



# UNIVERSIDAD DE Belgrano

BUENOS AIRES - ARGENTINA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, FCEN.  
Universidad de Belgrano.

## Recuperación y aprovechamiento de antocianinas de residuos vegetales

Obtención y cuantificación de antocianinas a partir de residuos de  
vegetales, promoviendo la generación de valor agregado de estos  
desechos de la industria alimenticia.

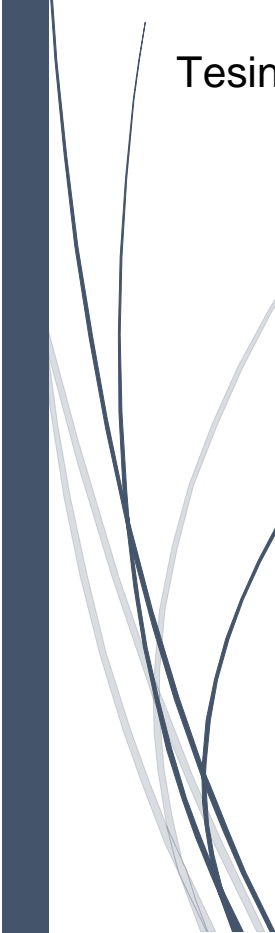
Tesina para optar al título de Licenciatura en Ciencias  
Químicas.

**Esteban Edgardo Murúa**  
(Matrícula: 2460)

**Directora:** Dra. Ing. Patricia A. Della Rocca

**Codirectora:** Lic. Lisette Pot

**Año:** 2023



## AGRADECIMIENTOS

En primera instancia agradezco a mis formadores, personas de gran sabiduría quiénes se han esforzado por ayudarme a llegar al punto en el que me encuentro. En particular a mi tutora, Dra. Ing. Patricia A. Della Rocca quien me guio con mucho empeño durante todo el proceso de este trabajo, y al director de carrera, el Dr. Daniel Bacelo, quien me asesoro, aconsejo y acompaño a lo largo de toda la carrera.

A mis padres, Marcelo Alejandro Murua y María Gabriela Martínez Von Scheidt que tanto apoyo me han brindado en este trayecto y quienes velaron por mi bienestar todo este tiempo.

A cada uno de mis hermanos, Guadalupe Murua, quien me apoyo incondicionalmente todo este tiempo y siempre me alentó a continuar este camino; a Tatiana Murua, quien me sirvió de apoyo en muchas ocasiones y me mostro múltiples formas de ver los eventos en la vida; y a Bernardo Murua, con quien compartí más tiempo de convivencia durante este periodo y me ayudo en un sin número de ocasiones.

Finalmente, a mis amigos, compañeros y pares con quiénes compartí este periodo tan importante de mi vida, tanto a nivel personal como profesional.

Sencillo no ha sido el proceso, pero gracias a las ganas de transmitirme sus conocimientos, dedicación y paciencia que los ha regido, he logrado importantes objetivos como culminar el desarrollo de mi tesis con éxito y obtener una afable titulación profesional.

## RESUMEN

Las antocianinas son compuestos bioactivos que desempeñan diversas funciones, una de las cuales es la coloración. Son flavonoides que se encuentran ampliamente en la naturaleza y se consumen como parte de la dieta humana. La industria alimentaria produce una gran cantidad de residuos alimentarios, de los cuales se pueden extraer estos compuestos bioactivos, entre otros.

En este trabajo, se realizó un estudio comparativo sobre el contenido de antocianinas en vegetales en estado fresco y en etapa avanzada de madurez, que pueden considerarse como residuos en esta fase de su vida. Los vegetales estudiados fueron repollo morado, berenjena y pimiento rojo, y las frutas fueron arándanos, frutillas y cerezas, todas ellas ampliamente consumidas en la República Argentina. El objetivo fue determinar la posible variación en las antocianinas cuando alcanzan el momento de ser descartadas y analizar si su contenido es importante para su aprovechamiento. Las muestras que presentaron las mejores características para su implementación como fuente de antocianinas fueron el repollo morado y los arándanos, con niveles de antocianinas más altos que las otras muestras, 323.15 y 168.48 mg/100g, respectivamente. En las muestras simuladas de residuos, se pudo observar una disminución del 10% en el repollo morado y un aumento del 11% en los arándanos. Esta pérdida podría deberse a la degradación de algunas de las antocianinas después de 7 días de almacenamiento a temperatura ambiente. En el caso de los arándanos, este aumento podría atribuirse a un mayor grado de madurez de los arándanos después de ese período de tiempo, lo que conlleva un aumento en el contenido de antocianinas. Asimismo, se realizó un análisis por HPLC y se pudieron identificar las principales antocianinas que se encuentran en su composición en las diferentes muestras analizadas. En la muestra de repollo morado, se encontraron Cyd-3-Soph-5-Glu, Cyd-3,5-diGlu, Cyd-3(p-OH-Ben) Soph-5-(Oxa) Glu, Cyd-3(Sin) Triglu-5-Glu. y en las muestras de arándanos se encontró una amplia variedad de antocianinas. Ellas fueron: Del-3-O-Gal., Cyd-3-O-Gal., Del-3-O-Ara., Pet-3-O-Gal., Pet-3-O-Ara., Cyd-3-O-Ara., Mal-3-O-Glu., Mal-3-O-Ara. Además, se realizaron análisis de TLC y espectro de absorción en el infrarrojo cercano. Se encontraron las bandas de absorción de los grupos funcionales característicos de las estructuras de las antocianinas. Por último, a través de los resultados obtenidos, podemos afirmar que el uso de residuos de frutas y verduras para obtener antocianinas es factible, aunque se necesitará más investigación para continuar optimizando el proceso de extracción, la protección de las antocianinas de agentes externos que puedan degradarlas y su escalado a nivel industrial. Asimismo, será necesario estudiar sus numerosas aplicaciones para contribuir a la sostenibilidad del planeta.

**Palabras claves:** antocianinas, flavonoides, compuestos bioactivos, residuos alimenticios.

## ABSTRACT

Anthocyanins are bioactive compounds that serve various functions, one of which is coloration. They are flavonoids widely found in nature and consumed as part of the human diet. The food industry produces a large amount of food waste, from which these bioactive compounds, among others, can be extracted.

In this work, a comparative study was carried out on the anthocyanin content of vegetables in a fresh state and in an advanced stage of maturity, which may be required as a residue in this phase of their life. The vegetables studied were purple cabbage, eggplant and red pepper, and the fruits were blueberries, strawberries and cherries, all of them widely consumed in the Argentine Republic. The purpose was to determine the possible variation in anthocyanins when they reach the moment of they are discarded and to analyze if their content is important for their use. The samples that presented the best characteristics for its implementation as a source of anthocyanins were red cabbage and blueberries, with higher anthocyanin levels than the other samples, 323.15 and 168.48 mg/100g, respectively. In the residue simulated samples, a 10% decrease could be seen in red cabbage and an 11% increase in blueberries. This loss could be due to the degradation of some of the anthocyanins after 7 days of storage at room temperature. In the case of blueberries, this increase could be attributed to a greater ripening of the blueberries after that period of time, which produces an increase in the anthocyanin content. Likewise, an HPLC analysis was carried out and the main anthocyanins found in its composition could be identified in the different samples analyzed. In the red cabbage sample, Cyd-3-Soph-5-Glu, Cyd-3,5-diGlu, Cyd-3(p-OH-Ben) Soph-5-(Oxa) Glu, Cyd-3( Syn) Trigu-5-Glu. and in the blueberry samples, a wide variety of anthocyanins were found. They were: Del-3-O-Gal., Cyd-3-O-Gal., Del-3-O-Ara., Pet-3-O-Gal., Pet-3-O-Ara., Cyd-3-O-Ara., Mal-3-O-Glu., Mal-3-O-Ara. In addition, TLC and near-infrared absorption spectrum analyzes were performed. The absorption bands of the characteristic functional groups of the anthocyanin structures were found. Finally, through the results obtained, we can affirm that the use of fruit and vegetable residues to obtain anthocyanins is feasible, although further research will be needed in order to continue optimizing the extraction process, the protection of anthocyanins from external agents that may degrade them and their scaling to an industrial level. Likewise, the study of its numerous applications will be required for contributing to the planet's sustainability.

**Key words:** anthocyanins, flavonoids, bioactive compounds, food waste.

## ÍNDICE

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	1
<b>RESUMEN</b> .....	2
<b>ABSTRACT</b> .....	3
<b>ÍNDICE</b> .....	4
<b>ABREVIATURAS</b> .....	6
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	9
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	13
<b>Flavonoides, su estructura</b> .....	14
<b>Antocianinas, características y estructura</b> .....	15
<b>Estabilidad de las antocianinas</b> .....	17
<b>Origen - Donde se encuentran</b> .....	20
<b>Funciones de las antocianinas</b> .....	22
<b>Tipos de antocianinas</b> .....	24
<b>Historia o usos a lo largo de la historia</b> .....	27
<b>Usos contemporáneos</b> .....	27
<b>Propiedades fisicoquímicas</b> .....	28
<b>Métodos de extracción de antocianinas sin solventes a partir de residuos de vegetales</b> .....	32
<b>Aprovechamiento y encapsulación de antocianinas</b> .....	33
<b>Aplicaciones</b> .....	33
<b>Información de las muestras: Taxonomía e información adicional</b> .....	35
Berenjena ( <i>Solanum melongena</i> L.) .....	35
Brassica oleracea var. capitata f. rubra (repollo colorado): .....	37
Morrón rojo o pimiento rojo ( <i>Capsicum annuum</i> ) .....	39
: .....	39
Arándanos ( <i>Vaccinium sect. Cyanococcus</i> ) .....	41
Frutillas ( <i>Fragaria ananassa duchesne</i> ) .....	43
Cerezas ( <i>Prunus</i> subg. <i>Avium</i> ) .....	45
<b>Residuos alimenticios y su posible aprovechamiento</b> .....	47
<b>Objetivos generales</b> .....	53
<b>Objetivos Específicos</b> .....	53
<b>Hipótesis</b> .....	53

<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	54
<b>Materiales y reactivos</b> .....	55
<b>PROCEDIMIENTO</b> .....	56
<b>Preparación de muestras</b> .....	57
<b>Extracción y maceración</b> .....	58
<b>Determinación de las antocianinas Totales</b> .....	63
<b>Purificación del extracto</b> .....	65
<b>Identificación de antocianinas por HPLC</b> .....	66
<b>METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA</b> .....	74
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	75
<b>Resultados obtenidos en determinación de antocianinas totales</b> .....	76
<b>Resultados del ensayo: Identificación de antocianinas por HPLC</b> .....	82
<b>Resultados del ensayo: Identificación por TLC-IR</b> .....	90
<b>CONCLUSIONES</b> .....	93
<b>REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA</b> .....	97
<b>Anexo 1</b> .....	111
<b>Anexo 2</b> .....	119
<b>Anexo 3</b> .....	128
<b>Anexo 4</b> .....	147

## ABREVIATURAS

AMBA: área metropolitana de Buenos Aires.

Apc: poliposis coli adenomatosa.

AcN: reactivo Acetonitrilo, de calidad y para uso cromatográfico.

Ara: Arabinosa (monosacárido de 5 carbonos).

Ben: Benzoilo.

CABA: Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

Cyd: Cianidina (antocianina específica).

Del: Delfinidina (antocianina específica).

Et. Al.: et alia (plural neutro)

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (por sus siglas en ingles).

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos (por sus siglas en ingles).

FM: Fase Móvil, usado en técnicas cromatográficas.

Gal: Galactosa (monosacárido).

Glu: glucosa (monosacárido).

HDL: lipoproteínas de alta densidad (por sus siglas en ingles).

HPLC MS-MS: Cromatógrafo líquido de alto desempeño, con detector masa acoplado (por sus siglas en ingles).

HPLC-DAD: Cromatógrafo líquido de alto desempeño, con detector arreglo de diodos (por sus siglas en ingles).

INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

ITIS: Sistema Integrado de Información Taxonómica.

LCAT: enzima Lecitin Colesterol Acil Transferasa.

Mal: Malvidín (antocianina específica).

Min: neoplasia intestinal múltiple.

NEA: Nor este argentino.



NOA: Nor oeste argentino.

ORAC: capacidad de absorción de radicales de oxígeno (por sus siglas en ingles).

Oxa: Oxalato.

Peg: Pelargonidina (antocianina especifica).

Pet: Petunidina (antocianina especifica).

PPO: polifenol oxidasa.

RNS: especies reactivas de nitrógeno (por sus siglas en ingles).

ROS: especies reactivas de oxígeno (por sus siglas en ingles).

RSU: Residuo solido urbano.

Rut: Rutinósido (disacárido).

Sin: sinapoyl.

Soph: Soforósido (disacárido de glucosa, con enlace  $\beta$ -1,2).

TEAC: capacidad antioxidante equivalente de Trolox (por sus siglas en ingles).

TLC: cromatografía de capa delgada o Thin Layer Chromatography.

TR: tiempo de retención.

UHPLC o UPLC: Cromatógrafo liquido de ultra desempeño.

UV: Ultravioleta (o radiación dentro del espectro ultravioleta).

UV-Vis: espectrofotómetro UV-Vis.

## INTRODUCCIÓN

La industria alimenticia argentina produce y procesa un enorme volumen de productos vegetales diariamente y también, genera importante cantidad de residuos, de los cuales se pueden recuperar nutrientes que, convenientemente tratados, pueden formar parte de nuevos alimentos para personas y animales o fertilizantes y nutrientes agrícolas. Al mejorar la eficiencia en el uso de los recursos alimenticios se pueden resolver algunos problemas ambientales y de seguridad alimentaria. Las pérdidas y desperdicios de alimentos se producen en todos los eslabones de la cadena alimentaria: en el campo, en las industrias de transformación, distribución, comedores escolares, restaurantes y hogares (Myer et al., 1999; Ramírez et al., 2017). Las causas de los desperdicios varían según el tipo de producción, almacenamiento, transporte y envasado (Cabanas, 2014). Actualmente, se busca conseguir una economía circular, en la que se reutilicen los materiales que contienen los residuos para la producción de nuevos productos o materias primas. Para ello, es necesario que haya un cambio importante en el comportamiento tanto de los productores, como de los consumidores, siendo de vital importancia el reciclaje y la valorización material de los residuos. Además, es importante que una vez generados los residuos se puedan tratar inmediatamente para que el aprovechamiento sea máximo y los componentes bioactivos como pueden ser el de algunos antioxidantes no se deterioren en el tiempo.

Las cáscaras, orujo y semillas obtenidas a partir de desechos de procesamiento de frutas podrían ser una buena materia prima para la recuperación de pectina, lípidos, flavonoides y fibras dietéticas (Banerjee et al., 2017). El salvado de arroz, trigo y maíz, son unas de las principales fuentes de residuos agrícolas, ricos en fibra, proteínas, minerales, vitaminas y compuestos bioactivos como tocoferoles, polifenoles y alquilresorcinoles. todos ellos antioxidantes naturales (Ravindran & Jaiswal, 2016; Chiou et al., 2012)

En esta tesis se enfocó el estudio en las antocianinas (flavonoides) obtenidas a partir de residuos de desechos frutihortícolas.

Las antocianinas presentan importantes aplicaciones como su uso como pigmentos naturales y también como suplemento dietario. Se les atribuyen gran cantidad de beneficios para la salud humana. Además de su posible empleo para reemplazar colorantes artificiales que pueden ser perjudiciales a los consumidores o al medio ambiente.

El contenido de antocianinas en los vegetales puede modificarse por factores agronómicos, según la variedad o por condiciones ambientales. Las antocianinas muestran inestabilidad hacia una variedad de parámetros químicos y físicos, incluyendo el oxígeno, las altas temperaturas, la luz, diferentes valores de pH, enzimas y reacciones con otros compuestos en los alimentos o sistemas corporales (García Pastor, 2016; Andersen & Jordheim, 2013).

La concentración de antocianinas aumenta durante el proceso de maduración en todos los vegetales. En el género *Vaccinium*, este incremento se produciría debido a que las bayas en las

primeras etapas de madurez contienen clorofilas (pigmento de color verde), las que se degradan progresivamente siendo reemplazadas por las antocianinas, las mismas que se manifiestan con la coloración característica roja, morada o negra que se complementan con una serie de otros compuestos tales como taninos y otros ácidos orgánicos, dando como resultado colores más oscuros y variados (Qudsieh, et. al., 2002).

Los residuos agroindustriales tienen un gran potencial para generar aditivos alimentarios que pueden ser beneficiosos para garantizar la sostenibilidad alimentaria mundial (Görgüç et al., 2020). Teniendo en cuenta sus altos niveles de eliminación, los subproductos de origen vegetal se pueden utilizar para obtener productos bioactivos comercialmente valiosos (Salami et al., 2019). Un compuesto bioactivo es una sustancia que tiene actividad biológica. En un sentido más amplio, es una sustancia que tiene un efecto o puede desencadenar una respuesta fisiológica positiva en un organismo vivo. Al provenir de fuentes vegetales, los compuestos bioactivos son fitoconstituyentes que forman parte de la cadena alimentaria y son responsables de numerosos efectos beneficiosos para la salud. Por ejemplo, las principales bioactividades de las antocianinas son las propiedades antioxidantes, anticancerígenas, antiinflamatorias, antialérgicas, antiteratogénicas y antiproliferativas (Guaadaoui et al., 2014). Muchos vegetales poseen importantes cantidades de antocianinas. La industria vinícola genera residuos de la uva, de los que se pueden recuperar o derivar productos valiosos como etanol, ácido cítrico, tartratos y también antocianinas.

La col o también denominado repollo morado o colorado es una de las hortalizas más importantes que se cultivan en todo el mundo. Asimismo, contiene una gran cantidad de flavonoides, entre ellos las antocianinas, que son las responsables de su color característico (Ramos Lalaleo, 2019). Antiguamente, se la usaba con fines medicinales (Singh et al. 2006: Ghosh, 2005). Actualmente, el repollo colorado se lo expende cortado y refrigerado para ensaladas y durante este proceso se producen grandes desperdicios.

En el presente trabajo se utilizó un conjunto de seis muestras de tres frutas (arándanos, cerezas y frutillas) y de tres verduras (col morada, berenjenas y pimiento morrón) de amplio consumo nacional, y que es altamente probable que posean antocianinas. Se buscó un método de extracción por solventes adecuado. Se realizaron análisis de identificación y cuantificación. Luego, se procedió a comparar las diferencias en contenido de antocianinas presentes en cada muestra al comienzo del estudio (en estado fresco o listas para el consumo) y pasado un período de tiempo (residuo), cuando ya podríamos considerar que no eran aptas para el consumo. Para ello, se simuló los residuos dejando los vegetales a temperatura ambiente durante 7 días. El objetivo fue comparar la cantidad de antocianinas presentes en los vegetales en estado fresco y en el residuo y de esta forma evaluar si es posible aprovechar las antocianinas en este último para destinarlo luego a usos como antioxidantes, colorantes e indicadores de pH naturales, u otros fines. Además, de analizar e intentar justificar las posibles degradaciones en el tiempo,

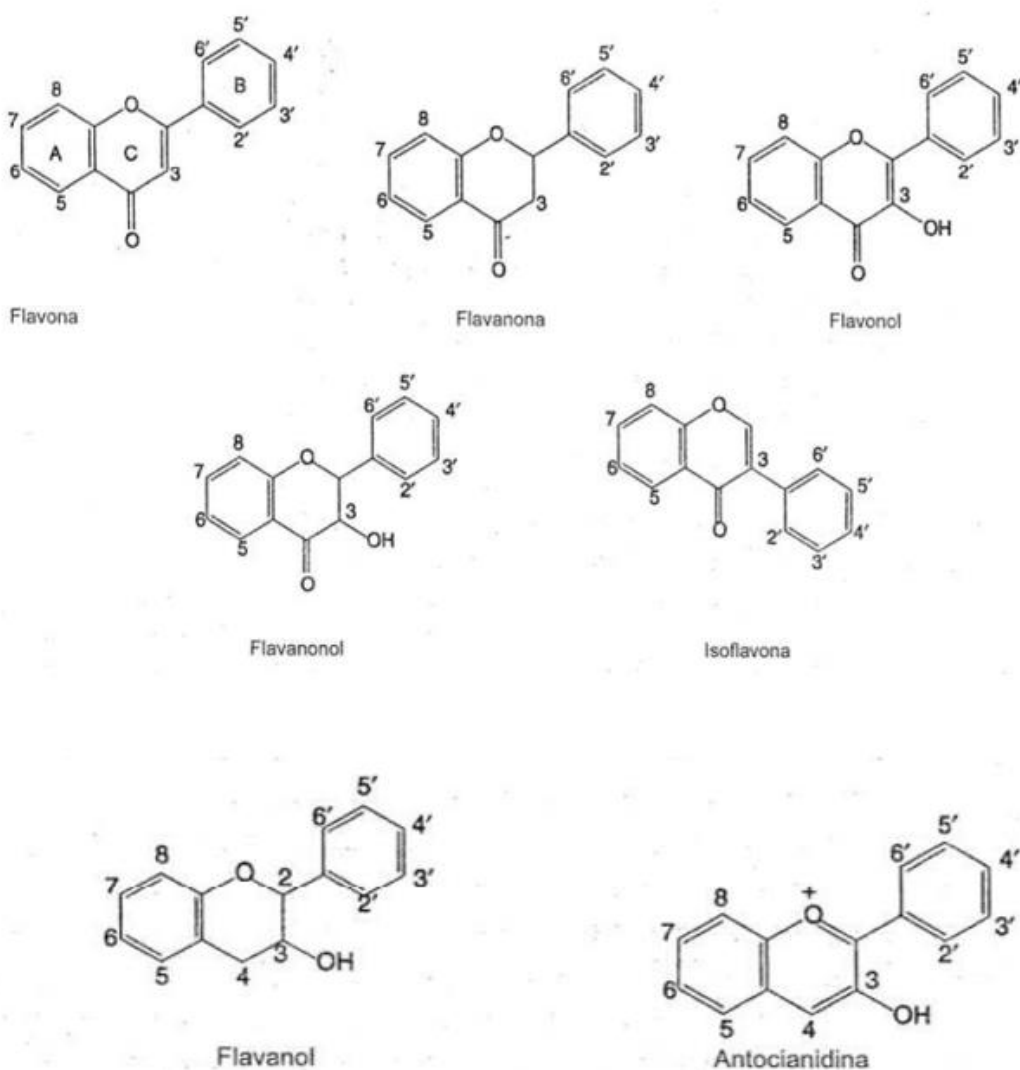
sabiendo que este tema depende de varios factores y es un fenómeno muy complejo tal como se puede concluir a través de la literatura.

