



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales Creative Commons, permitiendo a otras solo descargar sus obras y compartirlas con otras siempre y cuando den crédito, pero no pueden cambiarlas de forma alguna ni usarlas de forma comercial.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0>

UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

**Análisis químico proximal, antocianinas y determinación
de la actividad antioxidante en el fruto *Berberis boliviana*
Lechler "tankar"**

AUTOR:

ESTHEFANIA ALLINSON RODAS ALVARADO

ICA - PERU

2020

DEDICATORIA

Quiero dedicar esta tesis a mis abuelos Elena y Calixto, por haberme guiado e inspirado a perseguir mis sueños a pesar de las dificultades sin olvidar los valores inculcados, además nombrar a mi madre y madrina que fueron sin duda una pieza fundamental en mi desarrollo profesional.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mi madre y abuelos por apoyarme en cada paso de mi vida e impulsarme a cumplir mis sueños sin duda mi familia es mi máximo motor, asimismo a mi asesor de tesis gracias a Él por sus consejos y enseñanzas en toda la carrera universitaria y la dedicación en mi proyecto de tesis.

ÍNDICE

	Pág.
PORTADA	
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS	III
ÍNDICE	IV
RESUMEN	VII
ABSTRACT	VIII
INTRODUCCIÓN	IX
CAPÍTULO I. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN	11
1.1. Descripción de la realidad problemática	11
1.2. Formulación del problema	12
a) Problema General	12
b) Problemas Específicos	12
1.3. Justificación e importancia	12
1.4. Objetivos de la investigación	13
a) Objetivo General	13
b) Objetivos Específicos	13
1.5. Hipótesis y variables	14
1.5.1 Hipótesis	14
a) Hipótesis General	14
b) Hipótesis Específicas	14
1.5.2 Variables	14
a) Independiente	14
b) Dependiente	14
1.5.3 Operacionalización de variables	15
CAPÍTULO II. BASES TEÓRICAS	16
2.1. Antecedentes de la investigación	16
2.2. Marco teórico	19
2.2.1 Aspectos botánicos de la especie	19

a) Clasificación taxonómica	19
b) Sinonimia de la planta	20
c) Distribución de la Familia Berberidaceae	20
d) Descripción	21
2.2.2 Alimento nutraceutico o funcional	23
2.2.3Análisis proximal	23
a) Humedad	24
b) Proteínas	24
c) Cenizas	26
d) Grasa cruda	26
e) Carbohidratos	27
2.2.4 Metabolitos secundarios	28
2.2.5 Antocianos	29
a) Estructura	29
b) Biosíntesis	30
2.2.6 Actividad Antioxidante	31
2.3 Marco conceptual	32
CAPÍTULO III. ESTRATEGIAS METODOLÓGICAS	35
3.1. Tipo, Nivel y Diseño de la Investigación	35
3.1.1 Tipo de Investigación	35
3.1.2 Nivel de Investigación	35
3.1.3 Diseño de Investigación	36
3.2 Materiales de trabajo	36
3.2.1 Material de laboratorio	36
3.2.2 Equipos	37
3.2.3 Reactivos	38
3.2.4 Material biológico	39
3.3. Población y muestra	39
3.4. Técnicas y procedimientos de recolección de datos	39
3.4.1 Análisis Químico Proximal	39
3.4.2 Determinación de antocianinas	43
3.4.3 Métodos determinación de actividad antioxidante	44

a) Método del radical DPPH	44
b) Método FRAP	46
3.5. Técnicas de procesamiento de la información	46
3.5.1 Recolección de datos analíticos	46
3.5.2 Procesamiento de datos	47
3.6. Aspectos éticos	47
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
4.1. Resultados	48
4.2. Discusión	54
CONCLUSIONES	58
RECOMENDACIONES	59
FUENTES DE INFORMACIÓN	60
ANEXOS	66
Anexo N°1 Matriz de Consistencia	66
Fotos	67

RESUMEN

El Perú es un país con una gran diversidad de especies vegetales utilizadas como plantas medicinales y/o alimentos, de los cuales muchas veces se desconoce su real valor. La especie *Berberís boliviana* Lecher “Tankar”, es una especie que crece de forma silvestres en los valles altos andinos por encima de los 3000msnm, de la cual muy poco se conoce. El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar la composición químico proximal, contenido de antocianina y la determinación de la actividad antioxidante del zumo de esta especie proveniente del anexo San Juan de Chacña, Apurímac en el afán de contribuir a su conocimiento y aprovechamiento adecuado. Se realizó una caracterización sensorial del fruto de la especie, el análisis químico proximal estuvo basa en método oficiales de la AOAC, para la determinación del contenido de antocianina se efectuó por el método del pH diferencial y la actividad antioxidante se determinó por los métodos del radical libre DPPH y el método FRAP. Se obtuvo en la caracterización del fruto como valor relevantes su sabor dulce y el color negro azulado del fruto y zumo de este; el valor proximal se obtuvo un valor calórico de 61,2 Kcal/100mL de zumo, el contenido de antocianina fue de 474,31 mg/100g de antocianina expresada como cianidina 3 glucósido, el contenido de la actividad antioxidante expresada por el método de FRAP fue de 12,35 uMTE/mL y por el método del DPPH de $IC_{50} = 0,28$ mL de zumo, concluyendo que la especie posee un alto contenido de antocianinas y una apreciable capacidad antioxidante.

ABSTRACT

Peru is a country with a great diversity of plant species used as medicinal plants and / or food, of which their real value is often unknown. The Bolivian *Barbers Lecher* "Tankar" species is a species that grows wild in the high Andean valleys above 3000 masl, of which very little is known. The objective of the present research work was to determine the proximal chemical composition, anthocyanin content and the determination of the antioxidant activity of the juice of this species from the San Juan de Chacña, Apurimac annex, in order to contribute to its knowledge and proper use. A sensory characterization of the fruit of the species was carried out, the proximal chemical analysis was based on official methods of the AOAC, for the determination of the anthocyanin content it was carried out by the differential pH method and the antioxidant activity was determined by the radical methods free DPPH and FRAP method. It was obtained in the characterization of the fruit as relevant value its sweet flavor and the bluish-black color of the fruit and its juice; the proximal value was obtained a caloric value of 61.2 Kcal / 100mL of juice, the anthocyanin content was 474.31 mg / 100g of anthocyanin expressed as cyanidin 3 glucoside, the content of antioxidant activity expressed by the FRAP method was 12.35 uMTE / mL and by the DPPH method of IC₅₀ = 0.28 mL of juice, concluding that the species has a high anthocyanin content and an appreciable antioxidant capacity

INTRODUCCIÓN

El Perú es uno de los países más mega diverso del planeta, y la gran cantidad de recursos vegetales terapéuticos y alimenticios que poseen en su vasta flora andina y amazónica lo convierte en estratégico en la búsqueda de nuevas alternativas para las múltiples necesidades que enfrenta la población cada día¹.

La alimentación es una de las necesidades primarias inherentes al ser humano y quizás su principal preocupación en su afán de supervivencia, la cual ha ido cambiando a lo largo de la evolución del ser humano, es así que actualmente la alimentación se basa, principalmente en alimentos que tienen por lo menos un grado de procesamiento lo cual se ha asociado a la aparición de múltiples enfermedades, en este contexto se está nuevamente mirando a lo natural y a la revaloración de los reales nutrientes presente en los alimentos².

Los alimentos considerados funcionales se les ha atribuido distintos tipos de actividades terapéuticas, como anti-alérgicas, antiinflamatorias, antimicrobianas, anti proliferativas entre otras, que podrían ser ejercidas en los organismos, por lo que se dice que un adecuado consumo de frutas y hortalizas es primordial para gozar una buena salud y prevención de enfermedades³. Estas propiedades se han asociado a la presencia de

metabolitos secundarios entre los que destacan los compuestos fenólicos, y flavonoides entre otros³.

Las frutas contienen abundantes flavonoides entre los que destacan catequinas, flavonoles, antocianos y proantocianidinas. En muchas frutas, los flavonoides están principalmente presentes en la piel de las bayas entre las que destacan las antocianinas. El fruto de la *Berberis boliviana* L “tankar” es una baya de forma globulosa, de tamaño pequeño y una coloración que varía entre rojo y azul morado cuando está madura debido a su alto contenido de antocianinas, que crece de manera silvestre de producción estacional que solo es aprovechado esporádicamente por los pobladores que pastan su ganado a esas alturas³⁻⁵. En la actualidad no se tiene mayores estudios de esta fruta por lo que nace la inquietud del presente estudio que es la composición químico proximal, contenido de antocianinas y determinación de la actividad antioxidante presente en el fruto de *Berberis boliviana* L “tankar.

CAPITULO I:

PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1.DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

El Perú es uno de los países más mega diversos que existen en la tierra y en el cual hay muchas especies nativas y silvestres que han sido poco o nada estudiadas, como el tankar un arbusto perteneciente a la familia Berberidaceae, cuyo genero Berberis es holártico de distribución mundial y que en América se extiende hasta los Andes Patagónicos; en Perú se reconocen 32 especies. El tankar que crecen en forma silvestre en la sierra entre los 3300 a 3800 msnm de fruto comestible de un color morado intenso cuando está maduro, de producción estacional que solo es aprovechado esporádicamente por los pobladores que pastan su ganado a esas alturas (Aranibar 2014, Ayarde y Bukacio 2015)^{3,4}.

En uno de los escasos estudios que existen manifiesta tener un considerable contenido de antocianinas (Aranibar 2013)⁵, compuestos de carácter fenólicos los que se atribuye a una serie de posibles efectos terapéuticos como reducción de enfermedades coronarias, efectos anticancerígenos, antidiabéticos entre otros (Garson 2008)⁶ por su presumible actividad antioxidante. Al realizar una revisión de la tabla peruana de composición de los alimentos a la fecha no se reporta el valor nutricional del fruto (Reyes et al 2017)⁷ a pesar de su conocimiento desde hace muchos años y su introducción en mercados en países como Bolivia de productos procesados a base del mismo por ejemplo los néctares, sin que se halla establecido su valor nutricional oficialmente.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

a) Problema General

¿Cuál es la composición químico proximal, contenido de antocianinas y determinación de la actividad antioxidante presente en el fruto de *Berberis boliviana* L “tankar”?

b) Problemas específicos

- ¿Cuál es la composición químico proximal del fruto de *Berberis boliviana* L “tankar”?
- ¿Cuál es la concentración de antocianina del fruto de *Berberis boliviana* L “tankar”?
- ¿Presentará actividad antioxidante el fruto de *Berberis boliviana* L “tankar”?

