



UNIVERSIDAD  
**SAN IGNACIO**  
**DE LOYOLA**

## **FACULTAD DE INGENIERÍA**

**Carrera de Ingeniería en Industrias Alimentarias**

# **OBTENCIÓN DE EXTRACTO DE ANTOCIANINAS CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE A PARTIR DEL DESCARTE DE EXPORTACIÓN DE ARÁNDANOS PARA SER UTILIZADO COMO COLORANTE EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA**

**Trabajo de Investigación para optar el Grado Académico de  
Bachiller en Ingeniería en Industrias Alimentarias**

**FRANK JESÚS LUDEÑA ANYOSA**  
**ROCIO MARILIN GUTIÉRREZ REYES**  
**LIZBHET ROSA PALOMINO EGUILUZ**  
**ESTEFANI OKSANA ROJAS CASTRO**

**Lima - Perú**  
**2019**

## ÍNDICE

|      |  |    |
|------|--|----|
| I.   | Resumen Ejecutivo .....  | 1  |
| II.  | Aspectos Generales .....   | 2  |
| a)   | Problemática observada, necesidad, tendencias<br>(oportunidad de mercado). .....   | 2  |
| b)   | Definición del problema detectado (Árbol de problemas)..   | 3  |
| c)   | Antecedentes – estado del arte.....  | 6  |
| d)   | Definición y resumen del proyecto .....  | 7  |
| e)   | Propósito del proyecto, revisión de restricciones: legales,<br>naturales, etc. (Marco lógico del proyecto) .....   | 10 |
| f)   | Justificación del proyecto .....   | 14 |
| III. | Evaluación del Mercado .....   | 15 |
| a.   | Información General .....  | 15 |
| i.   | Entorno del mercado (nichos, competencia, mercados,<br>carencias, oportunidades, benchmarking, etc.) .....   | 15 |
| ii.  | Grado en que nuestro producto aborda el problema<br>planteado.....   | 17 |
| IV.  | Diseño del proyecto .....  | 18 |
| a.   | Establecer la matriz de Causas-Capacidades-<br>Oportunidades para determinar las alternativas de<br>solución.....  | 18 |
| b.   | Matriz de operacionalización de variables.....   | 21 |
| g)   | Metodología experimental .....   | 26 |
| h)   | Diagrama de flujo (sustento de las operaciones unitarias a<br>emplear, selección de tecnologías de conservación y<br>transformación, equipos a utilizar) ..... | 31 |
| i)   | Lista de materiales y equipos, materias primas. ....   | 34 |
| j)   | Plan de ejecución de las actividades del proyecto.....   | 36 |
| k)   | Diseño del estudio de vida útil .....  | 37 |
| l)   | Evaluación y selección preliminar del empaque .....  | 37 |
| V.   | Desarrollo del proyecto.....   | 38 |
| a.   | Ejecución del diseño experimental (pruebas<br>preliminares) .....  | 38 |
| b.   | Evaluación de resultados preliminares. ....  | 41 |
| i.   | Pruebas fisicoquímicas .....   | 41 |
| c.   | Ajustes y pruebas adicionales.....   | 41 |
| d.   | Diagrama de flujo definitivo (con parámetros) .....  | 52 |

|             |  |           |
|-------------|--|-----------|
| <b>e.</b>   | <b>Determinación del proceso y operaciones definitivo (identificación de PCC).....</b> | <b>54</b> |
| <b>f.</b>   | <b>Evaluación resultados finales .....</b>   | <b>67</b> |
| <b>i.</b>   | <b>Sensoriales.....</b>  | <b>67</b> |
| <b>ii.</b>  | <b>Fisicoquímicas.....</b>   | <b>68</b> |
| <b>iii.</b> | <b>Estudio de tiempo de vida definitivo (diseño experimental) .....</b>                | <b>68</b> |
| <b>g.</b>   | <b>Ficha técnica del producto o proceso .....</b>                                      | <b>70</b> |
| <b>h.</b>   | <b>Prototipo validado.....</b>   | <b>71</b> |
| <b>i.</b>   | <b>Conclusiones y Recomendaciones .....</b>  | <b>73</b> |
| <b>j.</b>   | <b>Anexos .....</b>  | <b>73</b> |

## I. Resumen Ejecutivo

En el presente trabajo de investigación se obtuvo un extracto de antocianinas de arándanos de la variedad Biloxi, que no cumplen estándares de calidad de exportación, para ser usado como colorante y antioxidante en la industria alimentaria.

Se realizaron dos métodos de extracción: sólido/líquido y fermentación. El solvente a utilizar es etanol al 50% en proporción 1:3 de MP/S. Por otro lado, se empleó la levadura *Saccharomyces cerevisiae* para la extracción por fermentación. Luego de las extracciones se realiza la recuperación del solvente por medio de un rotavapor hasta reducir el extracto a la sexta parte.

Posterior a la obtención del extracto se realizaron pruebas para medir la capacidad antioxidante y la cuantificación de antocianinas totales. La capacidad antioxidante se midió por el método de DPPH, mientras que la cuantificación de antocianinas totales se realizó por el método de pH diferencial usando buffers de cloruro de potasio pH 1.0 y Acetato de sodio pH 4.5.

Los resultados obtenidos mediante la metodología sólido-líquido fue mayor en cuanto a la actividad antioxidante con un  $IC_{50}$  de 20.98 mg/ml en comparación a la metodología de fermentación. Por el otro lado la cuantificación de antocianinas totales fue de 129.06 mg/100ml para el extracto obtenido por extracción sólido/ líquido.

Finalmente, se aplicó dicho extracto concentrado de arándanos hacia un yogurt y posteriormente realizar pruebas sensoriales donde solo se analizó el color con el pasar de los días, demostrando que el pigmento se conserva aún luego de una semana de la aplicación.

## II. Aspectos Generales

### **Problemática observada, necesidad, tendencias (oportunidad de mercado).**

La percepción pública de los colorantes artificiales es cada vez más negativa debido a que se asocian con problemas de salud tales como alergias, irritabilidad, déficit de atención, entre otros. (Pino, 2017)

Desde julio de 2010, en la Unión Europea, los alimentos que contengan colorantes artificiales deben ser advertidos en las etiquetas indicando el efecto negativo que produciría en niños tales como alteraciones en la actividad y atención. En 2009, Gran Bretaña solicitó la eliminación de la mayoría de los colorantes artificiales en los alimentos. (Mercola, 2016)

La asesora técnica principal de Leatherhead Food Research, Rachel Wilson señala que en el futuro los colorantes naturales irán desplazando a los colorantes artificiales en el sector de alimentos y bebidas debido a que la tendencia es que el consumidor busque simplicidad y pureza en los ingredientes de dichos productos (Mintel, 2014)

Los alimentos funcionales que contienen algún tipo de antioxidantes tienen la capacidad de ayudar a contrarrestar ciertos tipos de enfermedades como lo son del sistema circulatorio, enfermedades cardiovasculares, Alzheimer, cataratas, envejecimiento precoz y cáncer, las cuales hoy son las principales causas de muerte (Torres, 2015)

### **Definición del problema detectado (Árbol de problemas)**

Actualmente la producción y exportación de arándanos está incrementando, según el Ministerio de Agricultura y Riego (2019) se está comenzando a cerrar tratos con Guatemala, Corea del Sur, Japón, India, Sudáfrica y Taiwán; para lograr ingresar arándanos peruanos a dichos países. Molina (2019), afirmó que la producción de arándanos se elevó de manera impresionante, ahora se produce y exporta en más de 200 %, recordando que años atrás solo se exportaba el 10 a 15%. Sin embargo, al haber un incremento en la producción de arándanos es necesario buscar nuevas industrializaciones al creciente volumen de descarte de exportación, el cual debe adaptarse a las nuevas tendencias en los hábitos de consumo (Gamboa & Silva, 2018).

El volumen de arándanos descartados es debido a las limitaciones que deben de tenerse en cuenta para poder brindar una fruta de calidad, tal y como lo exige el mercado internacional (Espinoza Cerpa, 2018).

Según la especialista Liliana Benavides de Sierra Exportadora (2013), sólo el 80% de la producción de arándano fresco es considerada apta para la exportación. El 15% se destina a futuros procesamientos o venta a mercado local. El 5% restante es considerado descarte o merma. Por lo tanto, el problema al cual se enfocó es el descarte de arándanos que no cumplan con los parámetros establecidos para la exportación. La cuales serán utilizados para la extracción de antocianinas y antioxidantes.

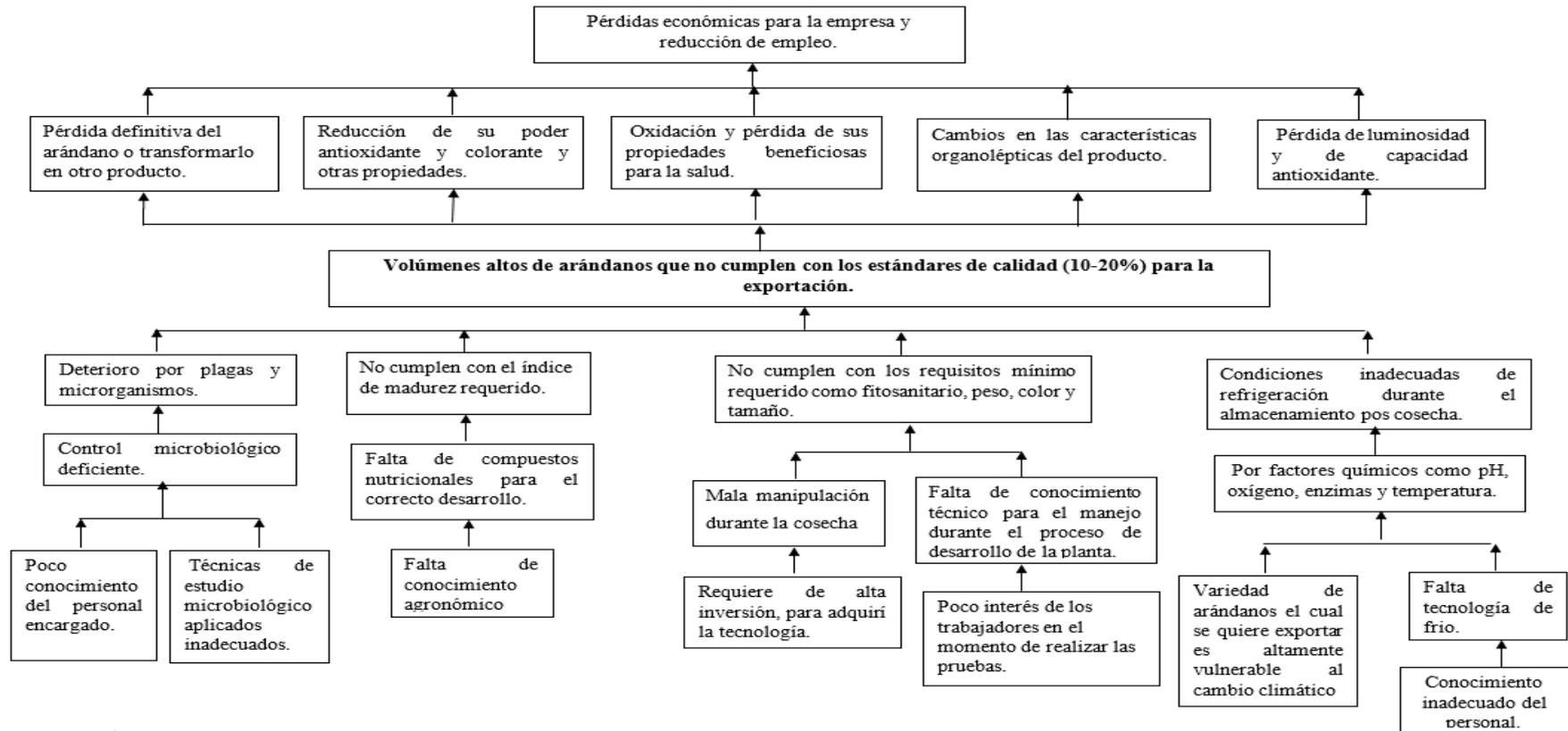


Figura 1. Árbol de problemas/ Fuente: Elaboración propia

Las principales causas del alto volumen de arándanos que no cumplen con los estándares de calidad para ser exportados son porque no alcanzan el índice de madurez requerido, sufren deterioro por plagas y microorganismos, no cumplen con los requisitos mínimo requerido como fitosanitario, peso, color y tamaño y condiciones inadecuadas de refrigeración a las que se los somete durante el almacenamiento pos cosecha. Los efectos que esto ocasiona son pérdida definitiva del arándano o reducción en sus propiedades funcionales y por ende una pérdida económica para la empresa.

Con el objetivo de reducir las pérdidas económicas los arándanos que no cumplen con lo requerido para ser exportados se pueden transformar en productos funcionales y colorantes naturales.

### Antecedentes – estado del arte

Según el Ministerio de Agricultura y Riego (2019), reportó que la producción nacional de arándano llegó el año pasado a las 89,735 toneladas, las cuales representaron un volumen mayor en 71.6% respecto al período del 2017. Zapata (2014), “Obtención de Extracto de Antocianinas a partir de Arándanos para ser Utilizado como Antioxidante y Colorante en la Industria Alimentaria”, mediante la aplicación de los métodos de extracción sólido-líquido y por fermentación; logro obtener un extracto diluido de antocianinas, pasando luego a ser concentrados en un rota vapor. Ambos métodos presentaron similitudes en concentración de antocianinas, sin embargo, la capacidad antioxidante fue mayor en la extracción por fermentación.