## MARCO TEÓRICO

## Flavonoides, su estructura

Las plantas sintetizan flavonoides como metabolitos secundarios con función protectora frente a la radiación UV, patógenos y herbívoros. En los humanos, los flavonoides presentan efectos bioquímicos y farmacológicos, como antioxidantes, antiinflamatorios y antialérgicos (Castellanos Ruiz, 2019).

Los flavonoides pueden clasificarse en 7 grupos: flavonas, flavononas, flavonoles (catequina), flavanonoles, isoflavonas, flavanoles y antocianidinas, cuyas estructuras se presentan en la **Figura 1** (Fennema, 2019).



**Figura 1:** Estructura de los flavonoides (Fennema, 2019).

## Antocianinas, características y estructura

Las antocianinas se consideran una subclase de los flavonoides; también se conocen como flavonoides azules. Son compuestos vegetales no nitrogenados, de amplia distribución en la naturaleza. Se encuentran en frutas comestibles, verduras de hojas, raíces, tubérculos, bulbos, hierbas, especias, legumbres, té, café y vino tinto. A pesar de contener pocos grupos cromóforos, se han identificado 300 de estos compuestos, que son responsables de una gama muy amplia de colores, desde el incoloro hasta el púrpura. Producen los colores rojo, anaranjado, azul y púrpura de las uvas, manzanas, rosas, frutillas y otros productos de origen vegetal, principalmente frutas y flores. Generalmente, se encuentran en la cáscara o piel, como en el caso de las peras y las manzanas, pero también se pueden localizar en la parte carnosa, como en las frutillas, los arándanos, las cerezas y las ciruelas (Badui, 2006).

Las antocianinas son un grupo de pigmentos hidrosolubles (Fennema, 2019). Los colores que comunican a flores y frutos atraen tanto mariposas como abejas para ayudar a la polinización. Son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace  $\beta$ -glucosídico (Mei X., et. al., 2014). La estructura química básica de estas agliconas es el ión flavilio (**Figura 2**) (Dergal, et. al., 2006), también llamado 2-fenilbenzopirilio (Wong, 1995), que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B); el flavilio normalmente se halla como un catión. La estructura de la antocianina es el 2-fenilbenzopirilio de la sal de flavilio. Existen como glucósidos de polihidroxi/polimetoxi derivados. De todas las antocianidinas que actualmente se conocen (aproximadamente 20), las más importantes son la pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez; la combinación de éstas con los diferentes azúcares genera aproximadamente 150 antocianinas. Los carbohidratos que comúnmente se encuentran son la glucosa y la ramnosa, seguidos de la galactosa, xilosa y la arabinosa, ocasionalmente, la gentobiosa, la rutinosa y la soforosa. El color de las antocianinas depende de varios factores intrínsecos, como son los sustituyentes químicos que contenga y la posición de estos en el grupo flavilio; por ejemplo, si se aumentan los hidroxilos del anillo fenólico se intensifica el color azul, mientras que la introducción de metoxilos provoca la formación del color rojo (Dergal, S. B., et. al. 2006).



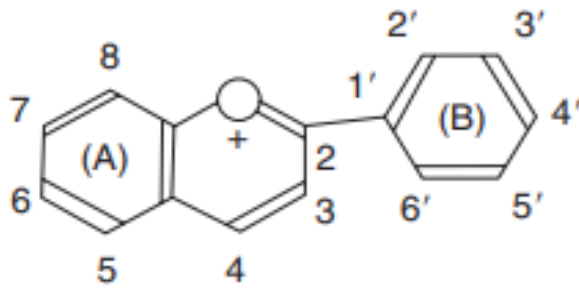


Figura 2: Estructura del catión flavilio (Dergal et. al, 2006).

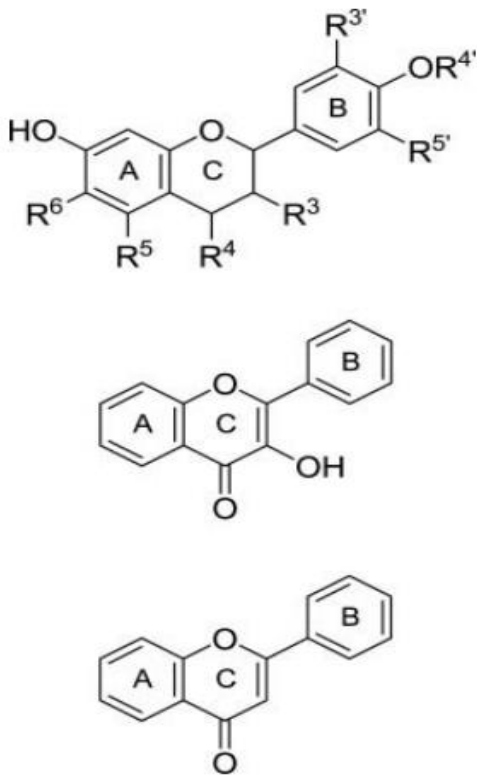


Figura 3: Figura superior, estructura básica de flavonoide; figura media, esqueleto de flavonol; figura inferior, esqueleto de flavona (Bueno, et. al., 2012).

Poseen la característica de otorgar pigmentación, pudiendo variar en función del pH en el cual se encuentran disueltas. Dicha capacidad se debe a la presencia de los ocho dobles enlaces adyacentes al heterociclo, que aportan una densidad de carga positiva sobre este último; como al número de grupos hidroxilos y metoxilos en el anillo B; y del pH de las vacuolas donde las mismas se almacenan. Por nombrar algunas antocianidinas, junto a su coloración natural se

encuentran las pelargonidinas (rojo-naranja), las cianidinas (rojo púrpura) y las delfinidinas (azul púrpura) (Pérez-Urria Carril E. & Ávalos García A., 2009).

### Estabilidad de las antocianinas

La estabilidad química de las antocianinas ha sido evaluada en numerosos estudios debido a sus variadas aplicaciones, sus efectos beneficiosos sobre la salud y su uso como alternativa a los colorantes artificiales en los alimentos. Como mencionamos precedentemente, de estos estudios, se desprende que la estabilidad de las antocianinas depende de la temperatura de procesamiento, el pH (Figura 4), la temperatura de almacenamiento, la estructura química y la concentración de antocianinas, la luz, el oxígeno, las enzimas, los iones metálicos, etc. (Rein, 2005, Skrede et al., 2000). En la industria de los alimentos, el procesamiento de frambuesas, arándanos, cereza, frutillas, etc. para la elaboración de pulpas y jugos, requiere de un posterior tratamiento térmico de conservación, para producir un producto inocuo. Sin embargo, durante el procesamiento térmico, las antocianinas y sus propiedades nutraceuticas pueden verse afectadas (Verbeyst et al., 2010, 2011).

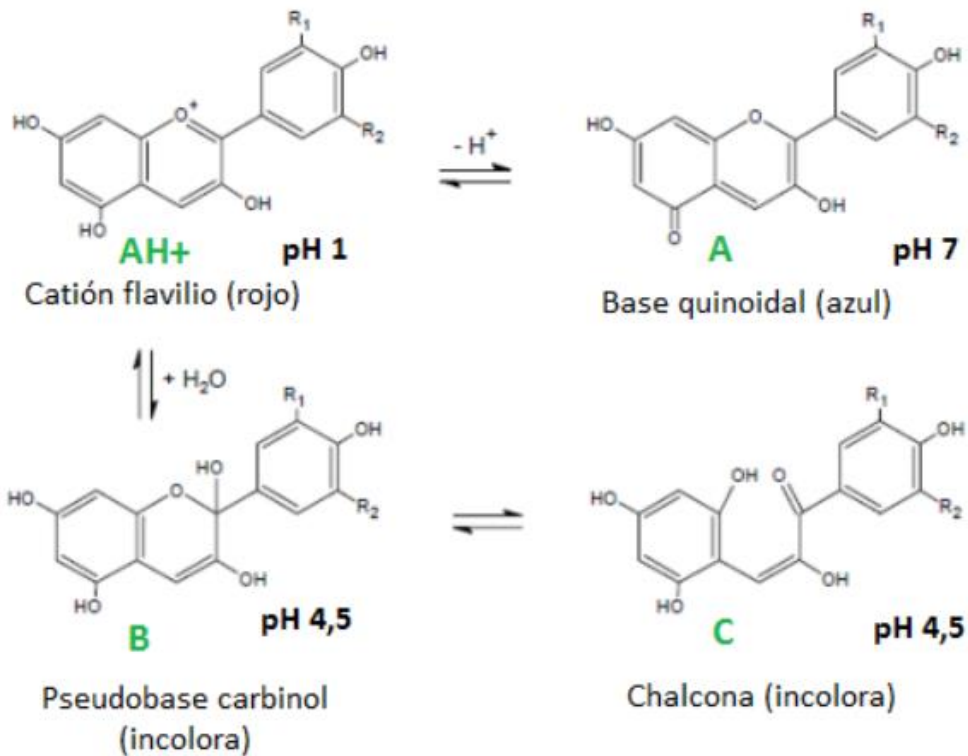
Las antocianinas se destruyen a altas temperaturas durante el procesamiento y el almacenamiento (Wrolstad et al., 2005). A altas temperaturas el equilibrio se desplaza hacia las formas incoloras de la molécula, carbinol y chalcona (Timberlake, 1986) y también presentan la posibilidad de formación de compuestos poliméricos pardos (Sari et al., 2012).

La luz acelera el proceso de degradación de las antocianinas, no obstante, también es capaz de acelerar la biosíntesis de éstas (Castañeda-Sánchez y Guerrero Beltrán, 2015). Asimismo, la temperatura y el oxígeno molecular actúan simultáneamente en la degradación de las antocianinas por efecto de la luz. Similar a la degradación por altas temperaturas, la degradación de las antocianinas por luz sigue una cinética de primer orden. La fotodegradación de antocianinas, comienza con el catión flavilo a través de la pseudobase de carbinol a la chalcona, aunque también puede ocurrir la fotodegradación directa del catión flavilo (Attoe y Von Elbe, 1981). Las antocianinas que presentan sustituyentes en el hidroxilo 5' son más susceptibles a la degradación por la luz (Pichardo Pérez, 2019). Los diglucósidos acilados y metilados disminuyen su susceptibilidad a la luz, mientras que las antocianinas no aciladas y las monoglicósiladas son menos estables. (Markakis y Jurd, 1974).

Los azúcares a altas concentraciones causan una disminución de la actividad de agua, que estabiliza las antocianinas, como ocurre en conservas de frutas. Los azúcares en concentraciones bajas, que tienen poco efecto sobre la actividad de agua pueden acelerar la degradación de las antocianinas. La velocidad de degradación de las antocianinas sigue la velocidad de degradación del azúcar a furfural (Fennema, 2019).

La disminución o eliminación del oxígeno tiene un efecto positivo para retener el color de las antocianinas debido a que disminuyen las reacciones de oxidación de estos pigmentos (Mazza y Miniati, 1993).

La copigmentación, un fenómeno que conduce a un efecto hiperocrómico, que provoca la intensificación del color en los tejidos vegetales (Scheffeldt y Hrazdina, 1978) reduce la luminosidad y aumenta la saturación o croma, lo que indica que el color de las antocianinas copigmentadas es más intenso y saturado que el color de matrices con antocianinas monoméricas (Sari et al., 2012). El fundamento de la copigmentación se basa en que las moléculas de antocianinas son planas y pueden formar asociaciones entre ellas o con otras moléculas denominadas copigmentos por interacciones débiles hidrofóbicas (Zamora, 2003). El ión flavilio de las antocianinas, por su forma planar, es la única especie capaz de copigmentar. Existen distintos compuestos que pueden actuar como copigmentos, entre ellos: ácidos fenóles, flavonoides, aminoácidos, nucleótidos, polisacáridos, etc. (Mazza y Brouillard, 1990). Algunos autores postulan que la copigmentación es un paso previo a la formación de uniones más estables, ya que facilita la condensación de las antocianinas con los flavonoles (Brouillard y Dangles, 1994; Boulton, 2001). Según Boulton (2001) un alto nivel de copigmentación inhibe la polimerización debido a que muchos de los flavonoides podrían actuar como cofactores. De esta forma las reacciones de formación de compuestos poliméricos pardos serían mucho más lentas en una matriz con alto nivel de copigmentación. Existen diferentes tipos de copigmentación, dependiendo del tipo de copigmento que actúe en la reacción. El término de "copigmentación intermolecular" se refiere a la asociación débil de antocianinas con otros compuestos, modificando así el color y la estabilidad del complejo formado. La copigmentación intermolecular de antocianinas con otros flavonoides produce pigmentos poliméricos coloreados que provocan un incremento en la absorbancia a una longitud de onda visible (efecto hiperocrómico), así como un desplazamiento a longitudes de onda mayores del máximo de absorbancia (efecto batocrómico). La "copigmentación intramolecular" se refiere al enlace fuerte que forman grupos de ácidos orgánicos con las antocianinas y es la responsable de la estabilidad del color de antocianinas que poseen dos o más grupos acilos aromáticos. El color se intensifica al incrementar el contenido de ácidos orgánicos como el cinámico, malónico y el cítrico.



**Figura 4** Transformación de las antocianinas con el pH (Fennema, 2019).

Las antocianinas pueden actuar como agentes quimio protectores debido a su capacidad de neutralizar radicales libres (Aguilera Ortiz M., et. al., 2011; Bueno J. M, et. al., 2012; Pérez-Urria Carril E. y Ávalos García A., 2009).

Algunos investigadores proponen como alternativa el cultivo de células y órganos vegetales con la finalidad de aumentar la producción de antocianinas (Miñano, 2004).

La hidroxilación de la aglicona decrece la estabilidad, mientras que la metoxilación, glucosilación y acilación tienen el efecto opuesto (Hrazdina et al. 1970; Robinson et al. 1966; Van Buren et al. 1968). Las antocianinas se descomponen en soluciones neutras o alcalinas y, son estables bajo condiciones ácidas. Por ello los procedimientos de extracción que involucran el uso de ácidos diluidos en solventes polares son útiles. En la literatura, se encuentran varios trabajos que usan como procedimientos de extracción, la maceración o remojo en metanol con el agregado de 1% de HCl. Numerosas investigaciones han mostrado que la degradación y polimerización de antocianinas son afectadas no solo por el oxígeno, luz, pH y temperatura, sino también, por el ácido ascórbico. La degradación de la antocianina sigue una cinética de primer orden (Bakker et al. 1986; Aguilar y Flores Rivera, 2018)

Modelo cinético de primer orden

$$[A]: [A_0] e^{-kt}$$

Donde

$A_0$ : concentración inicial de antocianinas

A: concentración de antocianinas a tiempo t

t: tiempo transcurrido

k: constante de velocidad de reacción

$$k: k_0 e^{-E_a/RT}$$

$k_0$ : constante de velocidad específica

E: energía de activación

R: constante universal de los gases (8,314 j/Kmol)

T: temperatura absoluta en K.

### Origen - Donde se encuentran

El origen etimológico de la palabra “antocianina” proviene del griego: antos, (flores) y kyanos (azul) (Bechtold T. & Mussak R., 2009).

Las antocianinas se encuentran distribuidas en una enorme cantidad de plantas, muchas de las cuales son comestibles. Se encontraron en al menos 27 familias, 73 géneros y una multitud de especies (Bridle P. & Timberlake C.F., 1996). Se encuentran ampliamente distribuidas tanto en frutas como particularmente en bayas, muchas de las cuales son comestibles para el ser humano (Talavéra S., et. Al., 2005) como lo son los arándanos y muchos otros frutos pertenecientes al género Rubus de la familia de las rosáceas (Bridle P. & Timberlake C.F., 1996; León Roperó M. & Soledad B., 2020; Zapata L. M., 2014).



**Figura 5:** Frutos de *Vaccinium sect. Cyanococcus*, coloquialmente llamados arándanos o blueberries en inglés.

Las antocianinas se encuentran disueltas en medio acuoso dentro de las vacuolas (**Figura 7**), presentes en prácticamente todos los tejidos vegetales, desde las hojas y frutos, hasta las raíces y tallo (Espino G., 2014). En algunos casos, se las puede encontrar en organelas más específicas denominadas antocianoplastos (Aguilera Ortíz M., et. al., 2011). Asimismo, se las encuentra en semillas, cereales, productos derivados como lo son el vino (tinto principalmente) y el té (Vaya, J., & Aviram, M., 2005). También se encuentran presentes en la savia, como es en el caso de las *dracaena draco* y *cinnabari*, más conocidas por su resina llamada sangre de dragón por su color (Bechtold T. & Mussak R., 2009).

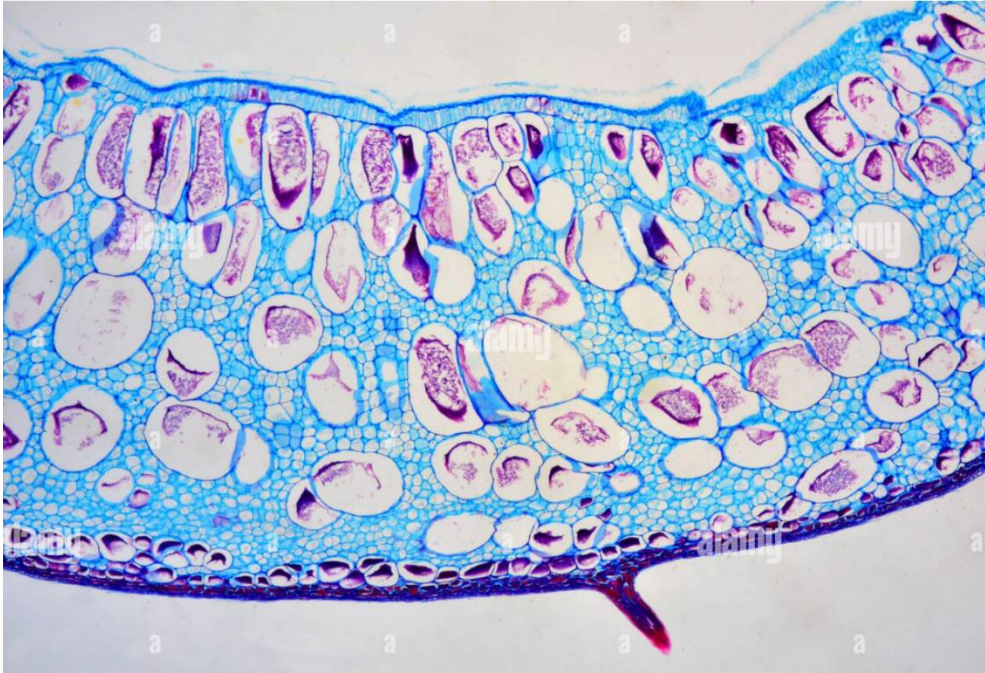


Figura 6: Fruto joven de arándanos (Ribes). Microscopio óptico X40. Fotógrafo: J. M. Barres.

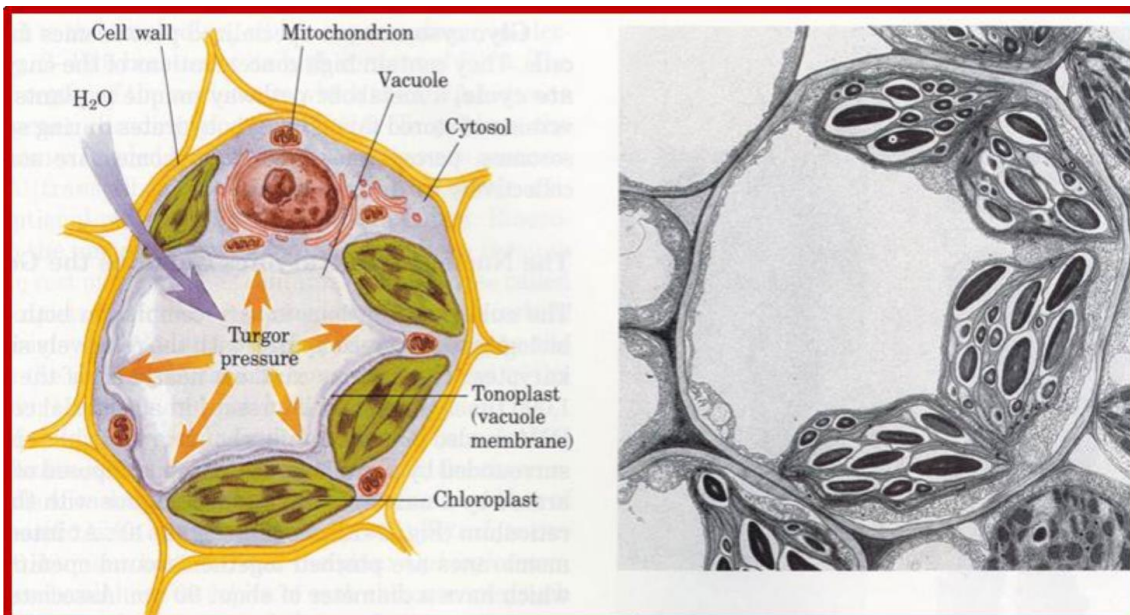


Figura 7: Esquema (izquierda) e imagen (derecha) de una célula vegetal, con sus principales organelas. Entre ellas la vacuola.