1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

Desde tiempos inmemoriales los pobladores de la selva y sierra consumen frutos silvestres como alimentos fuentes de energía, desconociendo que otras acciones beneficiosas le puede brindar para su salud. En el presente trabajo de investigación se propone investigar la composición químico proximal del fruto del “tankar” además de establecer su contenido de antocianinas y determinar actividad antioxidante por dos métodos diferentes, como un aporte a la investigación que actualmente el mundo moderno está buscando en los productos naturales que puedan ayudar a

combatir diversas enfermedades del tipo degenerativas con una menor incidencia de reacciones adversas (OMS 2014)⁸. Asimismo, es importante establecer su composición químico-proximal ya que ella permitirá conocer cuál es el real aporte calórico nutricional del fruto y orientar su uso. El presente trabajo es importante porque permitirá conocer la composición químico-proximal, el contenido de antocianinas totales y la determinación de la actividad antioxidante y a partir de esto se podrán realizar nuevas investigaciones para darle utilidad nutricional y un valor agregado como alimento funcional al fruto, lo que podría beneficiar económicamente a los pobladores de las zonas alto andinas donde se produce esta baya.

1.4.OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

a) Objetivo General:

Evaluar la composición químico proximal, contenido de antocianinas y determinación de la actividad antioxidante en el fruto *Berberis boliviana* L “tankar”

b) Objetivos Específicos:

- Caracterizar sensorial del fruto de *Berberis boliviana* L “tankar”
- Determinar la composición químico proximal del fruto de *Berberis boliviana* L “tankar”
- Cuantificar el contenido total de antocianinas en el fruto de *Berberis boliviana* L “tankar”
- Determinar la actividad antioxidante que presenta el fruto *Berberis boliviana* L “tankar” por los métodos DPPH y FRAP

1.5. HIPÓTESIS Y VARIABLES

1.5.1. Hipótesis

a) Hipótesis General

El fruto de *Berberis boliviana* L “tankar” del anexo San Juan de Chacña, Apurímac presenta una composición proximal, antocianinas y una actividad antioxidante diferente a los reportes hallados.

b) Hipótesis Específicas

- La composición químico proximal del fruto de *Berberis boliviana* L tankar presenta un considerable valor energético.
- El fruto de *Berberis boliviana* L tankar presenta alto contenido de antocianinas
- Los extractos del fruto de *Berberis boliviana* L “tankar” presentan una alta actividad antioxidante frente al trolox por ambos métodos empleados.

1.5.2. Variables

a) Independiente

El fruto de *Berberis boliviana* L “Tankar”

b) Dependiente

- Análisis químico proximal
- Contenido de antocianinas

- Actividad antioxidante

1.5.3. Operacionalización de variables

VARIABLE	INDICADOR	INDICE
Independiente: El fruto de <i>Berberis boliviana</i> L “Tankar”	Peso promedio Tamaño Color Aspecto Forma	Gramos Centímetros Nominal Nominal Nominal
Dependiente: Análisis químico proximal Antocianina Actividad antioxidante	Humedad Cenizas Grasas Proteína Carbohidratos Acidez Sólidos solubles Método de pH diferencial Método de DPPH Método FRAP	Porcentaje Porcentaje Porcentaje Porcentaje Porcentaje Grados Brix mg de antociana/100g IC ₅₀ mM Trolox

CAPITULO II:

BASES TEORICAS

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Ayarde, H., y Bulacio, E.(2015). Refiere una nueva especie, *Berberis*, denominada *Berberis calilehua* (Berberidaceae), que crece sobre los 3000 metros sobre el nivel de mar en las montañas del sur de Bolivia y Noreste de Argentina. Describe que esta especie tiene similitudes morfológicas con las especies de *Berberis* andinas que crece en los andes del Perú y Bolivia, pero difiere de estas por algunos caracteres tales como margen foliar espinoso dentado y venación dicotómica abierta, flores solitarias, fruto con estilo conspicuo, realizaron una descripción detallada de la especie propuesta, así como características que permiten diferenciar las especies afines⁴.

Aranibar,F. (2014). “Estudio de la actividad antioxidante del zumo del fruto de tankar (*Berberis boliviana* L.), en diferentes condiciones de almacenado”. Desarrollo una caracterización fisicoquímica de fruto y el estudio de la Actividad Antioxidante del zumo del fruto fresco de tankar (*Berberis boliviana* L.), dando como resultado $15,573 \pm 0,214 \mu\text{molTE/g}$. También realizo una determinación de la actividad antioxidante del zumo del fruto almacenado a diferentes temperaturas (1 ° y 10°C) en tiempos de 1 y 2 meses³.

Aranibar E. (2013). “Extracción de antocianinas de a partir del fruto de Tankar (*Berberis Boliviana* L) y determinación del contenido por el método de pH diferencial” efectuaron la extracción de antocianinas a partir cascara

del fruto de tankar (*Berberis boliviana* L.), considerando tres parámetros Tecnológicos como son: tiempo, pH y temperatura; y se determinó el contenido del pigmento en estudio. Concluyendo que los parámetros adecuados fueron tiempo de 24 horas, pH 4 y temperatura de 20°C, correspondientes uno de los 12 tratamientos probados y una concentración de antocianinas de 1234 mg/100g de base fresca⁵.

Del Carpio C. et al. (2009). En su estudio “Caracterización de las antocianinas de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler” en un análisis por HPLC con detector de arreglo de diodo, determinaron la presencia de 5 antocianinas presente en el extracto hidrolizado, pero luego en un análisis cromatográfico con detector de masa se confirmó la presencia de 10 picos de antocianinas. Las cuales fueron: delfinidina-3-glucósido, delfinidina-3-rutinósido, cianidina-3-glucósido, cianidina-3-rutinósido, petunidina-3-glucósido, petunidina-3-rutinósido, peonidina-3-glucósido, peonidina-3-rutinósido, malvidina-3-glucósido y malvidina-3-rutinósido⁹.

Ruiz. et al.,(2010) “Polyphenols and Antioxidant Activity of Calafate (*Berberis microphylla*) Fruits and Other Native Berries from Southern Chile”. Calafate (*Berberis microphylla*) es una baya nativa cultivada en el área patagónica de Chile y Argentina. En el presente estudio, se determinó la composición fenólica y la actividad antioxidante de sus frutos y también se comparó con los datos obtenidos para otros frutos del sur de Chile, incluidos el maqui (*Aristotelia chilensis*) y la murtila (*Ugni molinae*). Los compuestos polifenólicos en la fruta de calafate estaban esencialmente

presentes en forma glicosilada, siendo los conjugados de 3-glucósidos las antocianinas más abundantes. El contenido de antocianinas en las bayas de calafate ($17,81 \pm 0,98 \mu\text{mol g}^{-1}$) y el nivel de flavonol ($0,16 \pm 0,01 \mu\text{mol g}^{-1}$) son comparables con los encontrados en maqui ($17,88 \pm 1,15$ y $0,12 \pm 0,01 \mu\text{mol g}^{-1}$, respectivamente); sin embargo, el maqui muestra una menor concentración de flavan-3-ol que el calafate ($0,11 \pm 0,01$ y $0,24 \pm 0,03 \mu\text{mol g}^{-1}$, respectivamente). El maqui y el calafate muestran una alta actividad antioxidante, que se correlaciona altamente con el contenido total de polifenoles y con la concentración de antocianinas¹⁰.

Ritva Repo de Carrasco, Christian René Encina Zelada. 2008 Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. En el tomate de árbol (*Solanum betaceum*) se destacó el contenido relativamente alto de fibra cruda 4,5 g/100 g de fruta. El tomate de árbol (*Solanum betaceum*) y aguaymanto (*Physalis peruviana L.*) Tuvieron mayor contenido de proteínas (1,9 g/100 g para ambos frutos) que las otras frutas estudiadas. En cuanto a compuestos fenólicos, la papaya de monte (*vasconcellea spp*), es la fruta que presentó mayor contenido de estos compuestos (167 mg de equivalente ácido gálico/g de fruto). El contenido de betalaínas en tuna roja fue de 68,95 mg/1000 mL. El aguaymanto tuvo el mayor contenido de ácido ascórbico (43,3 mg/100g), seguido por la papaya de monte (31,41 mg/100g) y el tomate de árbol seguida por la tuna roja 16,09 mg/100g y 22,75 mg/100g, respectivamente¹¹.

K. Meza 2008. En su tesis “Química y Actividad biológica de *Berberis rotundifolia*” describe que la especie *Berberis rotundifolia* es conocida como Michay el cual es un arbusto endémico de sur de Chile de la Familia Berberidaceae, determinó la presencia de alcaloides del tipo bencilisoquinolínicos: pronuciferina, lambertina y berberina; se evaluó la actividad antioxidante *in vitro* frente al radical DPPH y bioensayos de toxicidad general sobre *Artemia salina*, los resultados permiten definir a estos compuestos como sustancias químicas con actividad biológica¹².

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Aspectos botánicos de la especie vegetal *Berberís boliviana*

lechler (ch'eqche)

a) Clasificación taxonómica

La muestra fue caracterizada botánicamente en base al análisis morfológico y presentando la correspondiente clasificación taxonómica, de acuerdo al Sistema de Judd, Campbell, Kellogg & Stevens (1999):

Reino: Vegetal

División: Magnoliophyta (Angiospermas)

Clase: Magnoliopsida (Tricolpados-Eudicotiledoneas)

Sub Clase: Magnolidae

Orden: Ranunculales

Familia: Berberidaceae

Género: *Berberís*

Especie: *Berberís boliviana* Lechler

b) Sinonimia de la planta

En la región del Antiplano esta planta se conoce como "Ch'eqche", "Q'eswa ch'eqche", "Agracejo peruano", "Ailampo", "Uva- uva", "Quisca-quisca" y en la zona de procedencia para el presente estudio como "Tankar" (Dueñas 1992, Aranibar 2013)^{13,5}.

c) Distribución de la familia Berberidaceae

En el mundo se conoce cerca de 175 especies

En continente americano se distribuye desde América Central y a lo largo de los Andes hasta el extremo sur de Sudamérica, En el Perú se han descripto:

- Perú: 32 especies
- Región: 12 especies

Familia Berberidaceae

Características morfológicas:

Plantas herbáceas o arbustivas inermes o espinosas, con rizomas arrastrados o gruesos tubérculos, plantas vivaces con hojas simples o compuestas, flores hermafroditas, solitarias o en racimo, ramas erectas acanaladas provistas de espinas largas de 2 a 8 mm con 3 a 5 radios.