Cerón (2008), “Extracción, caracterización y estabilidad de antocianinas y otros compuestos antioxidantes obtenidos a partir de zarzamora”, evaluó la extracción de antocianinas por el método sólido-líquido con etanol acidificado con HCl y otra muestra con etanol agua. Obteniendo mejores resultados con etanol-agua.

Valle, Aguirre & Domínguez (2011), “Evaluación de la Estabilidad de Antocianinas durante el Almacenamiento de Zanahoria Púrpura (*Daucus carota*)”, cuantificaron el total de antocianinas mediante el método pH diferencial ya que es una forma segura y rápida de medir el total de antocianinas monoméricas. Se midió las muestras diluidas en buffers a dos pHs diferentes de 1.0 y 4.5; a absorbancias de 520 y 700 nm. Ya que las antocianinas desarrollan transformaciones estructurales reversibles con el cambio del pH manifestado por el espectro a diferentes absorbancias. (Valle, Aguirre & Domínguez, 2011)

Kuskoski & Col. (2005),” Aplicación de Diversos Métodos

Químicos para Determinar Actividad Antioxidante en Pulpa de Frutos”, determinó la actividad antioxidante aplicando el método DPPH (2,2- Difenil-1-picrilhidrazilo), el cual se basa en la reducción de la absorbancia medida a 515 nm del radical DPPH, por antioxidantes.

Terrones & Díaz (2019) “Métodos de Extracción del Colorante de Zea Maíz 1 (Maíz Morado) para la Elaboración de una Bebida Saludable”, para lograr extraer las antocianinas del maíz morado usaron dos métodos: maceración y cocción. En el proceso de cocción, se somete la muestra y el solvente, a temperaturas de ebullición. En el proceso de maceración, se deja reposar el soluto en el solvente con la intención de que penetre en la estructura celular de la muestra. Sin embargo, es un proceso que demora muchos días y no es recomendable, ya que obtuvo menor rendimiento y menor color.

Carmona (2013), “De colorantes sintéticos a naturales en la industria alimentaria”, por las actuales tendencias de consumir productos naturales se está buscando sustituir los colorantes sintéticos por los naturales. Además, que aporten un valor agregado como la actividad antioxidante, las cuales ayudan a prevenir distintas enfermedades. Uno de los más conocidos son los carotenoides y las antocianinas.

### **Definición y resumen del proyecto**

Como se hace conocer en el árbol de problemas, se quiere dar una solución a los arándanos que no cumplen con los estándares de calidad para la exportación, el proyecto trata acerca de la obtención y evaluación de extracto de antocianinas y capacidad antioxidante del extracto de arándanos (*vaccinium corymbosum*). Se evaluó por dos métodos: fermentación y sólido/líquido, para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria.

Las antocianinas son flavonoides responsables del color característico de los arándanos, estos compuestos tienen un impacto sobre las características sensoriales de los alimentos (Zapata, 2014).

Por otro lado, el extracto de antocianinas que se obtendrá, sobresale por su alta capacidad antioxidante, que es capaz de prevenir y retardar la oxidación, los antioxidantes quitan intermedios del radical libre e inhiben otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos (Campo, L. 2017). Además, de encargarse neutralizar radicales libres, ayuda a fortalecer el colágeno y combate inflamaciones (Infobae, 2019).

El objetivo es utilizarlo como antioxidante y colorante natural, de esta manera reemplazar a los colorantes sintéticos, ya que el colorante obtenido es responsable de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul a diferentes valores de pH (Zapata, 2014).

En primer lugar, se determinó las principales variables, pH, temperatura, tiempo de extracción, tipo de solvente, concentración de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y proporción de materia prima/solvente. Se evaluó y demostró mediante las dos metodologías de extracción sólido-líquido, en una relación de 1:3, es decir, 100g de arándanos y 300g de solvente, para el solvente se utilizó 50% de H<sub>2</sub>O y 50% de etanol con una pureza de 100% y se llevó la mezcla a una temperatura de 36,6 °C con agitación por una hora. Para la extracción por fermentación, se necesita previamente un inóculo en el cual primero se acondiciona el arándano triturado con sacarosa y fosfato de amonio, luego se realiza la inoculación con la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y se realiza la incubación por 24 horas. Obteniendo este producto se procede a la extracción por fermentación, donde se acondiciona el arándano triturado con sacarosa, luego se realiza la inoculación y se espera el proceso de fermentación por 72 horas. Luego del fin de cada proceso, se

procedió a centrifugar las muestras de ambos métodos, obteniendo finalmente nuestro extracto de antocianinas. Por consiguiente, se procedió a evaluar la capacidad antioxidante de cada muestra la cual se realizó por el método DPPH y la concentración de antocianinas por el método diferencial de pH (Zapata, 2014).

**Propósito del proyecto, revisión de restricciones: legales, naturales, etc. (Marco lógico del proyecto)**

Tabla 1.

*Matriz del Marco Lógico.*

| <b>DESCRIPCIÓN</b>   | <b>INDICADOR</b>   | <b>MEDIO<br/>DE VERIFICACIÓN</b>   | <b>SUPUESTOS</b>  |
|--|--|--|---|
| <b>FIN:</b><br>Obtener extracto de antocianinas, de los arándanos que no cumplen con los estándares de calidad de exportación, con capacidad antioxidante y contenido de antocianina para ser aplicados en la industria alimentaria. | Rendimiento de extracción, por el método de sólido-solvente y fermentación.<br>Concentración de antocianinas totales.<br>Capacidad antioxidante. | Resultados de metodología aplicado en laboratorio.<br>Dominio en el manejo de los instrumentos de laboratorio. | Disminución la cantidad de arándanos que no cumplen con los estándares de calidad.<br>Tiempo de almacenamiento a una concentración alta de oxígeno y una alta exposición de luz, aumenta el grado de oxidación.<br>Extracción a pH por encima de 4.00 disminuye la intensidad del color |

---

**PROPÓSITO:**

|  |  |  |   |
|--|--|--|---|
| <p>Extraer extracto de antocianina, de los arándanos que no cumplen con los estándares de calidad de exportación, para medir el poder antioxidante y la antocianina total y ser aplicados en la industria alimentaria.</p> | <p>Incremento en la producción de colorantes naturales por empresas peruanas.</p> <p>Mejorará la calidad de productos funcionales, dándole un valor agregado a los arándanos.</p> <p>Incremento en la sustitución de colorantes artificiales por colorantes naturales.</p> | <p>Informes periodísticos de resultados.</p> <p>Reportes de la industria relacionado con aditivos.</p> <p>Reporte de la industria alimentaria relacionados a la alta tasa de arándanos rechazados por no cumplir con los estándares relacionados a la exportación.</p> | <p>Incremento del costo de adquisición de los colorantes naturales.</p> <p>Incremento de los precios de los productos con colorantes naturales</p> <p>Cambios en su característica organoléptica del producto.</p> <p>Disminución de la demande de productos funcionales.</p> |
|--|--|--|---|

---

---

**COMPONENTES:**

|   |  |  |   |
|---|--|--|---|
| Extracción de antocianina total por dos métodos.                        | Rendimiento de extracción por los dos métodos, sólidos-líquido y por fermentación. | Incremento de la demanda de productos funcionales a base de antioxidantes naturales. | Bajo rendimiento del método de extracción aplicado.                                     |
| Cuantificaciones la capacidad antioxidante por dos métodos.             | Temperatura y tiempo de extracción.  | Estabilidad del extracto en el producto aplicado.                                    | Incremento de costo de las maquinarias requeridas.                                      |
| Evaluación fisicoquímica, capacidad antioxidante y antocianina totales. | pH de extracción.  |  | Inadecuada capacitación al personal encargado de controlar los parámetros establecidos. |
| Aplicación a un producto terminado.                                     |  |  |   |

---

---

**ACTIVIDADES:**

|  |                          |  |  |
|--|--------------------------|--|--|
| Extracción por los dos métodos, sólido-líquido y por fermentación. | Método diferencial de pH | Proyectos de investigación realizados anteriormente. | Inestabilidad del extracto al aplicar al producto terminado. |
| Medir la capacidad antioxidante y antocianina totales.             | Método DPPH              | Tesis realizadas en otros países.                    |  |
| Incorporación del extracto en un yogurt.                           |                          | Pruebas de laboratorio.                              | Materiales de laboratorios en condiciones inadecuadas        |
|  |                          | Alta capacidad de inhibición del antioxidante.       |  |

---

*Fuente: Elaboración Propio*

### **Justificación del proyecto**

Según Huapaya (2017), el 85% de arándanos producidos en el Perú son exportados en fresco, el 7% es congelado, el 5% es destinado a mercado local y el 3% es descartado.

Según el Informe Anual del Desarrollo Agroexportador para el año 2018 (PROMPERU, 2019) la exportación de arándanos ocupa el tercer lugar del Ranking de las principales frutas y hortalizas frescas con valor FOB-US\$ con 548.03 miles de US\$.

Según el Reporte de Ingresos y Precios en el Gran Mercado Mayorista de Frutas al 13 de noviembre del 2019 (MINAGRI, 2019) el kilogramo de arándanos frescos tiene un precio promedio de 6.51 soles.

Debido a que el porcentaje que está destinado a mercado local y a descarte es alrededor del 10% y que el precio al que se vende al mercado local es definitivamente mucho más barato en comparación al precio que se exporta, se decide optar por darle valor agregado a dichos arándanos, extrayendo las antocianinas para usarlo como colorante y antioxidante en la industria alimentaria.

### III. Evaluación del Mercado

#### a. Información General

##### i. Entorno del mercado (nichos, competencia, mercados, carencias, oportunidades, benchmarking, etc.)

###### o Competencia Directos:

- FRUTAROM
- NATCOLOR PERU S.A.C.
- A-1 del Perú

###### o Competencia Indirectos:

- MAPRIAL
- PROAGRO SUR S.A.C.
- VERGARA S.A.C.
- DELTAGEN GROUP



Figura 2. Evaluación del mercado/Fuente: Elaboración propia

### **COMPETENCIA DIRECTA:**

**FRUTAROM:** Es una empresa internacional que cuenta con una trayectoria de 80 años desarrollando sabores e ingredientes finos de alta calidad, se posiciona dentro de las 10 empresas que lideran el rubro de aditivos en la industria alimentaria. Teniendo una gama de productos entre ellos sabores, colorantes naturales, fragancias, savory y food solutions. Entre sus colorantes naturales se tiene: carmín, paprika, betaninas, licopenos, antocianinas, carotenoides, etc.

**NATCOLOR PERU S.A.C:** Empresa peruana que se dedica a producir y comercializar colorantes naturales, con una experiencia de 30 años en la industria. Cuenta con un área que se encarga de investigar y desarrollar nuevos procesos en la industria de aditivos. Cuenta con antocianinas, ácido carmínico, achiote, carmín de cochinilla, azul de huito, etc.

**A-1 DEL PERÚ:** Empresa peruana con 30 de trayectoria en la industria de insumos alimenticios, asegurando productos de calidad al mercado nacional e internacional. Tiene como productos suplementos naturales, aditivos industriales, cereales andinos, etc. Entre sus suplementos naturales se encuentra la antocianina, la cual se encuentra en extracto de polvo, extracto líquido y tabletas.

### **COMPETENCIA INDIRECTA:**

**MAPRIAL:** Empresa dedicada a abastecer insumos e ingredientes de alta calidad para la industria alimentaria, química, entre otras. Con una trayectoria de 15 años, cuenta con sedes en Perú y Bolivia. Entre sus productos se encuentran acidulantes, reguladores de acidez, colorantes sintéticos, naturales en polvo, conservantes, edulcorantes, etc.

**PROAGRO SUR S.A.C:** Empresa ubicada en Arequipa, ubicado por el primer yacimiento de cochinilla del Perú, se caracteriza principalmente por la venta de colorantes naturales como ácido carmínico y carmín; requeridos en la industria farmoquímica, láctea, cárnica y de embutidos, vinícola, textil y

cosmética.

**VERGARA S.A.C.:** Empresa dedicada a la venta de insumos químicos alimenticios e industriales para el mercado nacional. Entre sus productos industriales se encuentran acetato de sodio, cera parafina, ácido bórico, entre otros. Entre sus productos alimenticios resaltan colorantes sintéticos como caramulina, amarillo a la grasa, azul a la grasa, etc.

**DELTAGENGROUP:** Empresa que comercializa aditivos, mezclas alimenticias de alta calidad. Entre los productos que ofrece están los colorantes naturales como productos derivados de la cochinilla, achiote y cúrcuma. También, ofrece antioxidantes para aceites vegetales como el antioxidante Xtendra S2001, mezcla de TBHQ y Ácido Cítrico.

**MOLINOS ASOCIADOS SAC:** Empresa peruana que comercializa antioxidantes, nematocidas, proteínas y texturizantes. Entre sus antioxidantes se encuentran polvo de tara, propil galato y ácido gálico.

**LEVAMET:** Empresa peruana comercializadora de ingredientes y materias primas para la industria alimenticia, farmacéutica, cosmética y veterinaria. Entre sus colorantes naturales están el achiote, remolacha roja, beta caroteno, etc. Entre sus antioxidantes se encuentran tocoferoles, propil galato, ascorbil palmitato, entre otros.

**ii. Grado en que nuestro producto aborda el problema planteado.**

El aditivo alimentario a elaborar abarcara todo el problema planteado el cual es, volúmenes altos de arándanos que no cumplen con los estándares de calidad para la exportación. Para realizar la extracción se utilizaran todos los arándanos ya descartados y que son para venta nacional.

#### IV. Diseño del proyecto

- a. Establecer la matriz de Causas-Capacidades-Oportunidades para determinar las alternativas de solución.

Tabla 2.