### Funciones de las antocianinas

Así como mencionamos anteriormente, en las plantas las antocianinas cumplen diversas funciones, entre las que se encuentran protección frente a la radiación UV, atracción de

polinizadores, agentes protectores contra enfermedades y dispersión de semillas entre otros (Pérez-Urria Carril E. y Ávalos García A. 2009; Bueno J. M., et. al., 2012; Espino G., 2014; Vaya, J., & Aviram, M., 2005). Además, poseen otras funciones importantes como la regulación de la actividad enzimática, la de agentes reductores y quelantes de iones de metales de transición (Vaya, J., & Aviram, M., 2005).

Los usos comerciales predominantes que poseen este tipo de compuestos son principalmente como indicadores de pH, colorantes naturales y antioxidantes.

En los últimos años su uso como productos y/o suplementos alimenticios se ha visto en constante aumento, principalmente debido a los efectos benéficos que se le atribuyen como parte de la dieta (Lee, Jet. Al., 2008; Mei X., et. Al, 2014, Kalt, W., et. Al., 2001).

Como parte de la ingesta en los seres humanos, a las antocianinas se les atribuye una serie de efectos benéficos sobre la salud. Se destacan sus capacidades antioxidantes, quimioprotectora, neutralizantes de radicales libres, reguladoras en la captación de lípidos (Aguilera Ortíz M., et. Al., 2011; McDougall, G. J., and Stewart, D., 2005; Han, M. H., et. Al., 2018, Kalt, W., et. Al., 2001). Otras características que se les asocian son: protectoras contra diversas enfermedades neurológicas, cardiovasculares, diabetes, agentes "anti-age", acción anticancerígena, propiedades antiinflamatorias y de prevención de infecciones bacterianas. La mayor parte de estas propiedades y efectos benignos que se les atribuyen viene derivados de su capacidad de protección del daño oxidativo (Bueno J. M., et. al., 2012; Mei X., et. Al, 2014).

Debido a su estructura química deficiente de electrones, las antocianinas, son altamente reactivas con distintos grupos o especies químicas que resultan dañinas para el cuerpo humano. Estas son las especies de oxígeno reactivo (ROS, por sus siglas en ingles), como el superóxido ( $O_2^-$ ), oxígeno singlete ( $^1O_2$ ), peróxido ( $RCOO^-$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) e hidroxilo radical ( $OH^-$ ); y algunas especies reactivas de nitrógeno. Lo que le permite detener el ciclo de generación de nuevas especies reactivas en reacciones radicalarias, siendo así la reacción de finalización en estos procesos. Como parte de la familia de polifenoles y teniendo capacidad anti oxidativa, también son agentes quelantes de iones metálicos cuya presencia promueve reacciones radicalarias (Bueno J. M., et. al., 2012).

Además, se ha demostrado que las antocianinas de las cerezas inhiben el desarrollo de tumores en ratones Apc Min y disminuye la proliferación de células cancerosas en el colon humano (Kang et al., 2003). La cianidina, una aglicona de la antocianina, ha mostrado una actividad antiinflamatoria más eficaz que la aspirina (Wang et al., 1999)

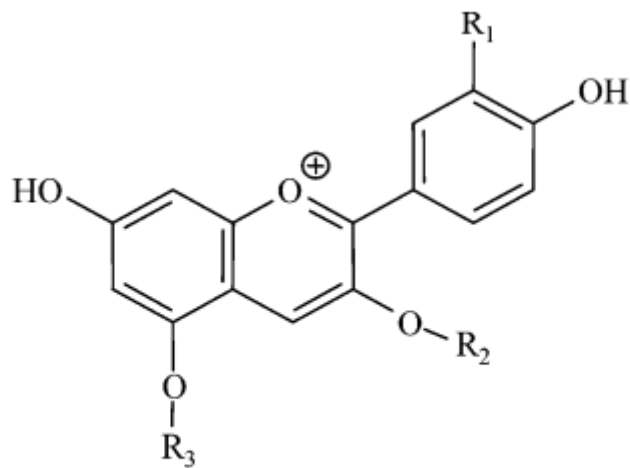
El tejido de frutos de cereza se ha empleado en productos cárnicos para mejorar las cualidades nutricionales (menor rancidez e inhibición de la formación de aminas aromáticas heterocíclicas), el uso de antocianinas purificadas extraídas de células de cereza cultivadas in vitro es una



alternativa a considerar. La producción de antocianinas extraídas del fruto del cerezo se restringe a su producción estacional; además, la fruta tiene un valor demasiado alto como fruta fresca para ser utilizada para la extracción de antocianinas. Los cultivos de células/tejidos vegetales in vitro pueden ofrecer una oportunidad para la producción continua de metabolitos vegetales. Además, el cultivo de células vegetales es una fuente de producción atractiva, ya que es escalable según las necesidades específicas (Smith M.A & Pépin M., 1999) y asimismo ofrece un mayor potencial para el manejo de la calidad de las antocianinas (Curtin et al, 2003).

### Tipos de antocianinas

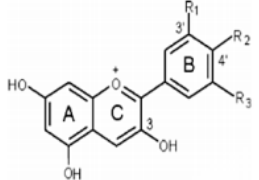
Existen una gran cantidad de antocianinas en el reino vegetal, al diferenciarse por el azúcar presente en su estructura y por la posición de este. Estos se ubican en el carbono 5 del anillo C y en el carbono 3 del anillo B (Bueno J. M, et. al., 2012). Los azúcares con los que más frecuentemente se asocian son la glucosa y la ramnosa. Seguidos de la galactosa, xilosa y la arabinosa, en menor medida se presentan asociadas a la gentobiosa, la rutinosa y la soforosa. Las antocianidinas más importantes son: pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina. Todas ellas denominadas a partir de la fuente vegetal de donde fueron aisladas por primera vez. A su vez, dependiendo del azúcar con el cual estén unidas se pueden encontrar aproximadamente 150 antocianinas distintas (Aguilera Ortiz M., et. Al., 2011). Otros autores identifican a más de 600 antocianinas (Bueno J. M, et. Al., 2012), por lo que no hay un consenso definido sobre el número total de antocianinas conocidas hasta el momento.



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Cyanidin	OH	H	H
Cyanidin 3-glucoside	OH	Glucose	H
Cyanidin 3-pentose	OH	Pentose	H
Cyanidin 3,5-diglucoside	OH	Glucose	Glucose
Peonidin	OCH <sub>3</sub>	H	H
Peonidin 3-glucoside	OCH <sub>3</sub>	Glucose	H
Peonidin 3-pentose	OCH <sub>3</sub>	Pentose	H

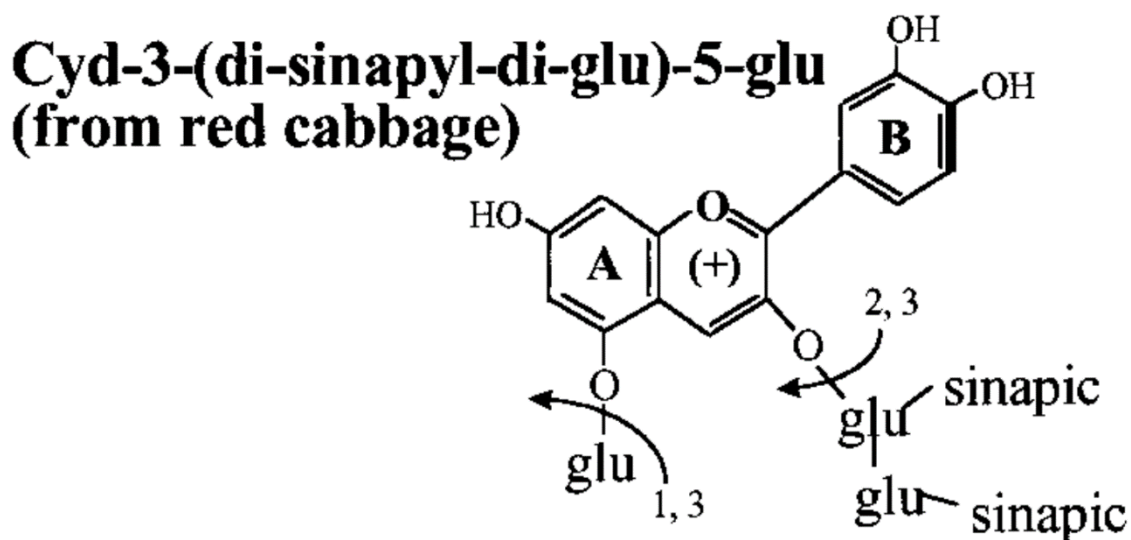
**Figura 8:** Estructuras de antocianinas y antocianidinas, según sus grupos funcionales (Talavéra S., et. Al., 2005).

En la **Tabla 1** se presentan algunas de las más importantes antocianidinas, su estructura básica, su color característico y sus principales fuentes.

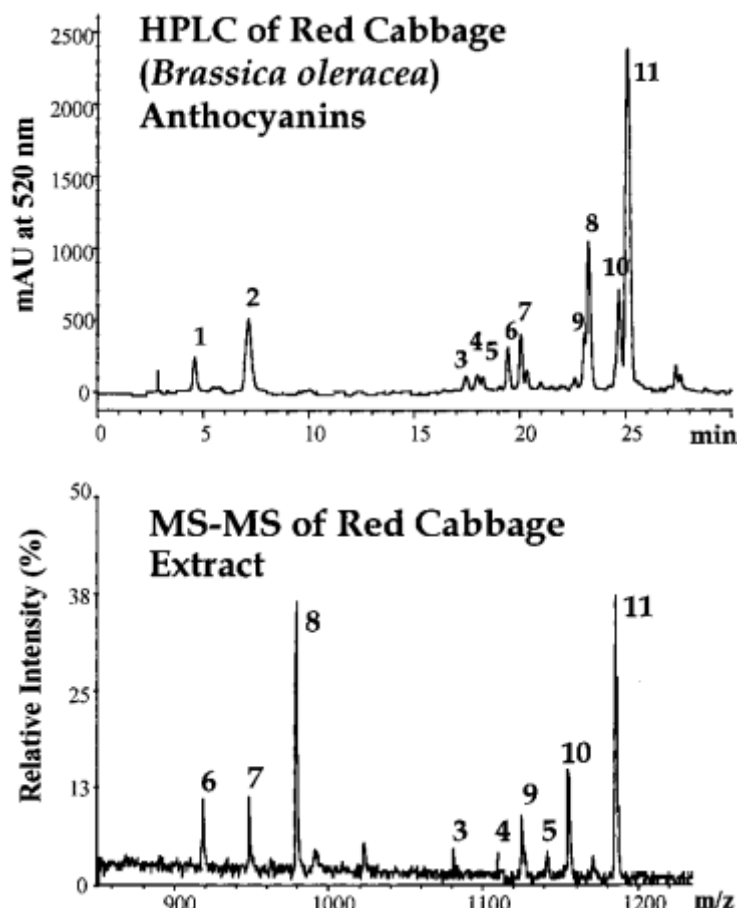
Antocianina	Estructura básica	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Color principal	Fuentes
Cianidina		-OH	-OH	-H	Naranja-rojizo	Manzana, saúco, nectarino, mora, ciruela, melocotón
Delfinidina		-OH	-OH	-OH	Púrpura, azul	Uvas, berenjena
Pelargonidina		-H	-OH	-H	Naranja	Rábanos, frijoles
Malvidina		-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OCH <sub>3</sub>	Púrpura	Uvas
Ponidina		-OCH <sub>3</sub>	-OH	-H	Rojo-púrpura	Arándanos, ciruelas, uvas, maíz morado
Petunidina		-OH	-OH	-OCH <sub>3</sub>	Rojo-oscuro o púrpura	Uvas, vayas rojas

**Tabla 1:** Principales antocianinas, estructura básica y origen (Orestes López Hernández D. & Vanessa Telenchana Pérez E., 2019).

En un estudio sobre la caracterización de antocianinas en diversas fuentes vegetales mediante la técnica HPLC MS-MS se logró determinar la estructura de una antocianina presente en el repollo colorado o *Brassica oleracea var. capitata f. rubra* (Giusti M. M., et. Al., 1999). La misma corresponde a la cyd-3-(di-sinapyldi-glu)-5-glu. Su estructura se puede observar en la **figura 9**. En tanto la **figura 10** expone el espectro correspondiente junto a las señales obtenidas junto con las asignaciones tentativas a cada una de las mismas.



**Figura 9:** Antocianina presente en el repollo colorado, identificada por HPLC MS-MS, correspondiente a cyd-3-(di-sinapyldi-glu)-5-glu (Fuente: Giusti M. M., et. Al., 1999).



**Figura 10:** Resultado del HPLC y MS-MS de muestra de repollo colorado (*Brassica oleracea*) y su extracto de antocianinas. Asignaciones tentativas de señales: (1) cyd-3-diglu-5-glu, (2) cyd-3-glu-5-glu, (3) cyd3-triglu-5-glu acilado con ácido p-cumárico, (4) cyd-3-triglu5-glu acilado con ácido ferúlico, (5) cyd-3-triglu-5-glu acilado con ácido sinápico, (6) cyd-3-diglu-5-glu acilado con ácido pcumárico, (7) cyd-3-digluc acilado con ácido ferúlico, (8) cyd-3-diglu-5-glu acilado con ácido sinápico, (9) cyd-3-diglu5-glu acilado con ácidos p-cumárico y sinápico, (10) cyd-3- diglu-5-glu acilado con ácidos ferúlico y sinápico, (11) cyd3-diglu-5-glu acilado con dos ácidos sinápicos (Giusti M. M., et. al., 1999).

### Historia o usos a lo largo de la historia

Las antocianinas fueron utilizadas a lo largo de la historia humana en múltiples culturas, debido a su amplia presencia en la naturaleza. Existen registros del uso de determinadas plantas como agentes colorantes cuyo color se debe a la presencia de antocianinas, como es el caso de las flores del maíz (*zea mays*), la flor de santa Lucía (*commelina erecta*), la drago o drago de Canarias (*dracaena draco*) y el árbol de la sangre de dragón (*dracaena cinnabari*). Todas usadas para producir colorantes y pinturas hidrosolubles. Los más utilizados son los colores de tonalidades rojas. Mientras que aquellos de color azul son más difíciles de obtener y preservar debido a sensibilidad de sus estructuras químicas y su inestabilidad (Bechtold T. & Mussak R., 2009, Pág 8-10 y 12-13).

### Usos contemporáneos

El uso más difundido de las antocianinas es el de colorante natural como aditivo de los alimentos. Con la tendencia cada vez más marcada de evitar la ingesta de productos artificiales se buscan alternativas para mejorar las características organolépticas de los alimentos utilizando productos que se consumen de forma natural en otros alimentos. Para tal fin son clasificados como E-163 y 21 CFR 73 por la comunidad europea y la FDA norteamericana, respectivamente. Algunos productos donde son utilizadas son en bebidas saborizadas, jamones y productos lácteos (Piccaglia R, et. al., 2002).

Aprovechando su capacidad de cambio de color en función del pH del medio que lo rodea, son utilizadas como indicadores visuales.

Por último, como poseen capacidades antioxidantes a veces se los receta como parte de dietas específicas y tratamientos médicos para controlar la generación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS y RNS, por sus siglas en inglés) (Vaya, J., & Aviram, M., 2005). En estos casos es más común que se indique la ingesta de alimentos que posean elevada cantidad de antocianinas, más que ingerir las mismas purificadas.

Los compuestos fenólicos cumplen roles funcionales de mucha importancia en la calidad de los alimentos. Ellos pueden impartir sabor amargo y astringente en bebidas, los cuales son importantes para atributos sensoriales en la boca (mouth-feel) y textura. Son sustratos de la polifenoloxidasas, pudiendo generar compuestos pardos. La polimerización y condensación con proteínas puede llevar a la formación de sedimentos que provocan turbidez en bebidas (Wrolstad, 2005).

### Propiedades fisicoquímicas

Las principales propiedades fisicoquímicas que poseen esta familia de compuestos son el cambio de coloración de función del pH, su capacidad antioxidante y su solubilidad en agua.

La **Figura 11** muestra el cambio de coloración y estructura molecular de las antocianinas en función del pH del medio.

La primera de estas propiedades, el cambio de color por variación del pH, se debe a la presencia de grupos hidroxilos y metoxilos en el anillo B. Los mismos se ven modificados en función de la disponibilidad de protones que haya en el medio circundante. Tales son los casos de la pelargonidina (rojo-naranja), cianidina (rojo púrpura) y delphinidina (azul púrpura) (**Figura 12**) (Pérez-Urriá Carril E. & Ávalos García A., 2009).

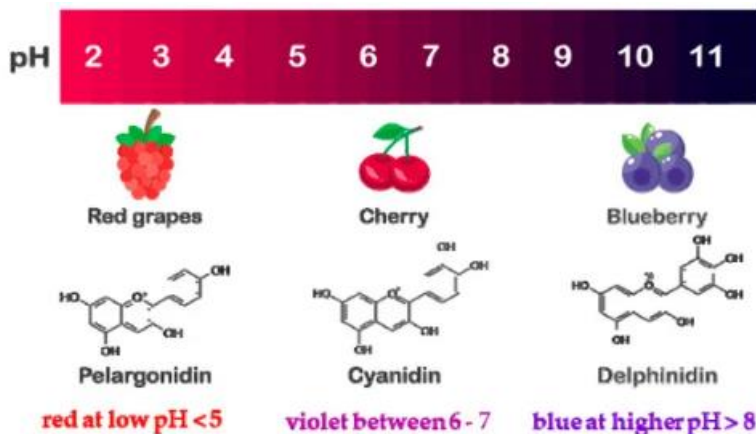


Figura 11: Las antocianinas como indicadores de pH (Fuente: Cunha y col., 2023)

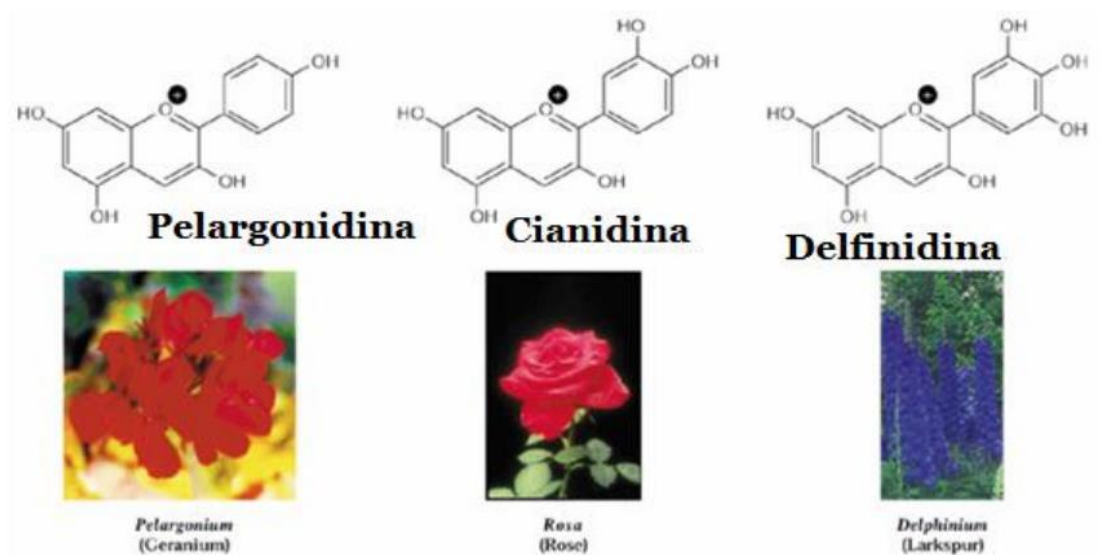
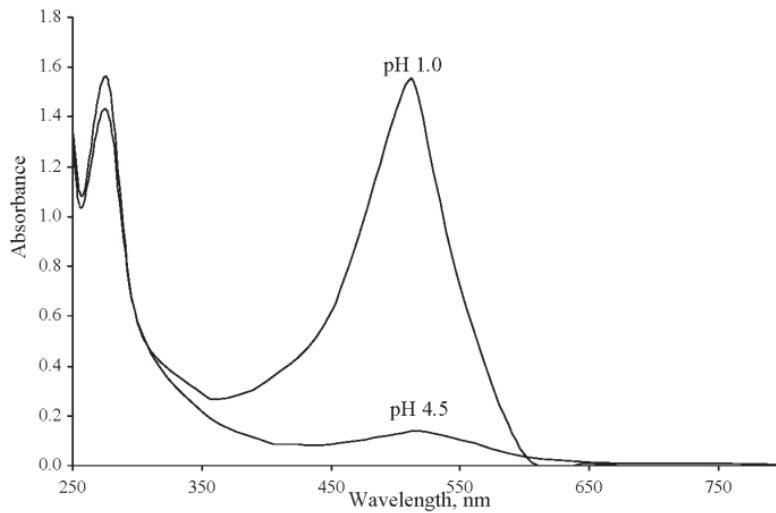


Figura 12: Estructuras de pelargonidina, cianidina y delfinidina presentes en los géneros Geranium, Rosa y Delphinium, respectivamente (Pérez-Urria Carril E. & Ávalos García A., 2009).

En algunos casos, los azúcares están unidos a grupos derivados del ácido acético o alguno de los cuatro ácidos cinámicos (p-cumárico, caféico, ferúlico o sináptico). Se ha observado que la presencia de estos grupos acilo en la molécula de antocianidina le confiere estabilidad ante condiciones extremas de pH y temperatura. Cuando en la molécula de antocianina se encuentran únicamente azúcares, se denominan no aciladas; si además de los azúcares están presentes uno o varios radicales acilos, se catalogan como aciladas (Pérez-Urria Carril E. & Ávalos García A., 2009). Estas sustituciones son llevadas a cabo en las posiciones 3 y 5 de los anillos A y C, siendo responsables parcialmente de la variedad y diversidad de antocianinas existentes (Lee, J., et. al., 2008).

La estabilidad de las estructuras de las antocianinas es significativamente mayor a pH extremadamente bajos, entre 1,0 y 3,0. Mientras que en pH superiores a 7 se generan estructuras mucho más susceptibles a la oxidación y otros mecanismos degradativos (Mei X., et. al, 2014).