Su desarrollo varía de acuerdo a la especie, pueden alcanzar de 1 a 2 metros de altura, siendo raro que sean más altas, pero pueden ser más bajas.

En el género *Berberís*, en las hojas, leño y corteza se encuentra presente el alcaloide berberina (Dueñas 1992)¹³.

***Berberis boliviana* Lechler**

Según el Catálogo de las plantas angiospermas y gimnospermas del Perú, *Berberis boliviana* Lechler, es una especie silvestre peruana de distribución única en el Departamento del Cusco (Aranibar 2014)³; sin embargo, se le ha encontrado en las zonas altas andinas y en el Perú principalmente desde Huancavelica hasta Puno (Aranibar, 2013)⁵.

Algunas tradiciones orales cuentan que estos frutos eran utilizados por las ñustas incas como champús naturales para lavar y cuidar sus cabellos.

Existe información sobre esta especie en Perú desde tiempos de la conquista, y algunos cronistas como Bernabé Cobo, describen esta planta con el nombre común de quisca quisca, que significa planta espinosa, con pequeñas flores amarillas y espinas filudas, cuyos frutos dan un suave color morado cuando son usados para colorear (Del Carpio 2009)⁹.

d) Descripción

Presenta hojas fasciculadas de 12 mm de longitud y 5 mm de ancho, reticuladas, venación sobre ambos lados, sésiles o subsésiles de una coloración verde.

Inflorescencia, que nace en los braquioblastos, es decir regiones axilares, así como en regiones terminales, se presentan a manera de racimo o falso racimo, cimosas o a veces flores solitarias. El perianto es biseriado.

Flores, amarillas pequeñas, pedúnculas, bractiadas, actinomorfas, hermafroditas, sus miembros ordenados cíclicamente, el perianto formado por diversos verticilos, trímeros o dímeros a los cuales acostumbran seguir otros dos hectarios (base de los pétalos) pudiendo ser de origen estaminal. La flor es hipógina, es decir presenta el ovario elevado con respecto a las demás piezas florales.

Androceo, presenta de 4 a 18 estambres libres, generalmente en 2 ciclos, uno interno y otro externo. Los externos opuestos a los pétalos. Las anteras basifijas o dorsales con dehiscencia bivalvar. Gineceo, presenta un pistilo unilocular (derivado de 2 a 3 carpelos). ¡El estigma es apical capitado, sésil o sostenido por un estilo corto o grueso, óvulos escasos o numerosos de placentación perista! (óvulos insertados en las paredes internas del ovario).

Polen, básicamente tricolpado en espiral.

Fruto, viene a ser una baya o cápsula dehiscente con una o varias semillas. Presenta una forma globulosa, de tamaño pequeño y una coloración que varía entre rojo y azul morado.

Semillas, pueden ser una o varias, protegidas por un endospermo copioso carnosos y coriáceo. El embrión diminuto y redondeado lineal o espatular, los cotiledones indiferenciados con una radícula ancha. Polinización, generalmente entomógama, existiendo también autogamia (Del Carpio et al. 2005, Acuña y Cusi 2013)^{14,15}.

2.2.2. Alimento nutraceutico o funcional.

La definición está en desarrollo, pero en general se refiere a aquel alimento que, por sus componentes fisiológicos activos, provee beneficios más allá de la nutrición básica y puede prevenir enfermedades o promover la salud. De acuerdo con la academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos, son aquellos alimentos en los cuales la concentración de uno o más ingredientes ha sido manipulada para aumentar su contribución a una dieta saludable (Menéndez M, 2011)¹⁶.

2.2.3. Análisis proximal.

El análisis proximal hace referencia al contenido de sustancias nutritivas de un alimento. Es un conjunto de métodos que determinan la composición en términos nutricionales un alimento, también se le conoce con el nombre de Weende. (Los análisis comprendidos dentro de este grupo, también conocido como análisis proximales por ende, se aplican en primer lugar a los materiales que se usarán para formular una dieta como fuente de proteína o de energía y a los alimentos terminados, como un control para verificar que cumplan

con las especificaciones o requerimientos establecidos durante la formulación. Estos análisis nos indicarán el contenido de humedad, proteína cruda (nitrógeno total), fibra cruda, lípidos crudos, ceniza y extracto libre de nitrógeno en la muestra (FAO, 1984)¹⁷.

a) Humedad: La humedad representa el contenido de agua los alimentos, encontrándose en la mayoría de ellos como un componente mayoritario y puede aparecer de dos formas: como agua libre y agua ligada que se encuentra combinada químicamente a la proteína. La determinación de la humedad de un alimento permite establece su composición centesimal.

Existen diversos métodos para la determinar la humedad de un alimento, siendo el más comúnmente usado el método gravimétrico de secado por estufa, se debe tener la consideración que el método usado dependerá de estado físico, la cantidad de agua que posea el producto entre otros factores (Tirado, et al. 2015)¹⁸.

b) Proteínas: Las proteínas son macronutrientes esenciales que encontramos en los alimentos y están constituidas por la asociación de varios aminoácidos a través del enlace peptídico, en su composición básica contienen carbono, oxígeno, nitrógeno e hidrógeno y en algunos casos especiales pueden contener azufre y fosforo, en su metabolismo aportan 4 calorías por gramo.

Las proteínas se pueden clasificar de acuerdo a según su composición química y física en:

- Proteínas simples. También conocidas como holoproteidos, están conformadas exclusivamente por aminoácidos o sus derivados.
- Proteínas compuestas o conjugadas. Heteroproteínas, están formados por diversas sustancias presentes, consta de una fracción nitrogenada y otra no proteica.
- Proteínas que han sido desnaturalizadas anteriormente. Por algún agente externo como el calor, pierden sus estructuras adaptándose al nivel estructural anterior.

Las proteínas cumplen múltiples funciones, las cuales son específicas de cada una de ellas y permiten a las células realizar determinadas acciones como defensa de los agentes externos, mantener su integridad, controlar y regular funciones, entre otras. Las proteínas se encuentran en alimentos de origen vegetal como animal y su calidad está definida por un alto valor biológico, una alta digestibilidad y el contenido de aminoácidos.

El método más común para la determinación de la proteína de un alimento es el método Kjeldahl, el cual consta de tres etapas, una de digestión, una de destilación y una de titulación en la cual, lo que se valora es el contenido de nitrógeno proteico y multiplicado por el factor correspondiente se transforma en proteína (FAO,1984; Suarez et al. 2005)^{17,19}.

c) Cenizas: Las cenizas de un alimento son el producto de la combustión, equivalente al residuo inorgánico que queda después de calcinar la materia orgánica. Las cenizas normalmente, no son las mismas sustancias inorgánicas presentes en el alimento original, debido a las pérdidas por volatilización o a las interacciones químicas entre los constituyentes. El valor principal de la determinación de cenizas es desde el punto de vista económico y de la calidad y cualidades organolépticas y nutricionales, por ejemplo, en las especias y en la gelatina es un inconveniente un alto contenido en cenizas. Las cenizas de los alimentos deberán estar comprendidas entre ciertos valores, lo cual facilitará en parte su identificación, está incluida dentro del Análisis Químico Proximal de los alimentos (FAO, 1984; Herrera et al 2003)^{17,120}.

d) Grasa cruda: Los lípidos o grasas están constituidos por sustancias, que en general son solubles en solventes orgánicos, como cloroformo o éter. La definición de lípidos describe un amplio grupo de sustancias que tiene las mismas características y composición estructural similar. No obstante que algunos lípidos, tales como los triacilglicéridos, son muy hidrofóbicos, otros lípidos, tales como los di y monoacilglicéridos tienen tanto partes hidrofóbicas como hidrofílicas en sus moléculas, lo que las hace relativamente solubles en solventes polares. Es importante señalar que los triacilglicéridos son los lípidos con mayor

incidencia en los alimentos por lo que los términos de lípidos, grasas y aceites son usados en forma intercambiable.

La determinación de la grasa es uno de los análisis clave realizados en la industria alimentaria. Las muestras se extraen con un solvente adecuado según Soxhlet y extracción en caliente. Después de que el extracto se haya secado a un peso constante, el contenido total de grasa se determina gravimétricamente. Las grasas, junto con las proteínas y los carbohidratos constituyen los principales componentes estructurales de los alimentos (FAO, 1984; Herrera et al 2003)^{17,20}.

e) Carbohidratos: Los carbohidratos también llamados hidratos de carbono, ya que a nivel químico contienen carbono, hidrógeno y oxígeno, son los azúcares, almidones y fibras que se encuentran en una gran variedad de alimentos como frutas, granos, verduras y productos lácteos. Su principal función es la energética. Aportan la energía de más fácil utilización (cada gramo aporta 4 kcal). Los carbohidratos son almacén y reserva de energía en forma de glucógeno que se moviliza rápidamente para generar glucosa cuando se necesita. Su determinación principalmente se obtiene por diferencia al realizar la valoración químico proximal (FAO, 1984; Herrera et al 2003, Boatella et al, 2004)^{17, 20,21}.

2.2.4. Metabolitos secundarios:

Los alimentos además de aportar nutrientes, contienen una serie de sustancias no nutritivas que intervienen en el metabolismo secundario de los vegetales: sustancias colorantes (pigmentos), aromáticas, reguladores del crecimiento, protectores naturales frente a parásitos y otros, que no tienen una función nutricional clásicamente definida, o no son considerados esenciales para la salud humana, pero que pueden tener un impacto significativo en el curso de alguna enfermedad, son los fotoquímicos o sustancias bioactivas. Las sustancias bioactivas o fitoquímicos se encuentran abundantemente en frutas y verduras, y en las bacterias "ácido lácticas" presentes en productos lácteos obtenidos por fermentación ácido láctica como el yogurt, leche cortada, y verduras fermentadas (ej: el choucroute)²².

