpress.com/2014/05/quc3admica-de-los-alimentos-fennema.pdf>.

- Fernández, NA. 1995. Estudio de la extracción y pre-purificación de las antocianinas de maíz morado (*Zea mays* L.) Tesis ing. en Industrias Alimentarias. UNALM. Lima. 125 p.
- Gauche, C; Da Silva, E; Bordignon, M. 2010. Effect of pH on the copigmentation of anthocyanins from Cabernet Sauvignon grape extracts with organic acids. *Sci. Agric.* 67 (1):1-4.
- Garcia, N. 2014. Evaluación de la estabilidad del colorante antocianínico extraído a partir del fruto silvestre capachu (*hesperomeles escalloniifolia schldl*) durante el almacenamiento de una bebida gasificada. Tesis Ing. Andahuaylas, Perú, UNJMA. 114 p.
- Garzón, GA. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta Biológica Colombiana.* 13(3):27-36.
- Geldenhuis, L. 2009. Influencia da adición de oxígeno sobre la composición fenólica de vino tinto. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias. Universidad de Stellenbosch. Sudáfrica.
- Guevara, A; Cancino, K. 2015. Elaboración de fruta en almíbar (en línea, sitio web). Separata CICTAAL. Lima, Perú. 13 p. consultado 05 jul. 2016. Disponible en <http://www.lamolina.edu.pe/postgrado/pmdas/cursos/dpactl/lecturas/separata%20fruta%20en%20almibar.pdf>.
- Gutierrez, A. 2015. V Seminario internacional de berries y cerezas (en línea, sitio web). Diapositivas Sierra exportadora. Lima, Perú. Consultado 18 abr. 2017. Disponibles en <http://www.sierraexportadora.gob.pe/descargas/ferias-eventos/SEMINARIO-BERRIES/berries/Antonietta%20Gutierrez>.
- Giusti, MM; Worlsted, RE. 2001. Anthocyanins: Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy". *Current protocols in food analytical chemistry*, John Wiley & Sons, Inc. New York. 1-13.
- Hoshino, T; Matsumoto, U; Goto, T; Harada, N. 1992. Evidence for the self-association of anthocyanins in neutral aqueous solution. *Tetrahedron Lett.* 23:433.
- Horbowicz, M; Kosson, R; Grezsiuk, A; Debski, H. 2008. Anthocyanins of fruits and vegetables-their occurrence, analysis and role in human nutrition. *Vegetales crops research bulletin*, 68:5-22.
- Hoyos, J. 1989. Frutales en Venezuela (nativos y exóticos). Monografía 36. Sociedad de Ciencias Naturales, La Salle, Caracas, Venezuela. 104 p.

- Hutchings, JB. 1999. Food color and appearance. 2 ed. Aspen publishers, inc. Gaithersburg. 484-487.
- Ibarz, A; Barbosa, GV. 2005. Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos. España: Mundi-Prensa. 855 p.
- Joseph, JA; Shukitt-Hale, B; Denisova, NA; Bielinski, DB; Martin, A; Mcewen, JJ. 1999 Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive and motor behavioral deficits with blueberry, spinach, or strawberry dietary supplementation. J Neurosci.19:8114-21.
- Kallio, H; Pallasaho, S; Kärppä, J; Linko, RR. (1986). Comparison of the half-lives of the anthocyanins in the juice of crowberry, *Empetrum nigrum*. Journal of Food Science, 51 (2), 408- 410.
- Lock O. Antocianinas. En: Colorantes alimentarios. PUCP, Fondo Editorial. Lima. 1997.
- Malik, M; Zhao, C; Shoene, N; Giusti, MM; Moyer, MP; Magnuson, BA. 2003. Anthocyanin-rich extract from *Aronia Meloncarpa* E. Induces a Cell Cycle block in Colon Cancer but not normal colonic cells (en línea, sitio web). Nutrition and Cancer 46(2):186-196. Consultado 20 jun. 2016. Disponible en http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1207/S15327914NC4602_12
- Noboa, V. 2010. Efecto de seis tipos de sustratos y tres dosis de ácido naftalenacético en la propagación vegetativa de mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*). Tesis, Ing. Forestal. Riobamba-Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Recursos Naturales. Escuela de Ingeniería Forestal. 105 p.
- Márquez, LF; Torres, FE; Pretell, C. 2007. Antocianinas totales, fenoles totales y actividad antioxidante en pulpas de frutas (en línea, sitio web). PUEBLO CONTINENTE Revista Oficial de la Universidad Privada Antenor Orrego (Sección Investigaciones Aplicadas). 18(2):209-214. Consultado 30 jun. 2016. Disponible en http://www.upao.edu.pe/publicaciones/PUEBLO_CONTINENTE/PUEBLO_CONTINENTE_18%282%29_2007.pdf.
- Medina, C; Pretel, O; Urquiaga, T; Torres, P; Villanueva, C. 2015. Efecto hepatoprotector de *Vaccinium floribundum HBK* "pushgay" (ericaceae) frente al estrés oxidativo inducido con tetracloruro de carbono. La libertad, Perú. Revista The Biologist (Lima). 13(2):235-247.

