



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución- NoComercial-Compartirigual 2.5 Perú](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/).

Vea una copia de esta licencia en <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**Cuantificación de antocianinas por el método de pH diferencial del fruto de la uva Isabella (*Vitis labrusca*) procedente del distrito de San Antonio de Cumbaza**

**Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agroindustrial**

**AUTOR:**

**Hanower Smith Paredes Tuanama**

**ASESORA:**

**Ing. Dra. Mari Luz Medina Vivanco**

**Tarapoto – Perú**

**2018**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**Cuantificación de antocianinas por el método de pH diferencial del fruto de la uva Isabella (*Vitis labrusca*) procedente del distrito de San Antonio de Cumbaza**

**Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agroindustrial**

**AUTOR:**

**Hanower Smith Paredes Tuanama**

**Sustentado y aprobado el 17 de diciembre del 2018 por los siguientes jurados**

.....  
**Ing. MSc. Epifanio Efraín Martínez Mena**  
**PRESIDENTE**

.....  
**Ing. MSc Karen Gabriela Documet Petrlik**  
**SECRETARIA**

.....  
**Ing. Dr. Euler Navarro Pinedo**  
**MIEMBRO**

.....  
**Ing. Dra. Mari Luz Medina Vivanco**  
**ASESORA**

## Declaratoria de Autenticidad

**Hanower Smith Paredes Tuanama**, identificado con DNI N° 70048045, bachiller de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Escuela profesional de Ingeniería Agroindustrial, de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, con la tesis titulada: **Cuantificación de antocianinas por el método de pH diferencial del fruto de la uva Isabella (*Vitis labrusca*) procedente del distrito de San Antonio de Cumbaza.**


### Declaro bajo juramento que:

1. La tesis presentada es de mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido auto plagiado; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presenta en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

De considerar que el trabajo cuenta con una falta grave, como el hecho de contar con datos fraudulentos, demostrar indicios y plagio (al no citar la información con sus autores), plagio (al presentar información de otros trabajos como propios), falsificación (al presentar la información e ideas de otras personas de forma falsa), entre otros, asumo las consecuencias y sanciones que de mis acciones se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto.

Tarapoto, 28 de diciembre del 2018.



  
.....  
**Bach. Hanower Smith Paredes Tuanama**  
DNI N° 70048045



**Formato de autorización NO EXCLUSIVA para la publicación de trabajos de investigación, conducentes a optar grados académicos y títulos profesionales en el Repositorio Digital de Tesis.**

**1. Datos del autor:**

Apellidos y nombres:	Paredes Tuanama Hanower Smith	
Código de alumno :	082130	Teléfono: 975207005
Correo electrónico :	hans-pt20@hotmail.com	DNI: 70048045

(En caso haya más autores, llenar un formulario por autor)

**2. Datos Académicos**

Facultad de:	Ingeniería Agroindustrial
Escuela Profesional de:	Ingeniería Agroindustrial

**3. Tipo de trabajo de investigación**

Tesis	(X)	Trabajo de investigación	( )
Trabajo de suficiencia profesional	( )		

**4. Datos del Trabajo de investigación**

Título:	Cuantificación de antocianinas por el método de pH diferencial del fruto de la uva Isabella (Vitis labrusca) procedente del distrito de San Antonio de Cumbaza.
Año de publicación:	2018

**5. Tipo de Acceso al documento**

Acceso público *	(X)	Embargo	( )
Acceso restringido **	( )		

Si el autor elige el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, una licencia **No Exclusiva**, para publicar, conservar y sin modificar su contenido, pueda convertirla a cualquier formato de fichero, medio o soporte, siempre con fines de seguridad, preservación y difusión en el Repositorio de Tesis Digital. Respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.

En caso que el autor elija la segunda opción, es necesario y obligatorio que indique el sustento correspondiente:

--

**6. Originalidad del archivo digital.**

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, como parte del proceso conducente a obtener el título profesional o grado académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el Jurado.

## 7. Otorgamiento de una licencia *CREATIVE COMMONS*

Para investigaciones que son de acceso abierto se les otorgó una licencia *Creative Commons*, con la finalidad de que cualquier usuario pueda acceder a la obra, bajo los términos que dicha licencia implica

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

El autor, por medio de este documento, autoriza a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Digital de Tesis, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.

Según el inciso 12.2, del artículo 12° del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar grados académicos y títulos profesionales - RENATI "Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA".



Firma del Autor

## 8. Para ser llenado en la Oficina de Repositorio Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso Abierto de la UNSM – T.

Fecha de recepción del documento:

04 / 01 / 19



Firma del Responsable de Repositorio Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso Abierto de la UNSM – T.

**\*Acceso abierto:** uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla, buscarla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).

**\*\* Acceso restringido:** el documento no se visualizará en el Repositorio.

## Dedicatoria

Este trabajo de investigación lo dedico a mis padres, Gabriela y Alexander, a mis hermanos Gabriel y Alexia; quienes me han brindado el apoyo moral y económico para llegar a una de mis principales metas de mi vida, ser un profesional.

## **Agradecimiento**

A Dios por guiar mi vida y darme la oportunidad de concluir exitosamente una meta más en mi vida.

A mi mamá Gabriela por estar siempre a mi lado y ser la fuerza de mi inspiración. A mi papá Alexander por ser ejemplo de responsabilidad, perseverancia y compromiso social. A mis hermanos Gabriel y Alexia.

Agradecido por el apoyo que me han brindado en el transcurso de mi vida estudiantil y desarrollo personal.

A la Dra. Mari Medina Vivanco por el apoyo y la confianza y al Ing. Dr. Thony Arce Saavedra por sus conocimientos y apoyos del tema, al Ing. Elmer Burga, conocedor del tema y por su apoyo en persona.

Al Ing. Richer Garay Montes por su apoyo y asesoramiento incondicional en el laboratorio de Investigación de la FIAI y al Ing. MSc. Enrique Terleira García por su apoyo en el laboratorio de ANACOMPA.

A mis compañeros Ali, Juan, Thais y Sandra, por su amistad, consejos y escuchar mis problemas.

A mis amigos Karito Caro, Susana García e Ivan Tirado, por su apoyo incondicional en momentos críticos dándome los ánimos necesarios para la culminación de este proyecto y continuar con nuevas expectativas personales.



## Índice

<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>3</b>
1.1. La Uva ( <i>Vitis labrusca</i> ).....	3
1.1.1. Origen y condiciones ecológicas.....	3
1.1.2. Taxonomía.....	3
1.1.3. Maduración de la uva.....	6
1.1.4. Índice de madurez.....	6
1.1.5. Caracterización química y nutricional del fruto <i>Vitis labrusca</i> .....	8
1.2. Antocianinas.....	10
1.2.1. Estabilidad de las antocianinas.....	11
1.2.2. Polaridad de las antocianinas.....	12
1.2.3. Efecto del pH en las antocianinas.....	13
1.3. Cuantificación de antocianinas.....	15
1.3.1. Extracción de antocianinas.....	15
1.3.2. Cuantificación de antocianinas monoméricas y color polimérico.....	16
1.3.3. Antocianinas en frijoles.....	17
<b>CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
2.1. Lugar de ejecución.....	21
2.2. Materia prima.....	21
2.3. Materiales y métodos.....	21
2.3.1. Materiales.....	21
2.3.2. Metodología experimental.....	23
2.3.2.1. Flujograma obtención de pulpa del fruto de la uva Isabella.....	23
2.3.2.2. Fruto uva Isabella ( <i>Vitis labrusca</i> ).....	24
2.3.2.3. Proceso de obtención de la pulpa.....	24
2.3.3. Análisis químicos.....	25
2.3.3.1. Composición proximal.....	25
2.3.3.2. Determinación de antocianinas.....	26
2.3.3.3. Cuantificación de antocianinas.....	28
2.3.3.4. Evaluación de antocianinas.....	28
2.3.3.5. Diseño Experimental.....	29

<b>CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>31</b>
3.1. Análisis físico fruto uva Isabella ( <i>Vitis labrusca</i> ).....	31
3.2. Análisis fisicoquímicos.....	32
3.3. Cuantificación de antocianinas.....	33
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>41</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>42</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>43</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>51</b>

## Índice Tablas

<b>Tabla 1.</b> Clasificación taxonómica de la uva <i>Vitis labrusca</i> .....	4
<b>Tabla 2.</b> Clasificación botánica de la vid .....	5
<b>Tabla 3.</b> Características, biométricas y composición porcentual del fruto de la uva ( <i>Vitis labrusca</i> ) .....	5
<b>Tabla 4.</b> Características físicas de la uva Isabella ( <i>Vitis labrusca</i> ).....	9
<b>Tabla 5.</b> Características químicas de la uva Isabella ( <i>Vitis labrusca</i> ).....	9
<b>Tabla 6.</b> Composición por 100 gramos de porción comestible de uva .....	10
<b>Tabla 7.</b> Métodos de extracción de antocianinas .....	16
<b>Tabla 8.</b> Antocianinas totales reportadas en frijol rojo y negro .....	18
<b>Tabla 9.</b> Contenido de antocianinas en frutas frescas comúnmente usadas como fuentes de colorantes naturales .....	19
<b>Tabla 10.</b> Contenido de antocianinas en diferentes especies de bayas (mg/100 g peso fresco).....	19
<b>Tabla 11.</b> Métodos usados para la determinación de análisis químicos .....	25
<b>Tabla 12.</b> Combinación de los tratamientos experimentales .....	30
<b>Tabla 13.</b> Características biometricas de la uva Isabella ( <i>Vitis labrusca</i> ).....	31
<b>Tabla 14.</b> Valores experimentales fisicoquímicos de la pulpa de uva Isabella ( <i>Vitis labrusca</i> ).....	32
<b>Tabla 15.</b> Composición proximal de la pulpa de uva Isabella ( <i>Vitis labrusca</i> ).....	33

## Índice Figuras

<b>Figura 1.</b> Fruto de la uva <i>Vitis labrusca</i> .....	3
<b>Figura 2.</b> Fruto de la uva en el proceso de maduración .....	7
<b>Figura 3.</b> Estructura química de las antocianidinas.....	11
<b>Figura 4.</b> Ubicación de los antocianos en las células del hollejo cercana a la epidermis E: epidermis, VT: vacuola tánica, P: pulpa.....	12
<b>Figura 5.</b> Evaluación del contenido en antocianos y taninos durante la maduración.....	13
<b>Figura 6.</b> Ecuación del efecto del pH en la forma de las antocianinas .....	14
<b>Figura 7.</b> Distribución de las estructuras de antocianinas en función del pH. Malvidina 3-glucosido; 25°C. AH+ = catión flavilio rojo, B = base carbinol incolora, C = calcona incolora, A = base quinoidal azul .....	15
<b>Figura 8.</b> Reacción de las antocianinas con bisulfito para formar antocianinas sulfónicas incoloras .....	17
<b>Figura 9.</b> Obtención de la pulpa del fruto de la uva isabella .....	23
<b>Figura 10.</b> Flujograma para la determinación de antocianinas por el método de pH diferencial.....	27
<b>Figura 11.</b> Comportamiento del contenido de antocianinas (mg/100g) a diferentes métodos de operaciones unitarias, tiempo(s) y temperatura (°C), en uva Isabella ( <i>Vitis labrusca</i> ).....	34
<b>Figura 12.</b> Contenido de antocianinas (mg/100g) aplicando dos métodos licuado y extractado .....	35
<b>Figura 13.</b> Contenido de antocianinas (mg/100g) aplicando 03 temperaturas en uva Isabella ( <i>Vitis labrusca</i> ).....	36
<b>Figura 14.</b> Influencia del método de operación unitaria VS temperatura en el contenido de antocianinas (mg/100g), en uva Isabella ( <i>Vitis labrusca</i> ).....	37
<b>Figura 15.</b> Medias del contenido de antocianinas (mg/100g) aplicando 03 tiempos en uva Isabella ( <i>Vitis Labrusca</i> ).....	38
<b>Figura 16.</b> Interacción del método de extracción y tiempo en el contenido de antocianinas (mg/100g), en uva Isabella ( <i>Vitis labrusca</i> ).....	39
<b>Figura 17.</b> Interacción de tiempo VS temperatura en el contenido de antocianinas (mg/100g), en uva Isabella.....	40

## Listado de siglas o abreviaturas

<b>AA</b>	actividad antioxidante
<b>ANOVA</b>	análisis de variación
<b>AT</b>	antocianinas totales
<b>BHA</b>	butil-hidroxi-anisol
<b>BHT</b>	butil-hidroxi-tolueno
$\lambda_{\text{max}}$	longitud de onda de absorción máxima
<b>DMPD</b>	dicloridrato de N, N-Dimetil-p-fenilendiamina
<b>EAG</b>	equivalente de ácido gálico
<b>EtOH</b>	etanol
<b>FM</b>	fase móvil
<b>MeOH</b>	metanol
<b>MS<sup>2</sup></b>	masa-masa
<b>MW</b>	peso molecular
<b><math>\mu\text{m}</math></b>	micromol
<b>nm</b>	nanómetro
<b>RO<sub>2</sub><sup>·</sup></b>	radical peróxido
<b>rpm</b>	revoluciones por minuto
<b>SPE</b>	extracción en fase sólida
<b>UV-Vis</b>	espectrofotometría en la región ultravioleta visible



## Resumen

Las antocianinas son los compuestos responsables del color rojo en la uva. Conocer su composición y contenido, provee información útil para entender su color, la variación de color en sus diferentes estudios de extracción, usos viables como colorantes naturales, y propiedades nutraceuticas. El objetivo del presente trabajo fue determinar el contenido de antocianinas por el método de pH diferencial, en la pulpa de uva Isabella (*Vitis labrusca*), fresca y mínimamente procesada. En este método, los pigmentos antociánicos fueron sometidos a transformaciones estructurales reversibles por un cambio del resultado de pH en el medio, en un cambio dramático en los espectros de absorción (las formas predominantes de oxonio de color a un pH de 1.0 y la forma incolora hemiacetal a pH 4.5). El método de pH-diferencial está basado en esta reacción, y permite una medición rápida y precisa de las antocianinas, incluso en la presencia de pigmentos polimerizados degradados y otros compuestos de interferencia. Se evaluó dos muestras de extracción (licuado y extractado) a tres temperaturas (35, 40 y 45°C) y tres tiempos (10, 20 y 30s). Los resultados en la determinación y cuantificación de antocianinas para la uva Isabella (*Vitis labrusca*) arrojaron valores menores a los que reporta la bibliografía Arce et al. (2016), 57.40 mg/g jugo de uva para especies parecidas a la uva estudiada. La pulpa de la uva Isabella (*Vitis labrusca*), presentó  $12.20 \pm 0.16$  sólidos solubles (°Brix),  $3.15 \pm 0.12$  de pH,  $1.17 \pm 0.03$  de acidez titulable (mg de ácido tartárico/100 ml de pulpa). El mejor método de extracción de antocianinas fue el licuado, utilizando una temperatura de 40 ° C por un tiempo de 30 segundos donde se obtuvieron 23.19 mg/100g de antocianinas a partir de la pulpa de uva Isabella.

Palabras Claves: antocianinas, licuado, extractado, uva Isabella, pH diferencial.