Compuestos bioactivos: tipo de sustancia química que se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas y ciertos alimentos (como frutas, verduras, nueces, aceites y granos integrales). Los compuestos bioactivos cumplen funciones en el cuerpo que pueden promover la buena salud. Están en estudio para la prevención del cáncer, las enfermedades del corazón y otras enfermedades. Los ejemplos de compuestos bioactivos incluyen el licopeno, el resveratrol, los lignanos, los taninos y los indoles²³.

2.2.5. Antocianos:

El término antociano, proviene del griego anthos, que significa flor y kianos que significa azul. Son pigmentos característicos de vegetales, donde son responsables de una amplia variedad de colores: naranja, rosa, escarlata, rojo, malva, violeta y azul. En sus medios naturales se encuentran presentes en forma de heterósidos, cuyo aglicón, derivado del ion flavilio o fenil-2-benzopirilio, está hidroxilado y metoxilado en diferentes posiciones. El aglicón, o antocianidina, está unido a una o varias moléculas de azúcar, las cuales pueden estar, a su vez, aciladas con diferentes ácidos orgánicos. Los glicósidos de las antocianidinas se denominan antocianinas o antocianos (Surco 2011)²⁴.

a) Estructura

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, pertenecientes a la familia de los flavonoides, derivadas del ion flavilio o fenil-2-benzopiriliocompuestos por dos anillos aromáticos A y B unidos por una cadena de 3 carbonos. Las distintas variaciones en los radicales de la estructura del anillo B resultan en seis antocianidinas más conocidas. El número y orientación de los grupos hidroxilos y metoxilos de la molécula determinan el color de las antocianinas. Incrementos en la hidroxilación producen desplazamientos hacia tonalidades

azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas. En sus medios naturales se encuentran presentes en forma de heterósidos y siempre presentan sustituciones glicosídicas en las posiciones 3 y/o 5 con mono, di o trisacáridos que incrementan su solubilidad. Los sacáridos glicosilantes se encuentran comúnmente están la glucosa, galactosa, xilosa, ramnosa, arabinosa, rutinosa, soforosa, sambubiosa y gentobiosa. Los ácidos orgánicos que común es las acilaciones pueden ser alifáticos, tales como: acético, malónico, málico, succínico u oxálico; o aromáticos: cafeico, p-coumárico, gálico, ferúlico, sinápico, o p-hidroxibenzóico. El tipo de sustitución glicosídica y de acilación originan variaciones en la tonalidad de las antocianinas; es así como sustituciones glicosídicas en la posición 5 al igual que acilaciones aromáticas, producen un desplazamiento hipsocrómico en las tonalidades (Garson, 2008)⁶.

b) Biosíntesis

Las antocianinas tienen precursores bien conocidos, ya sea por la ruta del ácido málico o por la ruta ácido shikímico. Está establecido experimentalmente que al anillo A de las antocianinas se origina por la biosíntesis del ácido malónico mediante el compendio de tres moléculas de malonil-CoA, mientras que el anillo B se sintetiza por el trayecto de ácido shikímico. El ácido shikímico origina la fenilalanina la cual a

través de una enzima la fenilalanina ammonia liasa (PAL), y una pérdida posterior de NH_3 se convierte en ácido p-coumárico. El p-coumaril-CoA enseguida participa en una reacción de condensación con las tres moléculas de malonil CoA para formar una chalcona de 15 átomos de carbono, a través de la acción de una chalcona sintetasa. Este compuesto intermedio de 15 C es transformado en una flavanona en una reacción catalizada por una chalcona isomerasa. Por último, la flavanona es convertida en la correspondiente antocianidina por la correspondiente hidroxilación en el carbono 3 seguida por una deshidratación. La molécula de antocianidina se estabiliza por glicosilación del heterociclo; reacción en la que interviene una glicosil transferasa, así como las posteriores reacciones de metilación de los grupos hidroxilos seguidas de acilaciones (Garson 2008; Surco, 2011)^{6,24}.

2.2.6. Actividad antioxidante:

Es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa (por ejemplo, la peroxidación lipídica), de tal manera que un antioxidante actúa, principalmente, gracias a su capacidad para reaccionar con radicales libres y, por lo tanto, recibe el nombre de antioxidante terminador de cadena. Sin embargo, es necesario distinguir también entre actividad estabilizadora de radicales libres o antiradicalaria (en inglés, scavenger) y actividad antioxidante. La primera está determinada completamente por la reactividad de un

antioxidante frente a radicales libres, lo cual puede ser caracterizado por la velocidad de esa reacción. Por su parte, la segunda mide la capacidad para retardar la degradación oxidativa. Por lo tanto, una alta actividad anti-radicalaria no siempre correlaciona con una alta actividad antioxidante; en particular, algunos compuestos fenólicos sintéticos presentan alta reactividad frente a radicales libres, pero muestran moderada actividad (Berradre et al. 2013)²⁵.

2.3.MARCO CONCEPTUAL

- **Alimento:** producto natural o elaborado susceptible de ser ingerido y digerido, cuyas características lo hacen apto y agradable para el consumo, constituido por una mezcla de nutrientes que cumplen determinadas funciones en el organismo²⁶.
- **Fruto:** Parte de la planta en que se transforma el ovario de la flor después de la fecundación; contiene las semillas y se separa de la planta cuando está madura²⁶
- **Pulpa:** Parte blanda y carnosa, generalmente comestible, de la fruta²⁴.
- **Cáscara:** Capa o cubierta exterior, resistente, dura o quebradiza, que envuelve algunas cosas, especialmente los huevos, la fruta y los frutos secos²⁶.
- **Antioxidante:** cualquier molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas, generalmente sustratos biológicos como lípidos, proteínas o ácidos nucleicos. La oxidación de tales sustratos podrá ser iniciada por dos tipos de especies reactivas: los radicales libres, y aquellas especies que sin

ser radicales libres, son suficientemente reactivas para inducir la oxidación de sustratos (Berradre et al. 2013)²⁵.

- **Radicales libres:** cualquier especie (átomo, molécula o ión) que contenga a lo menos un electrón desapareado en su orbital más externo, y que sea a su vez capaz de existir en forma independiente. Los radicales libres son sustancias químicas muy reactivas que introducen oxígeno en las células, produciendo la oxidación de sus partes, alteraciones en el ADN, y que provocan cambios que aceleran el envejecimiento del cuerpo. Esto es debido a que el oxígeno, aunque imprescindible para la vida, es también un elemento químico muy reactivo²⁷.
- **Metabolito secundario:** son aquellos compuestos orgánicos sintetizados por el organismo que no tienen un rol directo en el crecimiento o reproducción del mismo. A diferencia de lo que sucede con los metabolitos primarios, la ausencia de algún metabolito secundario no le impide la supervivencia, si bien se verá afectado por ella, a veces gravemente²².
- **Antocianidinas:** Las antocianinas son un grupo de pigmentos de color rojo, hidrosolubles, ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Químicamente las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidinas, que es la agliconas, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace β -glucosúrico. La estructura química básica de estas agliconas es el ion flavilio, también llamado 2-fenilbenzopirilio, que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B); el flavilio

normalmente funciona como un catión. Las agliconas libres raramente existen en los alimentos, excepto posiblemente como componentes traza de las reacciones de degradación (Fennema, 1993). De todas las antocianidinas que actualmente se conocen (aproximadamente 20), las más importantes son la pelargonidina, delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez; la combinación de estas con los diferentes azúcares genera aproximadamente 150 antocianinas²⁸.

- **Flavonoides:** (del latín *flavus*, "amarillo") es el término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios de las plantas. Son sintetizados a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA, a través de lo que se conoce como "vía biosintética de los flavonoides", cuyo producto, la estructura base, se cicla gracias a una enzima isomerasa. La estructura base, un esqueleto C6-C3-C6, puede sufrir posteriormente muchas modificaciones y adiciones de grupos funcionales, por lo que los flavonoides son una familia muy diversa de compuestos, aunque todos los productos finales se caracterizan por ser polifenólicos y solubles en agua (Surco 2011)²⁴.

CAPITULO III:

METODOLOGIA

3.1. TIPO, NIVEL Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

3.1.1. Tipo: Básica

Se caracteriza por la adquisición de conocimientos básicos o fundamentales con el fin de incrementar el conocimiento de los principios fundamentales de la naturaleza o de la realidad por sí misma.

3.1.2. Nivel: Descriptivo y Explicativo

Descriptivo: Mediante descripciones exactas de las actividades a realizar pretendemos llegar a conocer las situaciones, costumbres y actitudes predominantes del tema objeto de estudio. Es decir, vamos a examinar características del problema escogido.

Explicativo: Se pretende buscar o establecer una relación causa-efecto entre las variables del problema que nos enmarca el presente estudio.

3.1.3. Diseño de investigación: Experimental

Se trata de una colección de diseños de investigación que utilizan la manipulación y las pruebas controladas para entender los procesos causales. En general, una o más variables son manipuladas para determinar su efecto sobre una variable dependiente. Es experimento en donde el investigador manipulan variable y controla/aleatoriza el resto de las variables. Cuenta con un grupo de control, los sujetos han sido asignados al azar entre los grupos y el investigador sólo pone a prueba un efecto a la vez.

3.2. MATERIALES DE TRABAJO

3.2.1. Materiales de laboratorio

Materiales:

- Papel Filtro
- Papel aluminio
- Vasos Precipitados. 250 mL, 500 mL
- Pipeta de 5 mL. 1mL
- Micropipeta de 100 y 1000 μ L
- Tubos de Ensayo.
- Viales de 5 mL
- Gradilla
- Espátula
- Bagueta

- Luna de Reloj
- Pinzas
- Embudo
- Propipeta
- Placas Petri
- Placa de porcelana
- Balones Kjeldahl
- Extractor Soxhlet
- Crisol
- Placas Petri
- Fiola
- Probeta
- bureta
- Algodón

3.2.2. Equipos:

- Estufa
- Mufla
- Molino
- Balanza analítica
- Rotavapor
- Plancha calefactora
- Espectrofotómetro
- pHmetro
- agitador magnético

- Refractómetro

3.2.3. Reactivos:

- Tricloruro férrico
- Ácido Clorhídrico
- Ácido sulfúrico
- Mezcla catalizadora
- Etanol 96°
- Diclorometano
- Ácido Nítrico
- Hidróxido de sodio
- Rojo de metilo
- DPPH
- Metanol
- Ácido clorhídrico
- TPTZ
- Acido gálico
- Reactivo de Folin Ciocalteu
- Carbonato de sódio
- Acetato de sódio trihidratado
- Ácido acético
- Trolox
- Ac. Ascórbico
- Mezcla catalizadora
- Éter de petróleo

- Buffer fosfato

3.2.4. Material biológico

Frutos de *Berberis boliviana* L “tankar” del anexo de San Juan de Chacña – Apurímac.