- Quispe, RA. 2003. Estudio de la extracción de antocianinas del camote morado (*Ipoemoea batatas*). Tesis Ing. en Industrias Alimentarias. UNALM. Lima. 150p.
- Ramos, ME; Jordán, OB; Bravo, N. 2012. Fitoquímicos en alimentos: licopeno, antocianinas, betalaínas y taninos. Lima, Perú. Biblioteca Nacional del Perú. 133p.
- Rein, MJ. 2005. Copigmentation reaction and color stability of berry anthocyanins. Disertación académica. Universidad de Helsinki. Helsinki. 87 p.
- Rodríguez, MA; Hernández, LA; Madrigal, LV; García, DE; Vázquez, J; Velasco, S. 2010. Evaluación de antocianinas de la zarzamora (*Rubus eubatus*) en fruta y en conserva (en línea, sitio web). México. Respyn may. 2010. P. 1371-1379. Consultado 16 may. 2016. Disponible en <http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2010/ee-09-2010/documentos/frutas.../FH137.pdf>.
- Salazar, OC; López, A. 2011. Manual de prácticas para el procesamiento de frutas. (en línea, sitio web). Sinaloa, México, Fundación produce Sinaloa A.C. Consultado 04 jul. 2016. Disponible en <http://www.fps.org.mx/portal/index.php/publicaciones/100-frutales/1094-manual-practicas-para-el-procesamiento-de-frutas>.
- Sanchez, T. 2003. Procesos de elaboración de alimentos y bebidas. Madrid, España. Ediciones Mundi-Prensa, 519 p.
- Shipp, J; Abdel-Aal, SM. 2010. Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients. The Open Food Science Journal.4:7-22.
- Shukitt-Hale, B; Galli, RL; Meterko, V; Carey, A; Bielinski, DF; Mcghie, T. 2005. Dietary supplementation with fruit polyphenolics ameliorates age-related deficits in behavior and neuronal markers of inflammation and oxidative stress. 27(1):49-57.
- Strack, D; Wray V. 1994. The Anthocyanins. In: HARBONE JB, editor. The Flavonoides. Advances in Research Since. Boca Raton FL: CRC Press.
- Suarez, DX. 2003. Guía de procesos para la elaboración de néctares, mermeladas, uvas pasas y vinos. Bogotá, Colombia. 43 p.

- Ohgami, K; Ilieva, I; Shiratori, K; Koyama; Jin, Xh; Yoshida, K. 2005. Anti-inflammatory effects of aronia extract on rat endotoxin-induced uveitis. *Inv Opht Vis Sci.* 46:275-281.
- Tapia, ME; Fries, AM. 2007. Guía de campo de los cultivos andinos. (en línea, sitio web). Lima, Perú. Biblioteca Nacional del Perú. 103 p. Consultado 25 may. 2016. Disponible en <http://bibliotecavirtual.minam.gob.pe/biam/biststream/handle/minam/1703/BIV01474.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Timberlake, CF. 1980. Anthocyanins-Occurrence, Extraction and Chemistry. *Food Chem.* 5(1)69-80.
- Vasco, C; Rihinen, K; Ruales, J; Kamal-Eldin, A. 2009. Chemical composition and phenolic compound profile of mortiño (*vaccinium floribundum*). *J. Agric. Food Chem.* 57: 8274–8281.
- Valle, ME; Aguirre, J; Domínguez, J. 2011. Evaluación de la estabilidad de antocianinas durante el almacenamiento de zanahoria púrpura (*Daucus carota*) (en línea, sitio web). Lima, Perú. Guzlop. *Revista ECIPERU.* 8(2):112-118. Consultado 16 may. 2016. Disponible en http://guzlop-editoras.com/web_des/ing01/alimentaria/pld0382.pdf.
- Wang, H; Cao, G; Prior, R. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 45(2):304-309.
- Wrolstad, RE. 1993. Color and pigment analyses in fruit products. Agricultural experiment station. Oregon State University, Agricultural Experiment Station, Station Bulletin. 624 p.
- Wrolstad, RE; Durst, RW; LEE, J. 2005. Tracking colour and pigment changes in anthocyanins products, en: *Food Science & Technology.* 16(9):423–428.
- Zapata, IC; Sepulveda-valencia, U; Rojano, BA. 2014. Efecto del Tiempo de Almacenamiento sobre las Propiedades Fisicoquímicas, Probióticas y Antioxidantes de Yogurt Saborizado con Mortiño (*Vaccinium meridionale Sw*). (en línea, sitio web). Colombia. *Revista SciELO (Scientific Electronic Library Online).* Consultado 30 nov. 2016. Disponible en http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642015000200004.