## Abstract

Anthocyanins are the compounds responsible for the red color in grapes. Knowing their composition and content, provides useful information to understand their color, the variation of color in their different extraction studies, viable uses such as natural dyes, and nutraceutical properties. The objective of the following work was to determine the content of anthocyanins by the differential pH method, in the pulp of the Isabella grape (*Vitis labrusca*), fresh and minimally processed. In this method, the anthocyanin pigments are subjected to reversible structural transformations by a change in the pH result in the medium, in a dramatic change in the absorption spectra (The predominant forms of color oxonium at a pH of 1.0 and the colorless form hemiacetal at pH 4.5). The pH-differential method is based on this reaction, and allows a fast and accurate measurement of anthocyanins, even in the presence of degraded polymerized pigments and other interfering compounds. The results in the determination and quantification of anthocyanins for the Isabellas grape (*Vitis labrusca*) yielded lower values than those reported in the literature Arce et al. (2016), 57.40 mg/g grape juice for species similar to the grape studied. Two extraction samples (liquefied and extracted) were evaluated at three temperatures (35, 40 and 45 ° C) and three times (10, 20 and 30s). The extraction method by liquefied with a treatment of 40 ° C and a time of 30 minutes was obtained greater extraction of anthocyanins than by the extraction method. The pulp of the isabella grape (*Vitis labrusca*), presented  $12.20 \pm 0.16$  soluble solids (° Brix),  $3.15 \pm 0.12$  pH,  $1.17 \pm 0.03$  titratable acidity (mg of tartaric acid / 100 ml of pulp). The best method of extraction of anthocyanins was the liquefied, using a temperature of 40 ° C for of 30 seconds, using this method we obtained 23.19 mg / 100g of anthocyanins from the Isabella grape pulp.

Keywords: anthocyanins, liquefied, extracted, Isabella grape, differential pH.



## Introducción

En la región San Martín la variedad de flora es muy rica, en la que podemos contar con muchas variedades de frutas; que, aunque resultan de fácil explotación y de consumo masivo, no son aprovechadas adecuadamente. No es el caso de la especie *Vitis labrusca*, que en la región es conocida como Isabella o Borgoña Negra; siendo una planta de gran importancia para los pobladores de las zonas rurales y urbanas de la selva peruana, que tiene una tradición de procesamiento y consumo masivo en forma de vino, uvachado, vinagre, mermelada, néctares y como fruta fresca. Sin embargo, a pesar de presentar múltiples nutrientes y sustancias activas, el conocimiento sobre su valor como una posible fuente de polifenoles y por su color característico morado–violáceo, aún es deficiente.

El grano de uva consta de piel u hollejo (7 %); pepitas (3 %); y pulpa o mosto (90 %). La piel u hollejo; es el elemento envolvente del grano, en cuyo interior se hallan las pepitas y la pulpa. Es de constitución acuosa-celulósica, elástica tersándose a medida que aumenta el volumen. El hollejo encierra dos grupos de sustancias altamente interesantes en la vinificación de tintos: taninos y materias colorantes (**Carbonell, 1970**).

Las antocianinas constituyen una gran familia de polifenoles en plantas y son responsables de los colores para muchas frutas y flores observadas en la naturaleza (**Oh et al., 2008**).

Las antocianinas representan el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles detectables en la región visible por el ojo humano (**Strack y Wray, 1993**). Estos pigmentos son responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul en varias frutas, vegetales y cereales, y se encuentran acumulados en las vacuolas de la célula (**Wagner, 1982**). Las antocianinas poseen diferentes funciones en la planta como son la atracción de polinizadores para la posterior dispersión de semillas y la protección de la planta contra los efectos de la radiación ultravioleta y contra la contaminación viral y microbiana. El interés por los pigmentos antociánicos y su investigación científica se ha incrementado en los últimos años, debido no solamente al color que confieren a los productos que las contienen sino a su probable papel en la reducción de las enfermedades coronarias, cáncer,

diabetes; a sus efectos antiinflamatorios y mejoramiento de la agudeza visual y comportamiento cognitivo

En los frutos, las antocianinas se localizan preferentemente en la cáscara y ocasionalmente en la pulpa y pueden contener un solo tipo de pigmento, como en la manzana (*Pyrusmalus*) y la grosella roja (*Ribesrubrum*), las cuales contienen únicamente cianidina. En cambio, frutos como la uva (*Vitis vinifera*) y los arándanos (*Vacciniummyrtillus*) contienen la combinación de cinco de las seis antocianidinas comunes. La variación de antocianinas en frutos es más limitada que en flores, donde se han registrado 50 diferentes, de las cuales la cianidina es la más común, y siguen en orden de importancia, peonidina, delfinidina, pelargonidina, malvidina y petunidina (**Gross, 1987**).

Realizando un intento de preservar las fuentes alimenticias de la uva , como también conocer el potencial y los principios activos que puedan contribuir a una alimentación más sana; extrayéndola de la forma más correcta para preservarlas y no permitir que se destruyan en su proceso de transformación; éste trabajo de investigación, tiene los siguientes objetivos.

Objetivo General:

- Cuantificación de antocianinas por el método de pH diferencial del fruto de la uva Isabella (*Vitis labrusca*) procedente del distrito de San Antonio de Cumbaza.

Objetivos Específicos:

- Determinar el mejor método de extracción de antocianinas de pulpa de uva.
- Cuantificar el contenido de antocianinas totales en la pulpa de la uva fresca y mínimamente procesada.

# CAPITULO I

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1.1. La Uva (*Vitis labrusca*)

#### 1.1.1. Origen y condiciones ecológicas

Desde inicios de 1950, la uva es cultivada en San Martín. Este cultivo, trabajado a gran escala hace dos décadas produce con una técnica artesanal, dos cosechas por año y hasta tres en catorce meses (CEPCO – ITDG, 1994).

La vid es un arbusto naturalmente frondoso, de mucho follaje y mucha madera, por lo cual conviene que los suelos sean de fertilidad media o escasa, aunque naturalmente no áridos. También soporta bajas temperaturas en invierno y grandes calores en verano. No obstante, vive mejor en tierras de climas templados (Larrea, 1983).



*Figura 1.* Fruto de la uva *Vitis labrusca* (Larrea, 1983)

#### 1.1.2. Taxonomía

Según Castañeda (1992) se estima que se viene cultivando la Borgoña o Isabella aproximadamente 100 años, en forma tradicional y empírica que solo se utiliza para la producción de vino en forma deficiente, encontrándose las concentraciones de azúcares muy bajas y a su vez lo caracteriza de la siguiente manera:



**Tabla 1***Clasificación taxonómica de la uva Vitis labrusca*

VARIABLES	Características
Variedad	Borgoña negra
Tamaño racimo	Mediano chico
Color de racimo	Cónica
Tamaño de grano	Mediano
Forma de grano	Esferoide
Tamaño promedio	1.5 cm de diámetro
Peso cáscara y pepas	1.155 g (33%)
Peso total	3.5g
Sólidos solubles	12°Brix
pH	3
Densidad de pulpa	1.034 g/cm <sup>3</sup>
Ácido ascórbico	4.6 mg/100 g de muestra
Acidez	1.35% (expresado como ácido tartárico)
Índice de madurez	8.89

Fuente: Castañeda (1992)

Aunque se siguen describiendo taxones que hacen proveer de un incremento de tal cifra; así **Galet (1988)** reconoce hasta 64 especies diferentes, si bien algunas de estas no son tan consideradas como un rango taxonómico tan elevado por otros autores o bien se tratan por aquello como híbridos.

La botánica sistemática sitúa la variedad de vid, *borgoña negra*, en la más importante del reino vegetal (**Hidalgo 1993**).

El fruto de la vid es catalogado como una baya que crece en racimos, la uva verde, sin madurar, posee una gran carga de ácidos tartáricos, málicos y en menor cantidad cítricos. Estas sustancias tienen como efecto al tipo de variedad de la que procede y de las condiciones edafoclimáticas, ya que la luz, temperatura y humedad van a ser decisivos en la conformación de los ácidos orgánicos (**Peñin, 1998**).

**Tabla 2***Clasificación botánica de la vid*

Tipo	Fanerógamas
Sub-tipo	Angiospermas
Clase	Dicotiledóneas
Sub-clase	Dialipétalas
Orden	Ramnales
Familia	Vitáceas
Género	Vitis
Especie	labrusca

Fuente: Hidalgo (1993)

En la maduración de la uva los ácidos predominantes van siendo desplazados por la presencia de azúcares de la frenética actividad ejercida por las hojas, merced al proceso de fotosíntesis (Peñin, 1998). No obstante, la variedad cultivada en la Región San Martín es la Borgoña negra (*Vitis labrusca*), está constituida por 14% de hollejo, 61% de mosto, y 3 % de pepas (García, 1998).

**Tabla 3.***Características, biométricas y composición porcentual del fruto de la uva (Vitis labrusca).*

	Característica	Según Vidaurre (2004)	Según García (1998)
Racimo	Peso promedio	105.62 g	108 g
	Raspón o escobajo	5%	5 %
	Fruto Peso	95%	95 %
	Diámetro promedio	1.78 cm	1.88 cm
Grano	Peso promedio	4.20 g	4.42 g
	Semillas o pepitas	5.90 %	3.23 %
	Hollejo	13.80%	14.36 %
	Pulpa	80.30%	82.41 %
	Rendimiento mosto	60%	61 %

Fuente: (García 1998 y Vidaurre 2004)

### 1.1.3. Maduración de la uva

**Jubileu et al. (2010)** aseguran que los sólidos solubles totales y la acidez total titulable presentan importancia fundamental en el monitoreo del punto de cosecha de frutos de uva, posibilitando un mejor control de la calidad de la materia prima para elaboración de vinos. Por ser el índice de madurez total una medida que cambia perceptiblemente a través del período de maduración de la fruta y que indica las condiciones aproximadas en que debe efectuarse la cosecha (**Auda, 1977**).

La importancia del índice de madurez total, según **Angón et al. (2006)**, radica en que la proporción entre azúcar y acidez proveen a muchas frutas su sabor característico, además de ser un indicador de la madurez comercial y organoléptica, que permite mayor calidad al producto final.

El grado de madurez de la fruta al momento de la cosecha es un factor de primera importancia, puesto que de él depende prioritariamente la palatabilidad y aceptación del producto por el consumidor, como también su máxima duración en almacenaje (**Auda, 1977**).

### 1.1.4. Índice de madurez.

Índice de madurez es una medida física y/o química que cambia perceptiblemente a través del período de maduración de la fruta y que indica las condiciones aproximadas en que debe efectuarse la cosecha (**Auda, 1977**).

**Lizana y Antonio (1983)** indican que los índices para determinar el momento de cosecha están basados en el contenido de azúcar, acidez y color.

#### a) Color.

En las variedades de uvas verdes, el color cambia de verde clorofila a verde blanco y / o amarillo y la negra se asemeja al rojo. Cada baya es independiente de otra en un mismo racimo, por lo que cada fruto alcanza la maduración en momentos distintos.

Por lo general, el color dorado está asociado con una madurez avanzada. Sin embargo, en ocasiones, un exceso de exposición al sol puede desarrollar un cambio en la pigmentación que sea más rápido que otros procesos de la maduración (**Lizana y Antonio, 1983**).

La tipicidad, o grado de correspondencia entre la variedad y el color de los granos, así como la intensidad y homogeneidad de la pigmentación en plena maduración, son índices de maduración que se deben considerar (**Hidalgo, 1993**).



*Figura 2.* Fruto de la uva en el proceso de maduración  
(Fuente: **Hidalgo, 1993**).

#### **b) Sólidos Solubles.**

Los sólidos solubles de un jugo de uva incluye los azúcares y los ácidos orgánicos que estén en solución, sin embargo, la cantidad de ácidos orgánicos es tan pequeña en relación con el azúcar, que para todos los efectos prácticos se considera a los sólidos solubles solamente constituidos por azúcares.

El contenido de azúcar puede ser medido por densidad mediante un densímetro o areómetro, que está calibrado en la escala Brix o Balling (**Lizana y Antonio, 1983**) que es una escala basada en los gramos de sacarosa en 100 gr. de una solución de azúcar con agua. También se mide mediante refractometría (refractómetro), el cual entrega la lectura en porcentaje de sólidos solubles o grados Brix y es un índice de tipo legal, puesto que tiene mínimos tolerables (**Lizana y Antonio, 1983**).

### c) Sólidos solubles / acidez.

El mejor índice de madurez es el que relaciona el contenido de azúcar y su relación con la acidez llamada: “relación sólidos solubles / acidez” (**Lizana y Antonio, 1983**).

Esta relación se hace necesaria cuando los requisitos mínimos permiten que la uva tenga un menor grado Brix que el mínimo calificado, siempre que el contenido de ácido sea lo suficientemente bajo para que la proporción sólidos solubles / acidez, esté sobre el nivel especificado. La relación mínima permitida es de 20:1. Esta proporción muestra la cantidad de partes de azúcar (como porcentaje de sólidos solubles), en una parte ácida (como porcentaje total de ácido) (**García, 1998**).

#### 1.1.5. Caracterización química y nutricional del fruto *Vitis labrusca*.

La composición fisicoquímica, conformación y número de la microbiota presente en la periferia de la baya, son de vital importancia para el proceso de vinificación son factores importantes en la uva madura. Por su parte, los parámetros fisicoquímicos en uvas tintas, como el peso de la baya, la densidad del mosto (**Coombe 1987**). La relación entre los azúcares y la acidez, han sido utilizadas tradicionalmente como indicadores para determinar el tiempo de vendimia y la calidad de la uva (**González et al., 1992**).

Igual importancia tiene el contenido polifenólico de la baya, uno de los parámetros con mayor significación tecnológica. Los compuestos fenólicos de los hollejos y semillas determinan el color, sabor, cuerpo y estructura en los vinos tintos (**Pinelo et al., 2006**). Entre ellos, los antocianos y los taninos son los que mayor influencia tienen sobre el color del vino tinto (**Bautista 2005 y Llaudy 2006**).

Muchas investigaciones enológicas estudian los compuestos fenólicos con el propósito de mejorar la calidad del vino y conocer propiedades suyas de interés nutricional y farmacológico (**Llaudy 2006**).

**Glories et al. (1994)** compararon el contenido fenólico de vinos tintos colombianos e importados y encontró que el índice de polifenoles totales y las características cromáticas son similares en todos ellos y que los colombianos revelan bajos contenidos de antocianos y taninos.



**Tabla 4***Características físicas de la uva Isabella (Vitis labrusca).*

Localidades	Densidad (g/cm	Peso (g)			
		Baya	Pulpa	Hollejos	Semillas
Localidad 1	1,0572 ± 0,0044	35,46 ± 0,7	29,19 ± 0,8	4,39 ± 1,3	1,88 ± 0,2
Localidad 2	1,0546 ± 0,0008	34,64 ± 0,8	28,08 ± 0,5	4,70 ± 1,3	1,86 ± 0,1
Localidad 3	1,0858 ± 0,0060	32,41 ± 0,7	26,93 ± 1,2	4,12 ± 0,5	1,32 ± 0,04
Localidad 4	1,0477 ± 0,0305	33,56 ± 0,6	28,44 ± 1,3	3,61 ± 0,2	1,51 ± 0,2

Fuente: Hernández (2011).

**Tabla 5***Características químicas de la uva Isabella (Vitis labrusca).*

Localidades	pH	Acidez total (g a. tartárico/L)	Grados °Brix
Localidad 1	3,22 ± 0,03	7,05 ± 0,07	19,94 ± 0,09
Localidad 2	3,22 ± 0,03	7,07 ± 0,04	20,01 ± 0,5
Localidad 3	2,71 ± 0,01	10,75 ± 0,07	18,0 ± 0,0
Localidad 4	3,07 ± 0,007	8,05 ± 0,07	18,0 ± 0,0

Fuente: Hernández (2011).