3.3. POBLACION Y MUESTRA

- Son todos los frutos del tankar, procedentes del anexo San Juan de Chacña, Apurímac
- Selección al azar de los frutos de tankar del anexo de San Juan de Chacña, Apurímac.

3.4. TECNICAS Y PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.4.1. Análisis químico proximal

Humedad: AOAC 925.03B Solids (Total) and Moisture.

Determinación: Pesar aproximadamente 2 g de la muestra molida y tamizada en una placa Petri, previamente seca a 130° por una hora enfriada en un desecador y pesado cuando alcanza la temperatura ambiente. Destapada la placa seque 130 ± 3° por una hora (desde cuando la estufa alcanza los 130°), cubra la placa con su tapa dentro de la estufa y transfería al desecador y pese cuando

alcance la temperatura ambiente. Reportar la pérdida de peso como humedad²⁹.

Cenizas: AOAC 923.03 Ash

Determinación: Pesar de 3 a 5 g de la muestra bien mezclada dentro de un crisol previamente incinerado a la temperatura de tratamiento (550°) y enfriado en un desecador. Incinerar en la mufla a 550° aproximadamente hasta cenizas blanca o ligeramente grises o hasta peso constante. Enfriar en el desecador y pese tan pronto alcance la temperatura ambiente. Calcular el residuo como cenizas totales²⁹.

Grasa cruda o Extracto etéreo: AOAC 920.39C

Determinación: Pesar un balón previamente secado en una estufa 98-100° y enfriado en un desecador. En un cartucho de celulosa o papel de filtro pesar con exactitud entre 1-2 g de la muestra preparada y depositar en el embudo de extracción de un aparato Soxhlet, llenar con el solvente adicionar una porción del solvente en el balón y conectar todo el sistema. Controlar que el goteo del reflujo este aproximadamente a 30 gotas por minutos.

Realizar la extracción hasta que el reflujo de solvente salga limpio (entre 4-6), comprobar depositando unas gotas en un papel de filtro, secar y colocar a trasluz, debe quedar limpio, retirar el balón y evaporar el residuo etéreo suavemente en un baño María; y luego

secar la grasa en una estufa a 100° hasta peso constante (aprox. 90 m). Remover el balón y colocar en un desecador hasta que alcanzar la temperatura ambiente (aprox. 30 m) y pesar²⁹.

Proteína: AOAC 070.09 Kjeldahl Method.

Determinación: Colocar un peso de La muestra (0.7 – 2.2 g) dentro de un balón de digestión. Adicionar 15 g de mezcla catalizadora (compuesta de CuSO₄ y K₂SO₄) más 25 mL de H₂SO₄. Colocar el frasco en posición inclinada y calentar suavemente hasta cese el espumeo, hervir hasta que la solución sea clara y luego 30 minutos más (Aproximadamente 2 h).

Enfriar y adicionar 200 mL de H₂O, enfriar a 25 aprox. adicionar 80 mL de solución de NaOH al 50% con agitación y conectar inmediatamente al sistema de destilación, sumergiendo la punta del condensador en matraz que contenga ácido estandarizado con 5-7 gotas del indicador respectivo y caliente hasta destilar todo el NH₃ contenido (aprox. 150 ml destilado). Remover el recipiente y enjuagar la punta del condensador y titular el exceso del ácido estándar en el destilado con solución NaOH estandarizado²⁹.

$$\%N = \frac{(mL\ Ac\ x\ N\ Ac) - (mL\ NaOH\ x\ N\ NaOH)x1.4007}{g\ de\ muestra}$$

Multiplicar El %N por 5.7 para obtener % de Proteína.

Carbohidratos: Por Diferencia según Collazos 1992³⁰

$$\% Carbohidratos = 100 - (\% prot + \% grasa + \% cza + Humedad)$$

Valor calórico: es un cálculo teórico, y según Collazos 1992³⁰

$$V.CKcal\ 100g = (\% \text{ proteína} \times 4) + (\% \text{ grasa} \times 9) + (\text{carbohidratos} \times 4)$$

Acidez: Pipetar 10ml de jugo de fruta en un Erlenmeyer que contenga 100-200 ml de agua hirviendo (500 ml o más si la muestra es coloreada). Continuar calentando por 30-60s. Dejar enfriar y titular con NaOH 0,1N usando 0,5ml (o más, de acuerdo a la cantidad de agua añadida) de fenolftaleína al 0,5% (en alcohol 95%) hasta coloración levemente rosada. Repetir el proceso para una segunda determinación. Cálculos: Calcular el porcentaje de acidez como ácido cítrico, málico, tartárico o acético según la muestra. Comparar los resultados con los obtenidos en la titulación electrométrica (NTP 203.070 1077)³¹.

Sólidos Solubles: Corte de la fruta en trozos e introducción en la licuadora (este caso particular se exprime las bayas). El zumo obtenido se deposita en el vaso de precipitados de 250 mL. Tomar una muestra del zumo con la pipeta Pasteur para depositarlo, en forma de gotas, sobre el prisma del refractómetro. Medición a través del ocular, ajustando la sombra en el punto medio de la cruz para leer en la escala numerada superior el índice de refracción. El valor leído se anota en grados Brix. La lectura irá siempre acompañada de la temperatura a la que se ha realizado²⁹.

3.4.2. Determinación de antocianinas

Método de pH diferencial (método original de Giusti y Wrolstad, 2001). Este es un método espectrofotométrico que se basa en la transformación estructural de las antocianinas con el cambio de pH (pH 1 coloreadas). Se pesó 1,85 g del fruto y se obtuvo el extracto con metanol acidificado al 1% con ácido acético, por extracciones sucesivas hasta agotamiento de color, enrasando a un litro. Luego se preparó diluciones del extracto metanólico con solución buffer pH 1.0 de cloruro de potasio y con solución buffer pH 4.5 de acetato de sodio. Se midió la absorbancia de cada muestra a la longitud de onda de máxima absorbancia ($\lambda_{\text{max}}=515 \text{ nm}$) y a 700 nm. De la ecuación de Lambert-Beer se obtiene $C=A/\epsilon L$, C es la concentración molar, A es la absorbancia, ϵ corresponde a la absorbancia molar o coeficiente de extinción molar (constante física para especie molecular en un solvente a una determinada longitud de onda, se pueden utilizar los valores de absorbancia molar para pigmentos purificados tomados de la literatura), L es la longitud de recorrido en cm. La concentración en mg/L puede ser determinada multiplicando por el peso molecular (PM) del pigmento y por el factor de dilución (FD). Para el cálculo del contenido de antocianinas se utiliza el peso molecular y la absorbancia molar del pigmento antociano presente en mayor proporción, en este caso es la cianidina (PM 449.2 y ϵ 26900). Por lo anterior la concentración de antocianinas monoméricas se obtendrá con la siguiente ecuación³²:

$$\text{Antocianinas monoméricas (mg/L)} = (A) (PM)(FD)(1000) / \varepsilon(1)$$

La absorbancia (A) se calcula de la forma siguiente:

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

La concentración de antocianinas totales se obtendrá de la siguiente ecuación:

$$\text{Antocianinas totales (mg/L)} = A'(PM) (FD) (1000) / \varepsilon(1)$$

La absorbancia (A') se calcula como se indica a continuación:

$$A' = (A_{\lambda\text{max}} - A_{700})_{pH = 1.0}$$

Donde: PM = peso molecular

FD= factor de dilución

3.4.3. Métodos para determinar la actividad antioxidante

a) Método del radical DPPH:

Para evaluar la capacidad antioxidante se utilizó el método basado en la molécula 2,2- difenil-1-picrilhidracilo (DPPH). Éste método fue originalmente diseñado por Marsden Blois en 1958, y dentro de sus modificaciones posteriores destaca la de Brand-Williams et. al (1995), que es el método utilizado en la actualidad. El proceso de evaluación de la capacidad antioxidante por DPPH consiste en utilizar dicha molécula, la cual es un radical libre estable que al mezclarse con una sustancia que le dona un átomo de hidrógeno pasa a su forma reducida, proceso que se puede observar ya que cuando la molécula se encuentra como radical es coloreada (violeta) y al reducirse pierde su color (Molyneux,

2004)³¹. Para el protocolo a desarrollar se utilizaron 3.9 mg del radical DPPH y se diluyen en 100 mL de metanol analítico y mediante el espectrofotómetro se establecerá la absorbancia entre 0.9 – 1.1 a una longitud de onda de 517 nm, en donde el radical tiene su máximo pico de absorción y por ende un comportamiento lineal de las absorbancias al mezclarse con el extracto, lo que permite que los datos sean más precisos³³.

A 0,1 mL de solución del extracto de diferentes diluciones se adicionó 2,9 mL de la solución metanólica de DPPH, se agitó por 30 segundos en un vortex y se deja reposar en oscuridad por un tiempo de 30 minutos. El blanco estuvo constituido por una muestra el mismo volumen del solvente. Después de la reacción, la absorbancia fue medida a 517 nm determinando la absorbancia remanente de la solución de DPPH³¹. El porcentaje de inhibición de la absorbancia del radical DPPH es calculada como sigue:

$$\%Inh = ((Abs\ blanco - Absmuestra) / Absblanco) \times 100.$$

El valor de IC50 que se refiere a la concentración del compuesto a ensayar que inhibe el 50% de la absorbancia del radical DPPH, es calculado usando una ecuación de regresión del porcentaje de inhibición vs la concentración del compuesto.

b) Método FRAP:

Se sigue el procedimiento descrito por Benzie y Strain (1999) con ligeras modificaciones. Para iniciar el análisis se prepara el reactivo de trabajo, que consiste en una mezcla de tampón acetato 300 mM (pH = 3,6), TPTZ 10 mM en HCl 40 mM y tricloruro férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 20 mM en una proporción 10:1:1 (v:v:v). Una vez preparado, se añade 3 mL de este reactivo en una cubeta, y se mide la absorbancia a 593 nm. Posteriormente, se agrega 100 μL de una de las soluciones del extracto y se agita en un vórtex durante 30 segundos. Después de 6 minutos de incubación a temperatura ambiente, se realiza la lectura de absorbancia nuevamente a 593 nm, a la que se resta el valor de la absorbancia inicial. Las muestras se ensayaron por triplicado (García et al 2004)³⁴. Se utilizó como patrón de referencia el trolox. En valor de la actividad antioxidante equivalente a trolox se obtiene aplicando la absorbancia de las muestras a la ecuación de la curva de calibración del patrón trolox.