*Matriz para determinar las alternativas de solución.*

| CAUSAS   | CAPACIDADES  | OPORTUNIDADES   | ALTERNATIVAS   |
|--|--|---|--|
| Alta tasa de descarte de arándanos que no cumplen con los estándares de calidad para la exportación. | <ul style="list-style-type: none"> <li>Extracción masiva de colorantes naturales para la industria alimentaria.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Empresas que utilicen el descarte para realizar la extracción de colorante y utilizarlo como aditivo natural en la industria alimentaria.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Promover a las empresas químicas de color, que se enfoquen en la producción de colorantes naturales.</li> </ul> |

---

|  |   |  |   |
|--|---|--|---|
| <p>Deficiencia de empresas que produzcan colorantes naturales con poder antioxidante en especial antocianinas.</p> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Fortalecimiento en la producción a empresas productoras de colorantes naturales con capacidad antioxidante.</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Empresas interesadas en la producción de colorantes naturales con capacidad antioxidante, en especial antocianinas.</li><li>• Creación de empresas que produzcan colorantes naturales con capacidad antioxidante en especial antocianinas.</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Promover a las empresas químicas de color, que se enfoquen en la producción de colorantes naturales con capacidad antioxidante en especial antocianinas.</li><li>• Impulsar a la industria alimentaria utilizar colorantes naturales para la aplicación de sus productos.</li></ul> |
|--|---|--|---|

---

---

|  |   |   |   |
|--|---|---|---|
| Enfermedades debido al uso de colorantes artificiales. | <ul style="list-style-type: none"><li>• Optar por alimentos industrializados con colorantes naturales.</li><li>• Disposición de parte de las entidades gubernamentales responsables de la regulación de alimentos por la salud de los consumidores.</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Fomentar y educar a los consumidores a consumir colorantes naturales.</li><li>• Interés de parte de Digesa para evitar colorantes artificiales en los alimentos industrializados.</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Proteger la salud del consumidor.</li><li>• Fomentar la educación del consumidor.</li></ul> |
|--|---|---|---|

---

*Fuente: Elaboración Propia.*

## b. Matriz de operacionalización de variables

### **Objetivos**

#### - **Objetivo general**

- Determinar la influencia del método de extracción de antocianinas (por solventes y por fermentación) aplicados a los arándanos que no cumplen los parámetros de calidad para ser exportados, en la cuantificación total de antocianinas y la capacidad antioxidante.

#### - **Objetivo específico**

- Obtener el extracto de arándanos a través de dos métodos: Solido – líquido y por fermentación.
- Medir la capacidad antioxidante del extracto concentrado para cada método de extracción.
- Cuantificar las antocianinas totales presentes en el extracto concentrado de antocianinas para cada método de extracción.
- Aplicar el extracto obtenido en el yogurt.

### **Hipótesis**

#### - **Hipótesis general**

- Los métodos de extracción de antocianinas (por solventes y por fermentación) influyen en la cuantificación total de antocianinas y la capacidad antioxidante.

#### - **Hipótesis específica**

- El método de extracción por fermentación permite obtener un extracto con mejor capacidad antioxidante en comparación con el método de extracción por solvente.
- El método de extracción por solventes presenta una mayor cuantificación de antocianinas en comparación con el método de extracción por fermentación

Tabla 3

*Matriz de operacionalización de variables*

| OBJETIVO  | VARIABLES  | METODOLOGÍA  |
|---|--|--|
| <p>Determinar la influencia del método de extracción de antocianinas (por solventes y por fermentación) aplicados a los arándanos que no cumplen los parámetros de calidad para ser exportados, en la cuantificación total de antocianinas y la capacidad antioxidante.</p> | <p><b>Independientes:</b><br/>           X<sub>1</sub>: Método de extracción por solvente y Método de extracción por fermentación</p> <p><b>Dependientes:</b><br/>           Y<sub>1</sub>: Capacidad antioxidante</p> <p><b>Y<sub>2</sub>: Cuantificación total de antocianinas</b></p> | <p>Y<sub>1</sub>: Método de DPPH(2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) propuesto por (Brand-Williams W, 1995)</p> <p>Y<sub>2</sub>: Método de pH diferencial propuesto por Giustin y Wrolstad (2001).</p> |

|   |  |   |
|---|--|---|
| <p>Medir la capacidad antioxidante del extracto concentrado para cada método de sólido-líquido.</p> | <p><b>Independientes:</b></p> <p>X<sub>1</sub> Grado de dilución</p> <p>X<sub>2</sub>: Método de medición</p> <p><b>Dependientes:</b></p> <p>Y<sub>1</sub>: Capacidad antioxidante</p> | <p>Y<sub>1</sub>: Método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) propuesto por (Brand-Williams W, 1995)</p> |
| <p>Medir la capacidad antioxidante del extracto concentrado para cada método de fermentación.</p>   | <p><b>.Independientes:</b></p> <p>X<sub>1</sub>: Grado de dilución</p> <p>X<sub>2</sub>: Método de medición</p>  | <p>Y<sub>1</sub>: Método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) propuesto por (Brand-Williams W, 1995)</p> |

|   |  |   |
|---|--|---|
|   | <p><b>Dependientes:</b></p> <p>Y<sub>1</sub>: Capacidad antioxidante</p>   |   |
| <p>Cuantificar las antocianinas totales presentes en el extracto concentrado de antocianinas por método solido-liquido.</p> | <p><b>Independientes:</b></p> <p>X<sub>1</sub>: pH</p> <p>X<sub>2</sub>: Grado de dilución</p> <p>X<sub>3</sub>: Método de cuantificación</p> <p><b>Dependientes:</b></p> <p>Y<sub>1</sub>: Cantidad de antocianinas totales</p> | <p>Y<sub>1</sub>: Método de pH diferencial.:<br/>propuesto por Giustin y Wrolstad (2001).</p> |

|   |  |   |
|---|--|---|
| <p>Cuantificar las antocianinas totales presentes en el extracto concentrado de antocianinas por método fermentación.</p> | <p><b>Independientes:</b></p> <p>X<sub>1</sub>: pH</p> <p>X<sub>2</sub>: Grado de dilución</p> <p>X<sub>3</sub>: Método de cuantificación</p> <p><b>Dependientes:</b></p> <p>Y<sub>1</sub>: Cantidad de antocianinas totales</p> | <p>Y<sub>1</sub>: Método de pH diferencial propuesto por Giustin y Wrolstad (2001).</p> |
|---|--|---|

*Fuente: Elaboración propia*

## Metodología experimental

### ✚ Método para determinar la capacidad antioxidante DPPH, (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) propuesto por (Brand-Williams W, 1995)

#### ❖ Solución madre:

Se preparó una solución madre del radical DPPH o 2,2-difenil-1-picril hidrazilo de concentración 10ml/50ml de metanol al 80%, la cual conservamos en refrigeración a 4 °C en envase de vidrio color oscuro y envuelto en papel aluminio.

#### ❖ Solución diluida de DPPH:

Luego preparamos una concentración de 215µl DPPH y 785µl de metanol al 80%.

Medir la absorbancia y esta debe ser aproximadamente 1.10, en caso que no se llegue, ajustar la absorbancia añadiendo metanol o solución madre.

#### a) Preparamos el blanco.

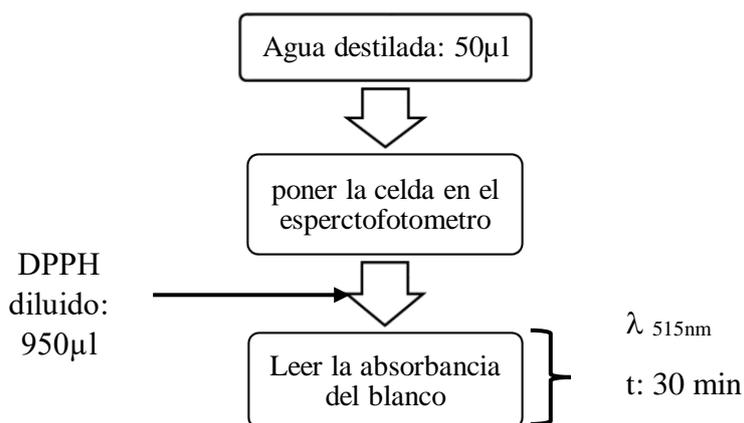


Figura 3. Diagrama de flujo para la Preparación de blanco. / Fuente: Elaboración propia

La lectura de la absorbancia se realiza cada 30 segundos durante 30 minutos.

**b) Lectura de la muestra.**

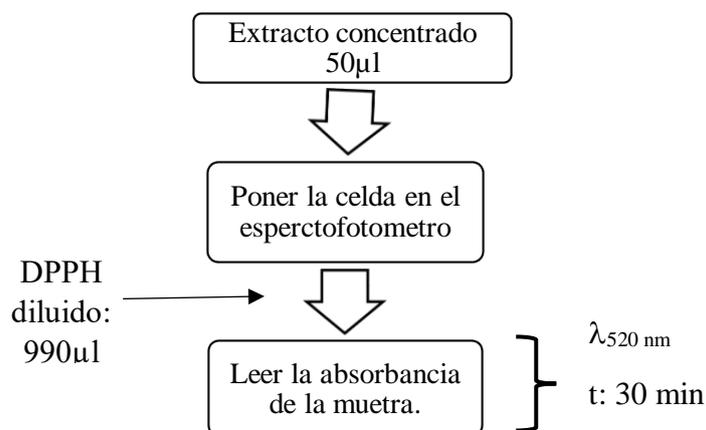


Figura 4. Diagrama de flujo para lectura de la muestra por el método de DPPH. / Fuente: Elaboración propia

Se realiza el mismo procedimiento para todas las concentraciones del el extracto y la lectura de la absorbancia se realiza cada 30 segundos durante 30 minutos.

**c) Hallamos el % de inhibición.**

$$\%Inh = \frac{ADPPHb - AbM(515)}{ADPPHb}$$

Donde:

- ✓ ADPPHb = Absorbancia del blanco del DPPH diluido a los 30 minutos
- ✓ AbM = Absorbancia de la muestra a los 30 minutos

**d) Hallamos el valor del IC50.**

Se realiza una gráfica lineal % de Inhibición vs concentración, para hallar la concentración de muestra que inhibe el 50% de DPPH.

### ✚ Método para cuantificar las antocianinas

- ✚ Se preparan soluciones buffer a pH de 1.0 0.025M de Cloruro de Potasio y a pH de 4.5 0.4 N de Acetato de Sodio

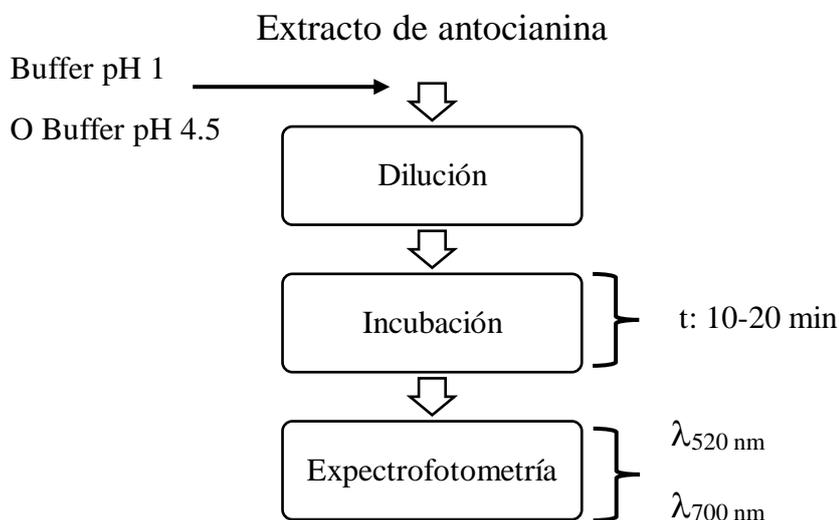


Figura 5. Diagrama de flujo para lectura de muestra para el método diferencial de pH. / Fuente: Elaboración propia

### ✚ Cálculos

$$\text{Pigmento Antocianina} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\epsilon \times l}$$

(equivalentes de cyanidin – 3 – glucósido, mg/L)

Donde:

- $A = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 1.0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 4.5}$
- $M(\text{molecular weight, peso molecular}) = 449.2 \text{ g/mol}$   
para cyanidin – 3 – glucosido (cyd – 3 – glu)
- $DF = \text{factor de dilución establecido}$
- $l = \text{longitud de paso en cm}$

- $\varepsilon = 26\,900\text{ L mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$
- $1000 = \text{factor de conversión de g a mg}$

✚ Método de extracción sólido-líquido de antocianinas

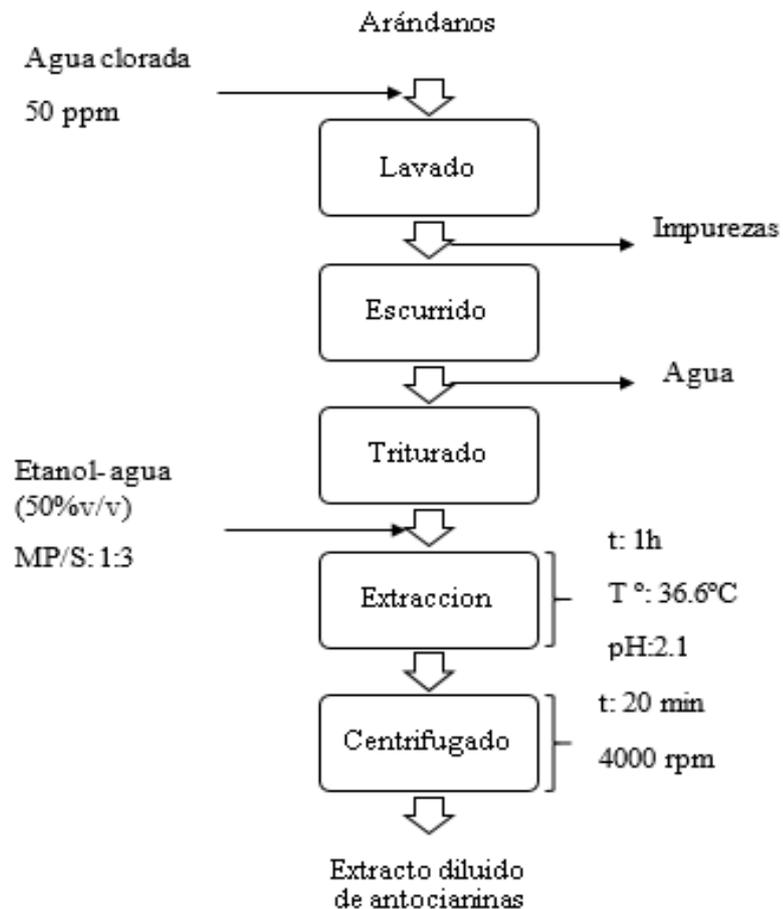


Figura 6. Diagrama de flujo para extracción de antocianinas por el método sólido/líquido. / Fuente: Elaboración propia