Las uvas son ricas en azúcares de alta calidad. Tienen proporciones iguales de glucosa y fructuosa, lo que las hace buenas fuentes de energía. También son ricas en Potasio y Manganeseo. Poseen también, aunque en menor concentración, Calcio, Hierro, Magnesio, Fósforo, Vitaminas A, C, B1, B6, Ácido Fólico y Fibra. Contienen muy poca grasa y Sodio (**Hernández, 2011**).

**Tabla 6***Composición por 100 gramos de porción comestible de uva.*

Composición	Uva blanca	Uva borgoña	Uva negra
Agua (g)	87.8	77	81.2
Proteínas (g)	0.3	0.9	0.2
Grasa (g)	0.2	0.3	0.1
Carbohidratos totales (g)	11.3	21.3	18.1
Fibra dietética(g)	0.9	0.9	0.9
Cenizas (g)	0.4	0.5	0.4
Energía (kcal)	40	79	63
Calcio (mg)	5	18	6
Fósforo (mg)	20	32	20
Vitamina A $\mu$ g	3	3	3
Vitamina C $\mu$ g	1.4	4.7	2.2

Fuente: Reyes et al. (2017).

En las uvas abundan diversas sustancias con reconocidas propiedades beneficiosas para la salud, tales como antocianinas, flavonoides y taninos, responsables del color, aroma y textura característicos de estas frutas, y de los que dependen diversas propiedades que se le atribuyen a las uvas (**Reyes et al., 2017**).

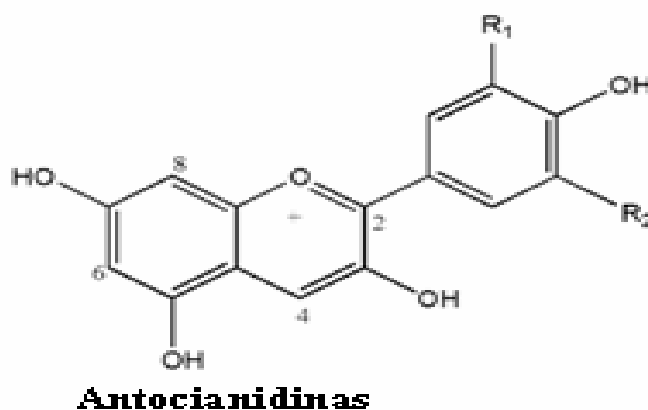
## 1.2. Antocianinas

Las antocianinas son compuestos fenólicos flavonoides que poseen algunos efectos terapéuticos positivos, principalmente asociados con su capacidad antioxidante. Son un grupo de pigmentos hidrosolubles de origen natural que imparten la coloración roja, púrpura y azul a muchos vegetales y frutos como cerezas, ciruelas, fresas, frambuesas y moras, entre otras (**Fennema, 2000; Castañeda et al., 2009**).

Las antocianinas constituyen uno de los mayores grupos de pigmentos naturales solubles en agua y son responsables de los colores rojos, amarillo, púrpuras y azul en frutas y vegetales al igual que en flores (**Rivas-Gonzalo, 2003 y Strack et al., 1993**). En recientes años, numerosos estudios han sido llevados a cabo, cuyo principal objetivo ha sido la caracterización de antocianinas en diferentes productos naturales, entre estos frijoles

(*Phaseolus vulgaris* L.), arándanos, uvas, etc., con el objetivo de usar estos compuestos fenólicos como alternativos a colorantes sintéticos usados en la industria alimentaria (**Harborne et al., 1988; Hong y Wrolstad, 1990.**)

Las antocianinas químicamente son glucósidos de las antocianidinas, y éstas son, por tanto, las agliconas de las antocianinas. La estructura básica de las antocianidinas o agliconas es el grupo flavilio (2-fenil-benzopirilio) (**Wong, 1995**). En la Figura 3, se muestran el grupo flavilio y la estructura básica de las antocianidinas.



**Figura 3.** Estructura química de las antocianidinas (**Wong, 1995**)

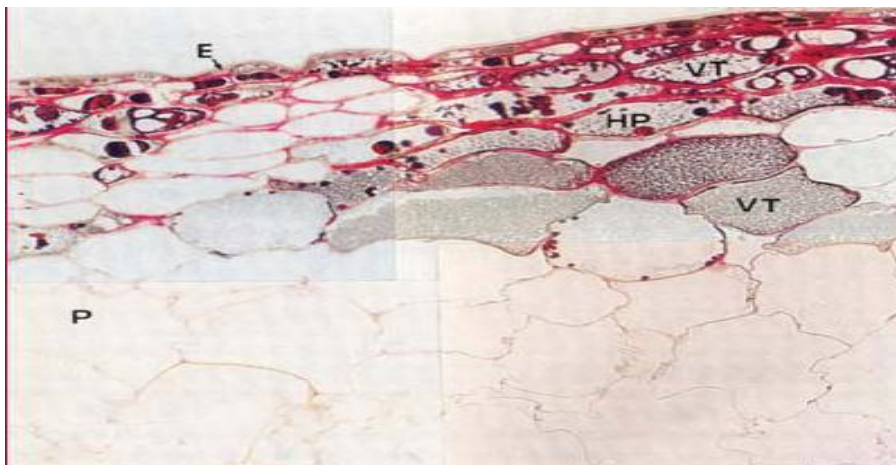
Se han identificado en forma natural más de 540 pigmentos antocianídicos (**Anderson y Francis, 2004**). Aunque en la naturaleza hay 17 antocianidinas, seis de ellas son las más dispersas y las que comúnmente contribuyen a la coloración de las mayorías de plantas; estas son cianidina (Cy), delfinidina (Df), malvidina (Mv), pelargonidina (Pg), peonidina(Pn) y petunidina (Pt).

### 1.2.1. Estabilidad de las antocianinas

Las antocianinas presentan serios inconvenientes relacionados a su estabilidad, ya que en solución ellas son afectadas por la luz, cambios en pH, temperatura, oxidación, presencia de otros flavonoles y metales (**Brouillard, 1982; Harborne y Grayer, 1988**).

Debido a la deficiencia electrónica del núcleo flavilio las antocianidinas tienden a reacciones que alteran su estructura (**Harborne 2001**). Su estabilidad incrementa a mayor número de grupos metóxilos en el anillo B y decrece a mayor cantidad de grupos hidroxilos en la molécula.

Las antocianinas son destruidas por el calor durante el procesamiento y almacenamiento (**Markakis, 1974**). Un incremento logarítmico en la destrucción de la antocianina ocurre con un incremento en la temperatura, **Timberlake (1980)**.



**Figura 4.** Ubicación de los antocianos en las células del hollejo cercana a la epidermis E: epidermis, VT: vacuola tónica, P: pulpa (**Peña 2006**).

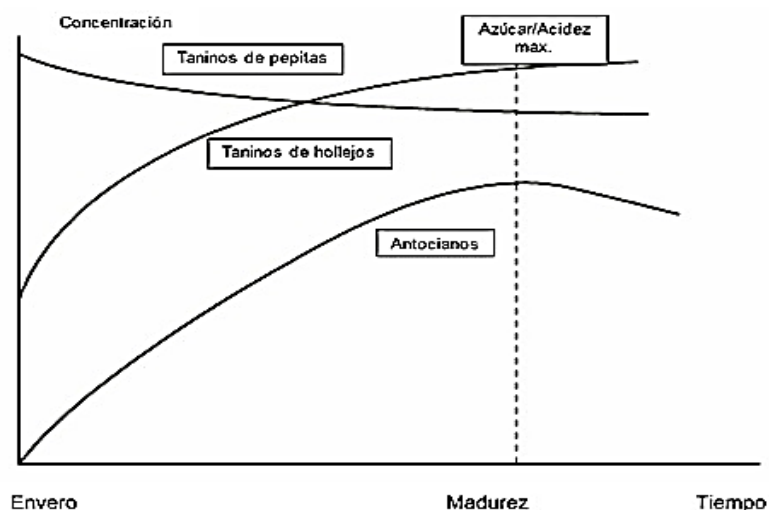
En tanto **Mazza (1999)** estableció que la concentración y composición de los compuestos fenólicos en las uvas tintas varían con las especies, cultivares, épocas de maduración y una amplia serie de procedimientos y condiciones, tales como clima, la cantidad de radiación solar, técnicas de vinificación y cosecha.

### 1.2.2. Polaridad de las antocianinas

Desde un punto de vista técnico, una de las principales ventajas de las antocianinas es su hidro-solubilidad, la cual facilita su incorporación en diferentes productos alimenticios.

El tiempo de elusión cromatográfico está determinado por la polaridad de la molécula. El orden se mantiene cuando los grupos hidróxilos en la posición 3 y 5 son sustituidos por azúcares. No obstante, a mayor cantidad de azúcares sustitutos mayor es la polaridad del compuesto, por lo cual siempre los diglucósidos eluyen primero que los monoglucósidos y por último las agliconas (**Kong, 2003**).

Según **Romero (2008)**, la concentración de polifenoles, tiende a aumentar durante toda la maduración, aunque no linealmente como se presenta en la Figura 5.



**Figura 5.** Evaluación del contenido en antocianos y taninos durante la maduración (Romero 2008).

### 1.2.3. Efecto del pH en las antocianinas

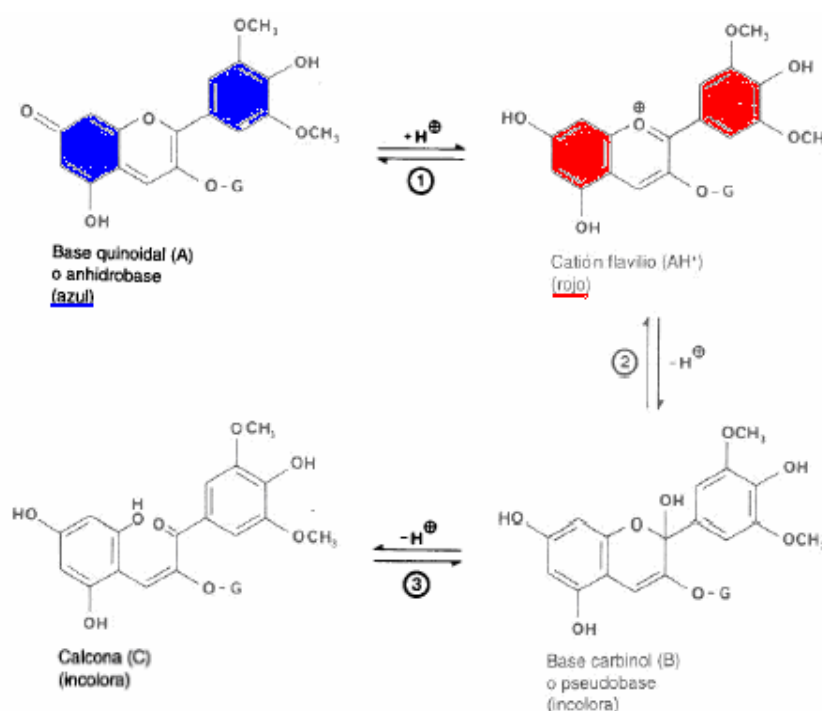
Las antocianinas son compuestos cromóforos al igual que los carotenos y las xantofilas. Tales compuestos al tener estructuras resonantes tienen conjugación electrónica, lo cual aumenta a medida que la molécula tiene grupos sustituyentes con pares de electrones no compartidos. A partir de esto se generan alteraciones en la configuración electrónica que provocan cambios en la forma de la molécula y por ende un desplazamiento de la máxima absorbancia en el espectro ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) (Wong, 1995).

En la escala de temperaturas que van de 20 a 25 °C, se obtienen la mayor actividad fotosintética de la vid y a partir de 35 °C son excesivas. En la estación de verano y periodo de maduración de las uvas, temperaturas diurnas amenas, posibilitan un periodo de maduración más lento, favorables a la calidad. La aparición de noches relativamente frías favorece la acumulación de polifenoles, especialmente las antocianinas, en las variedades tintas, y la intensidad de los aromas en las variedades blancas. Condiciones térmicas muy calientes pueden resultar en la obtención de uvas con mayores contenidos de azúcares, pero con baja acidez (Freitas, 2006).

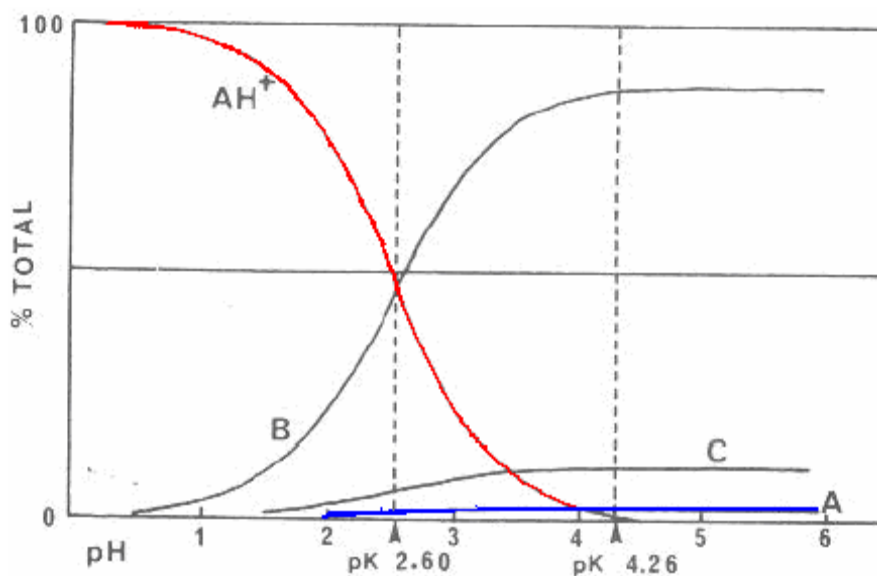
Por el fenómeno de conjugación electrónica o comportamiento batocrómico, las antocianinas tienden a cambiar su estructura a diferentes pH, como se observa en la Figura 7 y 8 (Wong, 1995). Debajo de pH 1 el catión flavilio se encuentra principalmente

en la forma  $AH^+$ , el cual es rojo intenso. A medida el pH sube, la forma  $AH^+$  del catión flavilio disminuye por el efecto de conjugación del catión flavilio o hidratación del C2. Así se incrementa la forma carbinol (B) que es incolora. También, a medida disminuye la forma del catión flavilio se forma adicionalmente la base quinoidal (A), de color azul, por la pérdida de un protón en el C7 (**Wong, 1995**).

La forma hidratada del catión flavilio (base carbinol) por conjugación pasa a ser una calcona (C) la cual es fácilmente degradada a ácidos. Por esta razón, las antocianinas se degradan más rápido a pH altos que bajos. La misma razón justifica por qué los picos cromatográficos tienen menos resolución a más alto el pH, lo cual se explica por la formación de derivados del catión flavilio (base quinoidal, calconas y base carbinol) interfiriendo en la absorbancia a 520 nm (longitud de onda más usada para identificar antocianinas) (**Wong, 1995**).



**Figura 6.** Ecuación del efecto del pH en la forma de las antocianinas (**Wong, 1995**).



**Figura 7.** Distribución de las estructuras de antocianinas en función del pH. Malvidina 3-glucosido; 25°C. AH<sup>+</sup> = catión flavilio rojo, B = base carbinol incolora, C = calcona incolora, A = base quinoidal azul (Wong, 1995).