El espectro de absorción de las antocianinas depende del pH. La absorción máxima a 520-540 nm en la región visible es la longitud de onda más común usada en la medición espectrofotométrica de antocianinas (Horbowicz et al., 2008) (**Figura 13**).



**Figura 13:** Espectro de absorción UV-Vis del arándano antocianina en pH 1,0 y 4,5 (Lee, J., et. al., 2005).

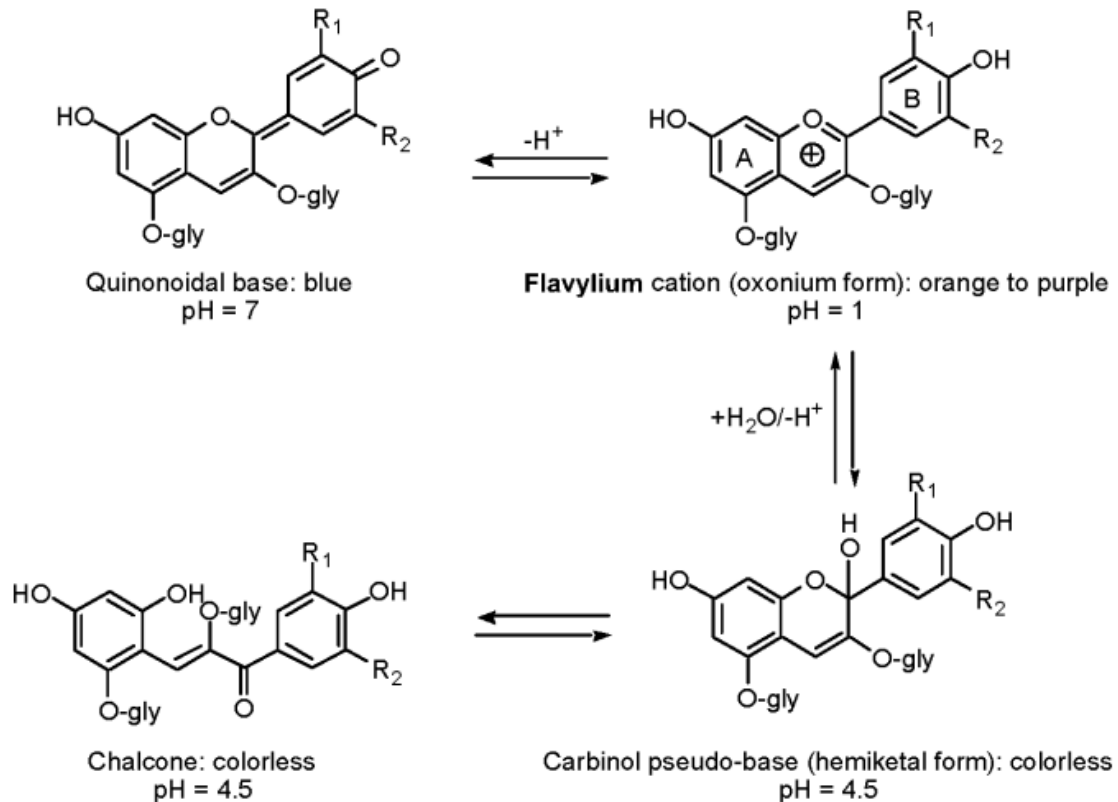


Figura 14: Estructuras predominantes a distinto pH. espectro de absorción UV a pH 1,0 y 4,5 (Lee, J., et. al., 2005).

En cuanto a su capacidad antioxidante, la misma es conferida por una serie de mecanismos. Entre los cuales se encuentra la neutralización de especies que promueven la peroxidación por desactivación de catalizadores, la ruptura de cadena por la cual se ceden electrones a los radicales libres presentes neutralizándolos, formación de agentes quelantes de iones metálicos (Vaya, J., & Aviram, M., 2005). A sí mismo, hay evidencia de la afinidad entre iones  $Fe^{+3}$ ,  $Zn^{+2}$  y  $Mg^{+2}$ , afectando estos la estabilidad de estas (Mei X., et. al, 2014). También, se ha demostrado que frutos ricos en antocianinas evidencian una alta actividad antioxidante contra el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y contra radicales peróxidos, ( $ROO\bullet$ ), superóxido ( $O_2\bullet$ ), hidroxilo ( $-OH$ ) y oxígeno singulete ( $1O_2$ ) (Garzón, 2008).

Los beneficios para la salud derivados de la ingesta de las antocianinas en alimentos vegetales no solo dependen de su presencia y concentración en el alimento, sino también de su bioaccesibilidad y de su transformación por la microbiota del colon.

Por último, al tener en su estructura una gran cantidad de grupos que pueden formar fácilmente puentes de hidrogeno (muchos de los cuales se encuentran en el azúcar de la molécula), esto le confiere su hidrosolubilidad (Bridle P. & Timberlake C.F., 1996).



## Métodos de extracción de antocianinas sin solventes a partir de residuos de vegetales

El microondas (MW) es una tecnología de extracción innovadora y ecológica que presenta ventajas relevantes frente a las convencionales debido a su elevada tasa de extracción, menor uso de solventes y menor tiempo de extracción (Şahin et al.,2020.). La temperatura del producto no debe exceder los 60 °C para evitar la degradación de las antocianinas y no se deben aplicar tiempos muy largos de microondas.

La tecnología de campos eléctricos pulsados también se ha empleado con éxito para extraer antocianinas de diferentes matrices agroalimentarias. Este método aumenta la transferencia de masa. La liberación de antocianinas al medio se produce por la electroporación de las membranas de los vegetales que consiste en la formación de poros temporales (reversibles) o permanentes (irreversibles). Las intensidades más altas del tratamiento incrementan particularmente la extracción de glucósidos de delfinidina, cianidina y petunidina a partir de subproductos o residuos de arándanos (Pataro, 2017).

Otra tecnología prometedora de extracción es el ultrasonido que se basa en el fenómeno de cavitación acústica observado en un medio líquido. La aplicación de ultrasonidos de baja frecuencia (16 a 100 kHz) y alta potencia (>10 W) en sistemas líquidos promueve la generación de campos acústicos que están asociados con la aparición de ondas mecánicas y vibraciones. La formación y posterior colapso de microburbujas caracterizan el fenómeno de la cavitación acústica. Las microburbujas de cavitación acústica convierten la energía acústica proporcionada por el campo acústico en energía mecánica y térmica. El colapso implosivo de las microburbujas produce zonas puntuales de muy alta temperatura y presión. Por lo tanto, durante su colapso, se observan ondas de choque y micro chorros en el sistema líquido sonicado, lo que genera turbulencia y aumento de temperatura. El efecto de la tensión de cizallamiento de la cavitación acústica en la superficie de las células y partículas se conoce como sonoporación. La cavitación acústica permite la formación de microporos e incluso la ruptura de estructuras celulares.

La sonicación es una técnica suave, ecológica y eficaz para la producción industrial de antocianinas de calidad alimentaria o farmacéutica ya que se usan menos solvente y la posibilidad de que sus trazas puedan quedar en los productos es menor. La extracción asistida por ultrasonidos es un proceso agroindustrial prometedor en la recuperación de antocianinas a partir de frutos.

La extracción por fluidos supercríticos también es una técnica ecológica y conveniente para la extracción de antocianinas ya que el fluido supercrítico es una sustancia que está a temperatura y presión sobre su punto crítico que tiene la habilidad de ingresar como un gas en el sólido por un mecanismo de difusión y disolver las sustancias de interés, en este caso las antocianinas como un líquido.

La biodisponibilidad de las antocianinas se reduce considerablemente durante la digestión gastrointestinal. Esto afecta directamente a las bioactividades de estas biomoléculas. La microencapsulación de antocianinas puede ser una estrategia interesante para mejorar su estabilidad e interacción en el cuerpo humano. Las micropartículas se pueden diseñar con diferentes materiales de pared, como caseína, proteínas de suero y polisacáridos. Asimismo, la ingesta de antocianinas junto con lípidos dietéticos, como el aceite de coco, puede resultar en un efecto protector de los lípidos sobre los polifenoles bioaccesibles. La estabilidad y recuperación de antocianinas aumenta con el contenido lipídico de la matriz alimentaria. Este

efecto se atribuye a las interacciones hidrofóbicas entre las antocianinas y los lípidos. Las antocianinas se incorporan a la fase lipídica de las micelas, de esta forma aumenta su estabilidad (Arruda, 2021)

### Aprovechamiento y encapsulación de antocianinas

A partir del análisis bibliográfico que se realizó sobre el aprovechamiento y protección de las antocianinas para evitar su degradación se considera que estos compuestos deberán protegerse de agentes externos como la luz, el oxígeno, la temperatura, etc., una vía es mediante la microencapsulación con materiales poliméricos. La tecnología de encapsulación es un proceso utilizado en diversas industrias para proteger, transportar y liberar compuestos activos de forma controlada. Esta tecnología consiste en recubrir un material activo (como un fármaco, un nutriente o un saborizante) con una capa protectora o matriz de polímero, que puede ser liberada de forma gradual o en respuesta a ciertos estímulos (Poncelet, D., et al. 2018; Gaucher, G., et. al., 2019). En la literatura científica se usaron recubrimientos proteicos como caseinato de sodio o zeína para su incorporación posterior como nanocápsulas en productos lácteos como leches adicionadas con antioxidantes, yogures, etc. Las nanocápsulas de caseinato de sodio fueron las que mejor conservaron las propiedades antioxidantes de las antocianinas respecto de las recubiertas por zeína, principal proteína del maíz (López Iriart et al., 2017).

Arrazola et al., 2014 formuló mezclas de maltodextrina y extractos de antocianinas (DE) al 15, 20 y 30 %. Se empleó un secador por aspersion Modelo B-290 (Büchi) para elaborar las nanocápsulas. Las condiciones del proceso fueron temperatura de entrada al secador de 170 y 180 °C; caudal de aspersion 30 m<sup>3</sup> / h (Aguilera-Ortiz et al. 2012).

### Aplicaciones

En cuanto a las aplicaciones de las antocianinas, los extractos alimenticios ricos en antocianinas han sido incorporados dentro de suplementos alimenticios dietéticos. Por ejemplo, extractos de antocianinas de maíz se incorporaron en suplementos dietéticos antioxidantes con recomendaciones para promover la salud (Shipp y Abdel-Aal, 2010). Estos suplementos incorporan compuestos como cianidin-3-glucósido y delphinidin-3-glucósido extraídos de bayas noruegas (*Vaccinium myrtillus*) y grosellas negras (*Ribes nigrum*). El arroz rojo también está siendo comercializado, luego de su fermentación, como un suplemento dietético que contribuye a reducir los niveles de colesterol (Pharmanex, 2009). Adicionalmente, el pan de trigo azul puede ser procesado para producir un polvo de trigo azul rico en antocianinas como un suplemento dietético (Abdel-Aal, E-S.M. and Hucl, P.J., 2003). Por consiguiente, las antocianinas gradualmente están siendo incorporadas en los productos alimenticios y bebidas como colorantes, alimentos funcionales o suplementos alimenticios. El incremento en el contenido de antocianinas con mayor estabilidad y vida de anaquel prolongada incrementará las aplicaciones alimenticias, el consumo total y con ello acrecentará también su efecto benéfico en la salud humana (Shipp y Abdel Aal, 2010). Estos mismos beneficios pueden ser aprovechados en los alimentos para niños, remplazando ingredientes sin valor agregado como lo son colorantes artificiales, por antocianinas.

Otros de los usos a los que se destinan las antocianinas son la elaboración de envases bioactivos o inteligentes, los cuales brindan información en tiempo real del estado del alimento que

contienen por medio de cambios visuales fáciles de identificar. Se trata de películas biodegradables sensibles a la acción de las enzimas excretadas por los microorganismos, convirtiéndose en moléculas más pequeñas que pueden ser metabolizadas por ellos, generando biomasa, agua, alcoholes, ácidos orgánicos y anhídrido carbónico. Utilizando antocianinas encapsuladas cuya matriz sea susceptible a los metabolitos de las bacterias, se puede generar la reacción visual que permita detectar el estado de dicho alimento.

Algunas de estas películas se elaboran con almidón de mandioca con adición de antocianinas, estas tienen la propiedad de modificar su color cuando cambia el pH del producto.

La antocianina se adiciona a la envoltura para alertar sobre la aptitud del producto para su consumo. Las películas se preparan por la técnica de casting teniendo como formulación base almidón de yuca, arcilla esméctica sódica, glicerol, etanol y agua, y antocianina. Se probaron en empaques de pescado. Este cuando comienza a deteriorarse se produce un aumento de pH. Esto ocurre debido a la descomposición de aminoácidos como el de la creatina (desaminación oxidativa) y de la urea, lo que libera unas sustancias llamadas aminas volátiles, que son detectables por la antocianina adicionada a la película polimérica. Esta tiene un color rojo intenso y, en contacto con las moléculas volátiles, se convierte en gris oscuro. (Zetty Arenas, A.M., 2017).

Asimismo, para envases inteligentes, se ha probado la aplicación de antocianinas en materiales biodegradables como el ácido poliláctico que es un excelente sustituto a los plásticos sintéticos tradicionales. Las antocianinas resultan ser indicadores de color naturales (Gravier Rodriguez, G y Jurado Basante, S., 2022).

El método de microencapsulación más recomendado para antocianinas liofilizadas es la encapsulación por coacervación compleja y se sugiere el uso de quitosano como material de encapsulación (Figuerola-Espinoza, M. C., & Rouvet, M. 2014). La coacervación compleja es un método que permite la formación de una fase líquida concentrada compuesta de polímeros o proteínas que rodean la sustancia activa a encapsular. El quitosano, por su parte, es un polímero biodegradable y biocompatible que ha demostrado ser efectivo para la encapsulación de compuestos bioactivos. Este estudio también encontró que la encapsulación por coacervación compleja con quitosano resultó en una alta eficiencia de encapsulación y en una mejora en la estabilidad de las antocianinas liofilizadas, protegiéndolas de la degradación. Además, se observó una mejora en la solubilidad y la retención del color de las antocianinas encapsuladas. Por lo tanto, se sugiere el uso de la encapsulación por coacervación compleja con quitosano como método de microencapsulación para antocianinas liofilizadas debido a su alta eficiencia de encapsulación, mejora en la estabilidad y retención del color de las antocianinas encapsuladas.

Otro método de microencapsulación que se ha utilizado para antocianinas es la encapsulación por secado por atomización (Tran et al., 2018). Este método consiste en atomizar una solución o suspensión de la sustancia activa y el material de encapsulación en un gas caliente para producir partículas sólidas secas. La encapsulación por secado por atomización con maltodextrina como material de encapsulación se encontró que es efectiva para la encapsulación de antocianinas, y se logró una alta eficiencia de encapsulación y una buena retención del color de las antocianinas. Aunque ambos métodos son efectivos para la encapsulación de antocianinas, la encapsulación por coacervación compleja con quitosano parece ser una mejor opción para la encapsulación de antocianinas liofilizadas debido a que este método proporciona una mayor estabilidad y protección de la sustancia activa, así como una mejor solubilidad y retención del color. Además, el quitosano es biodegradable y biocompatible, lo que lo hace más seguro para su uso en aplicaciones alimentarias.

En conclusión, ambas técnicas de microencapsulación son efectivas para la encapsulación de antocianinas, pero la elección del método y el material de encapsulación dependerá de las propiedades y características específicas de la sustancia activa y las necesidades del producto final. Para la encapsulación de antocianinas liofilizadas, la coacervación compleja con quitosano parece ser una mejor opción debido a su mayor estabilidad y protección de la sustancia activa, así como su seguridad para aplicaciones alimentarias.

### **Información de las muestras: Taxonomía e información adicional.**

Las muestras seleccionadas para este estudio corresponden a frutas y verduras de producción y consumo en el país (Giacobone, G., et. al., 2018). En todas ellas se destaca un color significativo, indicio de que podrían contener los compuestos que busca cuantificar este estudio.

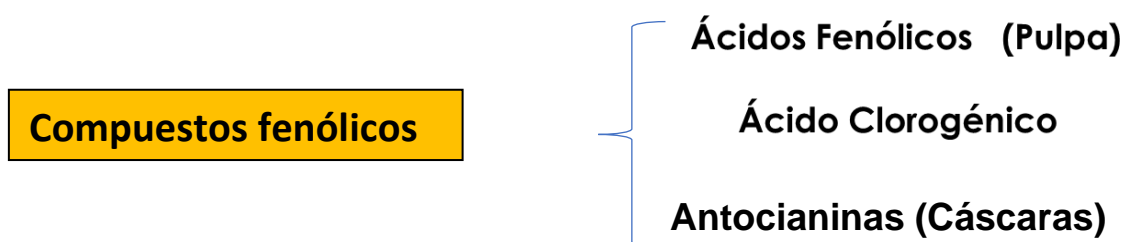
La taxonomía de las muestras se obtuvo de Sistema Integrado de Información Taxonómica o ITIS por sus iniciales en inglés. El mismo es un organismo multinacional que tiene por objetivo el coleccionar y permitir la libre divulgación de información sobre la taxonomía de las especies. Siendo la página de inicio la siguiente: <https://www.itis.gov/>

#### **Berenjena (*Solanum melongena* L.)**

Es una planta cuyo origen cabe situarlo en la India, Birmania y China, habiéndose constatado que tanto en la India como en otros pueblos del suroeste asiático su cultivo es muy antiguo (800 a.C.). En la Edad Media posiblemente llegó a la Península Ibérica a través de los árabes, que la trajeron de Egipto, y posteriormente, se extendió hacia otros países europeos, aunque su consumo no estuvo demasiado difundido, puesto que a su sabor característico (algo amargo por la presencia de saponinas y solaninas), se unió el hecho de que se la confundió con la mandrágora, planta tóxica. Es una planta plurianual. Su sistema radicular es fuerte y profundo. Su tallo, es rígido y generalmente erecto, pudiendo alcanzar, una altura que oscila entre 0,5 y 1,5 metros. Las hojas son alternas, grandes, enteras, con los márgenes ligeramente lobulados. También es frecuente la presencia de espinas en las nerviaciones de las hojas. Las flores, de corola blanca, malva o violeta, presentan cinco estambres amarillos. En algunas variedades aparecen grupos de 2-5 flores, formando cimas. El cáliz es persistente, tomentoso y espinoso. El fruto es una baya carnosa, maciza, sin cavidad para contener las semillas, las cuales están incluidas en la carne del fruto. Su forma y su color es muy variable: el color de la carne puede variar desde el blanco puro hasta un verde bastante intenso y la epidermis puede ser incolora o ser malva o violeta debido a las antocianinas. Esta coloración puede ser uniforme o estar distribuida en estrías. El color general del fruto es el resultado del de la carne y su epidermis. El

cáliz que recubre la parte superior del fruto puede ser liso o espinoso, verde o violáceo (García, 2011).

En nuestro país existen numerosas variedades, se emplean en general las violetas o moradas oscuras “medio larga” o “larga”, variedad americana. Son de gran interés alimenticio debido a que poseen un bajo contenido calórico y un alto contenido en fibra, además de ser ricas en minerales como magnesio, cobre y manganeso. Asimismo, poseen propiedades bioactivas derivadas de sus compuestos fenólicos y vitaminas del grupo B como B1, B2 y B3 (Plazas et al., 2013)



**Figura 15:** Compuestos fenólicos presentes en la berenjena.

Tanto los ácidos fenólicos como las antocianinas tienen múltiples propiedades beneficiosas para la salud humana. Los estudios farmacológicos indican que varios flavonoides y la niacina, presentes en la berenjena ayudan a disminuir los niveles de colesterol y triglicéridos en la sangre, mediante una modulación de su metabolismo y una mayor excreción del mismo (Fan et al., 2013; García, 2014). Explican que este efecto es provocado por el incremento de la actividad de enzimas de lecitina colesterol aciltransferasa (LCAT), enzima presente en la superficie de lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Fan et al., 2013). La presencia de antioxidantes fenólicos se asocia con una mejor respuesta frente al estrés y en el caso de las berenjenas se observa una mayor tolerancia al daño por frío que podría atribuirse al contenido de antocianinas (Darre, 2021)

En un informe confeccionado por la Dirección de Mercados Agrícolas dependiente de la Dirección Nacional de Mercados de la Subsecretaría de Política Agropecuaria y Alimentos correspondiente al año 2007, se realiza la evaluación de la situación comercial de la berenjena. De allí se obtiene la siguiente información: La producción mundial de berenjena se encuentra en los 34 millones de toneladas según un informe de la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) correspondiente al año 2005. En el mismo se indica que los países productores se elevan a 68, incluyendo a la República Argentina. En dicho informe, su

autor Carlos Larocca, estima que la producción local supera las 30 mil toneladas anuales, y se concentra en las provincias de Buenos Aires, Santa Fe, Salta, Córdoba, Jujuy, Mendoza y Formosa.