ANEXOS

1. Procesamiento del pushgay en almíbar



Figura 16. Recepción



Figura 17. Selección

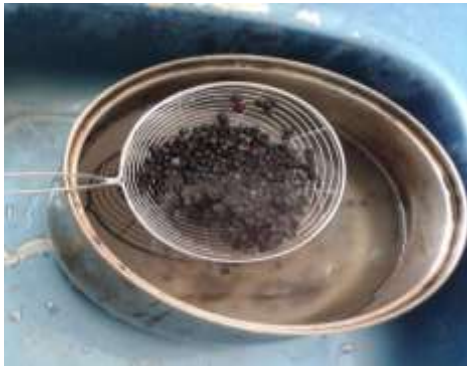


Figura 18. Desinfección



Figura 19. Preparación de almíbar



Figura 20. Pre cocción



Figura 21. Envasado



Figura 22. Evacuado de burbujas



Figura 23. Etiquetado y almacenado a temperatura ambiente (20 °C) y en refrigeración (5°C)

2. Análisis en laboratorio



Figura 24. Drenado del pushgay en almíbar



Figura 25. Pesado del fruto



Figura 26. Triturado manual del fruto



Figura 27. Solvente utilizado



Figura 28. Extracción de antocianinas totales



Figura 29. Filtrado al vacío



Figura 30. Concentración del extracto de antocianinas totales



Figura 31. Adición de buffers



Figura 32. Reacción con los buffers



Figura 33. Lectura de la absorbancia en el espectrofotómetro

3. Lectura de la absorbancia

Tabla 10. Lectura de absorbancia y resultados de las antocianinas totales del pushgay en almíbar almacenada a temperatura ambiente

TIEMPO (días)	°Bx	pH	LECTURA				A	Antocianinas totales (mg/L)	Promedio
			pH 1		pH 4,5				
			510	700	510	700			
0	20	3,12	0,300	0,031	0,021	0,025	0,273	113,970	113,97
			0,300	0,030	0,022	0,025	0,273	113,970	
7	20	3,21	0,658	0,069	0,052	0,050	0,587	245,056	245,68
			0,655	0,065	0,050	0,050	0,590	246,309	
14	20	3,21	0,390	0,044	0,050	0,040	0,336	140,271	139,64
			0,391	0,045	0,058	0,045	0,333	139,018	
21	21	3,21	0,470	0,050	0,059	0,045	0,406	169,494	170,33
			0,470	0,050	0,050	0,040	0,410	171,164	
28	21.2	3,21	0,350	0,029	0,039	0,025	0,307	128,164	127,33
			0,350	0,039	0,040	0,032	0,303	126,494	
35	21.4	3,35	0,369	0,051	0,051	0,041	0,308	128,581	129,00
			0,360	0,048	0,040	0,038	0,310	129,416	
42	21,4	3,40	0,380	0,045	0,058	0,035	0,312	130,251	129,00
			0,370	0,054	0,052	0,042	0,306	127,746	
49	21,4	3,40	0,390	0,060	0,058	0,045	0,317	132,339	132,96
			0,380	0,045	0,045	0,030	0,320	133,591	
56	21,4	3,47	0,370	0,040	0,040	0,030	0,320	133,591	133,38
			0,380	0,048	0,048	0,035	0,319	133,174	
63	21,4	3,35	0,380	0,068	0,072	0,048	0,288	120,232	126,91
			0,370	0,040	0,040	0,030	0,320	133,591	
70	21,4	3,30	0,360	0,052	0,052	0,040	0,296	123,572	122,32
			0,370	0,060	0,060	0,040	0,290	121,067	

A: Absorbancia calculada

Tabla 11. Lectura de absorbancia y resultados de las antocianinas totales del pushgay en almíbar almacenada en refrigeración