### 1.3. Cuantificación de antocianinas

#### 1.3.1. Extracción de antocianinas

Las antocianinas son moléculas polares y consecuentes con más solubles en solventes polares que en no polares. A valores de pH donde las moléculas de antocianinas están no ionizadas, pueden ser solubles en éter y no son estables en soluciones neutras y alcalinas; por tanto, los métodos convencionales empleados para la extracción de antocianinas implican el uso de solventes ácidos (Leyva, 2000).

Como se observa en la Tabla 7, los métodos de extracción han ido en busca de mejores rendimientos, pero se han comprometido en cuestiones de seguridad (Delgado-Vargas et al., 2000). De acuerdo con lo anterior la extracción de las antocianinas del fruto para el presente trabajo se realizó con HCl al 1 % en metanol.

**Tabla 7***Métodos de extracción de antocianinas*

Método	Características
0.001 % HCl en metanol	Este es el método más efectivo, pero el HCl es corrosivo y el metanol tiene efectos tóxicos en la salud humana.
0.001 % de HCl en etanol	80 % tan efectivo como el metanol
0.001% HCl en agua	27 % tan efectivo como el metanol
Metanol acidificado con ácido cítrico	Este es el más eficiente de los ácidos orgánicos.
Agua acidificada con ácido acético	En eficiencia es seguido por el ácido cítrico, tartárico y clorhídrico
Agua con 1000 ppm de SO <sub>2</sub>	La extracción es mejor que la obtenida por el uso de la extracción tradicional los cuales implica sistemas de etanol: ácido acético: agua.

Fuente: Delgado –Vargas et al., 2002.

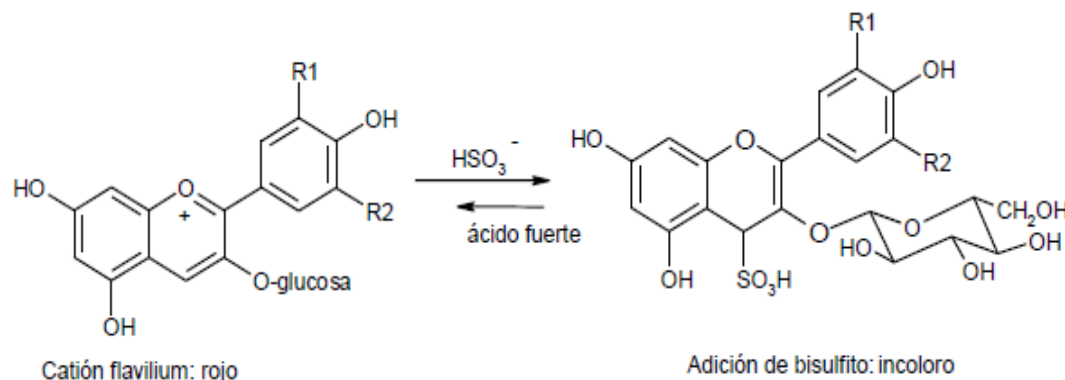
### 1.3.2. Cuantificación de antocianinas monoméricas y color polimérico.

Considerando al pH como uno de los principales factores del medio que afecta la estabilidad del color de las antocianinas, los espectros de UV-VIS a diferentes valores de pH también varían y nos ayudan a determinar si las antocianinas están o no polimerizadas (**Giustin y Wrolstas, 2001**). La concentración de antocianinas entonces se determina con la absorbancia a un pH diferencial. Estas Moléculas dan dos bandas de absorción en la región UV (260-280 nm) y la región visible (490-550 nm). Los resultados se expresan como pigmentos de antocianinas monoméricas, generalmente expresado como cianidina-3-glucosido.

El método del pH-diferencial propuesto por **Giustin y Wrolstas (2001)** permite la estimación alternativa del contenido de antocianinas totales, incluso en la presencia de pigmentos polimerizados y otras interferencias mediante el uso de sistemas tampón, el empleo de un agente blanqueador, bisulfito, y la medición por espectroscopia de UV-



Visible. Este último consiste en el uso de un agente blanqueador que decolora a las antocianinas sin afectar a los compuestos interferentes (Figura 09). Se obtiene una medida de absorción máxima en la región visible, seguida por la decoloración. Los agentes blanqueadores más empleados son sulfito de sodio y peróxido de hidrogeno (**Giustin y wrolstas, 2001**).



**Figura 8.** Reacción de las antocianinas con bisulfito para formar antocianinas - sulfónicas incoloras (Wrolstas et al., 2005).

### 1.3.3. Antocianinas en frijoles

Desde entonces varios investigadores han identificado diversos tipos de antocianinas.

**Okita et al. (1972)** encontraron Mv 3,5-digluc como la principal antocianina seguido por Df 3-gluc, Pt 3-gluc, Mv 3-gluc en la variedad de frijol negro Kurodanekinugasa. En otro estudio, **Stanton y Francis (1966)** reportaron Df 3-gluc como la principal antocianina en el cultivar Canadian Wonder (negro) seguido por pequeñas cantidades de Cy 3-gluc, Cy 3,5-digluc, Pg 3-gluc y Pg 3,5-digluc.

**Choung et al. (2003)** observaron la predominancia de Pg 3-gluc en frijol rojo seguido por Cy 3,5-digluc, Df 3-gluc y Cy 3-gluc. Por otro lado **Moreno (2004)** reportó Df 3-gluc como la principal antocianina en frijol negro seguido por Pt 3-gluc y Mv 3-gluc. Debido a la inestabilidad que tienen las antocianidinas raramente aparece en la naturaleza (**Dao et al., 1998**), y no sólo un autor ha publicado antocianidinas en forma natural en frijoles (**Macz-Pop, 2004**).

Gran parte de los estudios coinciden que la principal antocianina es siempre Df 3-gluc (**Choung et al., 2003; Takeoka et al., 1997**) aunque hay importantes diferencias

relacionada a la variedad, como por ejemplo en *Phaseolus lunatus* L., donde la principal antocianina es Pn 3-gluc, seguido por Pn 3-rutinósido.

El contenido total de antocianinas en frijoles (tabla N° 08) es dependiente del genotipo, el manejo de cultivo y de las condiciones ambientales presentes durante el ciclo de vida del cultivo, sin embargo, en una variedad el perfil tiende a mantenerse constante (**Choung et al., 2003; Moreno, 2004**).

### Tabla 8

Antocianinas totales reportadas en frijol rojo y negro

Referencia	Color del frijol	Grano mg/100 g <sup>1</sup>	Testa mg/100 g <sup>2</sup>
Moreno, 2004	Negro	37.7 a 71.9	1010 a 1810
Takeoka et al., 1997	Negro	213	NR*
Yoshida et al., 1996	Negro	NR *	10 a 360
Choung et al., 2004	Negro	NR *	214 a 278
Choung et al., 2004	Rojo	NR *	70
Macz-Pop, 2004	Rojo	24.1	207

\*NR=No reportada

<sup>1</sup>100 g de testa molida

<sup>2</sup>100 g de grano molido

Otras razones por las que el contenido total de antocianinas es diferente entre autores radica en la metodología de extracción y purificación y que el método de determinación sea cromatográfico o espectrofotométrico (**Macz-Pop, 2004**).

**Tabla 9**

*Contenido de antocianinas en frutas frescas comúnmente usadas como fuentes de colorantes naturales.*

<b>Producto</b>	<b>Contenido<sup>1</sup> (mg/100g)</b>
Arándano azul ( <i>Vaccinium corymbosum</i> )	200-500
Arándano rojo ( <i>Vaccinium oxycoccus</i> )	60-200
Uva pasa negra ( <i>Ribesnigrum</i> )	30-40
Uva roja ( <i>Vitis vinifera</i> )	30-750
Frambuesa negra ( <i>Rubus occidentalis</i> )	170-430
Frambuesa roja ( <i>Rubus idaeus</i> )	10--60
Fresa ( <i>Fragaria vesca</i> )	20-90
Elderberry ( <i>Sambucus melanocarpa</i> )	200-1000
Lechuga roja ( <i>Brassica oleracea var. capitata f. rubra</i> )	30-90

Fuente: Awika *et al.*, (2004).

<sup>1</sup>Peso fresco en mg de antocianinas por 100g de muestra.

**Tabla 10.**

*Contenido de antocianinas en diferentes especies de bayas (mg/100 g peso fresco).*

<b>Bayas</b>	<b>Genero</b>	<b>Antocianinas</b>
Zarzamora	<i>Rubus spp</i>	131-256 <sup>1</sup>
Grosella negra	<i>Ribes nigrum, L.</i>	80-810 <sup>2</sup>
Mora azul	<i>Vaccinium</i> (diferentes subgéneros)	60-480 <sup>2</sup>
Arándano	<i>Vaccinium oxycoccus, L.</i>	20-360 <sup>2</sup>
Arándano americano	<i>Vaccinium myrtillus, L.</i>	300-600 <sup>2</sup>
Arándano rojo	<i>Vaccinium vitis idaea, L.</i>	35-170 <sup>2</sup>
Frambuesa	<i>Rubus idaeus, L.</i>	20-200 <sup>2</sup>
Fresa	<i>Fragaria ananassa</i>	10-80 <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Siriwoham *et al.*, 2004.

<sup>2</sup>Rein, 2005

Un proceso para obtener antocianidinas a partir de extractos de pigmentos antocianídicos es sometiendo la muestra a hidrólisis ácida y sometida a análisis inmediato para evitar degradación. Mediante este método, **Espinosa (2006)** determinó que la principal antocianidina en 62 variedades mexicanas fue Df seguido por Pt, Cy, Mv, Pg y Pn.

Los frijoles representan una fuente importante de antocianinas, ya que se han determinado cantidades en el rango en el cual se encuentran las frutas que comúnmente se usan como fuentes de colorantes naturales (**Espinosa, 2006**).

## **CAPITULO II**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **2.1. Lugar de ejecución**

El trabajo de investigación se ejecutó en los ambientes del Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la UNSM, en el distrito de Morales, provincia y departamento de San Martín.

#### **2.2. Materia Prima**

Los frutos maduros de Uva Isabella (*Vitis labrusca*), se cosecharon en la temporada de febrero – marzo, de los productores organizados del Barrio la Bajada en el distrito de San Antonio de Cumbaza, provincia y departamento de San Martín.

##### **2.2.1. Características Edafoclimáticas de San Antonio de Cumbaza**

- 450 a 700 msnm
- Temperaturas 18° C min a 30° C máx.
- Latitud sur 6° 25' 25''
- Latitud oeste 7° 24' 50''
- Precipitación anual 1500 y 2000 mm
- Tipos de suelos: aluvionales recientes y antiguos, materiales residuales

#### **2.3. Materiales y métodos**

##### **2.3.1. Materiales:**

###### **a. De campo:**

- Tijeras
- Bandejas

###### **b. Equipos:**

- Sistema de Congelación (-25 °C a 7 °C)
- Refractómetro ABBE de 0 a 99° Brix
- Potenciómetro Metter Toledo
- Espectrofotómetro UV – Visible (Termoscientific–Genesys 6)
- Balanza analítica (AND-Procedencia Japon; hasta 0.0001g.)
- Baño María (Memmert, procedencia alemana)
- Centrífuga (BOECO – C28A)
- Agitador de tubos (VORTEX - Power Source: 220V/50Hz; 110V/60Hz)

- Evaporador rotativo al vacío (BOECO - RV 400 SD)
- Mufla (Thermolyne 1500 furnace, modelo: FD1520M-1 240V 50/60 Hz)
- Digestor (Selecta, modelo: 4002851; 230V – 12A 50/60 Hz)
- Destilador (marca: Behrotest, modelo: behr CF6, 230V 50/60HZ)
- Vernier Calipers 200 x 0.02 MM (8"x1/1000 IN) Made in China
- Equipo de titulación (Metrohm – Switzerland; U: 6 V DC; I: 15 mA)
- Licuadora Oster (Modelo: 4655-053; 50/60 Hz; 220V- 600W)
- Extractora Philips (Modelo: 7286; 50/60 Hz; 220V- 230V)
- Estufa (Marco POL-EKO, procedencia Polonia)
- Campana de vacío

**c. Materiales de laboratorio:**

- Vasos de precipitación
- Embudos de vidrio
- Fiolas (10 ml, 25 ml, 100 ml y 250 ml)
- Termómetro
- Tubos de ensayo de 5 ml y 10 ml
- Micropipetas (10 – 100  $\mu$ l y 100 – 1000  $\mu$ l)
- Pipetas de 1, 2, 5 y 10 ml
- Guantes de goma
- Balones de base cóncava (100 – 250 ml)
- Papel filtro Whatman # 41
- Papel aluminio

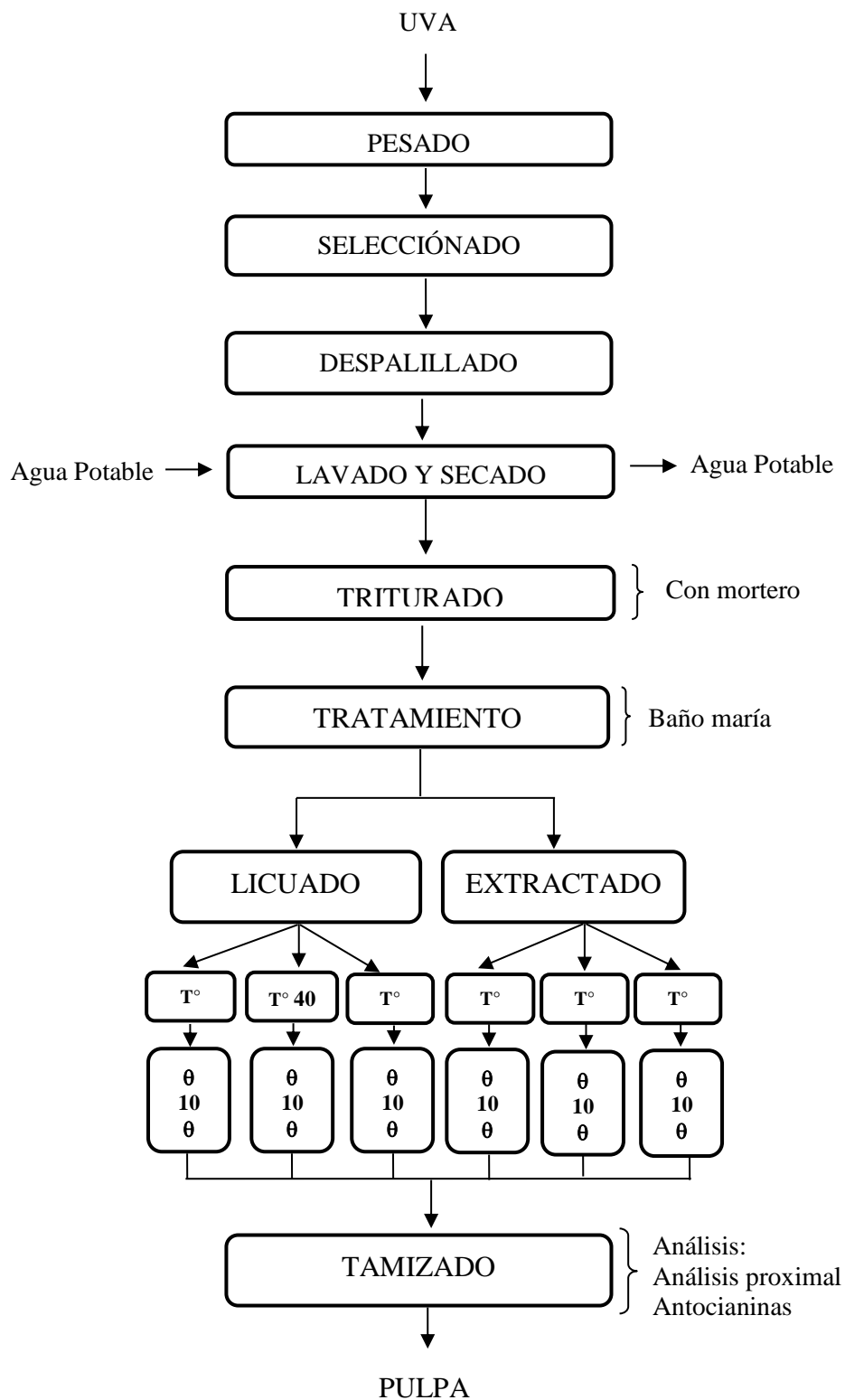
**d. Reactivos:**

- Acetona
- Clorato de Potasio de pH 1.0
- Acetato de sodio de pH 4.5
- Metanol
- Ácido ascórbico.
- Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácid. carboxílico, 97%).
- Ácido clorhídrico, sulfúrico
- Carbonato de Sodio
- Fenoltaleina

## 2.3.2. Metodología experimental

### 2.3.2.1. Flujograma obtención de pulpa de la uva Isabella.

Se siguió el siguiente diagrama de flujo



**Figura 9.** Obtención de pulpa de la uva Isabella por los métodos de licuado y extractado

### **2.3.2.2. Fruto Uva Isabella (*Vitis labrusca*)**

Los frutos se obtuvieron teniendo en cuenta el índice de madurez por el cambio de color, recolectados directamente para el consumo. Los frutos “maduros” fueron seleccionados y secados a temperatura ambiente por un tiempo de 30 minutos.