Taxonomic Hierarchy	
Kingdom	<a href="#">Plantae</a> – plantas, Planta, Vegetal, plants
Subkingdom	<a href="#">Viridiplantae</a> – green plants
Infra kingdom	<a href="#">Streptophyta</a> – land plants
Superdivision	<a href="#">Embryophyta</a>
Division	<a href="#">Tracheophyta</a> – vascular plants, tracheophytes
Subdivision	<a href="#">Spermatophytina</a> – spermatophytes, seed plants, phanérogames
Class	<a href="#">Magnoliopsida</a>
Superorder	<a href="#">Asteranae</a>
Order	<a href="#">Solanales</a>
Family	<a href="#">Solanaceae</a> – nightshades, solanáceas
Genus	<a href="#">Solanum</a> L. – nightshade
Species	<a href="#">Solanum melongena</a> L. – eggplant

**Figura 16:** Taxonomía *Solanum melongena* L. Fuente: Sistema Integrado de Información Taxonómica o ITIS. [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=30446#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=30446#null)



**Figura 17:** Frutos tipo bayas y flor de la berenjena (*Solanum melongena* L.)

#### **Brassica oleracea var. capitata f. rubra (repollo colorado):**

El repollo colorado o morado (*Brassica oleracea var. capitata f. rubra*) es un vegetal ampliamente cultivado, principalmente en América del Norte, Europa, China y Japón. En este país ya se hace uso de sus pigmentos naturales, existiendo industrias dedicadas y patentes. Por sus características, las antocianinas que posee el repollo colorado presentan algunas ventajas para la industria alimenticia, respecto de otras más ampliamente usadas como las de las uvas. En particular estas últimas muchas veces presentan niveles significativos de dióxidos de sulfuro

y además las antocianinas del repollo colorado son más estables químicamente que las de las uvas por estar sus azúcares acilados. La col morada es una planta herbácea anual de la familia de las crucíferas. Su nombre científico es *Brassica oleracea* var. *capitata* y su nombre vulgar es col lombarda o col morada o col roja. Químicamente la col contiene 92% de agua, fibra, hidratos de carbono, vitaminas: A, C, E y B, minerales: rico en azufre, potasio, fósforo, aluminio, calcio, flúor, bario, magnesio, bromo. Además, posee ácido fólico, niacina, biotina, quercetina, tirosina, leucina, cistina, ácido glutamínico, arginina y nitratos. Entre las antocianinas contiene cianidina-3-sofóro-5-glucósido, cianidina-3-(diferulil) soforósido-5- glucósido, quercitina, entre otros. (Hrazdina et al.,1977). La estabilidad de las antocianinas está determinada por el grado de oxidación, la temperatura, acidez, fuerza iónica e interacción con otras moléculas (Garzon, 2008). El científico alemán Richard Willstätter (1872-1942) fue el primero en describir el cambio de color de las antocianinas, moléculas en las que se produce el efecto batocrómico, que consiste en que al cambiar la acidez, es decir el pH, se pasa del rojo anaranjado en condiciones ácidas, como el de la pelargonidina, al rojo intenso-violeta de la cianidina en condiciones neutras, y al rojo púrpura-azul de la delphinidina, en condiciones alcalinas. El pH tiene efecto en la estructura y la estabilidad de las antocianinas. La acidez tiene un efecto protector sobre la molécula (Aoki et al., 2002). Por su mayor acilación, las antocianinas del repollo colorado presentan mejor estabilidad y resistencia al calor y luz que las extraídas de las uvas (Piccaglia R, et. al., 2002).

#### Taxonomic Hierarchy

Kingdom	<a href="#">Plantae</a> – plantes, Planta, Vegetal, plants
Subkingdom	<a href="#">Viridiplantae</a> – green plants
Infra kingdom	<a href="#">Streptophyta</a> – land plants
Superdivision	<a href="#">Embryophyta</a>
Division	<a href="#">Tracheophyta</a> – vascular plants, tracheophytes
Subdivision	<a href="#">Spermatophytina</a> – spermatophytes, seed plants, phanérogames
Class	<a href="#">Magnoliopsida</a>
Superorder	<a href="#">Rosanae</a>
Order	<a href="#">Brassicales</a>
Family	<a href="#">Brassicaceae</a> – mustards, moutardes, crucifers
Genus	<a href="#">Brassica</a> L. – mustard
Species	<i>Brassica oleracea</i> L. – cabbage

**Figura 18:** Taxonomía *Brassica oleracea capitata* L. Fuente: Sistema Integrado de Información Taxonómica o ITIS. [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=23062#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=23062#null)



**Figura 19:** Repollo colorado o *Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*.

#### Morrón rojo o pimiento rojo (*Capsicum annuum*)

:

El pimiento (*Capsicum annuum*) pertenece a la familia de las Solanáceas que se caracteriza por ser una familia compleja que incluye 98 géneros y 2716 especies (Olmstead y Bohs, 2007). El género *Capsicum* surgió en América del Sur, concretamente en Bolivia y está compuesto por unas 30 especies distintas (Eshbaugh, 1993)

El morrón rojo, o pimiento rojo, es un vegetal ampliamente consumido en el continente americano. Aunque su uso está presente en el resto de mundo siendo parte esencial de muchas comidas típicas hindúes, mexicanas árabes y turcas.

El aroma del fruto de pimiento viene dado por los compuestos orgánicos volátiles de bajo peso molecular presentes en su estructura, destacando los hidrocarburos derivados del isopreno como los compuestos mayoritariamente responsables del aroma del pimiento (Somos, 1984). El pimiento tiene un aroma característico fuerte que está provocado por la alta concentración de compuestos volátiles derivados de pirazina (Kollmannsberger et al., 2011). Sin embargo, ninguno de estos compuestos aporta valor nutritivo al pimiento. Los pimientos son ricos en muchos compuestos bioactivos como ácido ascórbico (vitamina C) y compuestos fenólicos. Sin embargo, la concentración de estos compuestos en el fruto de pimiento depende de factores como el genotipo, las condiciones de cultivo y la madurez del fruto (Howard et al., 2000). El ambiente en el que se desarrolla el cultivo es un factor muy importante, dado que tiene mucha influencia en el contenido final de compuestos bioactivos. Los pimientos poseen antioxidantes como los flavonoles: quercetina y luteolina.



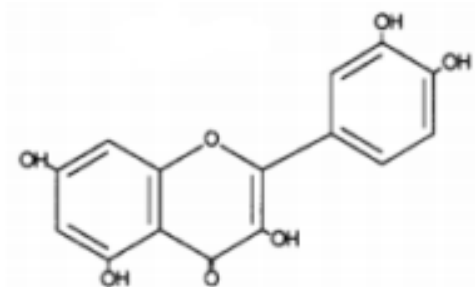


Figura 20: Quercetina: flavonol.

Los colores amarillo, naranja y rojo característicos del pimiento en sus etapas de maduración se deben a la acumulación de pigmentos carotenoides (Ghasemnezhad et al., 2011). La especie *Capsicum annum* L., conocida como pimiento rojo dulce, presenta un alto contenido en pigmentos carotenoides que le proporcionan el color rojo característico (Matsufuji et al., 1998).

De entre las cinco especies domesticadas, la *Capsicum annum* L. es la de mayor consumo. Su producción alcanzaba los 7 millones de toneladas anuales en 1980, siendo su principal productor el continente asiático, seguidos de Europa, América y África (Fári, M., 1986).

### Taxonomic Hierarchy

Kingdom	<a href="#">Plantae</a> – plantas, Planta, Vegetal, plants
Subkingdom	<a href="#">Viridiplantae</a> – green plants
Infrakingdom	<a href="#">Streptophyta</a> – land plants
Superdivision	<a href="#">Embryophyta</a>
Division	<a href="#">Tracheophyta</a> – vascular plants, tracheophytes
Subdivision	<a href="#">Spermatophytina</a> – spermatophytes, seed plants, phanérogames
Class	<a href="#">Magnoliopsida</a>
Superorder	<a href="#">Asterales</a>
Order	<a href="#">Solanales</a>
Family	<a href="#">Solanaceae</a> – nightshades, solanacées
Genus	<a href="#">Capsicum</a> L. – pepper
Species	<i>Capsicum annum</i> L. – cayenne pepper
<b>Direct Children:</b>	
Variety	<a href="#">Capsicum annum var. annum</a> L. – cayenne pepper
Variety	<a href="#">Capsicum annum var. glabriusculum</a> (Dunal) Heiser & Pickersgill – cayenne pepper, chillipiquin

Figura 21: Taxonomía *Capsicum annum* L. Fuente: Sistema Integrado de Información Taxonómica o ITIS. [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=30492#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=30492#null)



**Figura 22:** Pimiento rojo o morrón rojo.

#### Arándanos (*Vaccinium sect. Cyanococcus*)

Los arándanos son plantas pertenecientes al género *Vaccinium*, familia Ericaceae, nativas del hemisferio norte, específicamente del este de Estados Unidos.

El arándano, es una baya esférica con un diámetro que oscila entre 0.5 - 1.6 cm según la variedad (BlueBerries Argentina, s.f.a). Crece en arbustos perennes de gran longevidad, con altura variable y porte erecto o rastroso según la especie. El color de las bayas depende de su variedad: se pueden distinguir arándanos azules y arándanos rojos, estos últimos pertenecientes al subgénero *Oxycoccus*, que algunos botánicos consideran como un género aparte. Por su parte, las hojas son alternas, de forma ovada a lanceolada y color verde pálido, además de ser caducas, es decir, se pierden durante el receso invernal, adquiriendo una tonalidad rojiza en el otoño. Las flores poseen corola acampanada blanca, con tonos rosas en algunos cultivares, y se reúnen en racimos de 6 a 10 en cada yema (Nucifora, 2022).

Si bien no son considerados como una fruta de consumo masivo, Argentina acompaña la tendencia mundial en el aumento del consumo de esta fruta. Por el momento, la mayor parte de la producción se destina a exportación, siendo Estados Unidos y Canadá los mayores importadores. Además, la producción nacional se exporta a Reino Unido y Alemania, mientras se busca expandir la venta a otros países europeos y asiáticos. Para lo que respecta a la producción del arándano a nivel local, se localiza en las regiones del noroeste y noreste argentino (NOA y NEA) totalizando en su conjunto cerca del 86% de la superficie cultivada. Su producción anual se encuentra entre las 7y 8 millones de kilogramos, del cual el 98% se exporta (Dell'Acqua, et. al., 2019).

**Taxonomic Hierarchy**

Kingdom	<a href="#">Plantae</a> – plantas, Planta, Vegetal, plants
Subkingdom	<a href="#">Viridiplantae</a> – green plants
Infra-kingdom	<a href="#">Streptophyta</a> – land plants
Superdivision	<a href="#">Embryophyta</a>
Division	<a href="#">Tracheophyta</a> – vascular plants, tracheophytes
Subdivision	<a href="#">Spermatophytina</a> – spermatophytes, seed plants, phanerogames
Class	<a href="#">Magnoliopsida</a>
Superorder	<a href="#">Asterales</a>
Order	<a href="#">Ericales</a>
Family	<a href="#">Ericaceae</a> – heaths, éricáceas
Genus	<a href="#">Vaccinium</a> L. – blueberries, huckleberry, blueberry
	<b>Direct Children:</b>
Species	<a href="#">Vaccinium angustifolium</a> Aiton – lowbush blueberry, sweet lowbush blueberry
Species	<a href="#">Vaccinium arboreum</a> Marsh – farkleberry, sparkleberry, tree sparkleberry, tree-huckleberry
Species	<a href="#">Vaccinium X atlanticum</a> Bickn. (pro sp.) – Atlantic huckleberry
Species	<a href="#">Vaccinium boreale</a> I.V. Hall & Aalders – northern blueberry
Species	<a href="#">Vaccinium bracteatum</a> Thunb. – sea bilberry
Species	<a href="#">Vaccinium calycinum</a> Sm. – ohelo kau la'au
Species	<a href="#">Vaccinium X carolinianum</a> Ashe (pro sp.) – Carolina huckleberry
Species	<a href="#">Vaccinium cespitosum</a> Michx. – dwarf bilberry, dwarf blueberry
Species	<a href="#">Vaccinium corymbosum</a> L. – highbush blueberry, New Jersey blueberry, Southern blueberry, smallflower blueberry
Species	<a href="#">Vaccinium crassifolium</a> Andrews – creeping blueberry
Species	<a href="#">Vaccinium darrowii</a> Camp – Darrow's blueberry
Species	<a href="#">Vaccinium deliciosum</a> Piper – Cascade bilberry
Species	<a href="#">Vaccinium dentatum</a> Sm. – ohelo
Species	<a href="#">Vaccinium X dobbinii</a> Burnham (pro sp.) – Dobbin's huckleberry
Species	<a href="#">Vaccinium elliotii</a> Chapman – Elliott's blueberry
Species	<a href="#">Vaccinium erythrocarpum</a> Michx. – southern mountain cranberry
Species	<a href="#">Vaccinium geminiflorum</a> Kunth – Mexican blueberry
Species	<a href="#">Vaccinium hirsutum</a> Buckley – hairy blueberry, small cluster blueberry, wooly berry
Species	<a href="#">Vaccinium macrocarpon</a> Aiton – cranberry, large cranberry, American cranberry
Species	<a href="#">Vaccinium X margarettiae</a> Ashe (pro sp.) – Margaret's huckleberry
Species	<a href="#">Vaccinium membranaceum</a> Douglas ex Torr. – thingleaf huckleberry, mountain bilberry
Species	<a href="#">Vaccinium myrsinites</a> Lam. – shiny blueberry, Florida evergreen blueberry
Species	<a href="#">Vaccinium myrtilloides</a> Michx. – velvetleaf huckleberry, velvetleaf blueberry, sour-top blueberry
Species	<a href="#">Vaccinium myrtilus</a> L. – myrtle blueberry, myrtle whortleberry, whortleberry
Species	<a href="#">Vaccinium X nubigenum</a> Fernald (pro sp.)
Species	<a href="#">Vaccinium ovalifolium</a> Sm. – oval-leaf blueberry, Alaska blueberry
Species	<a href="#">Vaccinium oxatum</a> Pursh – California huckleberry, evergreen blueberry, evergreen huckleberry
Species	<a href="#">Vaccinium oxycoccos</a> L. – small cranberry
Species	<a href="#">Vaccinium pallidum</a> Aiton – Blue Ridge blueberry, hillside blueberry
Species	<a href="#">Vaccinium parvifolium</a> Sm. – red huckleberry
Species	<a href="#">Vaccinium reticulatum</a> Sm. – ohelo 'ai
Species	<a href="#">Vaccinium scoparium</a> Leiberg ex Coville – grouse whortleberry, grouseberry, red alpine blueberry, littleleaf huckleberry
Species	<a href="#">Vaccinium stamineum</a> L. – deerberry
Species	<a href="#">Vaccinium tenellum</a> Aiton – small black blueberry, southern blueberry
Species	<a href="#">Vaccinium uliginosum</a> L. – bog blueberry
Species	<a href="#">Vaccinium vitis-idaea</a> L. – lingonberry, northern mountain cranberry

**Figura 23:** Taxonomía *Vaccinium* L. Fuente: Sistema Integrado de Información Taxonómica o ITIS. [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=23571#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=23571#null)



**Figura 24:** *Vaccinium* sect. *Cyanococcus* o arándanos azules.

## Frutillas (*Fragaria ananassa duchesne*)

En nuestro país la producción se concentra en las provincias de Tucumán, Santa Fe (Coronda), Buenos Aires y, en menor medida, en Corrientes, Río Negro, Neuquén y Mendoza.

La producción anual de frutillas en la República Argentina se estima en 8,83 toneladas anuales. En el caso de la región, los países del MERCOSUR poseen una superficie cultivada de 4927 hectáreas, donde Brasil lidera la producción por amplio margen (3590 hectáreas). Luego sigue Argentina, pero con una extensión de 798 hectáreas dedicadas al cultivo de frutillas. Las principales provincias productoras de Argentina son Buenos Aires, Santa Fe y Tucumán, con 62% de la superficie en producción. En cuanto al mercado mundial, se detecta un aumento significativo en el consumo de esta fruta. Siendo en el periodo de 1990-2000 un promedio de importación de 378 mil toneladas anuales. Este número aumentó a 539 mil toneladas en el periodo 2001-2005. Los principales importadores a nivel mundial en este periodo fueron Alemania con 113 mil toneladas (21%), Francia 100 mil (18.7%), Canadá 60 mil (11.1%), Estados Unidos 42 mil (8%) (Molina, N. et. al., 2007).

A nivel mundial, en el ranking de los mayores países productores Argentina figura en el 34º lugar (sobre un total de 77 países) de acuerdo a los datos COMTRADE del año 2014, mientras que en el año siguiente figura en el lugar 15º como exportador, sobre un total de 77 países, y en el 70º lugar como importador, sobre un total de 131 mencionados en dicha base de datos.

Taxonomic Hierarchy	
Kingdom	<a href="#">Plantae</a> – plantas, Planta, Vegetal, plants
Subkingdom	<a href="#">Viridiplantae</a> – green plants
Infra kingdom	<a href="#">Streptophyta</a> – land plants
Superdivision	<a href="#">Embryophyta</a>
Division	<a href="#">Tracheophyta</a> – vascular plants, tracheophytes
Subdivision	<a href="#">Spermatophytina</a> – spermatophytes, seed plants, phanérogames
Class	<a href="#">Magnoliopsida</a>
Superorder	<a href="#">Rosanae</a>
Order	<a href="#">Rosales</a>
Family	<a href="#">Rosaceae</a> – roses
Genus	<a href="#">Fragaria</a> L. – strawberry
Species	<a href="#">Fragaria X ananassa</a> (Weston) Duchesne ex Rozier (pro sp.) – hybrid strawberry
Subspecies	<a href="#">Fragaria X ananassa ssp. ananassa</a> (Weston) Duchesne ex Rozier

**Figura 25:** Taxonomía *Fragaria ananassa duchesne* L. Fuente: Sistema Integrado de Información Taxonómica o ITIS. [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=837344#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=837344#null)



**Figura 26:** *Fragaria ananassa duchesne* o frutillas.

La superficie plantada con frutilla en la provincia de Santa Fe se ubica en torno a las 345 ha. El 85 % corresponde a la zona de Coronda y el resto a la zona de la Costa. Las cosechas se realizan mayormente en invierno (fruta primicia) y primavera (fruta de estación). El cultivo de frutilla en Santa Fe se caracteriza por la amplia difusión de tecnologías de desinfección de suelo, micro túneles y macro túneles. Predominan las plantas frescas. La variedad San Andreas es la más cultivada, con un 30 % de la superficie. Los principales destinos de la fruta fresca de Santa Fe son las ciudades de Rosario, Santa Fe, Córdoba y Buenos Aires. Por su tradición y calidad, Coronda es reconocida como “la capital argentina de la frutilla”. Buenos Aires El cultivo de frutilla en la provincia de Buenos Aires se desarrolla fundamentalmente en dos regiones agroecológicamente muy distintas: el Área Metropolitana (AMBA) y el sudeste bonaerense (o costa atlántica), con unas 400 ha y 150 ha, respectivamente. Menores producciones se llevan a cabo en otras regiones de la provincia, como por ejemplo en zonas aledañas al Río Colorado (Hilario Ascasubi). En base a la superficie total que Buenos Aires destina a este cultivo, constituye la principal provincia frutillera del país. En el AMBA, donde las cosechas se concentran fundamentalmente en primavera (fruta de estación) pueden distinguirse dos zonas productoras importantes, norte y sur. En AMBA Norte se destacan Pilar, Exaltación de la Cruz y Zárate, con unas 240 ha de frutilla; mientras que AMBA Sur, que incluye al cordón hortícola de La Plata, Florencio Varela y Berazategui, la superficie con frutilla alcanza las 160 ha, con aproximadamente el 90% en el partido de Florencio Varela. Las frutillas del AMBA abastecen el mercado de Buenos Aires a partir de la primavera, desplazando a las frutillas de Santa Fe, Tucumán y Corrientes, que dominan la oferta durante los meses invernales.

Por ser fruta muy perecible se requieren sumos cuidados en la post cosecha y en el transporte. Su principal uso se registra en la industria alimentaria como “ congelado” que permite su transformación en dulces, mermeladas, jaleas, conservas, salsas, jugos concentrados, licores y aguardientes. Además, se incorpora en lácteos, golosinas cereales en barras, bebidas sin alcohol y té.

### Cerezas (*Prunus subg. Avium*)

Las cerezas poseen un alto contenido de antocianinas, quercetina, hidroxicinamatos, potasio, fibra, vitamina C, carotenoides y la melatonina. Por el alto contenido de estos componentes bioactivos y micronutrientes, su ingesta produciría potenciales beneficios para la salud previniendo el cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes, procesos inflamatorios y Alzheimer (Kirakosyan y col., 2009; McCune y col., 2010; Franceschinis, 2016). El color de su epidermis se debe a la acumulación de antocianinas que actúan como el principal indicador de madurez utilizado en su recolección.

En nuestro país la producción de cerezas se encuadra dentro de las llamadas economías regionales y se localiza principalmente, en las provincias de Mendoza, Neuquén, Río Negro, Santa Cruz y Chubut.

En el caso de Mendoza con 661 hectáreas, Río Negro con 428 hectáreas, Neuquén con 237 hectáreas, le siguen Chubut con 360 hectáreas, Santa Cruz con 200 y Buenos Aires con 50. El mercado externo es fundamental para el sector ya que la totalidad de la producción supera ampliamente la demanda de consumo local. Las exportaciones representan para la región patagónica el 88% de las ventas. Actualmente el sector se encuentra orientado a potenciarse en el mercado chino, principal importador de fruta.

Ya sea por la producción extendida a lo largo del año (fruto de los distintos climas y regiones presentes en el país) como por la ausencia de enfermedades o plagas que afectan su producción. Entre los años 2020 y 2021, la producción patagónica alcanzó los 24,4 millones de dólares en exportaciones (Raffo Benegas M. D., et. al., 2022).

La Estación experimental del INTA Alto Valle estableció los índices de cosecha para las diferentes variedades de cereza de la zona. Los parámetros que se miden son:

- Calibre: es la medida del diámetro ecuatorial.
- Color: se evalúa comparando con carta de color. La observación se hace con luz natural (sol).

- Firmeza: se mide con durómetros que registran en una escala de 0-100. Los valores requeridos para la exportación deben ser mayores a 70 y los de una fruta que no se puede cosechar porque se encuentra blanda o pasada menores a 60.
- Sólidos solubles totales: se miden por refractometría.
- Acidez titulable: se determinan los ácidos totales mediante una titulación ácido base.

En general, los parámetros ideales de cosecha para una cereza son: sólidos solubles 17 a 19° Brix, relación sólidos solubles-acidez de 1,5 a 2 y firmeza de 70 a 75 (Kappel y col. 1996).