TIEMPO (días)	°Bx	pH	LECTURA				A	Antocianinas	
			pH 1		pH 4,5			totales (mg/L)	Promedio
			510	700	510	700			
0	16	3,12	0,300	0,031	0,021	0,025	0,273	113,970	113,97
			0,300	0,030	0,022	0,025	0,273	113,970	
7	20	3,54	0,440	0,048	0,040	0,025	0,377	157,387	162,19
			0,455	0,050	0,040	0,035	0,400	166,989	
14	20	3,59	0,680	0,069	0,069	0,053	0,595	248,396	225,23
			0,560	0,055	0,070	0,049	0,484	202,057	
21	20	3,59	0,518	0,049	0,068	0,039	0,440	183,688	184,94
			0,520	0,051	0,065	0,042	0,446	186,193	
28	20	3,72	0,539	0,052	0,060	0,042	0,469	195,794	195,59
			0,540	0,052	0,061	0,041	0,468	195,377	
35	20	3,72	0,567	0,059	0,079	0,050	0,479	199,969	196,00
			0,520	0,050	0,052	0,042	0,460	192,037	
42	20	3,78	0,540	0,060	0,061	0,050	0,469	195,794	196,00
			0,540	0,059	0,059	0,048	0,470	196,212	
49	20	3,80	0,540	0,060	0,061	0,050	0,469	195,794	196,00
			0,540	0,059	0,060	0,049	0,470	196,212	
56	20	3,78	0,520	0,050	0,050	0,042	0,462	192,872	192,87
			0,520	0,050	0,048	0,040	0,462	192,872	
63	20	3,74	0,510	0,045	0,050	0,041	0,456	190,367	186,61
			0,500	0,042	0,050	0,030	0,438	182,853	
70	20	3,71	0,550	0,050	0,068	0,042	0,474	197,882	177,22
			0,440	0,052	0,052	0,039	0,375	156,552	

A: Absorbancia calculada.

Tabla 12. Resultados de pH y °Bx del pushgay en almíbar

Tiempo de almacenamiento (días)	Temperatura Ambiente (20 °C)		Refrigeración (5 °C)	
	pH	°Bx	pH	°Bx
0	3,12	20	3,12	20
7	3,21	20	3,54	20
14	3,21	20	3,59	20
21	3,21	21	3,59	20
28	3,21	21,2	3,72	20
35	3,35	21,4	3,72	20
42	3,40	21,4	3,78	20
49	3,40	21,4	3,80	20
56	3,37	21,4	3,78	20
63	3,35	21,4	3,74	20
70	3,30	21,4	3,71	20

GLOSARIO

- **Acilación:** Adición de un radical acilo a un compuesto.
- **Aglicona o genina:** Porción diferente del azúcar que se obtiene por hidrólisis de los glicósidos.
- **Almacenamiento:** Acción de guardar en un anaquel, refrigeración, área con resguardo o sitio específico, las mercancías, materia prima o productos para su conservación, custodia, suministro, futuro procesamiento o venta.
- **Alimento funcional:** Aquel que contiene un componente, nutriente o no, con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo, con un efecto fisiológico añadido, por encima de su valor nutricional y cuyos efectos positivos justifican que pueda reivindicarse su carácter funcional (fisiológico) o incluso saludable.
- **Antioxidantes:** Nutrientes que bloquean parte del daño causado por los radicales libres, los cuales son subproductos que resultan cuando el cuerpo transforma alimentos en energía.
- **Antocianinas:** Pigmentos hidrosolubles del grupo de los flavonoides que se hallan en las vacuolas de las células vegetales y que otorgan el color rojo, púrpura o azul a las hojas, flores, frutas y verduras.
- **Estandarizado:** Proceso mediante el cual se realiza una actividad de manera standard o previamente establecida.
- **Flavonoides:** Sub grupo de los polifenoles; dentro de él se encuentran chalconas, flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanoles, antocianinas, catequinas, entre otros.
- **Grados Brix (°Bx):** Medida del porcentaje de sólidos solubles totales. Para el caso de las frutas pueden variar entre 2 a 25 °Brix y expresa la cantidad de azúcar presente.
- **Glicósidos o glucósidos:** Conjunto de moléculas, las cuales en su estructura presentan un azúcar (generalmente monosacárido) y un compuesto diferente a ella. Los glicósidos desempeñan papeles importantes en numerosos organismos vivos.
- **pH:** Símbolo que representa al logaritmo negativo de la concentración de ion hidrógeno, que es una medida del grado de acidez o alcalinidad de una solución. Los valores entre 0 y 7 indican acidez y los valores entre 7 y 14 indican alcalinidad. El valor para agua destilada pura es 7, que se considera neutro.