#### **Caracterización física**

Se obtiene una parte de aproximadamente 100 g. para determinar el rendimiento y poder sacar las características del fruto, dentro de ellas el tamaño promedio del fruto, peso promedio, diámetro longitudinal y transversal, peso de la cáscara, cantidad de pepitas promedio y cantidad de pulpa obtenida. Todo este análisis se realizó por triplicado.

### **2.3.2.3. Proceso de obtención de la pulpa**

#### **a) Pesado y selección**

Recolectamos los racimos y se realizó una inspección organoléptica del fruto de la uva, se pesó 1000 g de forma manual en una balanza analítica (AND-Procedencia Japón) para luego seleccionar y despallillar.

#### **b) Lavado y secado**

El lavado se realizó con agua potable, para eliminar la suciedad, algunos cuerpos extraños que presenta la uva, para luego ser secado en papel toalla a temperatura ambiente.

#### **c) Triturado**

Se trituró utilizando un mortero de forma manual con la finalidad de sacar las pepas para evitar hacerlas daño y evitar que interfiera en la lectura de los análisis.

#### **d) Tratamiento térmico**

Se utilizó las temperaturas de 35, 40 y 45° C para ablandar y pueda soltar el color de la cáscara.

#### **e) Licuado**

El licuado se realizó en una licuadora Oster con la finalidad de homogeneizar la muestra para obtener una muestra representativa.



**f) Extractado**

El extractado se realizó en una extractora Philips con la finalidad de homogeneizar la muestra para obtener una muestra representativa.

**g) Tamizado**

Se tamizó en una malla N°40 equivalente a 0.425 mm para obtener la pulpa, con la finalidad de que no interfiera la cascara u otros pequeños residuos.

**h) Pulpa y análisis**

Una vez obtenida la pulpa se realizó los análisis químicos, que fueron determinados por métodos de la **A.O.A.C (1984)** todos estos análisis se realizaron a la uva Isabella, que fue tamizado en un tamiz N° 40 equivalente a 0.425 mm determinando el °Brix, determinación de pH, acidez titulable, humedad, cenizas, lípidos, y de proteínas.

**2.3.3. Análisis químicos****2.3.3.1. Composición proximal**

La pulpa fresca de uva fue sometida a los análisis físicos químicos de: Biometría, Rendimiento, % Humedad, °Brix y pH; de acuerdo con la **AOAC (1984)**. Todos los análisis se realizaron por triplicado. En la tabla 11 se muestra la determinación a realizar y sus métodos.

**Tabla 11**

*Métodos usados para la determinación de análisis químicos.*

<b>Análisis</b>	<b>Método analítico</b>
pH	Potenciómetro
Acidez titulable	Volumétrico (titulación)
°Brix	Refractómetro
Humedad	Secado en estufa
Cenizas	Incineración mufla
Lípidos	Soxhlet
Proteína	Micro kjeldahl

Fuente: A.O.A.C (1984).

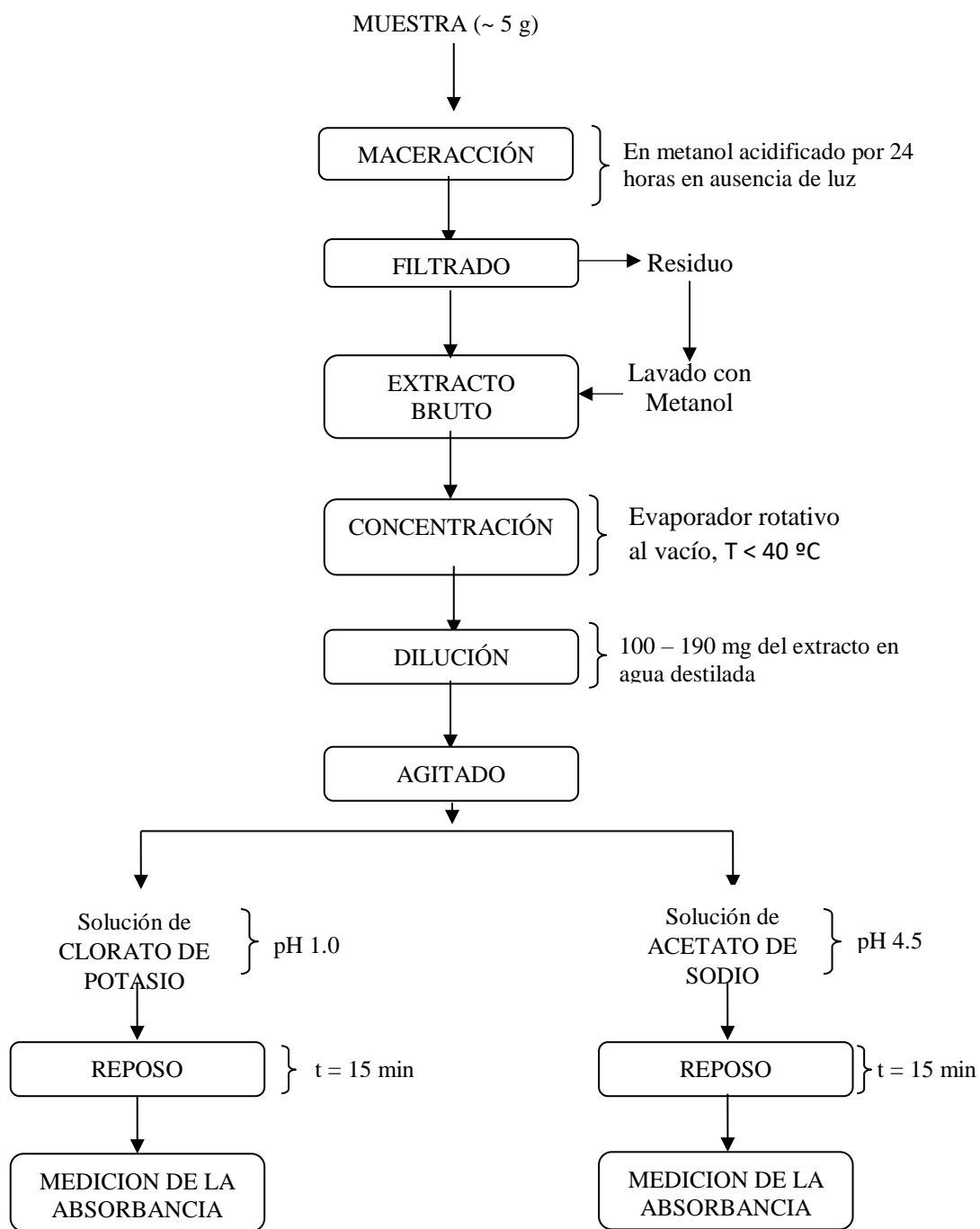
### 2.3.3.2. Determinación de Antocianinas

Para cada una de las muestras se aplicó el método por diferencia de pH, aplicada por **Giusti y Wrolstad (2001)**. En este método, los pigmentos antociánicos son sometidos a transformaciones estructurales reversibles por un cambio del resultado de pH en el medio, en un cambio dramático en los espectros de absorción (Las formas predominantes de oxonio de color a un pH de 1.0 y la forma incolora hemiacetal a pH 4.5). El método de pH-diferencial está basado en esta reacción, y permite una medición rápida y precisa de las antocianinas, incluso en la presencia de pigmentos polimerizados degradados y otros compuestos de interferencia.

A partir de la investigación sobre la determinación de antocianos en frutos de **Terci (2004)**, para este estudio se utilizaron extractos preparados por maceración e inmersión completa de las pulpas integrales ~5 g en HCl 1% en metanol (metanol acidificado al 1% de HCl) por 24 h en una proporción de 1/5 pulpa/metanol (m/v), en ausencia de luz, filtrándose en papel filtro cuantitativo. El residuo fue nuevamente sumergido a extracción, lavándolo con metanol acidificado, hasta la extracción exhaustiva de los pigmentos.

Después de la extracción de antocianinas, los extractos brutos se combinaron y concentraron a vacío en un evaporador rotativo a una temperatura inferior de 40 °C y presión de 10 mBar, hasta peso constante. En fiolas de 10 ml, fueron disueltos entre 100 y 190 mg de extracto seco con agua destilada.

Utilizando los sistemas tampón; clorato de potasio de pH 1.0 ( $0.025 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) y acetato de sodio pH 4,5 ( $0,4 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ). En seguida, 150 – 400  $\mu\text{L}$  de la solución madre de los extractos (para lograr una absorbancia en el rango de 0,100 a 1,200 a  $\sim 512 \text{ nm}$ ), fueron adicionados, completándose un volumen con soluciones tampón de pH 1,00 y pH 4,50, reaccionando durante 15 minutos. En la figura 10 se muestra la determinación de antocianinas por el método de pH diferencial.



**Figura 10.** Flujograma para la determinación de antocianinas por el método de pH diferencial

### 2.3.3.3. Cuantificación de Antocianinas

En seguida, la absorbancia fue medida en longitud de onda máxima de cada extracto, mediante un espectrofotómetro UV – Visible (Termoscientific–Genesys 6). La absorbancia se midió contra un blanco de ~ 512 nm y 700 nm. Después se calculó la absorbancia final a partir de la expresión:

$$A = (A_{\text{max vis}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH 1.0}} - (A_{\text{max vis}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH 4.5}}$$

La concentración de pigmentos monoméricos en extractos se expresó en cianidina-3-glucosídeo.

$$\text{Antocianos Monoméricos} \left( \frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{A \times \text{MM} \times \text{FD}}{\epsilon \times 1} \times 100$$

donde:

A	=	Absorbancia
MM	=	Masa Molar
FD	=	Factor de dilución
$\epsilon$	=	Absortividad molar

La concentración final de antocianinas (mg/100 g) fue calculada en base a la masa del extracto y masa de la muestra y el resultado se expresó en términos de cianidina 3-glucosídeo (MM: 449,2 y  $\epsilon$ : 26900).

### 2.3.3.4. Evaluación de Antocianinas

Se evaluó la cantidad de antocianinas presentes en la materia prima fresca por diferentes extracciones de pulpa tanto para el licuado y extractado las temperaturas de 35, 40 y 45 ° C y a tiempos de 10, 20 y 30 seg.

### 2.3.3.5. Diseño Experimental

Para el estudio de las antocianinas (transferencia de la cáscara hacia la pulpa de la uva) se evaluaron la influencia del tiempo, temperatura y método de reducción de tamaño, en el contenido de antocianinas del extracto, se utilizó un diseño completo al azar  $2 \times 3 \times 3$ , con tres repeticiones totalizando 54 ensayos. Siendo la variable dependiente, el contenido de antocianinas en el extracto y las variables independientes:

- Métodos de reducción de tamaño , dos niveles (licuado y extractado)
- Temperatura, tres niveles (35, 40 y 45° C)
- Tiempo, tres niveles (10, 20 y 30 s)

Al realizar los ensayos se hizo una prueba en blanco a T° ambiente a 0 (s) se procedió a realizar lecturas en cada una de ellas para obtener resultados y tomar la lectura más alta en cuanto a concentración de antocianinas se refiere.

A= Método de operación unitario

a<sub>1</sub> = Licuado (1)

a<sub>2</sub> = Extractado (-1)

B= Temperatura (° C)

b<sub>1</sub> = 35

b<sub>2</sub> = 40

b<sub>3</sub> = 45

C= Tiempo (seg)

c<sub>1</sub> = 10

c<sub>2</sub> = 20

c<sub>3</sub> = 30

El diseño experimental se muestra en la tabla N° 12 muestra 18 ensayos.

El análisis de varianza se realizó utilizando el programa Statistica 5.0

PULPA FRESCA: Método 2 niveles, temperatura 3 niveles y Tiempo 3 niveles

$$2 \times 3 \times 3 = 18$$

**Tabla 12**

*Combinación de los tratamientos experimentales*

N°	Metodo	T (°C)	T (s)
1	1	35	10
2	1	35	20
3	1	35	30
4	1	40	10
5	1	40	20
6	1	40	30
7	1	45	10
8	1	45	20
9	1	45	30
10	-1	35	10
11	-1	35	20
12	-1	35	30
13	-1	40	10
14	-1	40	20
15	-1	40	30
16	-1	45	10
17	-1	45	20
18	-1	45	30

(1). Licuado

(-1). Extractado

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Análisis físico del fruto Uva Isabella (*Vitis labrusca*)

Las características biométricas se realizaron teniendo en cuenta la madurez y estado saludable de los granos, los resultados se muestran en la Tabla 13. El rendimiento en laboratorio determino que 5 kg de uva posee: 147.2 g de escobajo o palillo, 109.2 g de granos defectuosos que representaron aproximadamente el 2.94 % y 2.18 % respectivamente, estimando de esta forma un rendimiento de la materia prima de 94.88 %, este rendimiento se encuentra en el rango determinado por **García (1998)**, donde señala que el 94 a 95 % es grano de uva y la diferencia sería el escobajo, donde por cada 100 kg de racimos de uva el escobajo y palillo es de 5 a 6 kg. Según **Sato et al. (2008)** el diámetro y peso de los granos o vayas de la muestra en estudio fue de 1.48 cm y 2,8 g respectivamente, encontrándose por debajo a lo investigado que es de 1.7920 cm diámetro transversal y 3,8406 g de peso de grano, finalmente **Macedo (2008)** indica que el peso promedio del grano, de semillas y de pulpa son de 4.4g, 0.4g y 3.72g respectivamente y estos se encuentran por encima de los reportados en esta investigación 3.8406g, 0.1046g y 3.2851

**Tabla 13**

*Características biométricas de la uva Isabella (Vitis labrusca).*

Características físicas	Datos experimentales
Forma del racimo	Cónico
Color del racimo	Negro a violeta
Forma de la baya	Esferoide ligeramente alargado
Diámetro longitudinal	2.0520 cm $\pm$ 0.14 cm
Diámetro transversal	1.7920 cm $\pm$ 0.11 cm
Peso de las pepas	0.1046 g $\pm$ 0.04 g (2.72 %)
Peso de la cascara	0.4509 g $\pm$ 0.12 g (11.74%)
Peso de la pulpa	3.2851 g $\pm$ 0.64 g (85.54%)
Peso de la baya	3.8406 g $\pm$ 0.77 g

En el análisis físico, se compara con los resultados mostrados por **Castañeda (1992)** que señala que el peso de la pulpa representó un 67% del peso del grano, además mencionó que el peso de cáscara y las pepas tiene un 33 % del peso del grano, esta comparación se debe al tamaño del grano obtenido siendo el estudiado mayor al del autor.