3.5. TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

3.5.1. Recolección de datos analíticos

Se realizarán en los cuadernos de trabajos o hoja de ensayo donde se registra los resultados de las técnicas analíticas aplicadas en cada caso.

3.5.2. Procesamientos de datos.

Estos serán tratados por métodos estadísticos paramétricos y no paramétricos y a través de las hojas de cálculos del programa Excel, lo que permitirá obtener una información más confiable y su respectivo tratamiento adecuado

3.6. ASPECTOS ÉTICOS

En el presente trabajo los aspectos éticos están enmarcados en conductas éticas en el investigador y el asesor, como parte del ejercicio de la investigación científica en general y el uso del conocimiento puesto que este estudio está enmarcado en análisis químicos específicos de una especie vegetal. En el presente trabajo hay un acuerdo general para evitar conductas no éticas, en la práctica y desarrollo del trabajo en sí mismo, entre el asesorado y el asesor.

CAPITULO IV:

RESULTADOS y DISCUSION

4.1. RESULTADOS

Tabla 1. Características sensoriales del fruto de *Berberis boliviana* L tankar.

Características	Indicador	Observaciones
Forma	Esférica	----
Color	Negra-azulina	Cuando está maduro
Olor	Suigeneris	----
Sabor	Dulce	Agradable
Aspecto	Liso	Cascara lisa y cerosa
Tamaño promedio	1, 1 ± 0,15	Centímetros
Peso promedio	0,9 ± 0,10	Gramos

Tabla 2. Características de diferentes porciones del fruto *Berberis boliviana* L tankar.

Partes	Características	Porcentaje del producto
--------	-----------------	-------------------------

Cáscara	Lisa y color negro azulada brillante	8 -10 %
Pulpa (Zumo)	Líquido fluido de color morado - vinoso	73 - 75 %
Semillas	1 a 3 de color marrón y forma periforme	13 - 15 %

Tabla 3. Análisis fisicoquímico del zumo de fruto de *Berberis boliviana* L. tankar

Parámetros	Resultados	Unidades
Humedad	60,08 ± 1,05	g/100g
Ph	3,53± 0,07	---
Sólidos Solubles	15,3± 1,2	Grado Brix
Acidez titulable	0,38 ± 0,06	g/100g H ₂ SO ₄
Índice madurez	4,02	SS/acidez
Proteína	N.D.	g/100g
Grasa	N.D.	g/100g
Cenizas	0,034	g/100g
Valor calórico	61,2	Kcal/100 mL

Nota: todas las determinaciones se realizaron por triplicado y el valor que se presenta es el promedio con su respectiva desviación estándar

N.D. = no detectable

Tabla 4. Contenido de antocianinas Totales en el fruto de *Berberis boliviana*

L. tankar

Repeticiones	Resultados	Unidades
1	471,34	mg/100 g antocianinas totales
2	463,31	
3	488, 26	
Promedio	474,31	
Desviación estándar	12,76	

Nota: Antocianinas totales expresadas como cianidina 3-glucosido

La determinación se realizó en las bayas enteras

Tabla 5. Valores de absorbancia de patrón trolox para la curva de calibración por método FRAP

Concentraciones de trolox (mM)	Lectura de absorbancia	Promedio de lectura	Desviación estándar
0,0312	0,018	0,018	0,001
	0,018		
	0,019		
0,0625	0,065	0,067	0.003
	0.068		
	0.067		
0,125	0.118	0,121	0,004
	0.121		
	0.125		
0,250	0,327	0,326	0,006
	0.321		
	0.331		
0,5	0,625	0,631	0,006
	0,630		
	0,638		

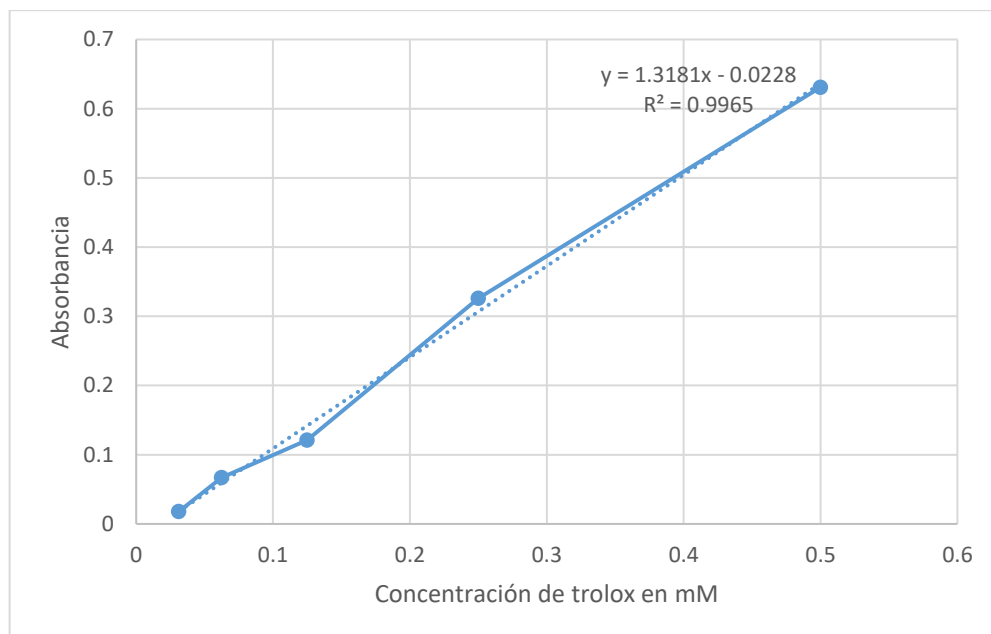


Figura 1. Gráfico de correlación entre concentración y absorbancia de trolox

Tabla 6. Valores actividad antioxidante equivalente de trolox del jugo de tankar por método FRAP

Volumen de jugo de tankar (mL)	Lectura de absorbancia	Promedio de lectura	TEAC
0,0625	0,083	0,081	0,044
	0,079		
	0,081		
0,125	0,167	0,173	0.114
	0,179		
	0,171		
0,25	0,325	0,326	0,230
	0,326		
	0,325		
0,5	0,606	0,601	0,439
	0,595		
	0,599		
1,0	1,186	1,226	0,913

1,266

1,221

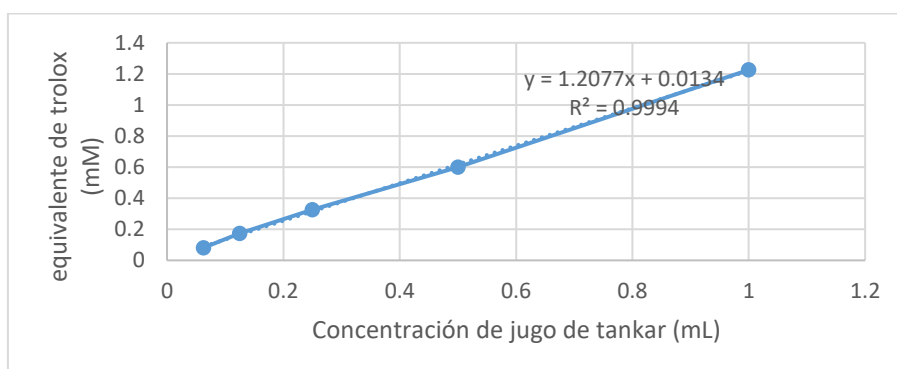


Grafico 2. Correlación entre la concentración y equivalente de trolox

Considerando que el zumo del fruto se realizó una dilución de 1:10 el equivalente de trolox correspondería a 1mM = 0,081 mL de zumo de tankar Lo que sería equivalente a 12,35 uMTE /mL

Tabla 7. Actividad antioxidante por el método DPPH de las diferentes concentraciones del zumo del tankar.

mL	Prom %				
del zumo	Abs 1	Abs 2	% Inh 1	% Inh 2	Inh
0,065	0,79	0,78	13,7	17,9	18,4
0,125	0,657	0,677	31,7	29,6	30,6
0,25	0,487	0,490	49,4	49,0	49,2
0,5	0,241	0,211	74,9	78,1	76,5
1	0,19	0,179	80,2	81,5	80,9
Blanco					
Reactivo	0,962				

Abs = absorbancia

% Inh = Porcentaje de inhibición

Prom. = Promedio

La lectura de absorbancia se realiza a 517nm y los ensayos se ha realizado por duplicado.

La concentración de 1 mL de zumo se descarta porque todo el reactivo queda de color amarillo, pudiéndose haber saturado el radical DPPH.