Taxonomic Hierarchy	
Kingdom	<a href="#">Plantae</a> – plantas, Planta, Vegetal, plants
Subkingdom	<a href="#">Viridiplantae</a> – green plants
Infra kingdom	<a href="#">Streptophyta</a> – land plants
Superdivision	<a href="#">Embryophyta</a>
Division	<a href="#">Tracheophyta</a> – vascular plants, tracheophytes
Subdivision	<a href="#">Spermatophytina</a> – spermatophytes, seed plants, phanerogames
Class	<a href="#">Magnoliopsida</a>
Superorder	<a href="#">Rosanae</a>
Order	<a href="#">Rosales</a>
Family	<a href="#">Rosaceae</a> – roses
Genus	<a href="#">Prunus</a> L. – chokecherry, plum
Species	<a href="#">Prunus avium</a> (L.) L. – sweet cherry

**Figura 27:** Taxonomía *Prunus avium* L. Fuente: Sistema Integrado de Información Taxonómica o ITIS. [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=24770#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=24770#null)

La cereza dulce (*Prunus avium* L.) es originaria de la zona comprendida entre el Mar Negro y el Mar Caspio. La especie más antigua de todas es la cereza ácida (*Prunus cerasus* L.). Es un fruto que se encuentra en el mercado desde mediados de octubre hasta diciembre. En Mendoza, el 55 % de la superficie cultivada corresponde a la variedad Bing. Se la conoce como la super fruta porque contiene antioxidantes llamados antocianinas, que pueden prevenir enfermedades cardíacas y cáncer. Es una excelente fuente de betacaroteno y rica en vitaminas C, E, minerales y fibra (Pereyra N. M., et. al., 2019).



**Figura 28:** Racimo de cerezas.

### Residuos alimenticios y su posible aprovechamiento

Las dificultades en el acceso a los alimentos de algunos sectores de la población mundial, así como también la necesidad de solucionar ciertos problemas ambientales y las presiones legislativas en algunos países requiere de la pronta creación de métodos adecuados para la recuperación de los residuos generados en la industria alimenticia y la reducción o eliminación de las disposiciones de los mismos. Actualmente, los métodos convencionales para la recuperación son la producción de alimento para animales y el compostaje, que proporcionan una utilización parcial de los desechos de la industria alimenticia. Las cáscaras y las pieles de las frutas, los restos de verduras, de carne y huesos de animales, cáscara de huevos, etc. se consideran residuos, pero sin embargo contienen cantidades considerables de compuestos de alto valor biológico y reutilizables en una gran proporción. La recuperación de residuos alimenticios es una forma de reutilización que puede desarrollar nuevos productos con valor de mercado (Galanakis, 2012, 2013; Rahmanian et al., 2014). La reutilización permite reducir los niveles de residuos y crea nuevas oportunidades y beneficios para todos aquellos que pertenecen al sistema de producción alimentaria. La recuperación de componentes nutritivos a partir de residuos incrementa la sustentabilidad del proceso productivo. Se entiende por sustentable a los procesos que satisfacen las necesidades actuales sin poner en riesgo los recursos naturales de las generaciones futuras. Todas las organizaciones, y en particular los sistemas de producción de alimentos no pueden ignorar la necesidad de actuar de una manera sustentable. Casi un 45 % de residuos se generan a partir de las frutas y verduras en la industria de procesamiento en todo el mundo. Estas pérdidas ocurren a lo largo de la cadena de suministro de alimentos. Una gran cantidad se desecha en vertederos y/o ríos. Esto representa una seria amenaza para el medio ambiente debido a su alta capacidad de biodegradación, lixiviado y



emisiones de metano. Sin embargo, estos recursos poseen un gran potencial para ser utilizados para la recuperación de productos de alto valor agregado (Wadhwa y Bakshi, 2013). Los residuos agrícolas son la consecuencia generalmente de daños mecánicos y /o desperdicios que se producen durante la operación de cosecha (por ej. trilla o recolección de fruta) o cosechas clasificadas según estándares de calidad realizadas tardíamente después de la cosecha, cuando gran parte de los vegetales se descomponen por estar al rayo directo del sol en el campo o a merced de plagas. Asimismo, el procesamiento de estos productos frutihortícolas (secado, deshidratación, elaboración de jugos, mermeladas, producción de pastas, encurtidos vegetales y otras tecnologías generan residuos sólidos como cáscaras, restos de pulpa sin utilizar, orujo, semillas y tallos y otros residuos líquidos como jugos, aguas de lavado, aguas de refrigeración y aguas con productos de limpieza. Estos desechos están compuestos principalmente por agua (80-90%). La disposición, así como se produce, genera un volumen muy grande de residuos que resulta prácticamente inmanejable. Estos desechos poseen una cantidad significativa de compuestos biológicamente activos como fibras, polifenoles, glucosinolatos, aceites esenciales, pigmentos, enzimas, ácidos orgánicos, etc. que pueden usarse para la recuperación de productos de alto valor agregado (Galanakis, 2015 a, b; Deng et al. 2015). Los compuestos bioactivos, subproductos de frutas y vegetales pueden usarse como aditivos funcionales en alimentos. Vergara-Valencia et al. (2007) demostraron que el concentrado de fibra dietética de mango de frutas no maduras podría aplicarse como ingrediente de productos de panadería para aumentar su capacidad antioxidante. Además, el orujo de manzana, un subproducto de la industria del jugo de manzana podría utilizarse como fuente de fibra dietética y polifenoles en la producción de pasteles (Sudha et al., 2007), mientras que la frambuesa (Górecka et al., 2010), la pasta de uva (Mildner-Szkudlarz et al., 2013) y blueberry (Mišan et al., 2014) se han utilizado para enriquecer las galletas. El orujo de zanahoria se puede usar en pan, pastel, aderezo y encurtidos y el orujo de cebolla en bocadillos. Los subproductos de cítricos (albedo de limón y fibra dietética en polvo de naranja) se agregaron a las salchichas cocidas y curadas en seco para aumentar su contenido de fibra dietética (Fernández-López et al., 2004). Los subproductos del olivo se han utilizado para la recuperación de polifenoles y pectinas, que se han propuesto como antioxidantes y sustitutos de la grasa en los productos alimenticios, respectivamente (Galanakis et al., 2010a, b, c, d, e; Galanakis, 2011; Rahmanian et al. al., 2014; Roselló-Soto et al., 2015). Asimismo, la utilización de residuos de frutas y vegetales para la elaboración de etanol, biogás, proteína de célula única, bebidas (sidra, cerveza y vino) y vinagre ha sido también ampliamente estudiadas (Wadhwa y Bakshi, 2013). La industria de procesamiento de papa genera grandes cantidades de cáscara como subproducto. Es una buena fuente de varios ingredientes funcionales beneficiosos, incluidos los polifenoles antioxidantes. La utilización de cáscaras de papas como fuente de antioxidantes naturales ha sido extensamente investigada, debido a que poseen 10 veces más cantidad de nutrientes que la pulpa (Malmberg y Theander, 1984). Poseen cantidades importantes de ácidos clorogénicos y gálicos, que actúan como antioxidantes (Sotillo et al, 1994, Singh et al., 2011). El contenido de compuestos fenólicos puede alcanzar valores de

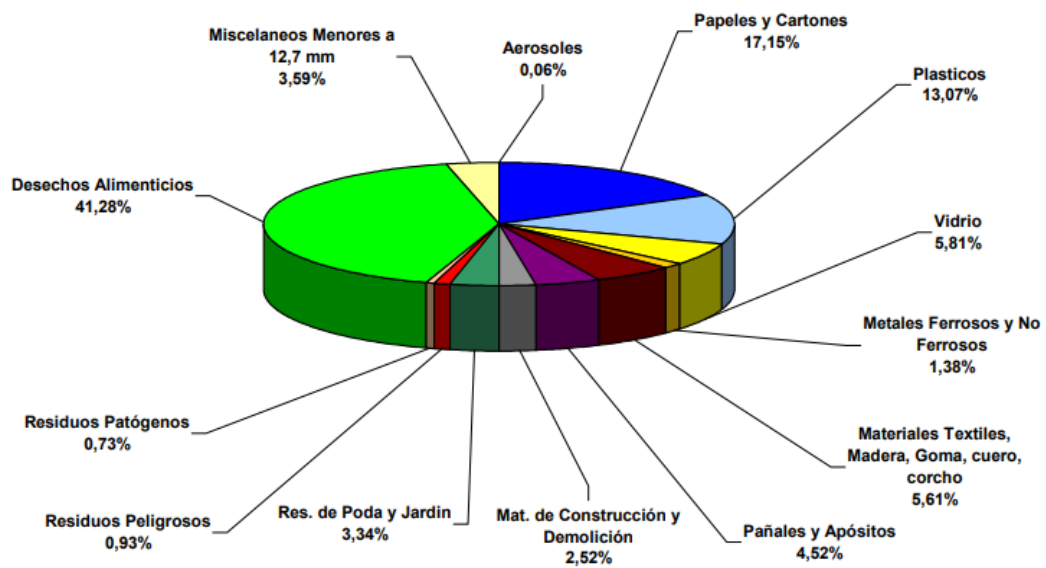
25-125 mg/100g, dependientes de las técnicas de extracción y la polaridad de los solventes de extracción (Singh y Saldaña, 2011). El contenido de antioxidantes varía también según la variedad de papa. Elevadas concentraciones de antioxidantes se hallan en las cáscaras de color roja o púrpura mientras que en las amarillas o marrones en menor proporción (Al-Eshoby y Rao, 2009). La extracción de compuestos bioactivos de las cáscaras de papa se puede obtener a través de tecnologías emergentes como microondas, ultrasonidos, radiofrecuencia, etc. Diversos autores han evaluado el potencial nutrimental de la harina de cáscara de plátano encontrando que tiene un elevado potencial como ingrediente funcional en alimentos. Gil-Garzón et al., (2011) sustituyeron harina de trigo por harina de banano verde con cáscara y encontraron que esta no podría ser mayor a 16%. Otros autores que han utilizado la cáscara de plátano para la elaboración de fideos concluyeron que la pulpa de plátano y la harina de cáscara de plátano Cavendish podrían ser útiles para controlar la hidrólisis del almidón de tallarines amarillos, a pesar de que algunas de las propiedades fisicoquímicas de los fideos fueron alterados (Ramli et al., 2009)

Según estimaciones de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) cerca de un 30% de la producción total de alimentos se desecha en forma de residuos. Esto produce un enorme perjuicio económico, social y ambiental.

Para el caso de Argentina, estos valores no fueron medidos con exactitud. Pero un estudio realizado por la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Buenos Aires en 2007 determinó que cerca del 41% de los residuos generados en la ciudad de Buenos Aires correspondían a desechos alimenticios. Dicho estudio fue realizado en función de los residuos sólidos urbanos o RSU (De Luca M. & Rosso M., 2007).

<b>Componentes</b>	<b>COMPOSICION TOTAL</b>
<b>Papeles y Cartones</b>	<b>17,15%</b>
Diarios y Revistas	3,97%
Papel de Oficina (Alta Calidad)	1,24%
Papel Mezclado	6,90%
Cartón	4,33%
Envases Tetrabrick	0,70%
<b>Plásticos</b>	<b>13,07%</b>
PET (1)	1,62%
PEAD (2)	1,07%
PVC (3)	0,91%
PEBD (4)	6,33%
PP (5)	1,23%
PS (6)	1,42%
Otros (7)	0,49%
<b>Vidrio</b>	<b>5,81%</b>
Verde	2,74%
Ambar	0,64%
Blanco	2,08%
Plano	0,35%
<b>Metales Ferrosos</b>	<b>0,96%</b>
<b>Metales No Ferrosos</b>	<b>0,42%</b>
<b>Materiales Textiles</b>	<b>3,90%</b>
<b>Madera</b>	<b>1,08%</b>
<b>Goma, cuero, corcho</b>	<b>0,63%</b>
<b>Pañales Descartables y Apositos</b>	<b>4,52%</b>
<b>Materiales de Construcción y Demolición</b>	<b>2,52%</b>
<b>Residuos de Poda y Jardín</b>	<b>3,34%</b>
<b>Residuos Peligrosos</b>	<b>0,93%</b>
<b>Residuos Patógenos</b>	<b>0,73%</b>
<b>Desechos Alimenticios</b>	<b>41,28%</b>
<b>Miscelaneos Menores a 12,7 mm</b>	<b>3,59%</b>
<b>Aerosoles</b>	<b>0,06%</b>
<b>TOTAL</b>	<b>100%</b>
<b>PESO VOLUMETRICO PROMEDIO</b>	
Peso Volumetrico (Tn/m3)	0,240
<b>PRODUCCION PER CAPITA</b>	
PPC (kg/hab x día)	0,968

**Tabla 2:** Tabla de la composición física de los residuos sólidos urbanos de CABA, invierno 2006 (De Luca M. & Rosso M., 2007).



**Figura 29:** Gráfico de la composición física de los residuos sólidos urbanos de CABA, invierno 2006 (De Luca M. & .Rosso M., 2007).

En los desechos alimenticios son considerados todos aquellos alimentos aptos para el consumo humano que se descarten, pierdan, degraden o afecten, en cualquier punto a lo largo de la cadena productiva y de suministro, como también el utilizado intencionalmente para alimentación animal o bien constituya un subproducto de la elaboración de alimentos para humanos.

## **OBJETIVOS E HIPÓTESIS.**

### Objetivos generales

Verificar la presencia o ausencia de antocianinas en las muestras elegidas: repollo colorado, berenjenas, pimientos morrones, arándanos, frutillas y cerezas; y realizar un estudio comparativo de su contenido total entre las distintas muestras vegetales. Identificar las principales antocianinas presentes en cada una de las muestras. Asimismo, evaluar el deterioro de las antocianinas durante un período de 7 días de almacenamiento, en ausencia de refrigeración, sin exposición a la luz solar y sin control de la temperatura ambiental, simulando un posible residuo.

### Objetivos Específicos

Ordenar las muestras vegetales elegidas en función de la cantidad de antocianinas totales. Seleccionar cuáles serían las muestras más adecuadas para realizar un proyecto de recuperación y aprovechamiento de las antocianinas, analizar la posible estabilización de las antocianinas y sus posibles aplicaciones/formas de comercialización.

### Hipótesis

$H_0$  (para cada muestra): La coloración presente en la muestra se le atribuye a la alta concentración de antocianinas en la misma, pudiendo ser candidata para un proyecto de recuperación.

$H_1$  (para cada muestra): La coloración de la muestra no se relaciona directamente con la concentración de antocianinas.

$H_0'$  (para cada muestra): La concentración de antocianinas en los vegetales luego de 7 días de almacenamiento a temperatura ambiente sin control (residuo simulado) es similar a la concentración inicial, pudiéndose utilizar estos residuos como fuente del componente bioactivo en un proyecto de recuperación.

$H_1'$  (para cada muestra): La concentración de antocianinas en los vegetales, luego del almacenamiento decae significativamente producto de los procesos de degradación, afectando la capacidad de obtener extractos ricos en antocianinas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

## Materiales y reactivos

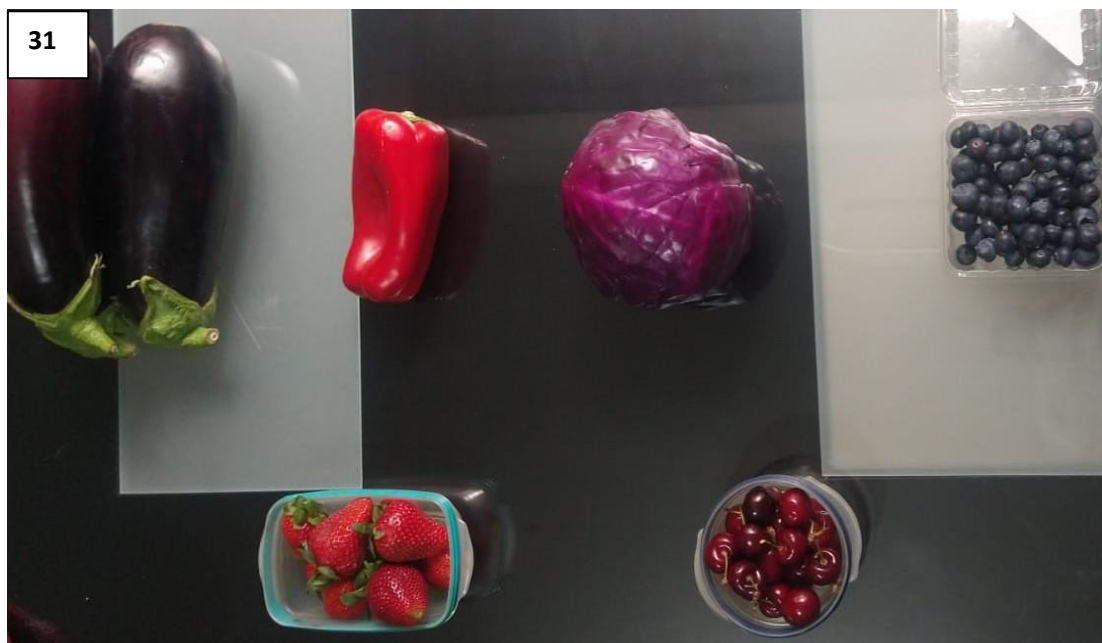
- ❖ Balanza granataria, con rango 0,01 gramos.
- ❖ Sonicador o baño de ultrasonido.
- ❖ Centrifuga.
- ❖ Espectrofotómetro UV-Vis.
- ❖ Cubas de cuarzo (1 cm paso óptico).
- ❖ Agitador magnético con calentador regulado.
- ❖ Pipetas (graduadas, aforadas y automáticas).
- ❖ Vasos de precipitados y frasco shot (1L).
- ❖ Gradillas.
- ❖ Tubos de centrifuga con tapa.
- ❖ Jeringa 10 mL.
- ❖ Espátula y material para manipulación de muestra.
- ❖ Mortero y pilón.
- ❖ Cuchillo y licuadora de mano.
- ❖ Agua destilada.
- ❖ Metanol, calidad HPLC.
- ❖ Agua corriente y lavandina (opcional).
- ❖ Acetato de sodio ( $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ ), calidad reactivo.
- ❖ Cloruro de potasio (KCl), calidad reactivo.
- ❖ Solución ácido clorhídrico 1N.
- ❖ N-Hexano, calidad cromatográfica.
- ❖ Ácido fórmico 98%.
- ❖ Ácido acético glacial.
- ❖ Acetato de etilo.
- ❖ Bromuro de potasio, para IR.
- ❖ Placas silica gel 254 con base de aluminio.
- ❖ Jeringa Hamilton (25  $\mu\text{L}$ ).
- ❖ Filtros banda blanca.
- ❖ Muestras:
  - 1- *Solanum melongena* (Berenjena).
  - 2- *Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra* (repollo colorado).
  - 3- *Capsicum annuum* (morrón rojo o pimiento rojo).
  - 4- *Vaccinium* sect. *Cyanococcus* (arándanos).
  - 5- *Fragaria ananassa duchesne* (frutillas).
  - 6- *Prunus subg. avium* (cerezas).



## PROCEDIMIENTO

## Preparación de muestras

Se adquieren las muestras en un comercio de cercanía, garantizando que las mismas sean lo más frescas posibles. A continuación, se les realiza un tratamiento opcional de lavado con agua corriente, seguido de una inmersión en agua con unas gotas de lavandina. Con tal de eliminar restos de material que pueda interferir (como tierra, hojas, piedras, etc.) y de otros organismos (como insectos, hongos o microorganismos). Estos últimos ya que pueden afectar o incidir en la degradación natural de las muestras para la prueba de estabilidad. Finalmente se lavan con agua destilada para remover restos minerales y se secan superficialmente antes de proseguir (**Figuras 30, 31 y 32**).



**Figuras 31, 32 y 33:** Muestras posterior al lavado, se observan desde arriba hacia abajo y de izquierda a derecha: las berenjenas, morrón rojo, repollo colorado, arándanos, frutillas y cerezas. En las fotos inferiores corresponden a las muestras de frutillas y cerezas.

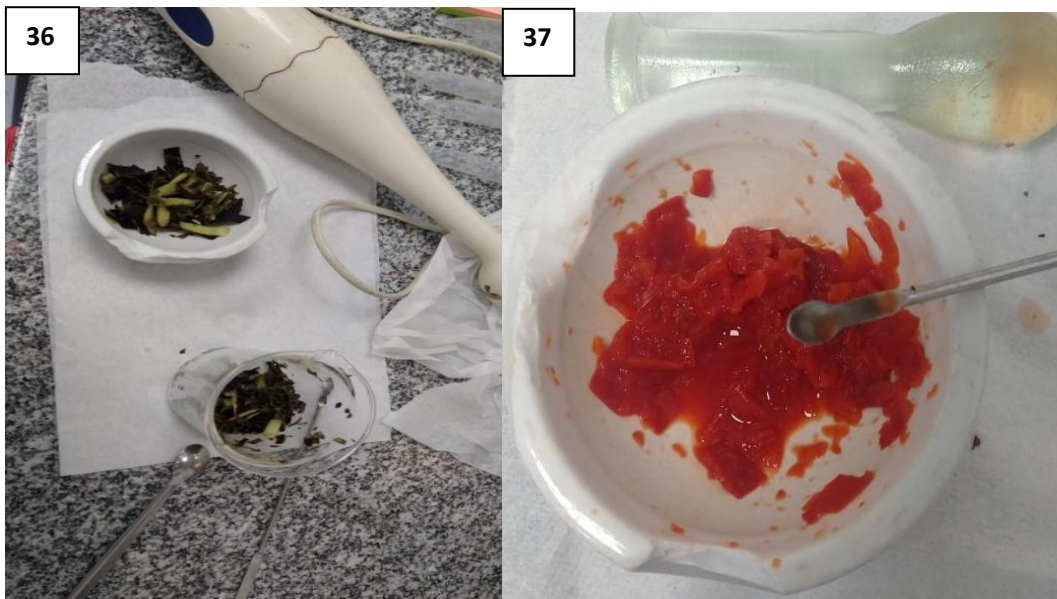
Las muestras se preparan para trasladarlas al laboratorio, en el caso de las berenjenas solo se utiliza la piel dado que es donde se concentran los analitos de interés (**Figuras 34 y 35**). Se le remueve la capa superior de piel mediante el uso de un “pela papas” y un cuchillo. Se prosigue a cortar las pieles de berenjena, las hojas del repollo colorado y el morrón rojo. Para las muestras de fruta, no se las manipula más allá del lavado.