### Método de extracción por fermentación

a) Preparación del inóculo 24 horas antes de la fermentación

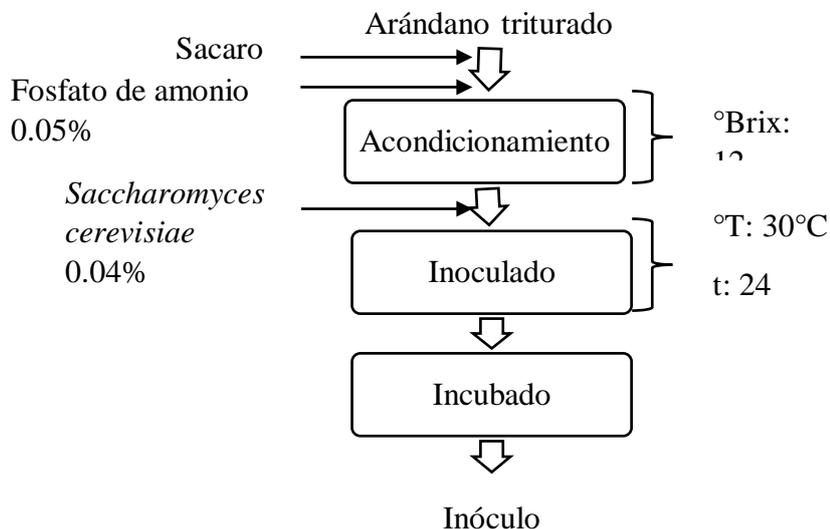


Figura 7. Diagrama de flujo para la obtención de inóculo. / Fuente:

Elaboración propia

b) Inoculación a la muestra.

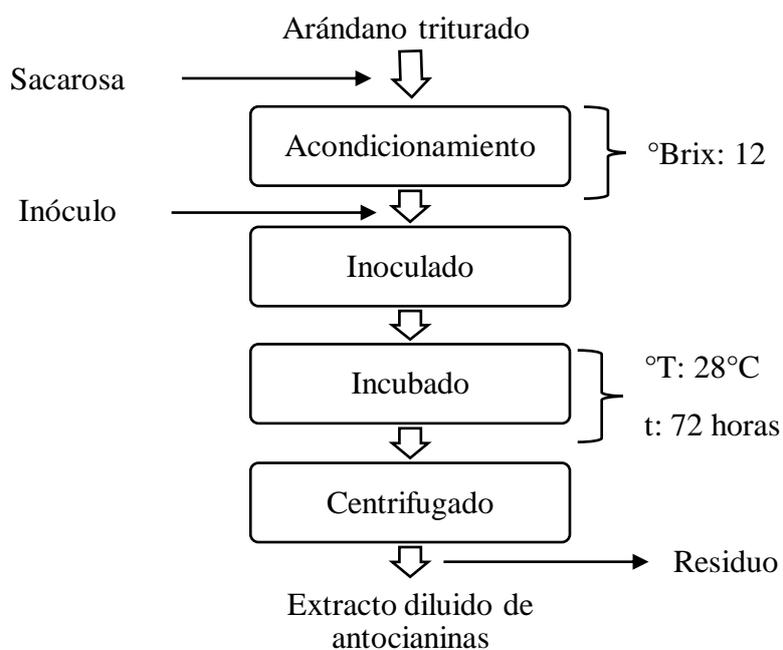


Figura 8. Diagrama de flujo para la extracción de antocianinas por el

método de fermentación. / Fuente: Elaboración propia

**Diagrama de flujo (sustento de las operaciones unitarias a emplear, selección de tecnologías de conservación y transformación, equipos a utilizar)**

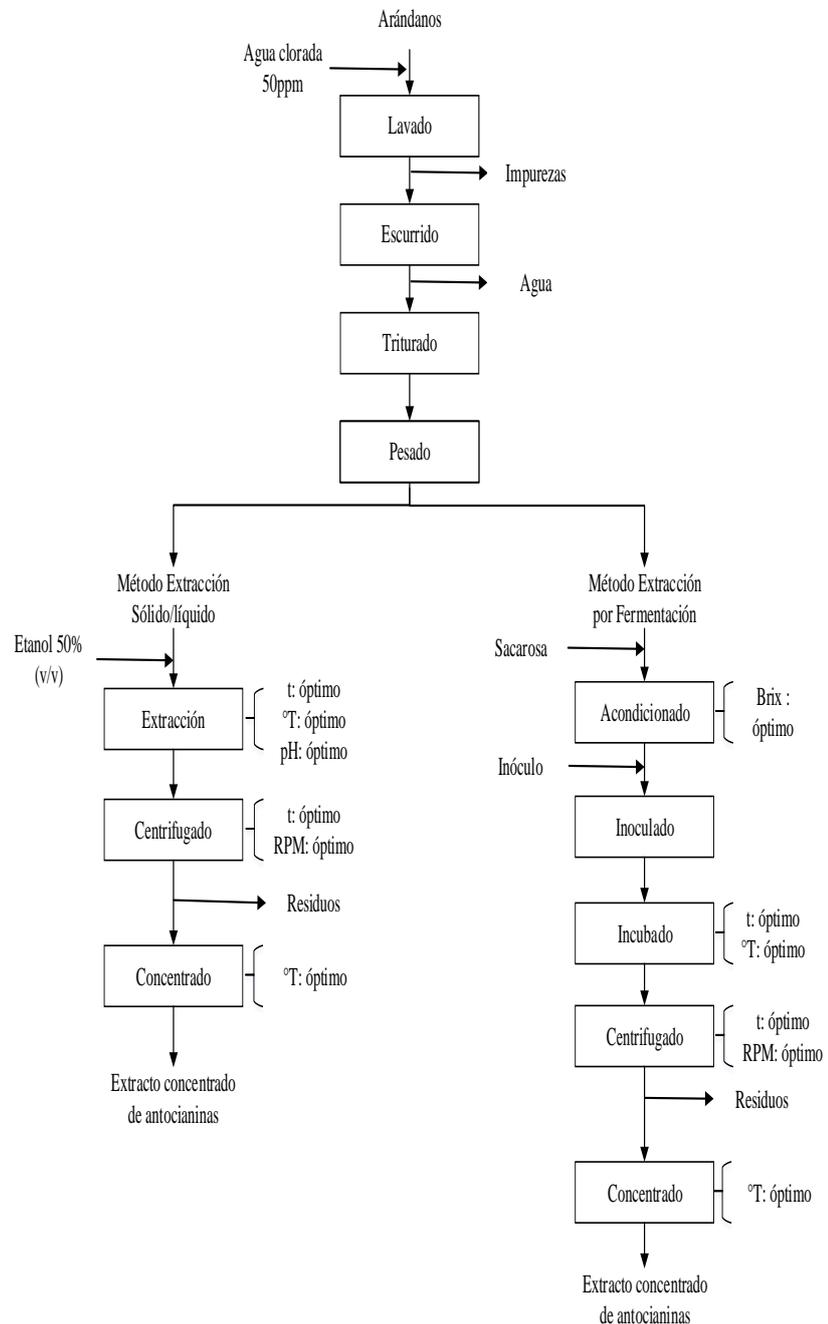


Figura 9. Diagrama de flujo para la obtención de extracto de antocianinas por ambos métodos de extracción. / Fuente: Elaboración propia

**a) Sustento de las operaciones unitarias.**

- ✓ **Lavado:** Después de su recepción, se lavan los arándanos con

agua clorada de 50 ppm de hipoclorito de sodio para eliminar materia orgánica indeseable y asegurar la eliminación de microorganismos patógenos, por consiguiente, se procede a un enjuagado para retirar residuos de cloro.

- ✓ Ecurrido: En un colador o cubeta con orificios colocamos los arándanos enjuagados y los dejamos reposar para la eliminación de agua sobrante.
- ✓ Triturado: Se utiliza un mixer o mortero que asegure la operación de triturado de la baya, hasta que se llegue a un producto tipo puré.
- ✓ Pesado: De los 100% en peso que obtuvimos en la operación de triturado separamos en dos pesos equitativos o partes diferentes, para utilizarlo en los métodos extracción.
- ✓ Extracción: Se mezcló una relación 1:3 materia prima g/solvente g, donde el solvente represento por 50% agua y 50% etanol, la mezcla se llevó a una temperatura de 36,6 °C con agitación por un tiempo de dos horas.
- ✓ Centrifugación: Se llevó la muestra a la centrifuga para separar el sobrenadante del precipitado por consiguiente se filtró rescatando el sobrenadante.
- ✓ Concentrado: Se utilizó el equipo rotavapor para eliminar el etanol y agua de la muestra SOLIDO/LÍQUIDO obtenida de la centrifuga y para la muestra por FERMENTACIÓN de igual forma, de esta manera obtenemos el extracto de antocianinas.
- ✓ Acondicionado: Para el método por fermentación se acondiciona con sacarosa el arándano previamente triturado.
- ✓ Inoculado: Aplicando un inóculo a la muestra acondicionada.

- ✓ Incubado: Después de agregar el inóculo, se realiza la incubación por tres días a una temperatura de 30°C.

**b) Selección de tecnologías de conservación.**

- ✓ Refrigeración: El producto para su conservación necesita estar a bajas temperaturas exactamente 4°C.
- ✓ Libre de oxígeno: El producto debe mantenerse cerrado al vacío, para evitar la oxidación de los pigmentos.
- ✓ Sin incidencia de luz: El producto debe estar en lugares oscuros o con sombra, para evitar la degradación de las antocianinas.

**c) Selección de tecnologías de transformación.**

- ✓ Trituración: En esta operación se realiza el cambio físico de la materia prima, que pasa de una baya a un puré, se considera tecnología de transformación ya que cambia el estado físico inicial del arándano.

**d) Equipos a utilizar**

- ✓ Centrífuga
- ✓ Rotavapor
- ✓ Espectrofotómetro

### Lista de materiales y equipos, materias primas.

Como materia prima estamos utilizando el arándano (*Vaccinium myrtillus*), la variedad Biloxi, la obtuvimos del mercado mayorista que está ubicado en el distrito de Santa Anita.



Figura 10. Arándanos

Fuente: Asociación de Gremios Productores Agrarios del Perú. Artículo de pagina web. Lima, Perú (2017. )Recuperado de: <https://agapperu.org/noticias/exportaciones-peruanas-arandanos-crecerian-54-este-ano/>

#### a) Método de extracción sólido-líquido

Tabla 4.

*Materiales, equipos y reactivos que se utilizaron.*

| <b>Materiales</b>     | <b>Equipos</b>       | <b>Reactivos</b>                |
|-----------------------|----------------------|---------------------------------|
| Vasos precipitados    | Calentador eléctrico | Solución etanol-agua<br>50%:50% |
| Agitadores de vidrio  | Agitador eléctrico   |                                 |
| Agitadores magnéticos | Potenciómetro        |                                 |
| Mortero               | Refractómetro        |                                 |
| Probetas              | Mixer                |                                 |
|                       | Centrífuga           |                                 |
|                       | Balanza              |                                 |

Fuente: Elaboración propia.

**b) Método de extracción por fermentación**

Tabla 5.

*Materiales, equipos y reactivos que se utilizaron.*

| <b>Materiales</b> | <b>Equipos</b> | <b>Reactivos</b>                                 |
|-------------------|----------------|--|
| Matraz            | Mixer          | Sacarosa   |
| Mortero           | Potenciómetro  | Fosfato de amonio                                |
|                   | Refractómetro  | Levadura<br>( <i>sacchaoromyces cerevisiae</i> ) |
|                   | Centrífuga     |  |

*Fuente: Elaboración propia.***c) Actividad antioxidante**

Tabla 6.

*Materiales, equipos y reactivos que se utilizaron.*

| <b>Materiales</b>  | <b>Equipos</b>    | <b>Reactivos</b> |
|--------------------|-------------------|------------------|
| Fiolas             | Espectrofotómetro | DPPH             |
| Vasos precipitados | Micropipetas      | Metanol          |
|                    | Rotavapor         |                  |

*Fuente: Elaboración propia.***d) Cuantificación de antocianinas**

Tabla 7.

*Materiales, equipos y reactivos que se utilizaron.*

| <b>Materiales</b>  | <b>Equipos</b>    | <b>Reactivos</b>                  |
|--------------------|-------------------|-----------------------------------|
| Fiolas             | Espectrofotómetro | Buffer de cloruro de potasio pH 1 |
| Vasos precipitados | Micropipetas      | Buffer de acetato de sodio pH 4.5 |
|                    | Rotavapor         |                                   |

*Fuente: Elaboración propia.*



### **Diseño del estudio de vida útil**

El extracto de antocianinas será evaluado a diferentes condiciones de oxígeno, luz, temperatura y pH. Se realizará un muestro simple quincenal, para calcular la pérdida de su capacidad antioxidante por la exposición a la luz y oxígeno. Asimismo, se determinará el efecto de la temperatura y pH sobre la estabilidad del extracto.