### 3.2. Análisis fisicoquímicos

Los valores físico químicos, como el pH, acidez titulable, sólidos solubles, índice de madurez y densidad de la pulpa de la uva Isabella se pueden observar en el Tabla 14, los resultados mostrados presentan valores similares a lo reportado por **Castañeda (1992)** y **Archenti (2005)**, con respecto a los sólidos solubles, acidez y pH, sin embargo es importante mencionar que en algunas variables si muestran alguna diferencia pero esto es más que todo por el equipo o método utilizado, que no refleja en las características propias de la muestra. Los resultados se observan en la tabla N° 14.

**Tabla 14**

*Valores experimentales fisicoquímicos de la pulpa de uva Isabella (*Vitis labrusca*).*

Análisis	Valores experimentales
pH	3.15 ± 0.12
Acidez titulable (mg de ácido tartárico/100 ml de pulpa)	1.17 ± 0.03
Sólidos solubles (°Brix)	12.2±0.16
Índice de madurez	10.25±0.25
Densidad de la pulpa g/cm <sup>3</sup>	1.039±0.018

La composición centesimal del jugo de uva se presenta en la Tabla 15, humedad (80.10%), y esta se encuentra por encima de lo reportado en la tabla de composición de alimentos (**Reyes et al., 2017**). Mientras que los valores de proteínas (0.75%), lípidos (0.25%), cenizas (0.20%), y carbohidratos (18.70%), se encuentran por debajo. Sin embargo **Arce et al. (2011)** mencionan que los resultados encontrados en las Tablas Peruanas de Composición de Alimentos, probablemente está referido al jugo de uva



integral (sin tamizar) y cultivada en la costa peruana y que los sólidos que no pasaron el tamiz pueden haber resultado en menores cantidades. **Arce et al. (2011)** hace mención que los porcentajes de cenizas, se debe al efecto de la eliminación de los sólidos que no pasaron el tamiz, es decir la cáscara u hollejo y semillas.

**Tabla 15**

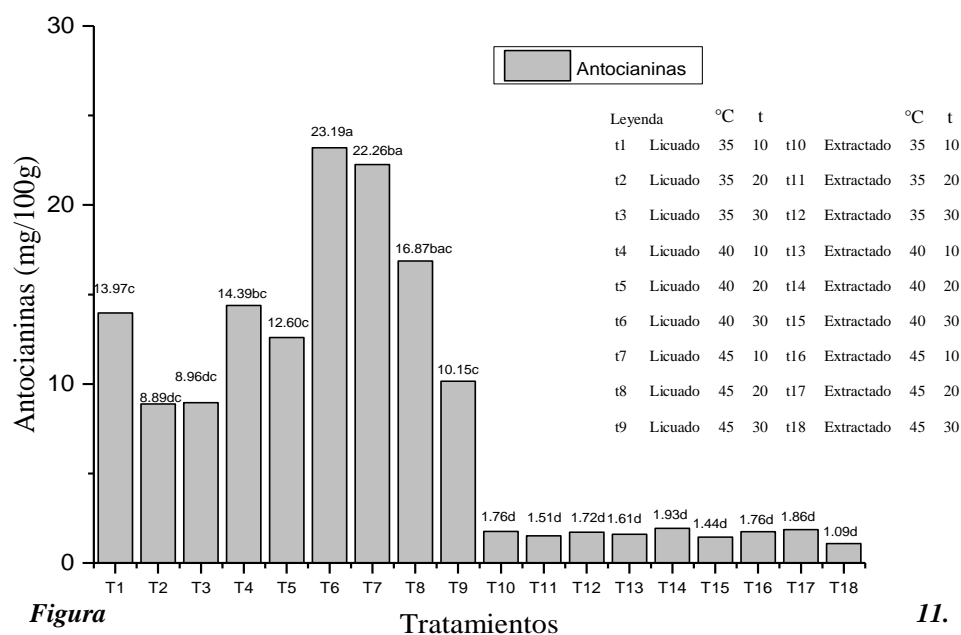
*Composición proximal de la pulpa de uva Isabella (Vitis labrusca).*

Componente	Porcentajes (bh%).
Humedad	80.10
Proteínas	0.75
Lípidos	0.25
Cenizas	0.20
Carbohidratos	18.70

Cabe recordar que la composición química o física del jugo así también como de la pulpa de frutas se deben a diferentes factores, entre los más importantes tenemos: la variedad o ecotipos del material, estado de maduración, práctica poscosecha, condiciones edafoclimáticas, entre otras.

### 3.3. Cuantificación de antocianinas

En la Figura 11, se observa la influencia entre los tratamientos (Anexos A) con un coeficiente de determinación  $R^2 = 0.85404$  (Anexos E) que demuestra la buena aplicación del modelo experimental y un coeficiente de variación de 24.83 que nos indica la variabilidad de la toma de datos y el efecto de los factores en estudio, la media alcanzo 8.10 mg/100g de contenido de antocianinas.



Figura

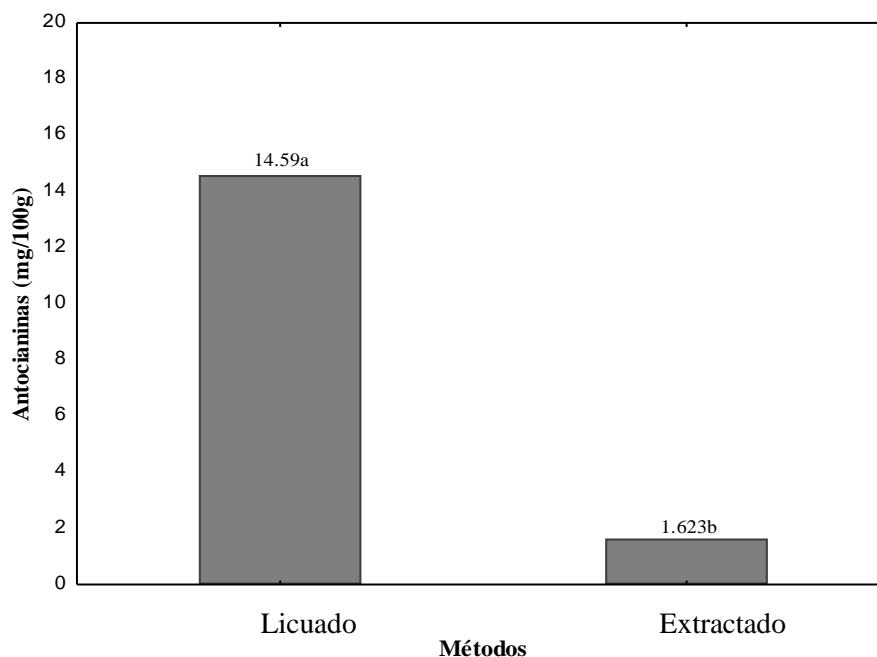
Tratamientos

11.

Comportamiento del contenido de antocianinas (mg/100g) a diferentes métodos de operaciones unitarias, tiempo(s) y temperatura (°C), en uva Isabella (*Vitis Labrusca*). Medias seguidas de la misma letra en la columna no se diferencian por la prueba de Tuckey  $p < 0.05$

En la Figura 12, corresponde a la aplicación de dos operaciones unitarias (licuado y extractado) se aprecia la influencia del método (Anexos E) y la diferencia de máximos y mínimos entre los datos. Según **Wrolstad et al. (2005)**, los pigmentos antociánicos realmente se degradan durante el procesamiento y almacenamiento de productos alimenticios, lo cuales tienen un impacto dramático en la calidad del color y puede también afectar propiedades nutricionales.

Se observa en la Figura 12, que el método licuado es la operación que extrae mayor antocianinas, con respecto al método de extractado ocurre a lo inverso (Anexos B).

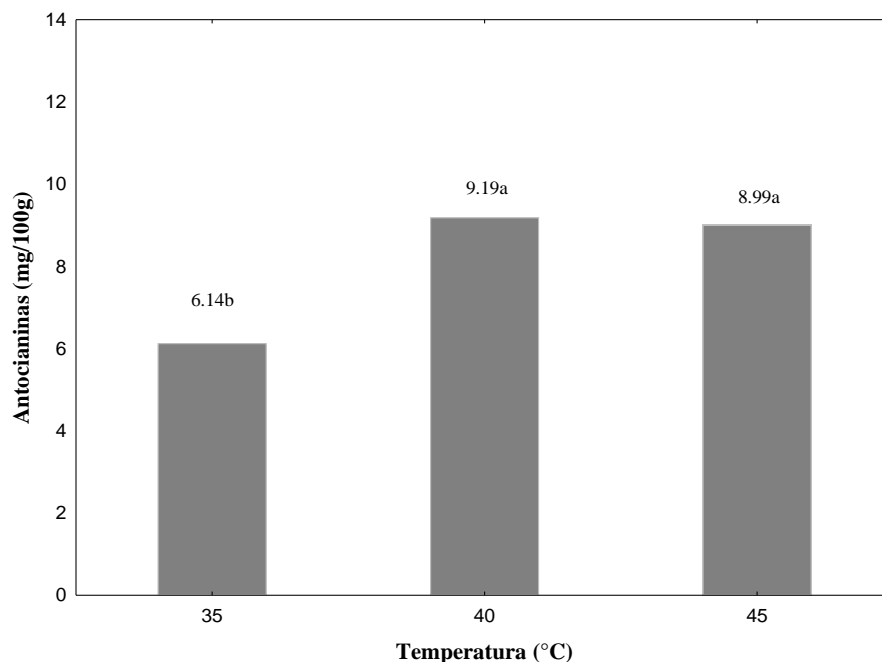


*Figura 12.* Contenido de antocianinas (mg/100g) aplicado a dos métodos licuado y extractado.

**Tiwari (2018)** nos menciona que los licuados a partir de frutas y vegetales generalmente contienen altos niveles de nutrientes como antioxidantes, fibras y vitaminas.

Los licuados además de contribuir con la conservación de las antocianinas también mantienen las características típicas de consistencia, viscosidad y textura que dio como resultado mayor concentrado de antocianinas en esta operación unitaria tal como lo menciona **Di Cagno et al. (2009); Keenan et al. (2012); Teleszko and Wojdyło (2014)**.

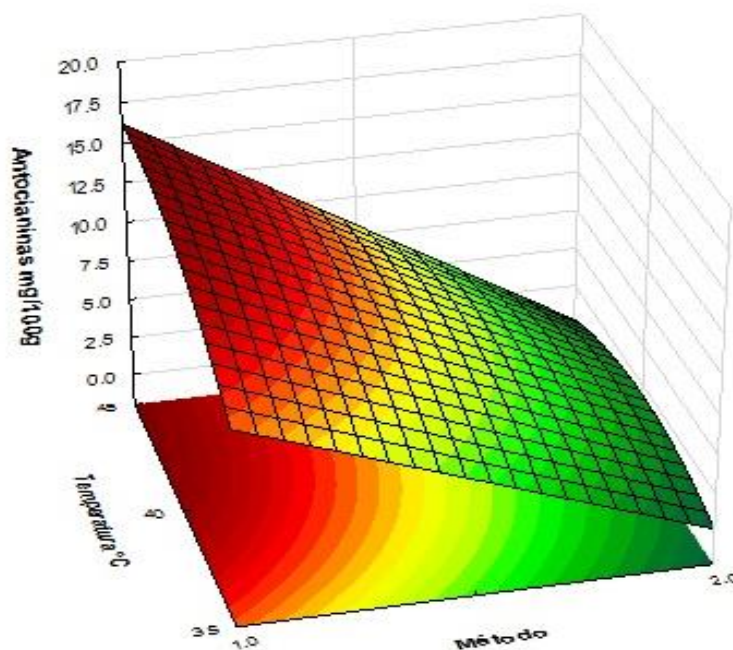
Según **Tiwari y Cummins (2013)** el nivel de los compuestos fotoquímicos se ve influenciado por la operación del licuado en frutas y verduras, corroborando los resultados obtenidos en esta investigación. Por otro lado **Walkling-Ribeiro et al. (2010); Keenan et al. (2012) y Markowski et al. (2017)** mencionan que los métodos de procesamiento (térmico, no térmico y otros métodos de procesamiento) también tienen un efecto sobre la calidad nutricional y organoléptica de las pulpas licuadas.



**Figura 13.** Contenido de antocianinas (mg/100g) en 03 temperaturas aplicado en los métodos de licuado y extractado en uva Isabella (*Vitis labrusca*).

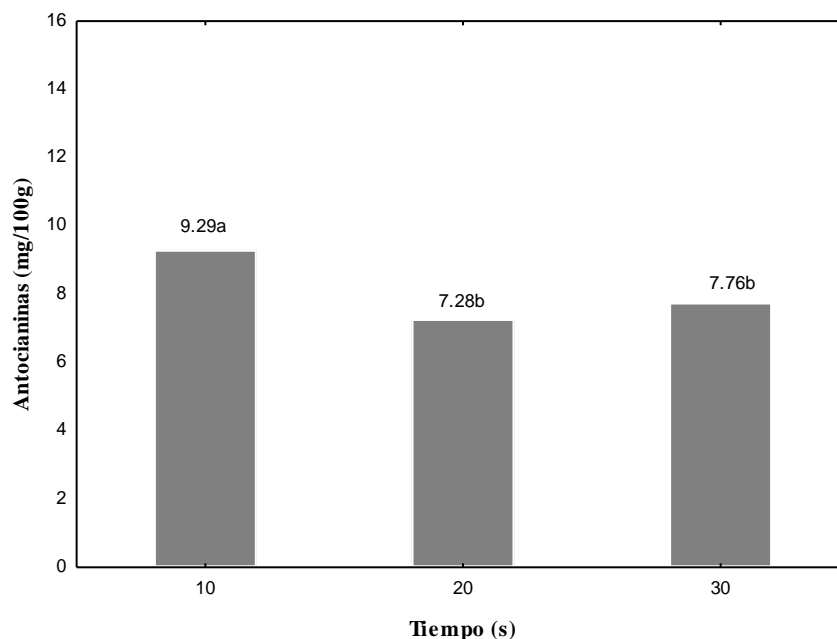
En la Figura 13, se observa que existen diferencias entre las temperaturas de 35°C y de 40° y 45°C, esto quiere decir que las mejores temperaturas para evitar la pérdida de antocianina es de 40°C y 45°C (Anexos C), estas diferencias pueden atribuirse a que las antocianinas se caracterizan por su alto poder reductor y alcanzan a ser inducidas rápidamente en respuesta al frío, radiación ultravioleta o ataques de patógenos (**Kong *et al.*, 2003**).