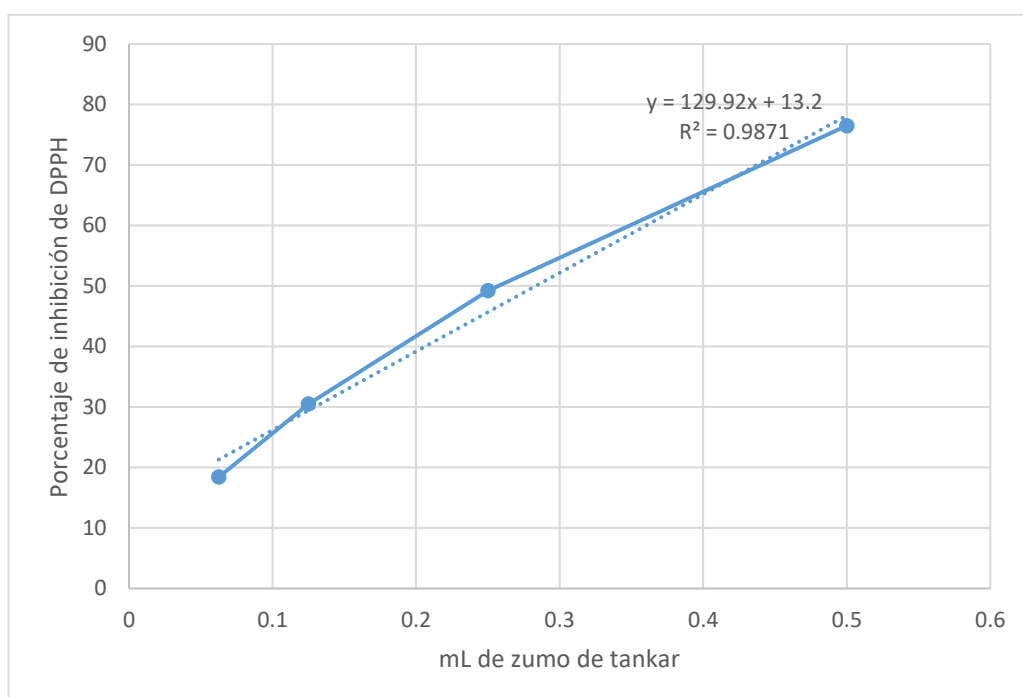


Gráfico 8. Correlación del porcentaje de inhibición y mL de zumo de tankar

Mediante la aplicación de la ecuación de la curva de correlación entre los porcentajes inhibición vs las concentraciones del extracto se obtiene el valor de IC₅₀

$$Y = 129,92X + 13,2$$

$$50 = 129,92X + 13,2$$

$$\text{IC}_{50} = 0,28\text{mL}$$

4.2. DISCUSIÓN

En el estudio de los productos naturales, son diversas las especies vegetales de gran interés debido a las variadas e importantes propiedades farmacológicas que presentan los compuestos que ellas contienen, muchos de los cuales han sido aislados e identificados; no siendo una excepción la familia *Berberis*. La presente investigación estuvo orientada a conocer la composición química proximal, contenido de antocianinas y la actividad antioxidante del zumo del fruto de la especie *Berberis boliviana* Lecher “Tankar”, especie que hasta el momento en nuestro país es poco estudiada y por lo tanto muy limitada la información de la cual se dispone.

Durante la realización del estudio experimental inicial, se determinó las características sensorial del fruto maduro, lo cual se realizó con un panel de catadores no entrenados constituidos por los alumnos que realizaban investigación en el laboratorio de análisis instrumental de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga, en esta primera observación es de destacar el sabor dulce y agradable que manifestaron los catadores y el peso y tamaño ligeramente superior a lo reportado por Sztarker 1974³⁵, para la especies *Berberis buxifolia* de las región de Lago Argentina, o la especie *Berberis calilehua* del noreste de Argentina y Sur de Bolivia descrita por Ayarde y Bulacio 2015⁴, posteriormente se separaron manualmente los frutos en su parte constitutivas como son cascaras pulpa y semillas, en los cuales se obtuvieron valores que difieren sustancialmente con el único trabajo

encontrado en nuestra revisión bibliográfica que reporta estos valores como es el estudio de Sztarker 1974 para la especie *Berberis buxifolia* en el cual para la piel reportan un 4,6%; para la pulpa 72,0% y para la semilla un 23,4% se debe de resaltar que para esta especie se reporta de 8 a 10 el número de semilla por grano de fruto³⁵; mientras que en nuestro estudio determinamos de 1 a 3 semillas por grano, lo cual justificaría la mayor diferencia determinada en estos ensayos. Otra característica resaltante es que en nuestra especie el color estaba en la pulpa y la piel mientras que en la especie *Berberis buxifolia*, se encontraba predominantemente en la pulpa siendo la piel casi semi transparente de tono amarillo pardo (Sztarker 1974)³⁵.

En cuanto al análisis fisicoquímico del fruto maduro del tankar encontramos cierta diferencia a lo reportado por Aranibar E, 2013 para la misma especie procedente de la comunidad campesina de Utupalla, distrito de Chuquibambilla, provincia de Grau, región de Apurímac, ya que este reporto un menor contenido de humedad ($56,11 \pm 0,86$ g/100 g) que representa el contenido de agua del fruto; al igual que un menor contenido de sólidos solubles ($10,25 \pm 0,74$ expresados como grados Brix) lo que indica que en el caso de las muestras de nuestro estudio presentaban un mayor contenido de azúcares totales y por ende mayor grado de madurez, esto puede deberse a factores agronómicos propio del estado de cosecha.

En cuanto a las antocianinas es bastante conocido que imparten colores a diferentes partes las plantas para diversas funciones. El interés por las antocianinas últimamente sea intensificado debido a las propiedades

farmacológicas y terapéuticas atribuidas, que incluyen la reducción de la enfermedad coronaria, efectos antidiabéticos, antitumorales, anticancerígeno, antiinflamatoria; además de la mejora de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo. Si bien es cierto que los resultados aquí obtenidos no se puede hacer una comparación directa con los encontrados por Aranibar 2013³, puesto que reporta su resultado en el contenido de antocianinas en la piel, en este estudio el valor encontrado es a la totalidad del fruto, así mismo el método de extracción empleada no es reportado por ningún otro estudio para la determinación del contenido de antocianinas de esta especie; aun así, si se comparamos los resultados hallados frente al contenido de antocianinas de las frutas reportadas en la Tabla Peruana de composición de los alimentos, resulta que el tankar es una de las frutas de mayor contenido de estos pigmentos.

La determinación de la capacidad antioxidante de alimentos y en especial de frutos, se hace cada vez más importante en el contexto de la búsqueda de alimentos funcionales o nutraceuticos que contribuyan a la nutrición y prevención o tratamientos de alguna enfermedad, así que la actividad encontrada para este fruto es bastante alta por los dos métodos empleados como es el DPPH y FRAP; suponemos que está principalmente originada por el alto contenido de antocianinas sin descartar la presencia de otros compuestos del tipo fenólico que deben estar presente.

Respecto a los resultados de la Actividad Antioxidante del zumo del fruto del tankar (*Berberis boliviana* L.), por el método de FRAP (12,35 μ MTE/g)

podemos apreciar cierta similitud con lo reportado por Aranibar 2014, para la misma especie (15,72 uMTE/g) en estado fresco, este autor a la vez determinó que cuando era sometida a diversos tratamiento de temperatura de congelamiento y tiempo solo tuvo una disminución no significativa en su actividad antioxidante (14,48 uMTE/g); sin embargo debemos considerar que el método utilizado en este estudio se basa en el mecanismo de transferencia de electrones (SET), sin embargo el que utilizo Aranibar : “Método de ABTS ”en el cual predomina interacción por los dos mecanismos conocidos (SET y HAT) por lo que se considera un método mucho más sensible al realizado en esta investigación .

En cuanto a la determinación de la capacidad antioxidante por el método de captación del radical libre DPPH, podemos apreciar que se obtuvo un valor apreciable, ya que para lograr la inhibición del 50% de radical (IC_{50}) solo se requiere de 0,28 mL de zumo del tankar, se debe tener en cuenta que este método se basa en la presencia de los dos mecanismo por los cuales se determina la actividad antioxidante de muchas sustancias como es el SET y HAT; así mismo está comprobando que muchos compuestos fenólicos de acuerdo a su estructura puede actuar por ambos mecanismos (Garson, 2008; Surco, 2011)^{6,24}.

Podemos deducir del estudio realizado, por el alto contenido de antocianinas, que la considerable actividad antioxidante determinada por ambos métodos aplicados se debe principalmente a estos compuestos lo que le da un valor agregado a este fruto silvestre que en nuestro país no ha sido debidamente estudiado, debemos tener en cuenta que ha demostrado que frutos ricos en antocianinas evidencian una alta actividad

antioxidante contra el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y contra radicales peróxido ($ROO\cdot$), superóxido ($O_2\cdot^-$), hidroxilo ($\cdot OH$) y oxígeno singulete (1O_2) Wang y Jiao, 2000³⁵ y Wang y Lin, 2000³⁶.

CONCLUSIONES

1. El fruto de *Berberis boliviana* L tankar, presenta características sensoriales suigeneris entre las que destaca su intenso color negro-azulino y sabor dulce en donde el zumo representa un 73-75% del fruto.
2. El valor proximal del fruto de tankar se determinó solo en el zumo por considera la parte comestible, aportando un valor energético de 64 Kcal/100 mL.
3. El contenido de antocianinas en el zumo de *Berberis boliviana* L Tankares de 474,31 mg/100g expresado como cianidina-3-glucosido
4. El zumo de *Berberis boliviana* L Tankar presenta considerable actividad antioxidante por el método de FRAP con un valor de 12,35 $\mu MTE/g$ y por el método de DPPH un IC_{50} de 0,28mL.

RECOMENDACIONES

1. La actividad antioxidante debe ser realizada por otros métodos tanto de estudios *in vitro* e *in vivo* para conocer el real valor antioxidante de esta especie, tanto en el zumo como en la cascara del fruto
2. Realizar estudio sobre el proceso de maduración del fruto con el objetivo de conocer el mejor momento de la cosecha y un adecuado aprovechamiento del contenido de antocianinas.
3. Ejecutar un proyecto para la elaboración de productos a partir de la especie *Berberis boliviana* L tankar, considerando que es un fruto estacionario.
4. Ampliar el estudio a la presencia de otros posibles compuestos secundarios con actividades bioactivas como compuestos de naturaleza fenólicas, flavonoides, alcaloidal entre otros.