### **Evaluación y selección preliminar del empaque**

La evaluación y selección preliminar del envase es primordial ya que garantizara que el aditivo conserve sus características por mucho más tiempo. Respecto al entorno físico, debe ser de fácil transporte por ello serán botellitas de 15 ml, oscuro de color ámbar para evitar la degradación por la exposición a la luz, se debe evitar la presencia de oxígeno ya que también acelerará la reacción de oxidación.

## V. Desarrollo del proyecto

Ejecución del diseño experimental (pruebas preliminares)

### MÉTODO SÓLIDO-LÍQUIDO

#### a) Primera prueba: Cuantificación de las antocianinas

°Brix: 12.1

pH:3.50

Arándanos: 100 gramos

Etanol/agua: 300 ml

Tabla 8.

*Resultados de la primera prueba sólido-líquido.*

|               | pH 1.0 | pH 4.5 |
|---------------|--------|--------|
| <b>A520nm</b> | 1.236  | 0.156  |
| <b>A700nm</b> | 0.002  | 0.001  |

*Fuente: Elaboración propia*

$$A = (1.236 - 0.002)_{pH1} - (0.156 - 0.001)_{pH4.5}$$

$$A = 1.079$$

Reemplazando:

***Pigmento Antocianina***

$$= A \times MW \times DF \times 1000 / (\epsilon \times l)$$

***Pigmento Antocianina***

$$= 1.079 \times 449.2 \frac{g}{mol} \times 50$$

$$\times \frac{1000}{26900 \frac{l}{mol \cdot cm} \times 1cm}$$

$$\mathbf{Pigmento\ Antocianina = 900.9048\ mg/L}$$

**Pigmento Antocianin**

$$= 90.0904 \text{mg}/100 \text{ml, cianidina} - 3 \\ - \text{glucósido}$$

**b) Segunda Prueba: Cuantificación de antocianinas**

Brix :12.3

pH:2.96

Arándanos: 50 gramos

Etanol/agua :150 ml

Tabla 9.

*Resultados de la segunda prueba sólido-líquido.*

|               | pH 1.0 | pH 4.5 |
|---------------|--------|--------|
| <b>A520nm</b> | 1.314  | 0.211  |
| <b>A700nm</b> | 0.007  | 0.018  |

*Fuente: Elaboración Propio.*

$$A = (1.314 - 0.007)_{pH1} - (0.211 - 0.018)_{pH4.5}$$

$$A = 1.114$$

Reemplazando:

$$\text{Pigmento Antocianina} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{(\epsilon \times l)}$$

**Pigmento Antocianina**

$$= 1.114 \times 449.2 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 25 \\ \times \frac{1000}{26900 \frac{\text{l}}{\text{mol cm}} \times 1 \text{cm}}$$

$$\text{Pigmento Antocianina} = 465.0639 \text{ mg/L}$$

### Pigmento Antocianina

$$= 46.5063 \frac{\text{mg}}{100 \text{ ml}}, \text{cianidina} - 3$$

– glucósido

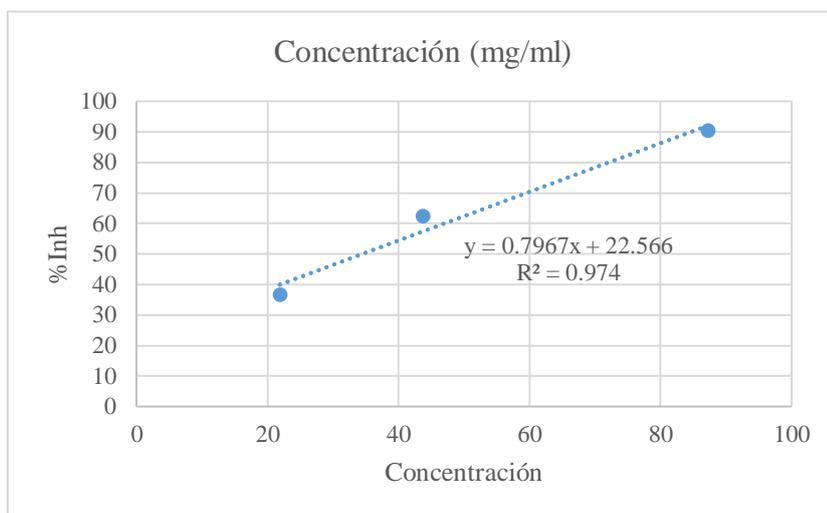
#### c) Primera prueba: Antioxidantes

Tabla 10.

*Porcentaje de inhibición para cada concentración.*

| Absorbancia<br>(blanco) |        | Absorbancia<br>(muestra) | %Inh        | Concentración<br>(mg/ml) |
|-------------------------|--------|--------------------------|-------------|--------------------------|
| <b>1.082</b>            | (1/5)  | 0.103                    | 90.4805915  | 87.3                     |
|                         | (1/10) | 0.408                    | 62.29205176 | 43.69                    |
|                         | (1/20) | 0.685                    | 36.69131238 | 21.84                    |

*Fuente: Elaboración Propia.*



*Figura 12. Porcentaje de inhibición versus la concentración de la muestra. / Fuente: Elaboración propia.*

$$\text{IC}_{50} = 34.43 \text{ mg/ml}$$

## Evaluación de resultados preliminares.

### i. Pruebas fisicoquímicas

#### a) Prueba Sólido-líquido (Primera prueba): Cuantificación de antocianinas

*Pigmento Antocianina*

$$= 90.0904 \frac{mg}{100ml}, \text{cianidina} - 3 \\ - \text{glucósido}$$

#### b) Prueba Sólido-líquido (Segunda prueba): Cuantificación de antocianinas

*Pigmento Antocianina*

$$= 46.5003 \frac{mg}{100ml}, \text{cianidina} - 3 \\ - \text{glucósido}$$

#### c) Prueba Sólido-líquido: Capacidad Antioxidante

$$IC_{50} = 34.43 \text{ mg/ml}$$

### Ajustes y pruebas adicionales

#### MÉTODO SÓLIDO-LÍQUIDO

Brix: 12.3

pH: 2.96

Arándanos: 50 gramos

Etanol/agua: 150 ml

Rendimiento:

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{W_f}{W_i} \times 100$$

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{80.1 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 100$$

$$\% \text{ rendimiento} = 40 \%$$

**Cuantificación de antocianinas por el Método Ph diferencial propuesto por Giustin y Wrolstad (2001).**

Tabla 11.

*Resultados oficiales de prueba solido-liquido.*

|        | pH 1.0 | pH 4.5 |
|--------|--------|--------|
| A520nm | 1.293  | 0.211  |
| A700nm | 0.002  | 0.002  |

*Fuente: Elaboración Propia*

$$A = (1.293 - 0.002)_{\text{pH1}} - (0.211 - 0.002)_{\text{pH4.5}}$$

$$A = 1.082$$

Reemplazando:

$$\text{Pigmento Antocianina} = \frac{A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000}{(\epsilon \times l)}$$

Pigmento Antocianina

$$= 1.082 \times 449.2 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times \frac{50}{0.7} \\ \times \frac{1000}{26900 \frac{\text{l}}{\text{mol cm}} \times 1 \text{cm}}$$

$$\text{Pigmento Antocianina} = 1290.5852 \text{ mg/L}$$

*Pigmento Antocianina*

$$= 129.0585 \frac{\text{mg}}{100 \text{ ml}}, \text{cianidida - 3} \\ \text{- glucósido}$$

En la prueba sólido-líquido se obtuvo al momento de cuantificar la cantidad de antocianinas un total de 129.0585 mg/ml, cianidina-5-glucosídico. Comparando con otros proyectos ya realizados del mismo proceso pero con otra variedad de arándanos como es el caso de Zapata (2014), “Obtención De Extracto De Antocianinas A Partir De Arándanos Para Ser Utilizado Como Antioxidante Y Colorante En La Industria Alimentaria”, el cual obtuvo un total de 137.2 mg/ml de antocianinas totales se logra apreciar que la diferencia es de 8.1415 mg/ml, la cual no es mucha dando así entender que se logró una buena cuantificación. Sin embargo, la tesis con la que se compara es de variedad O’Neal, mientras que en este proyecto se usó la variedad biloxi, el cual pudo influir mucho en la cantidad de antocianinas presente en el fruto. Sánchez (2018), “Efecto De La Temperatura Y El Tiempo En La Cinética De Degradación Térmica De Las Antocianinas Del Néctar De Arándano (*Vaccinium corymbosum* L.)”, obtuvo 42.55 mg/L de antocianinas totales con el método de cuantificación pH diferencial, con la variedad emerald. Por lo tanto, cada variedad de arándano brindará distintas cantidades de antocianinas totales. Además, la temperatura que se usó en el rota vapor para poder lograr evaporar el etanol presente en la muestra fue de 73 °C. Sin embargo, en la investigación de Luz Zapata utilizó 59°C en un rotavapor con vacío, de esta manera las antocianinas se degradaron en menor porcentaje. Según Garzón (2008), por efectos del calor a mayores de 60 °C se degradan según una cinética de primer orden.

a) **Determinación de capacidad antioxidante por el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) propuesto por (Brand-Williams W, 1995)**

**1. Absorbancia del blanco.**

Tabla 12.

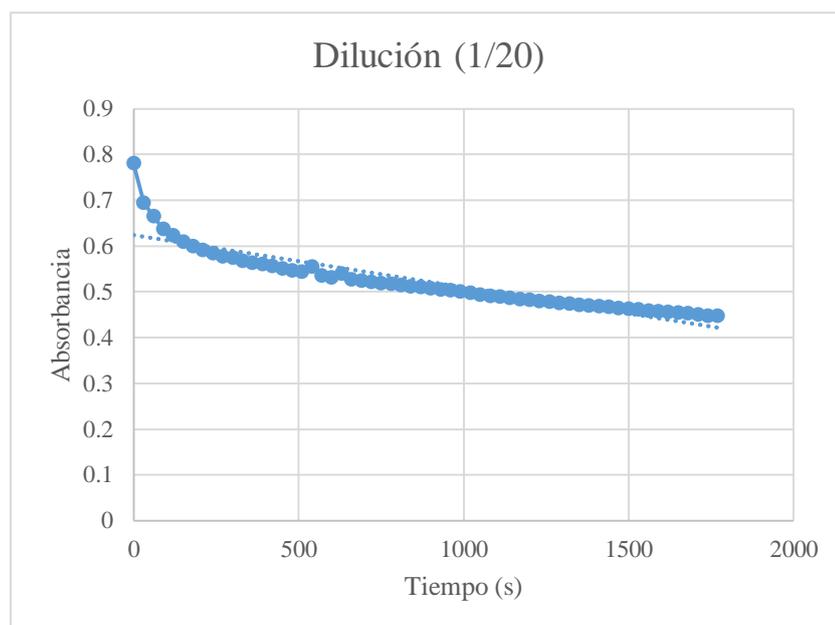
*Resultados de la absorbancia del blanco.*

| <b>Tiempo (s)</b> | <b>AB(blanco 515nm )</b> |
|-------------------|--------------------------|
| <b>0</b>          | <b>0.93</b>              |
| <b>30</b>         | 0.92                     |
| <b>60</b>         | 0.919                    |
| <b>90</b>         | 0.919                    |
| <b>120</b>        | 0.919                    |
| <b>150</b>        | 0.916                    |
| <b>180</b>        | 0.916                    |
| <b>210</b>        | 0.916                    |
| <b>240</b>        | 0.916                    |
| <b>270</b>        | 0.917                    |
| <b>300</b>        | 0.917                    |

*Fuente: Elaboración Propia.*

La absorbancia (515nm) en el tiempo cero fue de 0.93.

**2. Absorbancia de la muestra a una dilución de (1/20).**



*Figura 13. Absorbancia de la primera dilución/Fuente: Elaboración propia.*

La absorbancia (515nm) a los 30 minutos fue de 0.443, como muestra la imagen a medida que pasa el tiempo la absorbancia de la muestra va disminuyendo, esto indica que el poder antioxidante de la muestra es alto.

### 3. Absorbancia de la muestra a una dilución de ( 1/30)

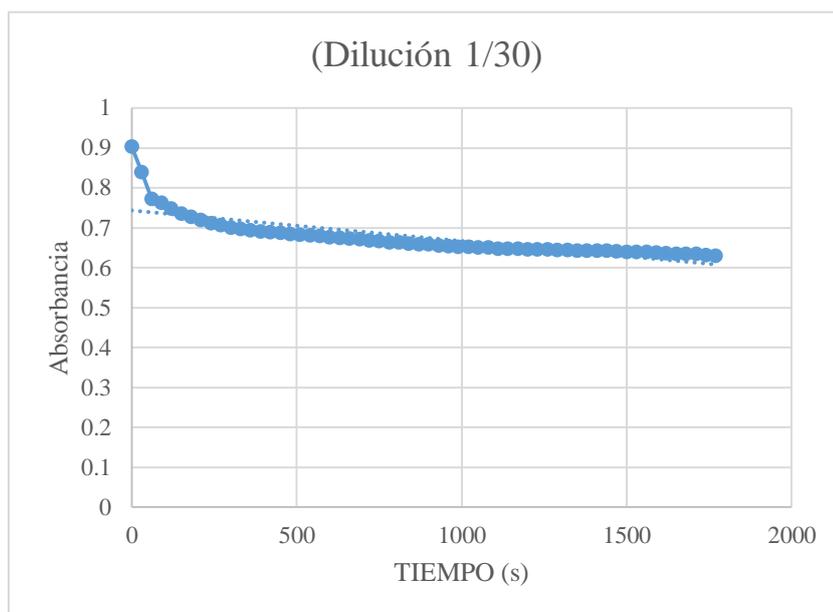


Figura 14. Absorbancia de la segunda dilución.