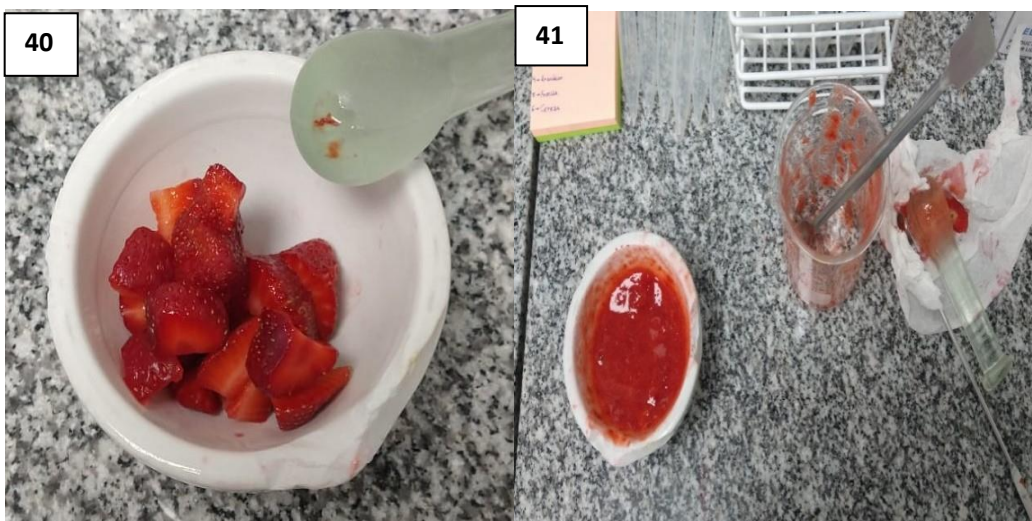
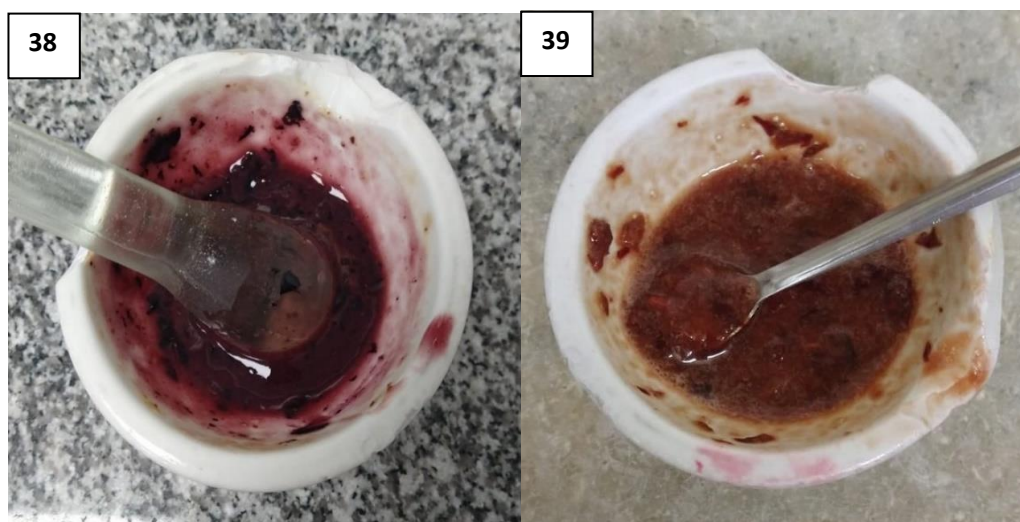
**Figura 34 y 35:** Preparación de la muestra de berenjena, de la cual solo se utilizó la cascara para el ensayo.

### Extracción y maceración

En el laboratorio se realizan las preparaciones finales para la etapa de extracción. Las muestras se colocan en morteros y se prosigue a triturar para exponer mayor superficie de contacto con el solvente de extracción. En las muestras frutales (arándanos, frutillas y cerezas) y en el caso del morrón, se logra una pulpa uniforme con presencia de las cascara. Para la berenjena y el repollo se las corta en porciones más pequeñas usando la batidora de mano, luego se las morterea (**Figuras 36 y 37**).

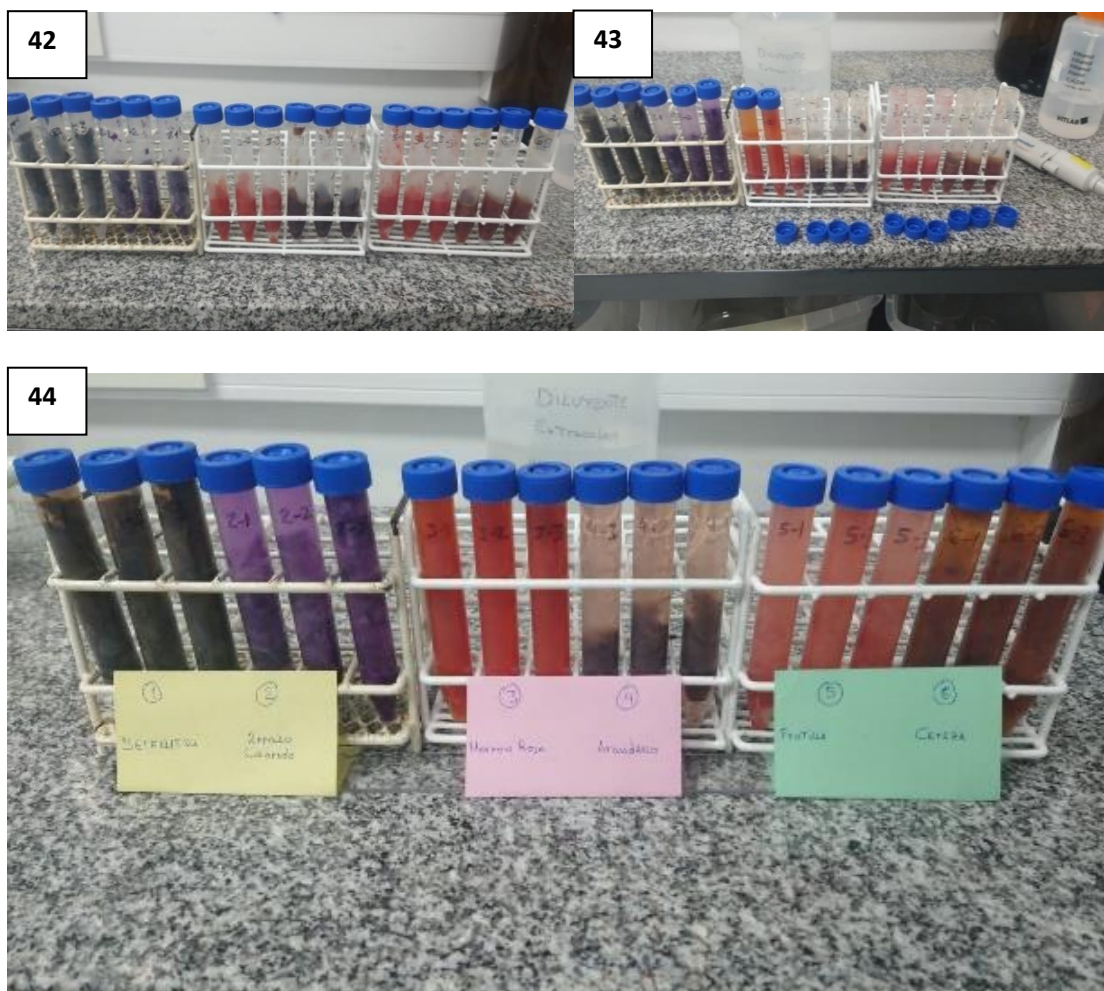


Figuras 36 y 37: Muestras de berenjena (izquierda) y morrón rojo (derecha).



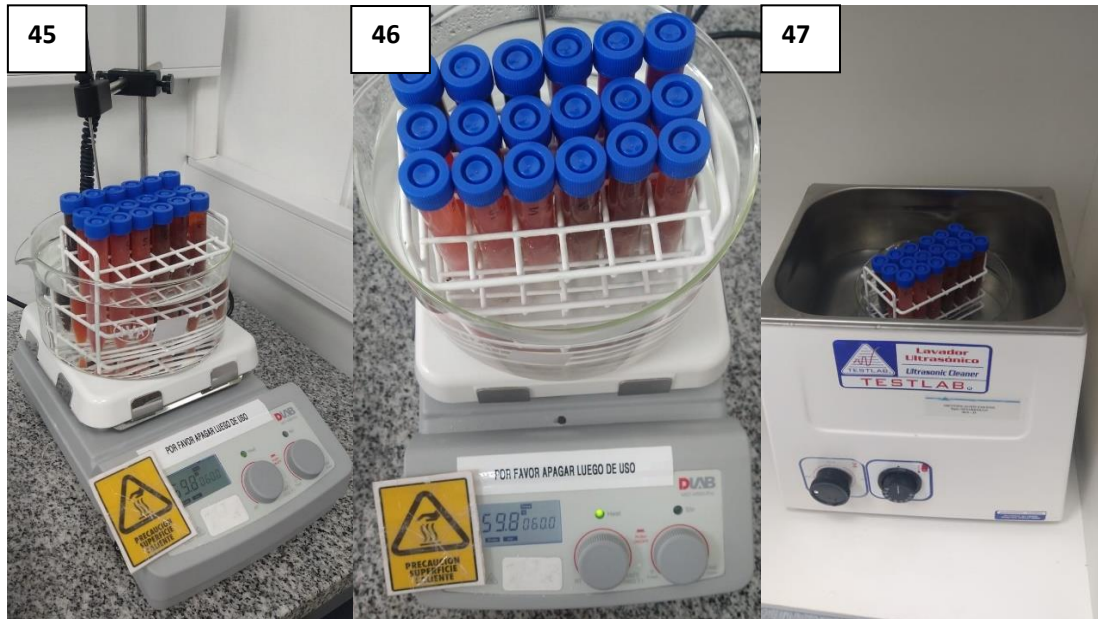
Figuras 38 a 41: Muestras de arándanos (38), cerezas (39) y frutillas (40 y 41).

En tubos de ensayo se pesan 5,0 gramos de cada muestra por triplicado. Se utiliza la balanza granataria Sartorius modelo CP 4202S. A continuación, se prosigue a agregar 10,0 mL de solvente de extracción utilizando una pipeta automática. Se utiliza una solución de metanol agua (50:50) como solvente de extracción (Casazza, A. A., et. al., 2010; Guntero V.A., et. Al.,2015) utilizando una pipeta automática (**Figuras 42, 43 y 44**).



**Figuras 42, 43 y 44:** Muestras por triplicado listas para la fase de extracción, de izquierda a derecha: berenjenas -1-, repollo colorado -2-, morrón rojo -3-, arándano -4-, frutilla -5- y cereza -6-.

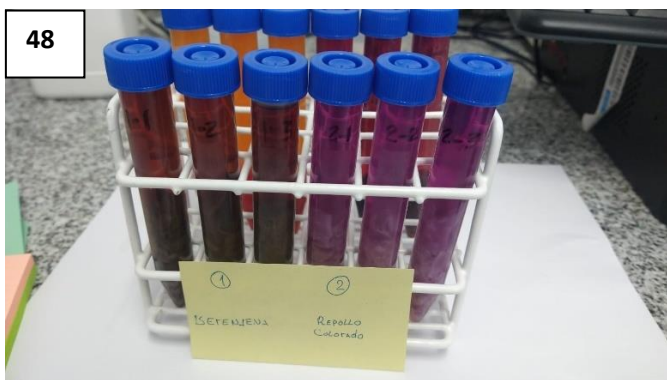
Se prosigue realizando ciclos de sonicado (Casazza, A. A., et. al., 2010) y agitado manual para promover la extracción, contabilizando un total de 6 ciclos. El sonicado se realiza en baño de agua a 60°C durante 30 minutos. A esta temperatura y proporción de solvente se consigue una buena extracción de los analitos deseados (Guntero V.A., et. Al.,2015) (**Figuras 45, 46 y 47**).



**Figuras 45, 46 y 47:** Ciclos del proceso de extracción, calentado a 60°C en baño de agua y sonicado.

Luego se deja reposar las muestras tapadas y al abrigo de la luz durante 24 horas para completar la maceración.

Transcurrido el tiempo, se prosigue a centrifugar las muestras a 3500 rpm por 10 minutos. La centrifuga en cuestión es una Neuation iFUGE L400P. Se conserva la fase líquida para realizar los análisis. Para evitar posibles interferencias no se filtran las muestras, dado que existe la posibilidad de retención de analito por parte de los filtros (**Figuras 48, 49 y 50**).



**Figuras 48, 49 y 50:** Muestras luego del centrifugado, previo a las diluciones y lectura en el equipo.

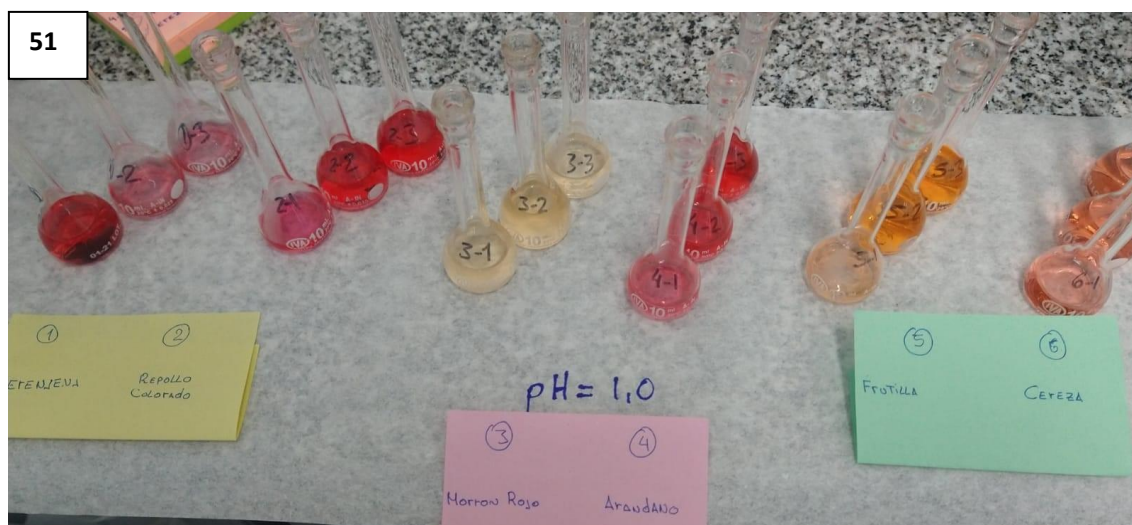
Opcionalmente se podría realizar una prueba de filtros, utilizando distintos tipos, para determinar cuál sería el mejor y cuál sería el volumen de saturación de los mismos (punto en el cual los filtros dejan de retener analito). Esto como parte de la validación del método de extracción y cuantificación.

Este método de extracción no es específico para antocianinas, por lo que podría incluirse en un estudio más genérico de extracción de polifenoles totales (siendo las antocianinas parte de este último grupo). Luego en caso de querer determinar la concentración de polifenoles totales se lo podría realizar mediante un ensayo de comparación de capacidad antioxidante contra un patrón

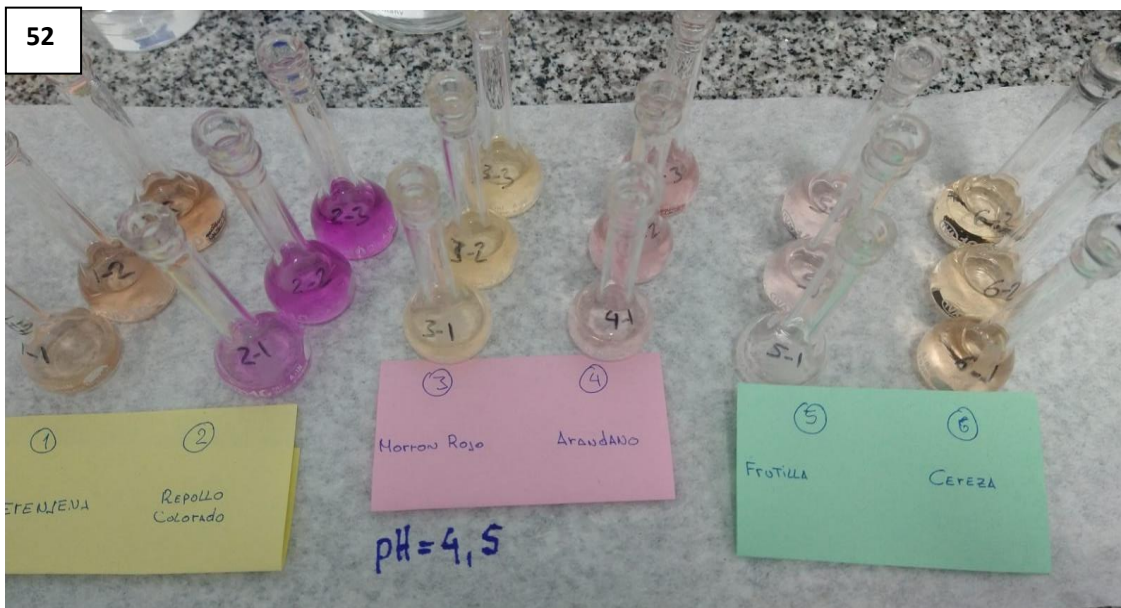
de ácido gálico. Pero para este ensayo se requieren reactivos de los cuales no se tiene disponibilidad al momento de hacer la prueba.

### Determinación de las antocianinas Totales

La cuantificación de antocianinas se realizó por el método de pH diferencial. Este es un método espectrofotométrico que se basa en la transformación estructural de las antocianinas con el cambio de pH (pH 1 coloreadas y pH 4.5 incoloras). A partir del extracto líquido se realiza una dilución 1,0 mL en un matraz de 10 mL con cada muestra por duplicado. Se las lleva a volumen con las soluciones amortiguadoras o buffers de cloruro de potasio (pH= 1,0) y acetato de sodio (pH= 4,5).. Se midió la absorbancia de cada muestra a la longitud de onda de máxima absorbancia ( $\lambda_{max}=520$  nm) y a 700 nm. De la ecuación de Lambert-Beer se obtiene  $C=A/\epsilon$ , en la que C es la concentración molar, A es la absorbancia,  $\epsilon$  corresponde a la absorbancia molar o coeficiente de extinción molar (constante física para especies moleculares 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. Estas nuevas soluciones son las muestras para leer en el espectrofotómetro UV-VIS, un equipo Shimadzu modelo 1900i. (**Figuras 51 y 52**).







**Figuras 51 y 52:** Soluciones de muestras con sus respectivos buffers, se aprecia el viraje al rojo en todas las muestras de pH 1,0 (con excepción de la muestra 3, correspondiente a morrón rojo) indicio de la presencia de antocianinas.

Las lecturas se llevan a cabo a dos longitudes de onda, una principal a 520 nm y otra de corrección a 700 nm. Como blanco se utiliza agua destilada. Para descartar interferencias por imperfecciones en el material utilizado (cubas) se realiza un barrido y puesta cero del equipo. Al finalizar las mediciones cuantitativas, se realizó un espectro a una de cada muestra partiendo de los 750 nm hasta los 190 nm para identificar los máximos de absorción en ambos pH's. Buscando constatar que los máximos de absorbancia estuvieran en la proximidad de los 520 nm para las muestras con pH 1,0 (ver **Anexo 1**).

Para el cálculo final se utiliza la siguiente formula:

$$\text{Antocianinas totales (eq. Cianidin-3-glucosido mg/L)} = (A \times Mr \times F.\text{dil} \times 10^3) / (\xi \times l)$$

Donde:

A= Diferencial entre las absorbancias corregidas en el medio pH 1,0 y 4,5.

Mr= 449,2 g\*mol<sup>-1</sup>, correspondiente al peso molecular de la cianidin-3-glu.

F.dil= 0,01; representa el factor de dilución en las muestras.

l= corresponde al pasaje de gramos a mg.

$\xi$ = 26900 L\*cm<sup>-1</sup>\*mol<sup>-1</sup>; siendo este el coeficiente de extinción molar de la cianidin-3-glu. a 520 nm.

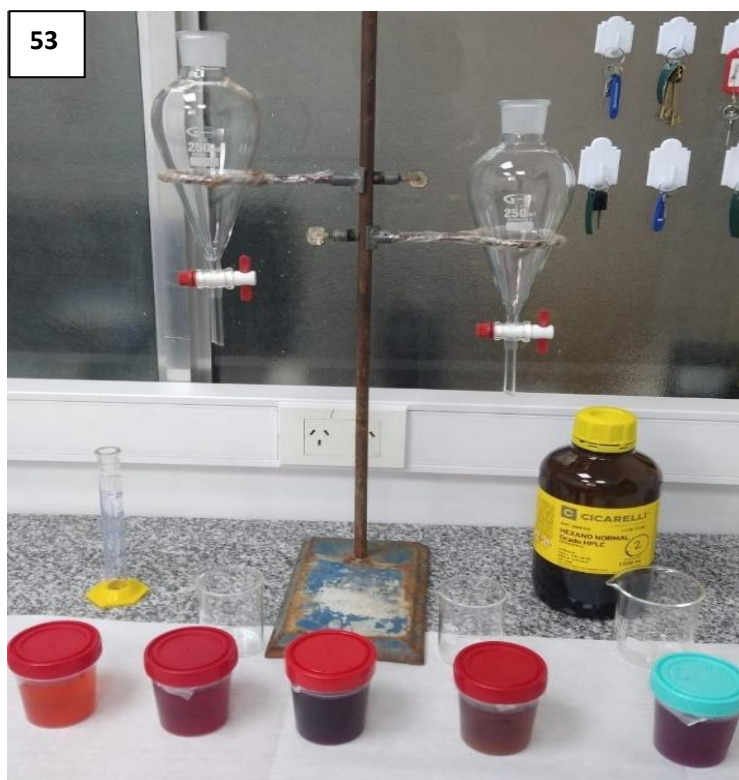
l= corresponde al paso óptico de la cuba en centímetros.