De igual manera, **Timberlake (2009)** menciona que las antocianinas se degradan fácilmente a temperaturas superiores a los 40°C, su efecto ocurre por dos mecanismos, hidrólisis del enlace glucosídico que da lugar a la formación de la aglicona o por la ruptura hidrolítica que origina la formación de chalconas.



**Figura 14.** Influencia del método de extracción y temperatura en el contenido de antocianinas (mg/100g), en uva Isabella (*Vitis Labrusca*); 1.0: método de licuado, 2.0: método de extractado

La Figura 14, muestra el efecto de la temperatura y los métodos de operación unitaria con respecto al contenido de antocianinas se observa que a partir de la temperatura de 40 y 45°C y utilizando el método de licuado la extracción de antocianinas es mayor con respecto al método de extractado. Esta información obtenida podemos corroborar con lo mencionado por **Arce et al. (2011)** que explica que es necesario la aplicación de vacío para concentrar el jugo de uva y que permita evaporar parte del contenido de agua a una temperatura de 40°C, garantizando una cantidad adecuada o deseada de antocianinas y otros componentes.

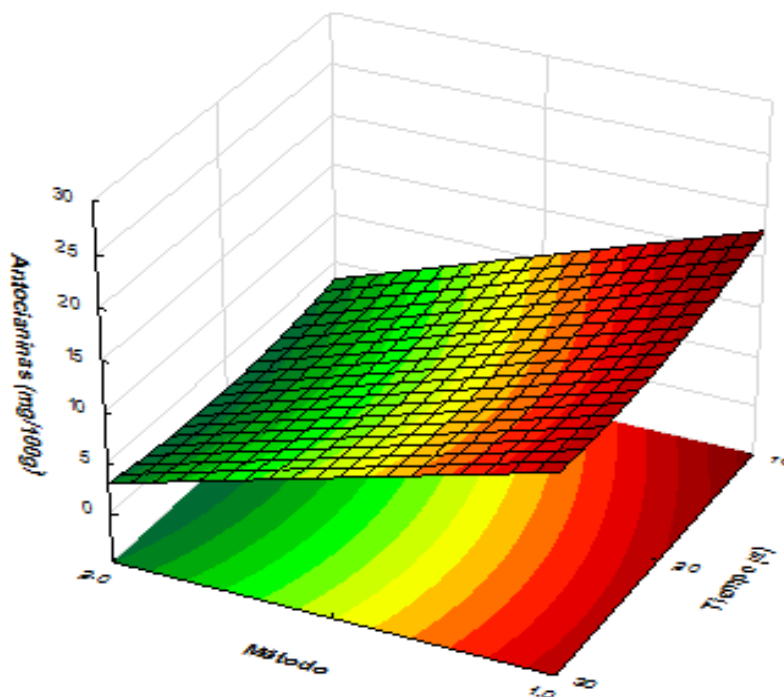


**Figura 15.** Contenido de antocianinas (mg/100g) en 03 tiempos aplicado en 02 métodos de extracción, licuado y extractado, en uva Isabella (*Vitis Labrusca*).

En la Figura 15, se observa que, si existe diferencia con respecto al tiempo, cuanto mayor sea el tiempo de la operación unitaria de licuado o extractado menor será la extracción de antioxidantes (Anexos D), esto podemos coincidir con lo mencionado por **Arce et al. (2011)** que indica el grado de sensibilidad y probablemente la mayor degradación de la antocianina a 20 minutos al someterse al tratamiento térmico.

Las antocianinas que presentan sustituyentes en el hidroxilo del carbono por 5 minutos son muy susceptibles a la degradación por luz, sin embargo, la adición de otros flavonoides retarda la fotodegradación (**Laleh et al., 2006**). Utilizar tecnologías de estabilización como la encapsulación por aspersion o congelación, que protegen las antocianinas de los efectos externos podríamos conservar su concentración en diferentes matrices (**Parra, 2010**).

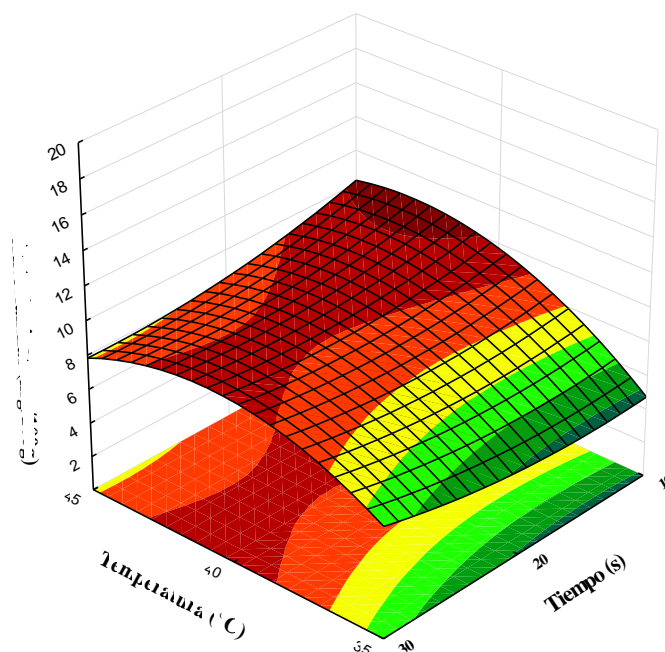
También es importante mencionar que la operación de licuado ayuda a conservar la fibra y ayuda a excretar todos los alimentos ingeridos no digeridos en el intestino. Además, debido a que los alimentos son absorbidos más lentamente, el nivel de azúcar en la sangre no se eleva de repente.



**Figura 16.** Interacción del método de extracción y tiempo en el contenido de antocianinas (mg/100g), en uva Isabella (*Vitis labrusca*).

En la Figura 17 se observa que el tiempo permanece constante a lo largo de la temperatura de 40 a 45°C, donde la conservación de la antocianina es mayor.

También se observa que a temperatura de 35°C existe una menor extracción de la antocianina esto se aduce a los factores externos que ha sufrido este tratamiento al momento de su proceso tal como lo indica **Timberlake (2009)** y **Arce et al. (2011)**.



**Figura 17.** Interacción de tiempo VS temperatura en el contenido de antocianinas (mg/100g), en uva Isabella.

Finalmente en la evaluación los resultados nos expresan que al utilizar el método de pH diferencial en uva Isabella (*Vitis labrusca*), se obtiene una concentración de antocianinas en promedio 22.73 mg/g de pulpa teniendo en cuenta los mejores tratamientos del presente estudio. Resultado considerado alto en comparación con lo alcanzado con **Ceballos (2016)**, de 13.60 mg/g, en orujo de uva Isabella (*Vitis labrusca L.*), con **Rockenbach et al. (2011)** que reportaron valores de 1,84 mg/g y al comparar con **Arce et al. (2016)** se encuentra por debajo de lo alcanzado (57.40 mg/g jugo de uva), esto se atribuye a que en esta investigación se utilizaron temperaturas y tiempos (90°C x 5 min) por encima de los parámetros aportados en esta investigación.



## CONCLUSIONES

- El mejor método de extracción de antocianinas fue el licuado, a una temperatura de 40°C por un tiempo de 30 segundos alcanzando promedios de 23.19 mg/100g de pulpa de uva Isabella.
- Independiente de la temperatura y el tiempo de extracción, se obtuvo mayor concentración de antocianinas cuando la pulpa de uva fue licuada (14.59 mg/100g de pulpa) que cuando fue extractada (1.63 mg/100g de pulpa).
- La pulpa de la uva Isabella fresca (*Vitis labrusca*), presentó 12.20±0.16 de sólidos solubles (°Brix), 3.15±0.12 de pH, 1.17±0.03 de acidez titulable (mg de ácido tartárico/100 ml de pulpa).

## **RECOMENDACIONES**

- Repetir la extracción y cuantificación de antocianinas en diferentes estados de madurez de la uva, variedades y localidades de la región.
- Cualificar y cuantificar el contenido de antocianinas por otros métodos (HPLC y otros) con la finalidad de obtener resultados más precisos y confiables.
- En estudios futuros tener en consideración los factores externos de la luz, pH, estabilidad oxidativa, etc

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A.O.A.C. 1984. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. E.U.A. 14ª Ed. Washigton, D.C.
- Anderson, O., y Francis, G. 2004. Techniques of pigment identification. Annual Plant Reviews—Plant Pigments and Their Manipulation, 14, 293–341.
- Angón, P., Santos, N. y Hernández, C. 2006. Índices para la determinación de las condiciones óptimas de maduración de un fruto. Universidad Tecnológica de la Mixteca, Instituto de Agroindustrias. Temas de Ciencia y Tecnología 10(30):3-8.
- Arce T., Castañeda, L., R., R., Mendiola C., A. R., & Domínguez B., B. (2011). Cinética de degradación de la antocianina y estudio reológicos de jugo concentrado de uva Isabella (*visits labrusca*).
- Archenti J. (2005). Determinación de parámetros tecnológicos para la elaboración de macerado de uva (uvachado) variedad borgoña negra (*vitis labrusca*). Tesis para obtener el título de Ingeniero Agroindustrial  
**URI:** <http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/82>.
- Auda, C. 1977. Índices de madurez de frutas. Antecedentes recopilados de investigaciones nacionales y extranjeras. Alimentos 5(3):33-46.
- Awika, J. M.; Rooney, L. W., 2004. Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. Phytochemistry, 65: 1199-1221.
- Bakker J, Preston NW, Timberlake CF (1986) The determination of anthocyanins in red wines: comparison of HPLC and spectral methods. Am. J. Enol. Vitic. 37(2): 121-126.
- Bautista AB., (2005). Técnicas enológicas para la obtención de vinos de Monastrell de alto contenido polifenólico [Tesis doctoral].[Murcia]: Universidad de Murcia; 2005. 9-10p.
- Brouillard R (1982) Anthocyanins as food colors. En: Markakis P (ed.) Academic Press, New York. Camire EM, Chaovanalikit A, Dougherty PM, Briggs J (2002) Blueberry and Grape Anthocyanins as Breakfast Cereal Colorants. J. FoodSci., 67(1): 438-441.
- Camire EM, Chaovanalikit A, Dougherty PM, Briggs J (2002) Blueberry and Grape Anthocyanins as Breakfast Cereal Colorants. J. Food Sci., 67(1): 438-441.
- Carbonell, R. 1970. "Tratado de Vinicultura"; Editorial Aedos, Barcelona-España.

- Castañeda, A., Pacheco, M., Páez, M., Rodríguez, J. y Galán, C. 2009. Chemical Studies of anthocyanins: A review. *Journal Food Chemistry* 113: 859–871.
- Castañeda, C.M. 1992 “vinicultura y vinicultura”; oportunidades comerciales, boletín de la cámara de comercio, Industria y turística de San Martín – Tarapoto año 1 N° 5 setiembre.
- Ceballos, Y., Figueroa, A., Giraldo, D., Gómez, A., Montaña, L., Velasco, M., ... & Vanegas, P. (2016). Elaboración de pan con adición de harina orujo de uva Isabella (*Vitis labrusca* L.) como componente funcional. *Agronomía Colombiana*, 34(1Supl), S1046-S1049.
- CEPCO-ITDG, 1994. "San Antonio de Cumbaza: Diagnostico y Plan de Desarrollo Integral", Tecnología intermedia-ITDG, Julio 1994. Tarapoto San Martín.
- Choung, C. 2003. Anthocyanins profiles of Korean kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal Agriculture of Food Chemistry* 24:740-743.
- Coombe BG (1987). Distribution of solutes within the developing grape berry in relation to its morphology. *Am J Enol Vitic.* 38 (2): 120–12
- Dao, L; et al. 1998. Improved Method for the Stabilization of Anthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.* 46, 3564-3569.
- Daravingas G, Cain RF (1968) Thermal degradation of black raspberry anthocyanin pigments in model systems. *J. Food Sci.*, 33: 138.
- Delgado-Vargas, F., & Paredes-López, O. (2000). Metodos de extraccion de antocianinas, *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2000;40(3):173-289.
- Desobry SA, Netto FM, Labuza TP (1997) Comparison of spray-drying, drum-drying and freeze-drying for -carotene encapsulation and preservation. *J. Food Sci.* 62: 1158-1162.
- Di Cagno, R., Surico, R.F., Paradiso, A., De Angelis, M., Salmon, J.C., Buchin, S., et al., 2009. Effect of autochthonous lactic acid bacteria starters on health-promoting and sensory properties of tomato juices. *Int. J. Food Microbiol.* 128, 473e483.
- Durst, R., Wrolstad R., (2001). Separation and Characterization of Anthocyanins by HPLC. In: *Handbook of Food Analytical Chemistry*. New Jersey: John Wiley & Sons; p. 33-45.
- Eder R (1996) Pigments. En: Nolle LM (ed) *Handbook of Food Analysis*, Volume I Marcel Dekker, Inc. New York, p. 970.

- Espinosa L. 2006. Polyphenols in Wild and Weedy Mexican Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 54 (12), 4436 -4444.
- Fennema, O. 1976. *Química de los Alimentos*. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 1095 p.
- Fennema, O. 2000. *Química de los alimentos*. Segunda Edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. P. 807-820.
- Francis FJ (1999) FD & C Colorants: Anthocyanins and Betalains. Pages 33-42, 55-66. In *Colorants*; Francis FJ (ed.), Eagan Press, St. Paul, Minn.
- Freitas, D. (2006). *Variação dos compostos fenólicos e cor dos vinhos de uvas (Vitis vinífera) tintas em diferentes ambientes*. Brasil.
- Galet, P. 1988. *Cepas y viñedos de Francia, Tomo 1, Las Cepas Americanas*. Montpellier, Francia.
- García, N. 1998, Tesis "Elaboración de Vino a Partir de Uva Variedad Borgoña Negra (*Vitis labrusca*) Usando Azúcar Invertido en Tarapoto San Martín" UNSM Tarapoto-Perú.
- Giustin y Wrolstas, 2001. Cuantificación de antocianinas monoméricas y color polimérico, p: 20 – 21.
- Glories Y, Augustin M. (1994). *La maturité phenolique des raisins Rouges. Les polyphenols Facteurs de la Qualité*. Bordeaux, Francia: Sitevinite; 1994. 117p
- González–Sanjosé ML, Díez C., (1992). *Compuestos fenólicos en el hollejo de uva tinta durante la maduración*. *Agrochimica XXXVI*. 1 (1): 63–70
- Gross J (1987). *Pigments in Fruits*. Academic Press. Oxford, UK. pp: 59-85.
- Harborne, J. y Grayer, R. 1988. *The anthocyaninins*. In J. B. Harborne (Ed.), *The flavonoids* (pp. 1–20).
- Harbone, J. y Williams. 2001. *Estabilidad de las antocianinas*, *Nat. Prod. Rept.* 18, 310–333
- Hernández C., José D., Trujillo N., Yanine Y., Durán O., Daniel S., (2011). *Contenido fenólico e identificación de levaduras de importancia vínica de la uva Isabella (Vitis labrusca) procedente de villa del rosario (Norte de Santander)*. *Vitae [en línea]* 2011, 18 (Sin mes): [Fecha de consulta: 5 de julio de 2018] Disponible en: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169822667003>> ISSN 0121-4004
- Hidalgo, L. 1993 "Tratado de viticultura", tercera Edición, Editorial Mundi -Prensa, Madrid - España.