Fuente: Elaboración propia.

La absorbancia (515nm) a los 30 minutos fue de 0.630, es decir cuanto mayor es la dilución del extracto concentrado de arándanos la absorbancia es mayor por ende la capacidad antioxidante se ve reducido.

#### 4. Absorbancia de la muestra a una dilución de ( 1/50)

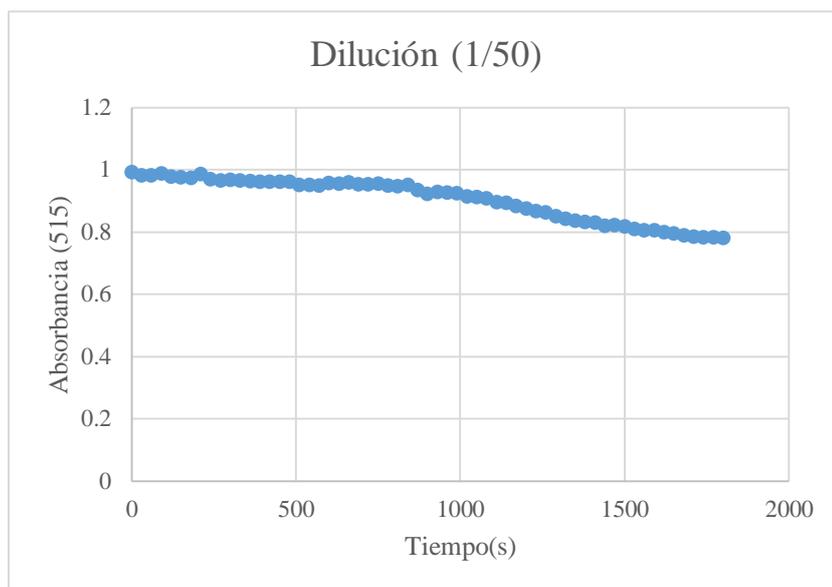


Figura 15. Absorbancia de la tercera dilución.

Fuente: Elaboración propia.

Esta gráfica muestra la variación de la absorbancia a lo largo del tiempo, esta muestra es la más diluida y por ende su capacidad antioxidante del extracto se ve reducida, ya que alcanzó a una absorbancia (515nm) de 0.782 a los 30 minutos.

#### 5. Hallando el % de Inhibición.

La actividad antioxidante se determinó por el método del radical libre de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) propuesto por (Brand-Williams W, 1995) con algunas modificaciones.

Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición de DPPH con la siguiente fórmula.

$$\%Inh = \frac{ADPPHb - AbM(515)}{ADPPHb}$$

Donde:

ADPPHb = Absorbancia del blanco del DPPH diluido a los 30 minutos

AbM = Absorbancia de la muestra a los 30 minutos.

- **Concentración**

Tabla 13.

*Porcentaje de inhibición para cada dilución.*

| <b>Unidades</b> | <b>Concentrado</b> | <b>(1/20)</b> | <b>(1/30)</b> | <b>(1/50)</b> |
|-----------------|--------------------|---------------|---------------|---------------|
| <b>g/ml</b>     | 0.437              | 0.02185       | 0.01456667    | 0.00874       |
| <b>mg/ml</b>    |                    | 21.9          | 14.6          | 8.7           |

*Fuente: Elaboración propia*

- **Hallando el % de Inh.**

Tabla 14.

*Porcentaje de inhibición para cada dilución.*

| <b>Ab (blanco)</b> | <b>Dilución de la muestra</b> | <b>Ab (muestra)</b> | <b>%Inh</b> | <b>Concentración (mg/ml)</b> |
|--------------------|-------------------------------|---------------------|-------------|------------------------------|
| <b>0.93</b>        | (1/20)                        | 0.443               | 52.37       | 21.9                         |
|                    | (1/30)                        | 0.63                | 32.26       | 14.6                         |
|                    | (1/50)                        | 0.782               | 16.13       | 8.7                          |

*Fuente: Elaboración propia*

Se halló el porcentaje de inhibición para las distintas concentraciones, la muestra con una concentración de 21.9mg/ml es la que presenta mayor porcentaje de inhibición, el cual significa que 21.9mg/ml de muestra inhibe el 52.37% de DPPH.

Para determinar el IC<sub>50</sub> del radical DPPH, se utilizó una curva de 8.7-21.9 mg/ml y el IC<sub>50</sub> se determinó a partir del gráfico de porcentaje de inhibición versus la concentración de la muestra.

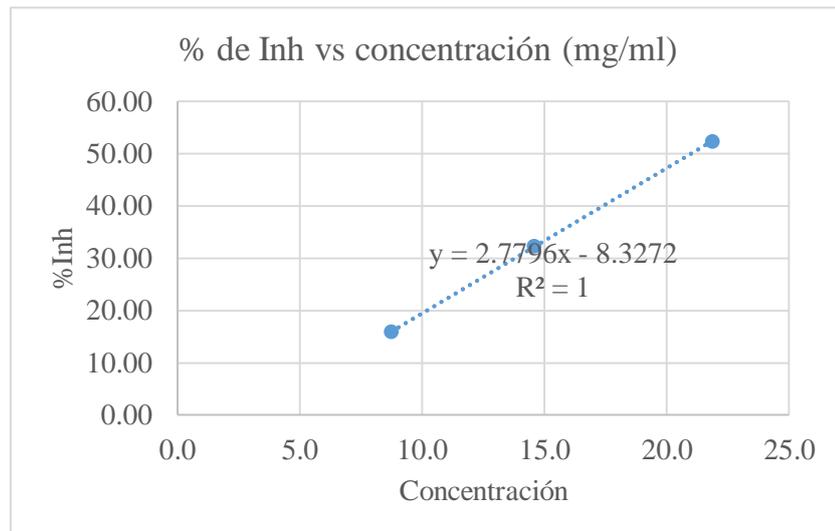


Figura 16. Porcentaje de inhibición versus la concentración de la muestra. /

Fuente: Elaboración propia.

$$\text{IC}_{50} = 20.98 \text{ mg/ml}$$

Según los resultados obtenidos se puede afirmar que 20.98 mg/ml inhibe el 50% de DPPH. Esta se define como la cantidad de muestra (mg/ml de muestra) necesaria para obtener un 50% de inhibición del radical DPPH (LILLO, 2016).

Un estudio realizado por (Lillo, 2016), en algunos berries nativos y arándanos del Cono Sur de América, por métodos espectrofotométricos y su relación con la actividad antioxidante, se determinó por los métodos de DPPH y ABTS en extractos de *Ugni moline*, *Aristotelia chilensis*, *Berberis darwinii*, *Luma apiculata* y *Vaccinium corymbosum*.

Las conclusiones a las que llegó fue que el Berry que obtuvo mayor poder antioxidante fue *A. chilensis* ya que dio un valor de  $\text{IC}_{50} = 3.70 \pm 0.09$  mg/ml mientras que *V. corymbosum* (arándanos) alcanzó un valor de  $\text{IC}_{50} = 15.40 \pm 0.12$  mg/ml.

El valor de  $\text{IC}_{50}$  es inversamente proporcional a la actividad antioxidante total, es decir que a menor valor de  $\text{IC}_{50}$  mayor actividad antioxidante (Hidalgo, 2007). Por lo antes mencionado

el *A. chilensis* tiene mayor capacidad antioxidante mientras que el *V. corymbosum* menor capacidad antioxidante.

Comparando con el estudio realizado de (Lillo, 2016) el valor obtenido en laboratorio fue de 20.98 mg/ml entonces esto revela que no hay diferencia entre los valores obtenidos, porque las condiciones a la que se han extraídos son distintas.

Un estudio realizado por (Zapata, 2014) menciona que variables de proceso tales como pH, temperatura, tiempo de extracción, tipo de solvente y proporción de materia prima / solvente, tienen una influencia significativa en la extracción sólido líquido.

La luz es un factor que acelera la degradación de las antocianinas, pero también las antocianinas pueden oxidarse por reacción directa con el oxígeno (Zapata, 2014). Estas variables podrían ser una de las causas de los valores obtenidos.

### **MÉTODO FERMENTACIÓN**

Brix :12.5

pH:3.2

Arándanos: 50 gramos

**Rendimiento:**

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{W_f}{W_i} \times 100$$

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{20.18}{50} \times 100$$

$$\% \text{ rendimiento} = 40.36\%$$

Cuantificación de antocianinas por el Método pH  
diferencial.

Tabla 15.

*Resultados oficiales de la prueba fermentación.*

|               | pH 1.0 | pH 4.5 |
|---------------|--------|--------|
| <b>A520nm</b> | 0.993  | 0.200  |
| <b>A700nm</b> | 0.005  | 0.005  |

*Fuente: Elaboración propia*

$$A = (0.993 - 0.005)_{pH1} - (0.200 - 0.005)_{pH4.5}$$

$$A = 0.793$$

Reemplazando:

$$\text{Pigmento Antocianina} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{(\epsilon \times l)}$$

**Pigmento Antocianina**

$$= 0.793 \times 449.2 \frac{g}{mol} \times \frac{50}{2.5}$$

$$\times \frac{1000}{26900 \frac{l}{mol \text{ cm}} \times 1 \text{ cm}}$$

$$\text{Pigmento Antocianina} = 264.84 \text{ mg/L}$$

**Pigmento Antocianina**

$$= 26.4844 \frac{mg}{ml}, \text{ cianidina} - 3 - \text{ glucosidico}$$

En el caso del método por fermentación se obtuvo un total de 26.4844 mg/ml de antocianinas totales. Zapata (2014), “Obtención De Extracto De Antocianinas A Partir De Arándanos Para Ser Utilizado Como Antioxidante Y Colorante En La Industria Alimentaria”, obtuvo 126.3 mg/ml de antocianinas totales. Por lo tanto, se observa una gran diferencia con los resultados obtenidos en el proyecto. La diferencia generada es por diversos factores, uno de los principales es el uso del rotavapor el

cual no se procedió a hacer por problemas del aparato en el laboratorio de investigación. Se tuvo que usar en su reemplazo un sistema usando un kitasato, una bomba de vacío en baño maría. Sin embargo, no logró extraerse todo el alcohol formado durante la fermentación, el cual influyó mucho en la extracción de antocianinas.

Determinación de capacidad antioxidante por el método  
DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) propuesto por  
(Brand-Williams W, 1995)

Tabla 16.

*% Inh y Concentración para cada dilución*

*Fuente: Elaboración propia*

| Ab (blanco) | Dilución de la muestra | Ab (muestra) | %Inh  | Concentración (mg/ml) |
|-------------|------------------------|--------------|-------|-----------------------|
| 0,984       | (1/20)                 | 0,305        | 69,00 | 52,7                  |
|             | (1/30)                 | 0,488        | 50,41 | 35,2                  |
|             | (1/50)                 | 0,762        | 22,56 | 21,1                  |

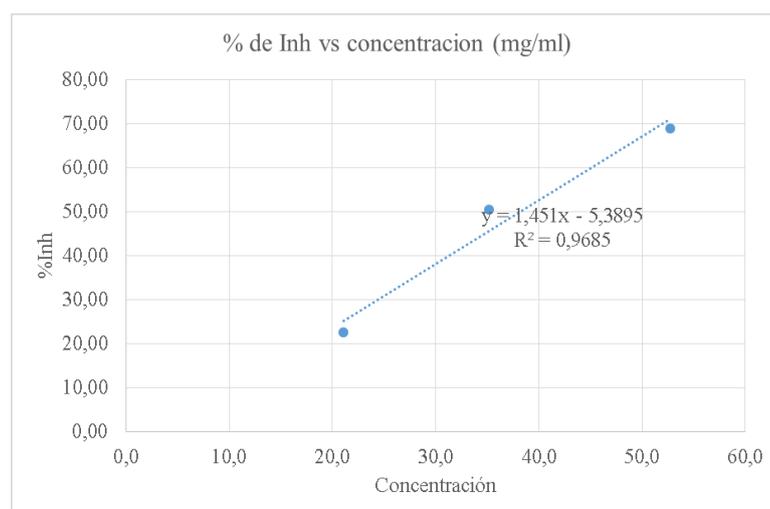


Figura 17. Porcentaje de inhibición versus la concentración de la muestra.  
Fuente: Elaboración propia.