FUENTES DE INFORMACION

1. LLeellih M., Silva I., Martinez y del Pozo P. Producto 4, Perú. elaboración de criterios de cobertura geográfica para el establecimiento de áreas prioritarias para el desarrollo del biocomercio. Lima 2005. Disponible en: https://repositorio.promperu.gob.pe/bitstream/handle/123456789/1446/Elaboracion_criterios_cobertura_geografica_L
2. Kehl S. Necesidades humanas. En: Cuadernos de Trabajo Social,,» 4-5(1991-7992) Págs. 201 a 226 Ed. Universidad Complutense Madrid 1993
3. Aranibar F. Estudio de la actividad antioxidante del zumo del fruto de tankar (*Berberis boliviiana L*), en diferentes condiciones de almacenado. Tesis. Universidad Nacional Micaela Bastida de Apurímac. 2014
(<http://repositorio.unamba.edu.pe/handle/UNAMBA/272>).
4. Ayarde H y Bukacio E. Una nueva especie de *Berberis* (Berberidaceae) De las montañas del noroeste de Argentina y sur de Bolivia. Bol Soc. Argent. Bot. 2015 50 (4): 596-600
5. Aranibar E. Extracción de antocianinas a partir del fruto de tankar (*Berberis boliviiana L*), y determinación de su contenido por el método de pH diferencial. Tesis. Universidad Nacional Micaela Bastida de Apurímac. 2013
6. Garson G. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos. Revisión. Acta Biológica Colombiana. 2008. Vol. 13. N° 3. Pp. 27-36.
7. Reyes M; Gómez-Sánchez I; Espinoza C. Tabla peruana de composición de los alimentos Tablas peruanas de composición de alimentos. 10ma ed. – Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2017.

8. Organización Mundial de la Salud. *Informe sobre la situación mundial de las enfermedades no transmisibles*. Ginebra: OMS; 2014. Disponible en: <http://www.who.int/nmh/publications/ncd-status-report-2014/es/>.
9. Carpio Jiménez C; Serrano C; M. Giusti. "Caracterización de las antocianinas de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler. Rev. Soc. Quím. Perú 2009. v.75 n.1 Lima ene /mar.
10. A. Ruiz, I. Hermosin, C. Mardones, C. Vergara, E. Herlitz, M. Vega et al. Polyphenols and Antioxidant Activity of Calafate (*Berberis microphylla*) Fruits and Other Native Berries from Southern Chile. J. Agric. Food Chem. 2010, 58, 10, 6081-6089.
11. Repo R, Encina C. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. Rev. Soc. Quím. Perú. 2008 v.74 n.2
12. Meza K. Química y Actividad Biológica de *Berberis Rotundifolia*. Tesis Facultad de Ciencias. Escuela de Química y Farmacia. Universidad Austral de Chile. 2008 Valdivia-Chile.
13. Dueñas M. Botánica Fanerogámica, Investigación realizada en la facultad de biología de la UNSAAC. 1992. Cusco.
14. Del Carpio J., C.; Serrano F., C. y Giusti, M. Estudio del colorante de los frutos de *Berberis Boliviana* L (Cheqche). Cusco. Escuela de Post Grado, Maestría en Ciencias, mención Química, Especialidad Productos Naturales, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. 2005: p. 118.
15. Acuña D., Cusi B. Estudio fitoquímico cualitativo, actividad anticonvulsivante del extracto acuoso de las partes aéreas de *Berberis*

- boliviana* lecher (chéqche) en un modelo experimental inducido químicamente por pentilentetrazol en animales de experimentación. Tesis. Facultad de Ciencias de la salud. Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco. 2013. <http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle7UNSAAC/930>
16. Menéndez M. Los Alimentos funcionales. Nuevos alimentos para un Nuevo estilo de vida. Editor Trea Madrid. 2011
17. FAO. Food and nutrition paper 14/7. Manuals of food quality control. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1984 Roma.
18. Tirado D, Montero P, Acevedo D. Estudio Comparativo de Métodos Empleados para la Determinación de Humedad de Varias Matrices Alimentarias. Información Tecnológica. 2015. Vol. 26(2), 3-10 doi: 10.4067/S0718-07642015000200002.
19. Suárez M, Kizlansky A y López L. Evaluación de la calidad de las proteínas en los alimentos calculando el score de aminoácidos corregido por digestibilidad. Nutr. Hosp. 2006. vol.21 no.1
20. Herrera C, Bolaños N, Lutz G. Química de Alimentos. Manual de laboratorio. 1 Ed. San José, C.R. Editorial de la Universidad de Costa Rica, 2003.
21. Boatella J, Codony R y López P. Química y Bioquímica de los Alimentos II. Publicaciones y Ediciones de la Universidad de Barcelona. 2004.
22. Palencia Y. Sustancia Bioactivas en alimentos (consultado marzo 2019)
Disponble en:
http://www.unizar.es/med_naturista/bioactivos%20en%20alimentos.pdf
23. Instituto Nacional del Cáncer. Diccionario. Departamento de salud y servicios humanitarios de EEUU. (consultado 21 de febrero 2019)
Disponble en:

<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/compuesto-bioactivo>

24. Surco, F. Efecto de la quercetina sus metabolitos metilados en el organismo modelo *Caenorhabditis elegans*. Tesis Doctoral. Universidad de Salamanca- España 2011.
25. Berradre M, González C, Sulbarán B, Fernández V. Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de extractos de semilla de uva (*Vitis vinifera*) variedad Malvasia y Tempranillo Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2013, 30: 619-631
26. FAO. Glosario de términos. (consultado 23 de marzo). Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/014/am401s/am401s07.pdf>
27. Enciclopedia de salud de Medypsi. (consultado febrero 2019). Disponible en: Propiedades funcionales de las antocianinas. (consultado marzo 2019). Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/283361581_Propiedades_funcionales_de_las_antocianinas.
28. Propiedades funcionales de las antocianinas. (consultado marzo 2019). Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/283361581_Propiedades_funcionales_de_las_antocianinas
29. AOAC. Official Methods of Analysis 19th Edition. Rockville, Maryland, AOAC International Editorial. USA 2012.
30. Minsa. Tabla Peruana de composición de los alimentos. 7ª edición. Instituto Nacional de Nutrición. Lima 1996.

31. Indecopi. NTP 203.070. Productos elaborados a partir de frutas y otros vegetales. Determinación de la acidez. INDECOPI 1977.
32. L. Zapata, A. Heredia, C. Quinteros, A. Marellet, G. Clemente y J. Cárcel. Optimización de la extracción de antocianinas de arándanos. Ciencia, Docencia y Tecnología, vol. 25, núm. 49, noviembre, 2014, pp. 166-192. Disponible en:
: <https://www.redalyc.org/pdf/145/14532635008.pdf>
33. Molyneux P. The use of the stable free radical DPPH for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology 2004; 26 (2): 211-219.
34. Sztarker N. Estudio de la composición química del fruto maduro de "calafate" (*Berberis buxifolia* LAM.). Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires (consultado octubre 2019). Disponible en: <http://www.digital.bl.fcen.uba.ar>.
35. WANG SY, JIAO H. Scavenging Capacity of Berry Crops on Superoxide Radicals, Hydrogen Peroxide, Hydroxyl Radicals, and Singlet Oxygen. J Agric FoodChem. 2000; 48: 5677-5684.

36. WANG SY, LIN HS. Antioxidant Activity in Fruit and Leaves of Blackberry, Raspberry, and Strawberry is Affected by Cultivar and Maturity. J Agric Food Chem. 2000; 48:140-146.

Ica, Octubre de 2020

Handwritten signature of Felipe Surco Laos in blue ink, positioned above a horizontal dashed line.

Asesor: Q.F Felipe surco laos

Handwritten signature of Esthefania Rodas Alvarado in blue ink, positioned above a horizontal dashed line.

Tesista : Esthefania Rodas Alvarado

ANEXOS

ANEXO N° 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO: Análisis químico proximal y determinación de la actividad antioxidante en el fruto *Berberis boliviana* L “tankar” del anexo

PROBLEMA	OBJETIVO GENERAL	MARCO TEÓRICO	HIPOTESIS GENERAL	VARIABLES	METODOLOGÍA
¿Cuál es la composición químico proximal y la actividad antioxidante del fruto de “tankar” <i>Berberis boliviana</i> ?	Determinar la composición químico proximal y la actividad antioxidante del fruto de <i>Berberis boliviana</i> tankar	El <i>Berberis boliviana</i> tankar es un arbusto perteneciente al género	El fruto de <i>Berberis boliviana</i> tankar del anexo de presenta una composición química, antocianina y actividad antioxidante diferentes que los frutos	INDEPENDIENTE El fruto de <i>Berberis boliviana</i> tankar Indicador: Parámetros físico: Peso promedio Color, Olor, Tamaño, aspecto Índice: Nominales	Tipo De Investigación Básica. Nivel de Investigación: Descriptivo y Explicativo. Diseño de Investigación: Experimental. Población: El fruto de <i>Berberis boliviana</i> tankar
Problemas Específicos ¿Qué características sensoriales presenta el fruto de tankar <i>Berberis boliviana</i> ? ¿Cuál será la composición químico proximal del fruto de tankar <i>Berberis boliviana</i> ? ¿Cuál es el contenido de antocianina que presenta el fruto de tankar <i>Berberis boliviana</i> ? ¿Cuál es el nivel de actividad antioxidante que presenta el fruto de tankar <i>Berberis boliviana</i> ?	Objetivos específicos. Caracterización sensorial del fruto. Determinación de su composición químico proximal. Determinar el contenido de antocianina. Determinar la capacidad de inhibición del radical DPPH. Comprobar la capacidad antioxidante por FRAP	La Composición químico proximal de un alimento son los componentes mayoritarios que aporta para la nutrición y está constituida por la humedad, cenizas, grasa, proteínas y carbohidratos los cuales representan la totalidad del producto y del cual se determina su aporte calórico nutricional. Actividad antioxidante: Todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para obtener energía, liberan ROS. Esta situación es incompatible con la vida, a menos que existan en las células mecanismos de defensa que las neutralicen (Pérez 2000).	Hipótesis específicos: ▪ La composición químico proximal presenta de fruto de tankar presenta mayor valor energético. ▪ El fruto de <i>Berberis boliviana</i> presenta alto contenido de antocianinas ▪ Los extractos presentan una alta actividad antioxidante frente al trolox por ambos métodos empleados.	DEPENDIENTE ▪ Composición química Indicador: Humedad, Cenizas, Proteína, Grasa, carbohidratos, acidez Índice: g/100g ▪ Actividad antioxidante Indicador: Método DPPH Método FRAP Índice: - IC50 - TEAC	TECNICAS E INSTRUMENTOS: ▪ Métodos de análisis físicos ▪ Métodos de análisis químicos ▪ Métodos de análisis gravimétricos, volumétricos y espectrofotométricos. Protocolos de análisis