- Hong, V., y Wrolstad, R. E. (1990). Characterization of Anthocyanin containing colorants and fruits juices by HPLC/photodiode array detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 698–708.
- Hou DX, Kai K, Li JJ, Lin S, Terahara N, Wakamatsu M, Fuji M, Youg MR, Colburn N (2004) Anthocianidins inhibit activator protein 1 activity and cell transformation: structure activity relationship and molecular mechanisms. *Carcinogenesis* 25: 29-36.
- Hou FX, Wang S, Hu YY (2003) Effects of noise on antioxidant enzymes of cochlea in guinea pigs. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing ZaZhi*. 21(2): 121-3.  
<http://www.wiley.com/legacy/cp/cpfac/facsample.htm>
- Jankowski A, Janlowska B, Niwdworok J (2000) The effect of anthocyanin dye from grapes on experimental diabetes. *Folia Med Cracov* 41: 5-15.
- Joseph J, Shuktt-Hale B, Denisova NA, Bielinsk D, Martin A, McEwen JJ, Bickford PC (1999) Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive, and motor behavioral deficits with blueberry, spinach, or strawbwrry dietary supplementation. *J Neurosci* 19: 8114-8121.
- Jubileu, B., Sato, J. y Roberto, S. 2010. Caracterização fenológica e produtiva das videiras “Cabernet Sauvignon” e “Alicante” (*Vitis vinífera* L.) producidas fora de época, no norte do Paraná, *Rev. Bras. Frutic.* 32(2):451-462.
- Keenan, D.F., Brunton, N.P., Mitchell, M., Gormley, R., Butler, F., 2012. Flavour profiling of fresh and processed fruit smoothies by instrumental and sensory analysis. *Food Res. Int.* 45 (2012), 17\_25.
- Keenan, D.F., Brunton, N.P., Mitchell, M., Gormley, R., Butler, F., 2012. Flavour profiling of fresh and processed fruit smoothies by instrumental and sensory analysis. *Food Res. Int.* 45 (2012), 17\_25.
- Kong J M, L S Chiam, N K Goh, T F Chia, C Brouillard (2003) Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* 64:923-933.
- Kong, 2003; Zhang, 2001. Polaridad de las antocianinas, p: 6.
- Laleh, G., Frydoonfar, R., Heidary, R., Jameei, R. y Zare, S., (2006). The effect of light, temperatura, pH and species on stability of anthocyanin pigments in four *Berberies* species. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5(1), 90-92.
- Larrea, A. 1983. "Enología básica" Editorial Aedos. Barcelona - España. 19.

- Leyva, 2009. Determinación de Antocianinas, Fenoles Totales y Actividad Antioxidante en Licores y Fruto de Mora. Tesis para obtener el título de Ingeniero en Alimentos. Universidad Tecnológica de la Mixteca. Oaxaca, México.
- Lizana, L., & Antonio, L. (1983). Maduración e índices de cosecha en uva de mesa. *Aconex*, 5, 13-16.
- Llaudy MC., (2006) Contribución al estudio de los factores que afectan la astringencia del vino tinto [Tesis doctoral]. [Tarragona]: Universidad Rovira i Virgili; 2006. p. 3-12
- Macedo W. (2008). “Elaboración de macerados regionales de uva borgoña negra (*vitislubrasca*), indano (*byrsonimacrassifolia* L. Rich.) y huiyo (*genipa americana* L.) usando aguardiente de caña y endulzantes miel de caña de azúcar y azúcar invertido. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agroindustrial.
- Macheix J J, A Fleuriet, J Billot (1990). Fruit Phenolics. CRC Press. Florida, USA. pp:1-17, 39-81, 105-149.
- Macz-Pop, G. 2004. Antocianinas en frijoles, p: 8 – 9.
- Macz-Pop, G. 2005. Natural occurrence of free anthocyanin aglycones in beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food Chemistry* 94:448-456.
- Markakis, P. 1974. Anthocyanins and their stability in food. *CRC Crit. Rev. Food Technol.*, 4:437-456.
- Markowski, J., Celejewska, K., Roslonek, A., Kosmala, M., 2017. Impact of different thermal preservation technologies on the quality of apple-based smoothies. *LWT Food Sci. Technol.* Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.004>.
- Mazza, G. & Miniati, E. (1993). Anthocyanins in fruits, vegetables and grain. Canadá: CCR Press-Boca Raton.
- Mazza, 1999. Anthocyanins, phenolics and color of cabernet franc, merlot and pinot noir wines from british Columbia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47; 4009 – 4017.
- Moreno-Yolanda, S. 2004. Composición de antocianinas en variedades de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas en México. *AGROCIENCIA*. 39: 385-394.
- Oh YS, Lee JH, Yoon SH, Oh CH, Choi DS, Choe E, Jung MY (2008) Characterization and quantification of anthocyanins in grape juices obtained from the grapes cultivated in Korea by HPLC/DAD, HPLC/MS, and HPLC/MS/MS. *J. Food Sci.*, 73(5): C378-89.

- Okita, C.; Kazuko, S.; Kazuko, Y.; Hamaguchi, Y. 1972, Anthocyanins of *Phaseolus Vulgaris*, cv. Kurodanekinugasa. *Eiyo To Shokuryo* 25, 427-430.
- Parra, A. (2010). Food Microencapsulation: A Review. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 63(2), 56669-684.
- Peña, A. (2006). El color de los vinos. Universidad de Chile.
- Peñin, J. 1998 "Nociones Para Saber de Vinos", Ediciones Elfos. Barcelona España.
- Pinelo M, Arnous A, Meyer AS. (2006). Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. *Trends Food Sci Technol.* 17 (11): 579-590.
- Ramírez, T.E. 2000 "Evaluación comparativa durante la fermentación en la elaboración de vino de uva borgoña Negra (*Vitis Labrusca*) usando cepa pura (*Saccharomyces cerevisiae*) y pie de cuba (*Saccharomyces*)". Tesis UNSM – T, Tarapoto.
- Ramirez-Tortosa C, Andersen O, Gardener P, Morrice PC, Wood SG, Duthie SJ, Collins AR, Duthie GC (2001) Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E-depleted rats. *Free Radic Biol Med* 31: 1033-7.
- Rein, M. (2005). Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins.
- Reyes García, M., Gómez-Sánchez Prieto, I., & Espinoza Barrientos, C. (2017). Tablas peruanas de composición de alimentos.
- Rivas-Gonzalo, J. (2003). Analysis of anthocyanins. In C. Santos- Buelga y G. Williamson (Eds.), *Methods in polyphenol* (pp. 338–358).
- Rockenbach, I., E. Rodríguez, L. Valdemiro, V. Caliarri, M. Genovese, E. de Souza y R. Fett. 2011. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.). Brazil. *Food Chem.* 127, 174-179. Doi: 10.1016/j.foodchem.2010.12.137
- Romero, C.I. (2008). Extracción de compuestos fenólicos de la uva al vino. Papel de los enzimas de maceración. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. España.
- Rossi A, Serraino I, Dugo P, Di Paola R, Mondell L, Gerovese T, Morabito D, Dugo G, Sautebin L, Caputi AP, Cuzzocrea S (2003) Protective effects of anthocyanins from blackberry in a rat model of acute lung inflammation. *Free Radic Res* 37: 891-900.
- Sato, A. J., Silva, B. D., Santos, C. D., Bertolucci, R., Santos, R. D., Carielo, M., & Roberto, S. R. (2008). Características físico-químicas e produtivas das uvas 'Isabel' e 'BRS-



- Rúbea sobre diferentes porta-enxertos na região norte do Paraná. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30(2), 553-556.
- Seeram Navindra P; Nair Muraleedharan G. (2002) Inhibition of lipid peroxidation and structure-activity-related studies of the dietary constituents anthocyanins, anthocyanidins, and catechins. *Journal of agricultural and food chemistry* 2002; 50(19):5308-12.
- Siriwoharn, T., R.E. Wrolstad, C.E. Finn, and C.B. Pereira. 2004. Influence of cultivar, maturity, and sampling on blackberry (*Rubus L. hybrids*) anthocyanins, polyphenolics, and antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:8021-8030.
- Stanton, W. R., & Francis, B. J. (1966). Ecological significance of anthocyanins in the seed coats of the Phaseoleae. *Nature*, 211(5052), 970.
- Strack, D., y Wray, V. 1993. The anthocyaninins. In J. B. Harborne (Ed.), *The flavonoids: Advances in research since 1986* (pp. 1–22).
- Takeoka, G. R.; Dao, L. T.; Full, G. H.; Wong, R. Y.; Harden, L. A.; Edwards, R. H.; Berrios, J. D. J. 1997. Characterization of black bean (*Phaseolus Vulgaris L.*) anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 3395-3400.
- Teleszko, T., Wojdyło, A., 2014. Bioactive compounds vs. organoleptic assessment of ‘smoothies’-type products prepared from selected fruit species. *Int. J. Food Sci. Technol.* 49, 98e106.
- Terci, D. B. L. (2004) *Aplicaciones analíticas e didácticas de antocianinas extraídas de frutas*. Tese - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. Campinas, SP.
- Timberlake F. (2009). Anthocyanins occurrence, extraction and chemistry. *Food Chemistry*, 120, 69-80.
- Tiwari U., 2018. Production of Fruit-Based Smoothies. *Fruit juices*. Pages 261–278.
- Tiwari, U., Cummins, E., 2013. Factors influencing levels of phytochemicals in selected fruit and vegetables during pre- and post-harvest food processing operations. *Food Res. Int.* 50 (2), 497\_506.
- URI:** <http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/93>
- URI:** <http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/UNSM/280>
- Van Buren J (1970). Fruit phenolics In: *The Biochemistry of Fruits and their Products*, A C Hulme. Academic Press. London, UK. pp: 269-303.

- Vidaurre (2004). Características, biométricas y composición porcentual del fruto de la uva (*Vitis labrusca*).
- Wagner GJ. (1982). Cellular and Subcellular Location in Plant Metabolism. In: CREASY L, HRAZDINA G. editors. Recent advances in Phytochemistry. New York: Plenum Press; 1982. p. 1-45.
- Walkling-Ribeiro, M., Noci, F., Cronin, D.A., Lyng, J.G., Morgan, D.J., 2010. Shelf life and sensory attributes of a fruit smoothie-type beverage processed with moderate heat and pulsed electric fields. *LWT Food Sci. Technol.* 43, 1067e1073.
- Wang S, Jiao H (2000) Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *J. Agric Food Chem* 48: 5677-84.
- Wong. D. (1995). *Química de los alimentos, Mecanismos y Teorías*. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 165-174 p.
- Wrolstad RE, Skrede G, Lea P, Enerven G (1990) Anthocyanins and betalains. En: *Natural Food Colorants*, Blackie and Son Ltd., Glasgow, p. 202.
- Wrolstad, R y GIUSTI, M. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*.
- Wrolstad, R. E.; Durst, R. W.; Lee, J. (2005). Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science & Technology* 16,423-428.
- Yoshida, K., Y. Sato, R. Okuno, K. Kameda, M. Isobe, and T. Kondo. 1996. Structural analysis and measurements of anthocyanins from coloured seed coats of *Vigna*, *Phaseolus* and *Glycine* legumes. *Biosci. Biotech. Biochem.* 60(4): 589-593.

## ANEXOS

### Anexos A. Valores medios de los tratamientos en estudio

Método	T (°C)	T (s)	Tratamientos	Agrupamiento de Tukey	Media	N
Licuido	35	10	t1	C	13.970	2
Licuido	35	20	t2	D C	8.885	2
Licuido	35	30	t3	D C	8.956	2
Licuido	40	10	t4	B C	14.395	2
Licuido	40	20	t5	C	12.602	2
Licuido	40	30	t6	A	23.190	2
Licuido	45	10	t7	B A	22.261	2
Licuido	45	20	t8	B A C	16.868	2
Licuido	45	30	t9	C	10.148	2
Extractado	35	10	t10	D	1.758	2
Extractado	35	20	t11	D	1.512	2
Extractado	35	30	t12	D	1.721	2
Extractado	40	10	t13	D	1.607	2
Extractado	40	20	t14	D	1.934	2
Extractado	40	30	t15	D	1.435	2
Extractado	45	10	t16	D	1.751	2
Extractado	45	20	t17	D	1.855	2
Extractado	45	30	t18	D	1.091	2

**Anexos B.** Valores medios del factor "a" operaciones unitarias

Agrupamiento de Tukey	Media	N	Operaciones unitarias (a)
A	14.5861	18	a1
B	1.6234	18	a2

**Anexos C. Valores medio del factor "b" Temperatura en °C**

Agrupamiento de Tukey	Media	N	Temperatura (b)
A	9.1939	12	b2
A	8.9956	12	b3
B	6.1437	12	b1

**Anexos D.** Valores medios del factor "C" Tiempo en Segundos

Agrupamiento de Tukey	Media	N	Tiempo (c)
A	9.2904	12	c1
B	7.7569	12	c3
B	7.2759	12	c2

**Anexos E.** ANOVA de los datos experimentales correspondientes a la antocianina

FACTORES	GRADO LIBERTAD (df)	SUMA DE CUADRADOS (SS)	CUADRADO MEDIO (MS)	F- VALOR	PROBABILIDAD Pr>F
Operación unitaria	1	1519.54175	1519.54175	2245.96	<.0001
Temperaturas	2	116.421878	58.210939	86.04	<.0001
Tiempo	2	4.565902	2.282951	3.37	0.0583
Método vs Temperatura	2	119.01295	59.505648	87.95	<.0001
Método vs Tiempo	2	6.757774	3.378887	4.99	0.0197
Temperatura vs Tiempo	4	137.014372	34.253593	50.63	<.0001
Método*Temperatura*Tie mpo	4	136.227065	34.056766	50.34	<.0001
Error	17	11.501653	0.676568		
Total corregido	35	2051.153937			

R<sup>2</sup>=0.9944

CV=10.27

Media=8.01

**Anexos F.** Valores experimentales de los tratamientos en estudio

Método	Temperatura °C	Tiempo (s)	Antocianinas
Licuada	35	10	16.8106
Licuada	35	10	11.1289
Licuada	35	20	10.4845
Licuada	35	20	7.2858
Licuada	35	30	9.0031
Licuada	35	30	8.9085
Licuada	40	10	15.4124
Licuada	40	10	13.3777
Licuada	40	20	12.3138
Licuada	40	20	12.8899
Licuada	40	30	19.8067
Licuada	40	30	26.5736
Licuada	45	10	19.2405
Licuada	45	10	25.2817
Licuada	45	20	15.6528
Licuada	45	20	18.0825
Licuada	45	30	9.0617
Licuada	45	30	11.235
Extractado	35	10	1.7646
Extractado	35	10	1.7522
Extractado	35	20	1.5405
Extractado	35	20	1.4838
Extractado	35	30	1.7245
Extractado	35	30	1.7169
Extractado	40	10	1.8618
Extractado	40	10	1.3523
Extractado	40	20	2.0255
Extractado	40	20	1.8425
Extractado	40	30	1.3885
Extractado	40	30	1.4823
Extractado	45	10	1.7778
Extractado	45	10	2.0238
Extractado	45	20	1.5724
Extractado	45	20	2.1369
Extractado	45	30	1.0834
Extractado	45	30	1.0988