**IC50 = 38.17 mg/ml**

**d) Diagrama de flujo definitivo (con parámetros)**

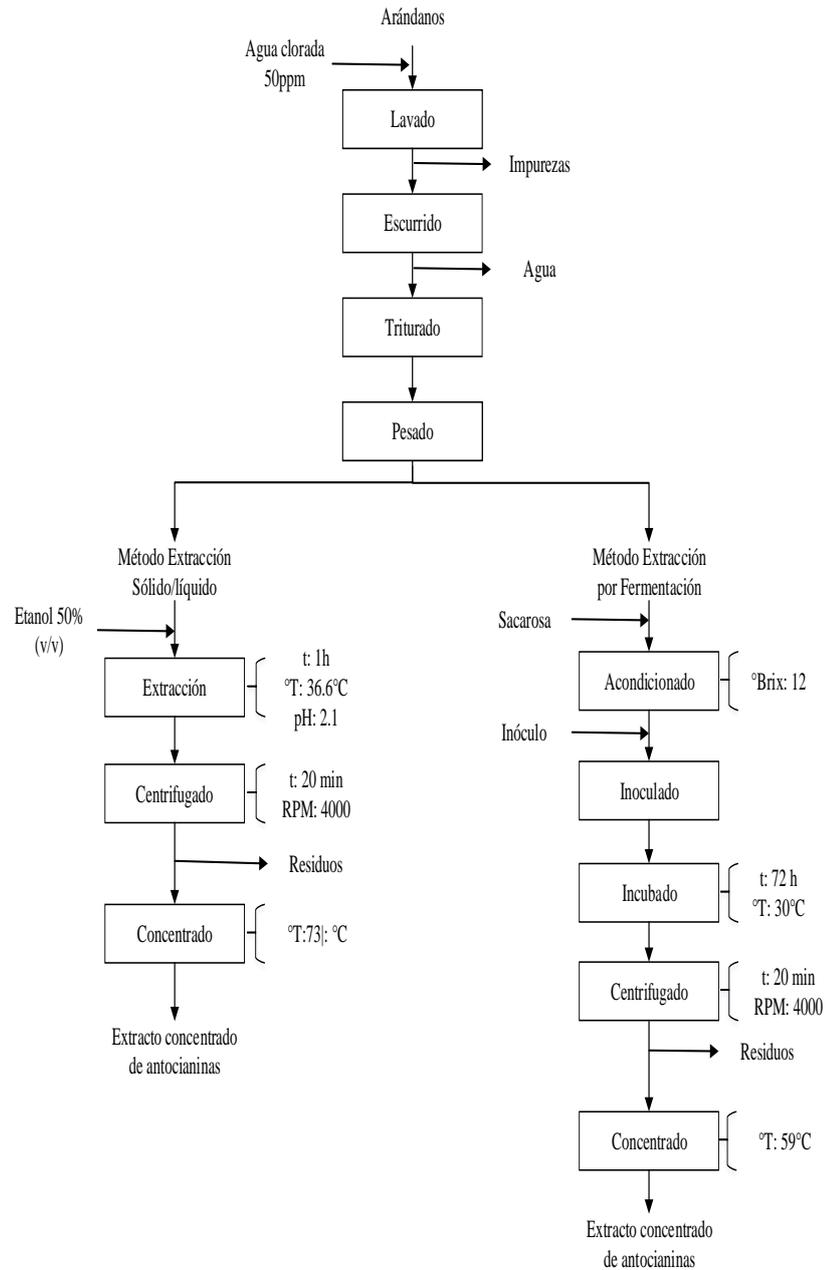


Figura 18. Diagrama de flujo definitivo. / Fuente: Elaboración propia

e) **Determinación del proceso y operaciones definitivas**  
(identificación de PCC)

Para la determinación del PCC se aplicó el árbol de secuencia de decisiones para identificar los PCC, que se muestra en la figura 10, el cual sigue un enfoque de razonamiento lógico y aplica de manera flexible teniendo en cuenta la operación de fabricación en cuestión.

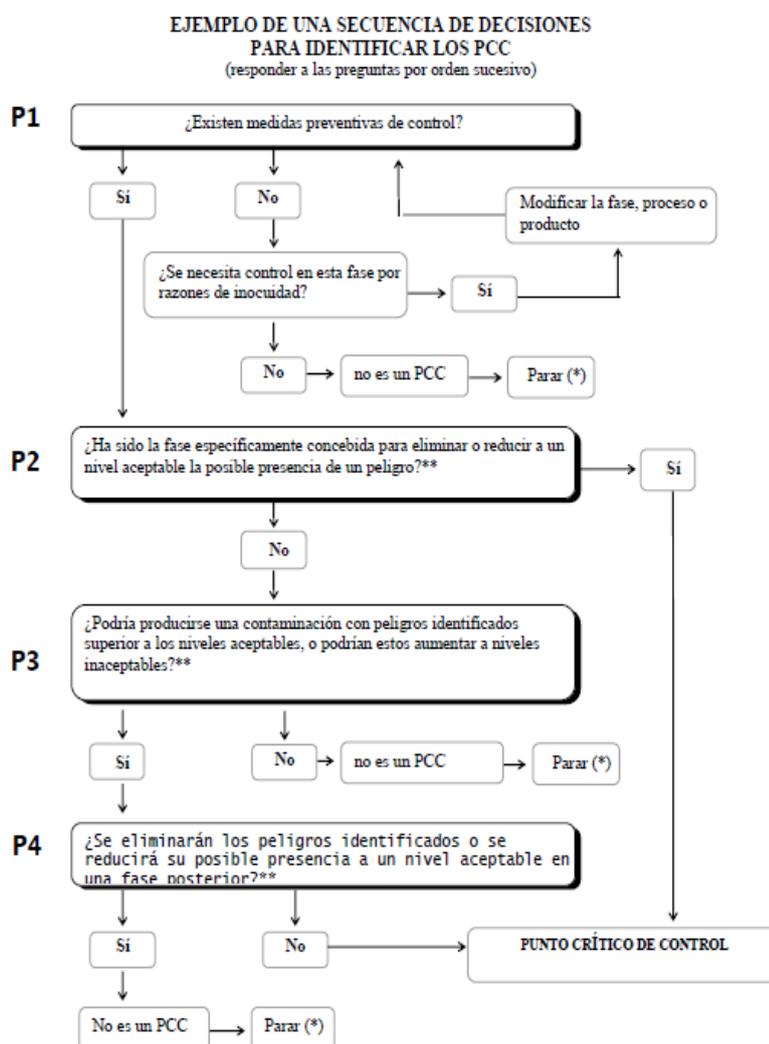


Figura 19. Secuencia de decisiones para identificar los PCC. / Fuente: Sistema de análisis de peligros y de puntos críticos de control (HACCP) - Directrices para su aplicación. FAO. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/W6419S/w6419s01.gif>

Tabla 17.

*Determinación de PCC por método sólido/líquido.*

| <b>ETAPA</b>  | <b>PELIGRO</b>  | <b>P1</b> | <b>P2</b> | <b>P3</b> | <b>P4</b> | <b>PCC</b> | <b>BASES DE LA DECISIÓN</b>                               |
|---------------|---|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|---|
| <b>LAVADO</b> | <u>FÍSICO</u>   | SI        | NO        | NO        |           | NO         | Se realizará una limpieza antes de pasar a dicho proceso. |
|               | <p> Materiales extraños o<br/> no deseados, piedras,<br/> hojas, tallos, etc.</p> | SI        | NO        | NO        |           | NO         | Se reprocesará el lavado para eliminar los residuos.      |
|               | <u>QUÍMICO</u>  |           |           |           |           |            |   |
|               | Residuo excedente de<br>hipoclorito de sodio.                                     | --        | --        | --        | --        | --         | --  |

---

BIOLÓGICO : No

existe

---

**TRITURADO**

FÍSICO

-- -- -- -- -- --

No existe.

---

QUÍMICO

-- -- -- -- -- --

No existe.

---

BIOLÓGICO

SI NO SI SI NO Los microorganismos, se eliminarán en un proceso posterior.

Contaminación por

microorganismos,

coliformes,

---

---

estafilococos,  
mesófilos.

---

**PESADO**

FÍSICO

-- -- -- --- -- --

No existe.

QUÍMICO

---

SI NO NO NO Se trabajará alejado de la luz.

---

---

Oxidación de las -- -- -- -- -- --

antocianinas.

BIOLÓGICO

No existe.

---

**EXTRACCIÓN**

FÍSICO

-- -- -- -- -- --

No existe.

QUÍMICO

Oxidación o SI NO NO NO Se trabajará a condiciones alejadas de la luz.

degradación de las

antocianinas.

---

--- -- -- -- -- --

BIOLÓGICO

---



---

|           |    |    |    |    |                                   |
|-----------|----|----|----|----|-----------------------------------|
| No existe | SI | NO | NO | NO | Se vuelve a pasar por el proceso. |
|-----------|----|----|----|----|-----------------------------------|

QUÍMICO

---

|                     |    |    |    |    |    |    |
|---------------------|----|----|----|----|----|----|
| Residuos de etanol. | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
|---------------------|----|----|----|----|----|----|

BIOLÓGICO

No existe.

---

*Fuente: Elaboración propia*

Tabla 18.

*Determinación de PCC por método de Fermentación.*

| ETAPA         | PELIGRO  | P1 | P2 | P3 | P4 | PCC | BASES DE LA DECISIÓN                                      |
|---------------|--|----|----|----|----|-----|---|
| <b>LAVADO</b> | <u>FÍSICO</u>  | SI | NO | NO |    | NO  | Se realizará una limpieza antes de pasar a dicho proceso. |
|               | Materiales extraños<br>o no deseados,<br>piedras, hojas,<br>tallos, etc. | SI | NO | NO |    | NO  | Se reprocesará el lavado para eliminar los residuos.      |
|               | <u>QUÍMICO</u>   | -- | -- | -- | -- | --  | --  |

---

Residuo excedente  
de hipoclorito de  
sodio.

BIOLÓGICO

No existe.

---

**TRITURADO**

FÍSICO

-- -- -- -- -- --

No existe.

---

QUÍMICO

-- -- -- -- -- --

No existe.

---

BIOLÓGICO

SI NO SI SI NO Los microorganismos, se eliminarán en un proceso posterior.

---

---

Contaminación por  
microorganismos,  
coliformes,  
estafilococos,  
mesófilos.

---

**PESADO**

FÍSICO

-- -- -- --- -- --

No existe.

QUÍMICO

---

SI NO NO NO Se trabajará alejado de la luz.

---

---

Oxidación de las -- -- -- -- --  
antocianinas.

BIOLÓGICO

No existe.

---

**INOCULADO**

FÍSICO -- -- -- -- --

No existe.

QUÍMICO

---

-- -- -- -- --

No existe.

BIOLÓGICO

---

No existe. --- -- -- -- --

---

|                     |                  |    |    |    |    |  |    |
|---------------------|------------------|----|----|----|----|--|----|
| <b>INCUBADO</b>     | <u>FÍSICO</u>    | -- | -- | -- | -- | --   | -- |
|                     | No existe.       |    |    |    |    |  |    |
|                     | <u>QUÍMICO</u>   | -- | -- | -- | -- | --   |    |
|                     | No existe.       |    |    |    |    |  |    |
|                     | <u>BIOLÓGICO</u> |    |    |    |    |  |    |
|                     | No existe.       | -- | -- | -- | -- | --   | -- |
| <b>CENTRIFUGADO</b> | <u>FÍSICO</u>    | -- | -- | -- | -- | --   | -- |
|                     | No existe.       |    |    |    |    |  |    |
|                     | <u>QUÍMICO</u>   | SI | NO | NO | NO | Se trabajará a condiciones alejadas de la luz. |    |

---

Oxidación de las -- -- -- -- --  
antocianinas.

BIOLÓGICO

No existe.

---

**CONCENTRADO** FÍSICO -- -- -- -- --

No existe

QUÍMICO SI NO NO NO Se vuelve a pasar por el proceso.

Residuos de etanol.

---

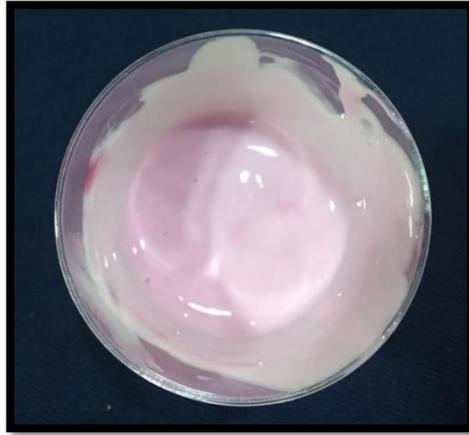
BIOLÓGICO -- -- -- -- --

No existe.

## f) Evaluación resultados finales

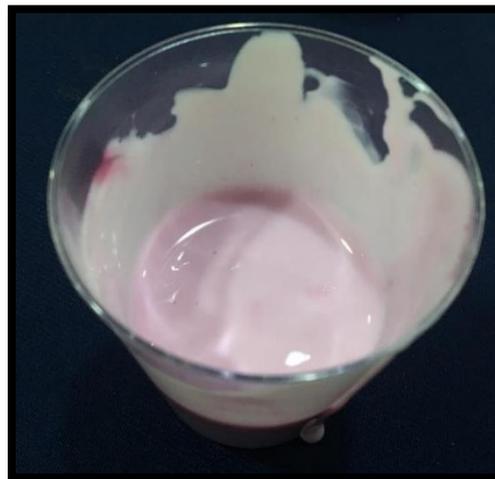
### i. Sensoriales

Para la siguiente evaluación sensorial, sólo se evaluó el color, después de ser aplicado el colorante y antioxidante.



*Figura 20. Evaluación sensorial. / Fuente: Elaboración propia*

Muestra de una semana después de ser aplicado el colorante y antioxidante, método fermentación.



*Figura 21. Evaluación sensorial. / Fuente: Elaboración propia*

## ii. Fisicoquímicas

Tabla 19.

*Resultados fisicoquímicos de ambos métodos.*

|   | Método<br>líquido   | solido- | Método<br>fermentación   |
|---|---|---------|--|
| <b>Cuantificación<br/>de<br/>antocianinas</b> | <i>Pigmento</i><br><i>Antocianina</i><br>= 129.0585<br><i>mg/ml</i> |         | <i>Pigmento</i><br><i>Antocianina</i><br>= 26.4844<br><i>mg/ml</i> |
| <b>Capacidad<br/>antioxidante</b>             | IC50 = 20.98mg  | /ml     | IC50<br>= 38.17mg/ml   |

*Fuente: Elaboración propia*

## iii. Estudio de tiempo de vida definitivo (diseño experimental)

**NOMBRE DEL PRODUCTO:** Extracto de antocianinas

**TIPO DE CONSERVACIÓN:** Conservación por refrigeración

**TIPO DE PROCESAMIENTO:** concentración

**TIPO DE ENVASE:** Frasco de vidrio ámbar

**TIPO DE ENVASADO:** Envasado al vacío

**CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO (condiciones normales):** Temperatura 4°C, protegido de la luz y oxígeno.

### MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE TIEMPO DE VIDA:

Tabla 19 . Cuadro de estudio de tiempo de vida útil.

| Factores a evaluar                |  | Tipo de prueba   | Tipo de muestreo   |
|-----------------------------------|--|--|--|
| Composición                       | Ambientales  |  |  |
| Macronutrientes:<br><b>agua</b>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Temperatura de almacenamiento</li> <li>• Presencia de oxígeno</li> <li>• pH</li> <li>• Luz</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Físicoquímico:               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Determinación de capacidad antioxidante</li> <li>○ Cuantificación de antocianinas totales</li> </ul> </li> <li>• Microbiología               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Mohos: &lt;math&gt;10^2&lt;/math&gt; UFC/g</li> <li>○ Levaduras: &lt;math&gt;10^2&lt;/math&gt; UFC/g</li> </ul> </li> </ul> | -Tipo: método indirecto<br>-Frecuencia: quincenal<br>-Parámetro crítico a evaluar: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Color</li> </ul> |
| Pigmentos:<br><b>Antocianinas</b> |  |  |  |
| pH: <b>2.5</b>                    |  |  |  |
|                                   |  |  |  |

Fuente: Elaboración propia

## g) Ficha técnica del producto o proceso

Tabla 20.

*Ficha técnica del extracto de antocianinas.*

| FICHA TÉCNICA DEL PRODUCTO DE PRODUCTO  |  |
|---|--|
| <b>NOMBRE DEL PRODUCTO</b>              | Obtención de extracto de antocianinas a partir del descarte de exportación de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria.  |
| <b>DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO</b>         | <p>El colorante natural es un aditivo alimentario, extraído a partir de arándanos que no cumplen con los parámetros de exportación, estos son sometido a dos procesos de extracción, solido: solvente y extracción por fermentación, para poder obtener el extracto.</p> <p>La concentración de antocianina fue cuantificada por el método de diferencial de pH y la concentración de antioxidante fue cuantificado por el método de DPPH.</p> |
| <b>LUGAR DE ELABORACIÓN</b>             | Fue elaborado laboratorio de investigación de USIL, sede La Molina.  |
| <b>CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS.</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• pH:3.0</li> <li>• °Brix 12</li> </ul> <p style="text-align: center;"><b><u>Análisis</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Antioxidante totales:<br/><b>IC50 = 20.98mg/ml</b></li> <li>• <b>Cantidad</b> <b>de</b></li> </ul>   |

---

**antocianinas :**

$$129.0585 \frac{mg}{ml}, \text{cianidida} - 3$$

– glucosidico

---

**CARACTERÍSTICAS  
SENSORIALES.**

- Color: Negro azulado
- Olor: Característico al arándano
- Sabor: Algo acido
- Apariencia: Liquido limpio y homogéneo.

---

**CONDICIONES  
AMBIENTALES**

- Temperatura de refrigeración: 4°c
- Proteges de la luz y el oxígeno.

---

**ENVASE**

- Botella de vidrio (ámbar).

---

**MÉTODO DE  
CONSERVACIÓN**

- Refrigeración (4°c).
- 

*Fuente: Elaboración propia*

#### **h) Prototipo validado.**

Se eligió una botella de 250 ml de color ámbar, el producto se llamará “Arandina”, se mantendrá bajo refrigeración a 4 °C. Se eligió ese color para proteger al producto de la degradación de la luz y se debe proteger del oxígeno, de esa manera se conservará la capacidad antioxidante y no se degradarán las antocianinas.

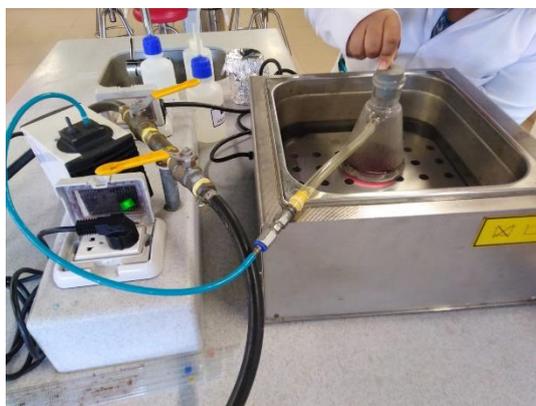


*Figura 22. Prototipo validado / Fuente: Elaboración propia*

### i) Conclusiones y Recomendaciones

- La obtención de extracto mediante la metodología sólido-líquido fue mucho más sencilla además requiere de menor tiempo en comparación a la metodología por fermentación.
- Las dos metodologías aplicadas, sólido- líquido y fermentación, para la cuantificación de la actividad antioxidante, presentan diferencia porque la actividad antioxidante del extracto obtenido (sólido- líquido) fue mayor.
- Algunas variables de proceso como, pH, temperatura, tiempo de extracción, proporción de materia prima y el solvente influye directamente en la extracción sólido- líquido.

### j) Anexos



*Figura 23. Sistema armado. Reemplazo de rotavapor. / Fuente: elaboración propia*



*Figura 24. Arándanos utilizados en la investigación / Fuente: Elaboración propia*



*Figura 25. Trituración de arándanos. / Fuente: Elaboración propia*



*Figura 26. Extracción sólido/solvente. / Fuente: Elaboración propia*

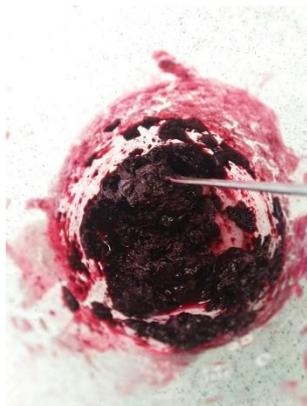


Figura 27. Inoculo para fermentación. / Fuente: Elaboración propio

### **REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA**

- Benavides (2013). “*ESTUDIO DE PRE-FACTIBILIDAD DE EXPORTACIÓN DE ARÁNDANOS A ESTADOS UNIDOS Y HOLANDA*” .Recuperado de [:http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/20.500.12404/12103/GIRON\\_ALICIA\\_FACTIBILIDAD\\_EXPORTACION\\_ARANDANOS.pdf?sequence=1](http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/20.500.12404/12103/GIRON_ALICIA_FACTIBILIDAD_EXPORTACION_ARANDANOS.pdf?sequence=1)
- Brand-Williams W, C. M. (1995). “*Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.*” Food Sci Technol. Recuperado de : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643895800085?via%3Dihub>

- Campo, L. (2017, 12 junio). “*Poder antioxidante [Comentario en un blog]*”. Recuperado 26 noviembre, 2019, de <https://www.saludysaludmasterd.es/blog/salud/el-poder-antioxidante>
- Carmona (2013) “*De colorantes sintéticos a naturales en la industria alimentaria*”. Agrimundo. Recuperado de [:http://www.agrimundo.gob.cl/wp-content/uploads/130426\\_reporte\\_alimentos\\_procesados\\_n51.pdf](http://www.agrimundo.gob.cl/wp-content/uploads/130426_reporte_alimentos_procesados_n51.pdf)
- Ceron B.(2009) “*Extracción, caracterización y estabilidad de antocianinas y otros compuestos antioxidantes obtenidos a partir de zarzamora*” Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Escuela de Ingeniería y Ciencias, Universidad de las Américas Puebla. Recuperado de : [http://catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/ia/ceron\\_b\\_m/](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/ia/ceron_b_m/)
- Diario Gestión (2019). “*Arándanos: Radiografía del cultivo cuya producción crece 206% anual en el Perú*”. Recuperado de: <https://gestion.pe/economia/arandanos-radiografia-cultivo-cuya-produccion-crece-206-anual-peru-257019-noticia/>
- Espinoza, R. (2018) “*PRINCIPALES LIMITACIONES QUE ENFRENTA LA PRODUCCIÓN DE ARÁNDANOS EN LA REGIÓN DE LA LIBERTAD PARA SU OFERTA EXPORTABLE AL MERCADO DE ESTADOS UNIDOS*”

Tesis de grado. Universidad San Martín de Porres. Lima, Perú.

Recuperado de:

[http://www.repositorioacademico.usmp.edu.pe/bitstream/usmp/3928/1/espinoza\\_crp.pdf](http://www.repositorioacademico.usmp.edu.pe/bitstream/usmp/3928/1/espinoza_crp.pdf)

- Gamboa et al. (2018). “*DETERMINACIÓN DE LA TEMPERATURA Y CONCENTRACIÓN DE LA SOLUCIÓN OSMÓTICA EN LA DESHIDRATACIÓN DEL ARÁNDANO (Vaccinium corymbosum L.)*” Tesis de grado. Universidad Nacional del Santa. Nuevo Chimbote, Perú. Recuperado de: <http://repositorio.uns.edu.pe/bitstream/handle/UNS/3058/47045.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Garzón (2008).” *LAS ANTOCIANINAS COMO COLORANTES NATURALES Y COMPUESTOS BIOACTIVOS: REVISIÓN*”. Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. Recuperado de : <https://www.redalyc.org/pdf/3190/319028004002.pdf>
- Hidalgo, P. d. (2007). “*Determinación de las propiedades antioxidantes de jugos de naranja comerciales*”. Guatemala. Recuperado de : [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_2564.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2564.pdf)
- Huapaya, M. (2017) “*FACTORES A CONSIDERAR PARA LA EXPORTACIÓN DE ARÁNDANOS FRESCOS AL MERCADO ALEMÁN, 2017*”. Tesis de grado. Universidad Privada del Norte. Lima- Perú. Recuperado de:

<http://repositorio.upn.edu.pe/bitstream/handle/11537/12870/Huapaya%20Mendoza%20Manuel%20Alberto.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Infobae (2019) “*Arándano, la fruta con mayor poder antioxidante*”. Recuperado de : <https://www.infobae.com/2011/09/08/604371-arandano-la-fruta-mayor-poder-antioxidante/>
- Kuskoski, E.M. et al. (2005) “*APLICACIÓN DE DIVERSOS MÉTODOS QUÍMICOS PARA DETERMINAR ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN PULPA DE FRUTOS*”. Recuperado de: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf>
- LILLO, A. C.-C. (2016). “*Cuantificación espectrofotométrica de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en distintos berries nativos del Cono Sur de América*”. Argentina. Recuperado de ; <http://ria.inta.gob.ar/sites/default/files/trabajosenprensa/zamora-castellano-4.pdf>
- Mercola, J. (2016) “*¿Están usted y su familia ingiriendo colorantes alimenticios tóxicos?*” Recuperado de: <https://articulos.mercola.com/sitios/articulos/archivo/2016/01/04/esta-comientos-colorantes-toxicos.aspx>
- MINAGRI (2019) “*Reporte de Ingreso y Precios en el Gran Mercado Mayorista de Frutas - 2019*”. Recuperado de: <https://www.minagri.gob.pe/portal/reporte-mercado-mayorista-de-frutas-n-2/fruta-2019>

- Mintel (2014). “*LAS VENTAS DE COLORANTES ALIMENTARIOS NATURALES SUPERARON A LAS DE COLORANTES ARTIFICIALES*” Recuperado de: <https://es.mintel.com/blog/alimentos/las-ventas-de-colorantes-alimentarios-naturales-suben>
- Molina (2019). “*Producción y exportación del arándano creció a más del 200% en menos de dos años*”. Recuperado de : <https://gestion.pe/economia/produccion-exportacion-arandano-crecio-200-dos-anos-260136-noticia/>
- Pino, M.T. (2017) “*Colorantes naturales: nuevos matices para la industria alimenticia*” Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Chile. Recuperado de: <http://www.inia.cl/blog/2017/10/24/colorantes-naturales-nuevos-matices-para-la-industria-alimenticia/>
- PROMPERU (2019) “*Informe anual 2018 del Desarrollo del comercio exterior Agroexportador*” Lima, Perú. Recuperado de: <http://www.siicex.gob.pe/siicex/resources/sectoresproductivos/Desenvolvimiento%20agroexportador%202018.pdf>
- Sánchez (2018), “*EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y EL TIEMPO EN LA CINÉTICA DE DEGRADACIÓN TÉRMICA DE LAS ANTOCIANINAS DEL NÉCTAR DE ARÁNDANO (Vaccinium corymbosum L.)*” Recuperado de : [http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/3390/TESIS%20AI174\\_San.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/3390/TESIS%20AI174_San.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- Terrones , L. et al “*MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DEL COLORANTE DE Zea maíz L (MAIZ MORADO) PARA LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA SALUDABLE*”, Recuperado de :  
[http://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/UNTRM/766/FIA\\_196.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/UNTRM/766/FIA_196.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Valle, M. et al (2012) “*Evaluación de la estabilidad de antocianinas durante el almacenamiento de zanahoria púrpura (Daucus carota)*” Lima, Perú. Recuperado de:  
[https://guzlop-editoras.com/web\\_des/ing01/alimentaria/pld0382.pdf](https://guzlop-editoras.com/web_des/ing01/alimentaria/pld0382.pdf)
- Zapata, L.M. (2014) “*OBTENCIÓN DE EXTRACTO DE ANTOCIANINAS A PARTIR DE ARÁNDANOS PARA SER UTILIZADO COMO ANTIOXIDANTE Y COLORANTE EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA*” Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. Recuperado de:  
<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/39105/Versi%C3%B3n%203%20Tesis%20Luz%20Marina%20Zapata.pdf%20%281%29.PDF?sequence=21>