Se informa en función de esta antocianina en particular dado que es la antocianina más abundante en la naturaleza (Lee J., et. Al., 2005) y es la más utilizada para informar en este método (Lee J., et. Al., 2005; Lee J., et. Al., 2008; Cosavalente Burgos k. S., et. Al., 2016). Otra alternativa es utilizar la malvin-3-glucosido, corrigiendo el peso molecular junto al coeficiente de extinción molar a  $463.3 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$  y  $28000 \text{ L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$  respectivamente (Lee J., et. Al., 2008).

Las muestras vegetales se las conserva al abrigo de la luz, dentro de contenedores plásticos con aberturas, a temperatura ambiente durante siete días de corrido. Luego se prosigue a repetir las etapas de extracción y maceración, seguidas de las correspondientes determinaciones de antocianinas.

### Purificación del extracto

Se repite la extracción, excluyendo a las muestras de morrón rojo y cereza. La primera por haber determinado la ausencia de antocianinas. En el caso de las cerezas, debido a la falta de materia prima, por su naturaleza estacional al momento de realizar los siguientes ensayos no fue posible adquirir nueva muestra fresca. Luego de la extracción se prosigue a filtrar por banda blanca. A las muestras se les trata de extraer los compuestos más liposolubles mediante el uso de una extracción liquido-liquido usando N-Hexano. Para lo cual se monta sobre un pie universal las ampollas de extracción y se les coloca el extracto. Al mismo se le agrega 50 ml del hexano, con agitación y se espera a la separación de las fases (**Figuras 53 y 54**).



**Figura 53:** Disposición del equipo de extracción usado.



**Figura 54:** Purificación con hexano, de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo: Muestra de Arándanos, Berenjena, Frutilla y Repollo colorado.

### Identificación de antocianinas por HPLC

Para la identificación de las antocianinas presentes en cada muestra se optó por compararlas con otros estudios que ya hubieran realizado la tarea. De estos se buscó los parámetros cromatográficos y condiciones de corrida, para luego compararlos entre si con el fin de determinar cuál sería el que mejor se podría recrear (en función de la disponibilidad de equipos y reactivos). Se utilizaron como fuentes los siguientes estudios, cada uno asociado a la identificación de las antocianinas en una de las matrices elegidas.

- Para la berenjena, el trabajo utilizado como modelo fue el llevado a cabo por Sadilova, E., et. Al., 2006. En el mismo se utiliza el sistema HPLC-DAD y HPLC-MS, con los parámetros cromatográficos descritos en la **Tabla 3**.

<b>Equipo</b>	HPLC-DAD-MS				
<b>Columna</b>	C18 250 mm x 4,6 mm x 5 µm (tipo: Water Sunfire)				
<b>FM</b>	<b>FM A=</b>	Ac. Formico 5% (v/v)	<b>FM B=</b>	AcN 100%	
<b>Tiempo corrida</b>	55´				
<b>Post time</b>	5´ de estabilizacion				
<b>Tabla de Gradiente</b>	<b>Tiempos</b>	<b>% FM A</b>	<b>% FM B</b>	<b>Flujo (ml/´)</b>	<b>Temperatura</b>
	0´	100	0	1,0	25°C
	5´	100	0	---	---
	20´	90	10	---	---
	40´	87	13	---	---
	44´	80	20	---	---
	50´	75	25	---	---
55´	100	0	---	---	
<b>Detector</b>	520 nm				
<b>Vol. Iny.</b>	No informa				

**Tabla 3:** Condiciones cromatográficas utilizadas en el estudio: Anthocyanins, Colour and Antioxidant Properties of Eggplant (*Solanum melongena* L.) and Violet Pepper (*Capsicum annuum* L.) Peel Extracts. Fuente: Sadilova, E., et. Al., (2006).

- En el caso del repollo colorado, la fuente utilizada fue el trabajo realizado por Arapitsas, P., et. Al., 2008; en el cual se caracterizó las antocianinas de este vegetal también mediante el uso del HPLC-DAD-MS. En la **Tabla 4** se muestran los parámetros utilizados en este estudio.

<b>Equipo</b>	HPLC-DAD-MS				
<b>Columna</b>	Zorbax SB-C18 100 mm x 2,1 mm x 1,8 $\mu$ m				
<b>FM</b>	<b>FM A=</b>	Ac. Formico 5% (v/v)	<b>FM B=</b>	AcN 100%	
<b>Tiempo corrida</b>	57'				
<b>Post time</b>	5' de estabilizacion				
<b>Tabla de Gradiente (lineal)</b>	<b>Tiempos</b>	<b>% FM A</b>	<b>% FM B</b>	<b>Flujo (ml/')</b>	<b>Temperatura</b>
	0'	95	5	0,2	27°C
	3'	95	5	---	---
	5'	90	10	---	---
	8'	88	12	---	---
	10'	86	14	---	---
	18'	86	14	---	---
	28'	83	17	---	---
	35'	80	20	---	---
	40'	10	90	---	---
	45'	10	90	---	---
	50'	95	5	---	---
57'	95	5	---	---	

**Tabla 4:** Condiciones cromatográficas utilizadas en el estudio: Characterisation of anthocyanins in red cabbage using high resolution liquid chromatography coupled with photodiode array detection and electrospray ionization-linear ion trap mass spectrometry. Fuente: Arapitsas, P., et. Al. (2008).

- En el caso de los arándanos, el modelo experimental a considerar es el utilizado por Cesa, S., et. Al., 2017. En la **Tabla 5** se muestran los parámetros cromatográficos utilizados en el sistema.

<b>Equipo</b>	HPLC-DAD				
<b>Columna</b>	RP-C18 250 mm x 4,6 mm x 5 $\mu$ m				
<b>FM</b>	<b>FM A=</b>	Ac. Formico 5% (v/v)	<b>FM B=</b>	AcN 100%	
<b>Tiempo corrida</b>	40'				
<b>Post time</b>	5' de estabilizacion				
<b>Tabla de Gradiente</b>	tiempo	% FM A	% FM B	Flujo (ml/')	Temperatura
	0'	95	5	1,0	No Indica
	40' (55')	80	20	0,5	No Indica
<b>Detector</b>	520 nm				
<b>Vol. Iny.</b>	20 $\mu$ L				

**Tabla 5:** Condiciones cromatográficas utilizadas en el estudio: Evaluation of processing effects on anthocyanin content and colour modifications of blueberry (*Vaccinium* spp.) extracts: Comparison between HPLC-DAD and CIELAB analyses. Fuente: Cesa, S., et. Al., (2017).

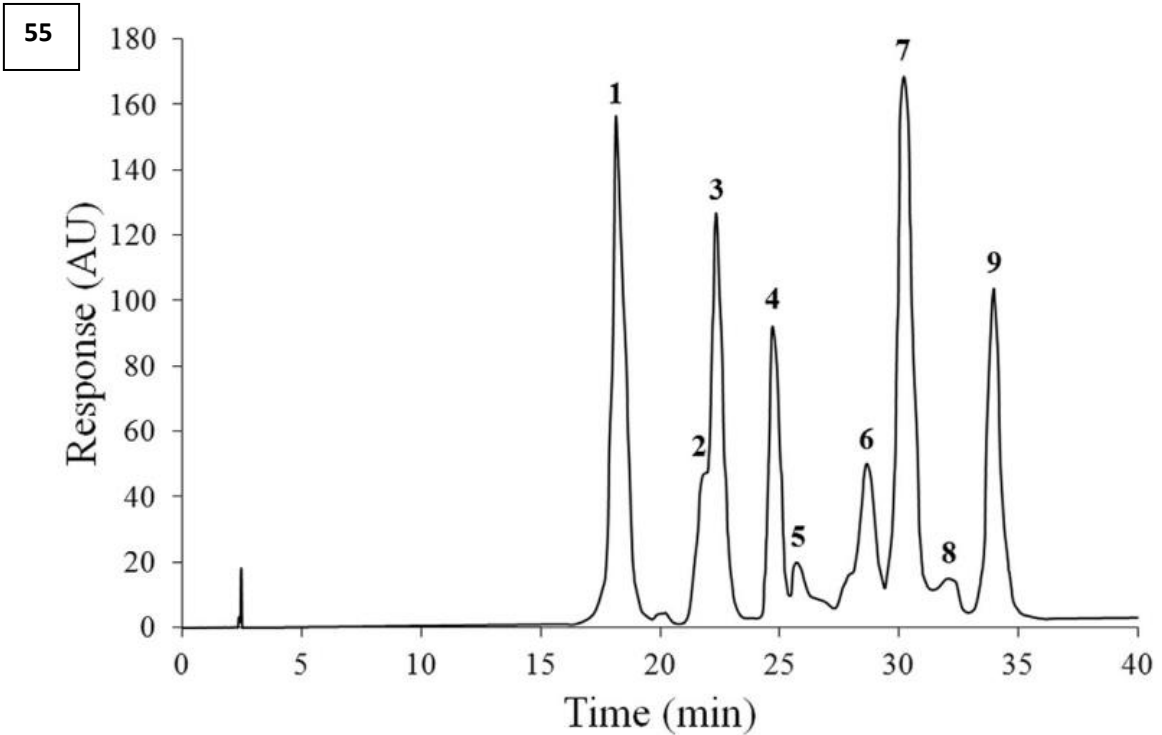
- Para la frutilla, el trabajo utilizado como modelo fue el llevado a cabo por Da Silva, F. L., et. Al., 2007. En el mismo se analizan las antocianinas utilizando un sistema de HPLC-DAD-MS. Las condiciones que utilizan son las descritas en la **Tabla 6**.

Equipo	HPLC-DAD				
Columna	C18 150 mm x 4,6 mm x 5 µm (tipo: Phenomenex Aqua)				
FM	FM A=	Ac. Trifluoroacetico 0,1% (v/v)	FM B=	AcN 100%	
Tiempo corrida	50'				
Post time	10' de estabilizacion				
Tabla de Gradiente	tiempo	% FM A	% FM B	Flujo (ml/')	Temperatura
	0'	90	10	0,5	35°C
	5'	90	10	---	---
	20'	85	15	---	---
	25'	85	15	---	---
	30'	82	18	---	---
50'	65	35	---	---	
Detector	520 nm				
Vol. Iny.	No informa				

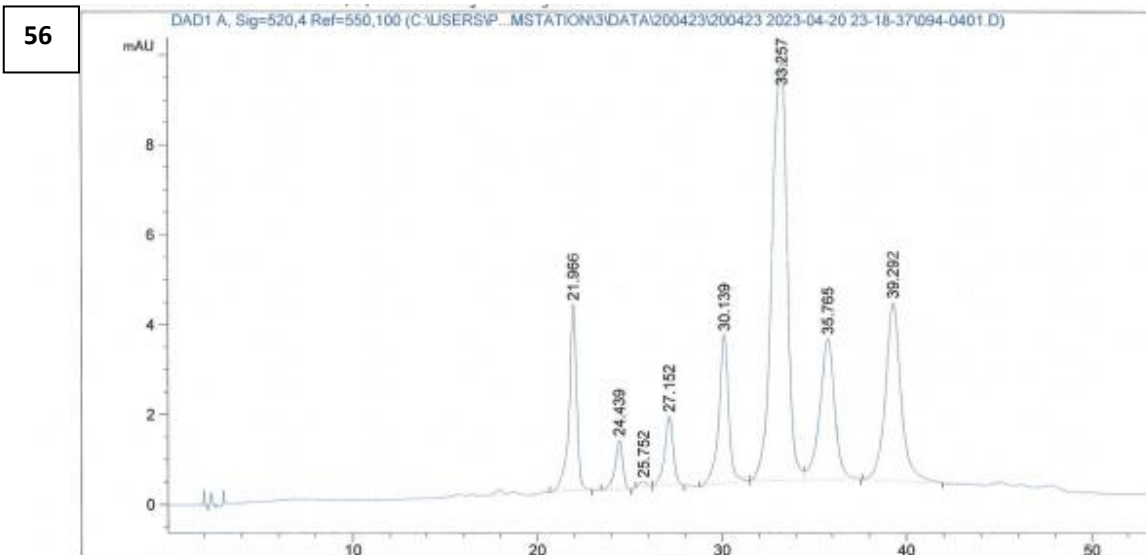
**Tabla 6:** Condiciones cromatográficas utilizadas en el estudio: Anthocyanin pigments in strawberry. Fuente Da Silva, F. L., et. Al., (2007).

Finalmente se optó por realizar el ensayo mediante la metodología descrita en el estudio llevado a cabo por Cesa, S., et. Al., (2017). Los motivos de dicha elección son ampliados en la sección de resultados y discusiones, pero básicamente se reduce a la disponibilidad de material y practicidad. En la **Figura 55** se observa el cromatograma representativo del estudio, junto con sus señales correspondientes. En tanto, la **Figura 56** es el resultado obtenido para la muestra de arándanos (la misma muestra usada en el estudio). El resto de los cromatogramas se encuentran en el Anexo 2. Se modifica el tiempo de corrida, extendiéndolo hasta los 55 minutos para dar más tiempo a la elución de otros compuestos de las otras muestras. Se utilizó una temperatura de 25 grados para mantener estable la columna a lo largo de las corridas, dado que el método no informa dicho parámetro.

El ensayo fue realizado utilizando un equipo Agilent 1260 Infinity II, con los siguientes módulos: autosampler G7129A 1260VilSampler, bomba cuaternaria G7111B Quat Pump, detector de arreglo de diodos G7115A DAD WR, horno de columna G7116A MCT. En cuanto a la columna usada fue una RP-C18 LiChrospher®100 de 250 mm por 4,6 mm y 5 µm. El software usado fue el Agilent OpenLab ChemStation.



**Figura 55:** Cromatograma representativo a 520 nm de extracto de arándanos. Asignación de los picos: 1, delphinidin-3-O-galactósido; 2, cianidin-3-O-galactósido; 3, delphinidin-3-O-arabinósido; 4, petunidin-3-O-galactósido; 5, cianidin-3-O-arabinósido; 6, petunidin-3-O-arabinósido; 7, malvidin-3-O-galactósido; 8, malvidin-3-O-glucósido y 9, malvidin-3-O-arabinósido. Fuente: Cesa, S., et AL., (2017).



**Figura 56:** Cromatograma obtenido del extracto de arándanos (muestra 3), se observa un perfil de picos muy similar. Aunque se obtiene una mejor resolución entre los que vendrían a ser el pico 2 y 3 del ensayo original. Se observa además un corrimiento en los tiempos de retención de aproximadamente 3 o 4 minutos.

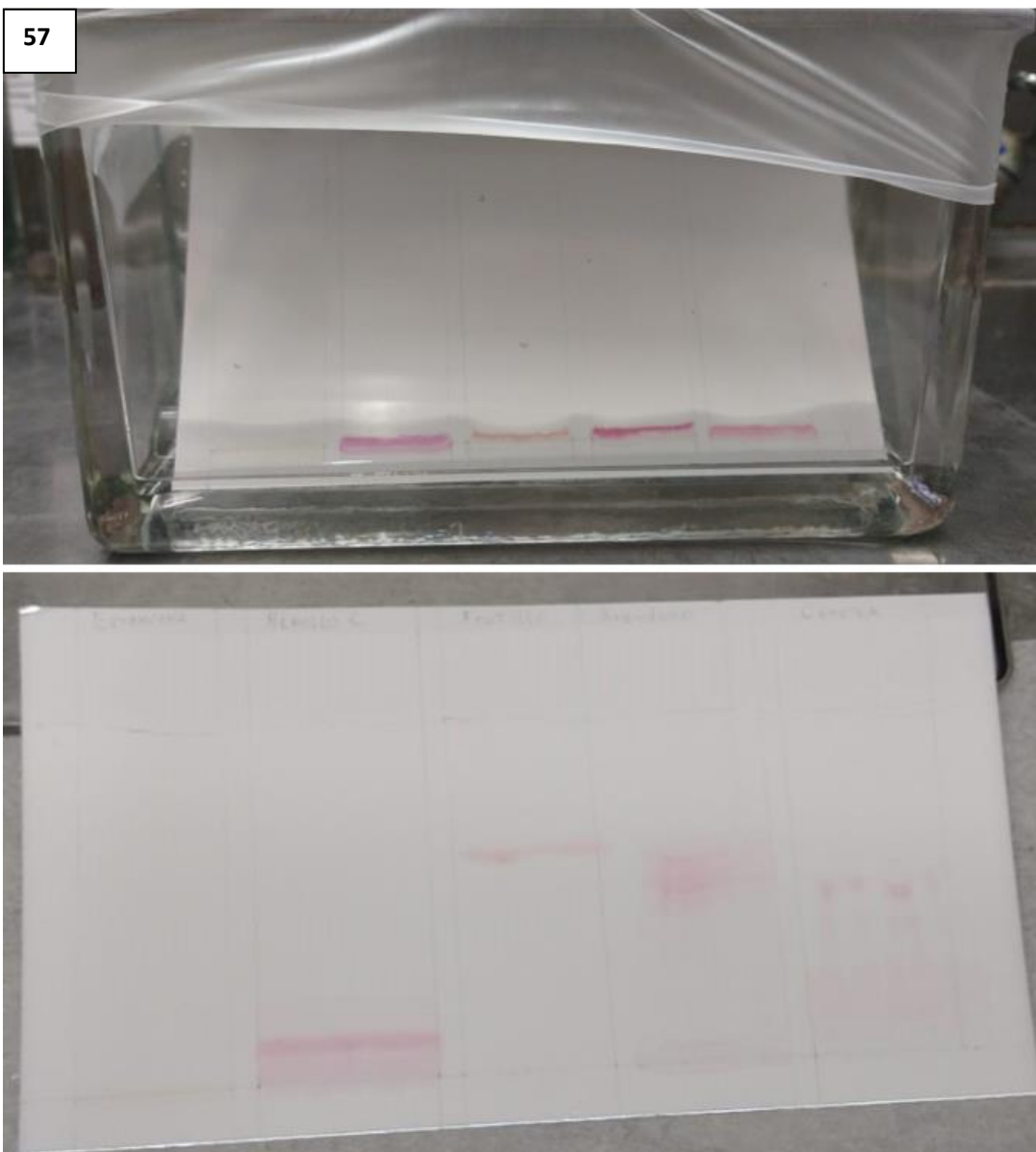
### Identificación por TLC-IR

Para la TLC se empleó las condiciones de corrida propuestas en el estudio de Giracca, A. L. M., (2016). Se realizaron tres corridas independientes, la primera a modo de prueba, la segunda y tercera fueron utilizadas para las lecturas en el equipo IR (Ver **Anexo 3 y 4**). Para lo cual se raspo con las áreas de la sílica que contenían las manchas. En mortero se las homogenizo con bromuro de potasio para IR y se prosiguió a la lectura. Como solvente de elución de la TLC se utilizó una mezcla de acetato de etilo, ácido fórmico, ácido acético glacial y agua (50: 5,5: 5,5: 7,5). Se realizó la corrida con saturación de cámara de 20 minutos, una siembra inicial de 5 µL y revelado en luz UV (sin tratamiento químico). La placa utilizada fue de sílica gel 254 con base de aluminio y se dejó correr hasta aproximadamente 3/4 de la placa.

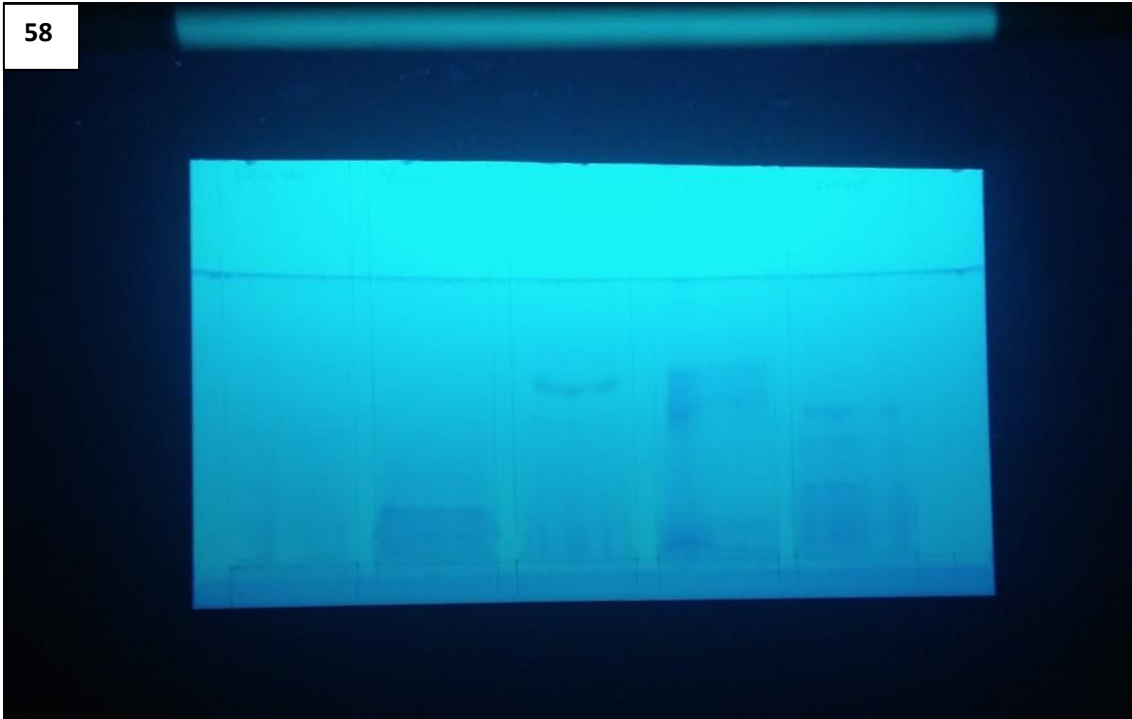
La prueba del sistema se realizó mediante siembra en banda, y durante la misma parte de la sílica se dañó, afectando la corrida (ver **Figura: 63 y 64**). También se detectó que en los extremos de la placa el solvente corrió a mayor velocidad.



57

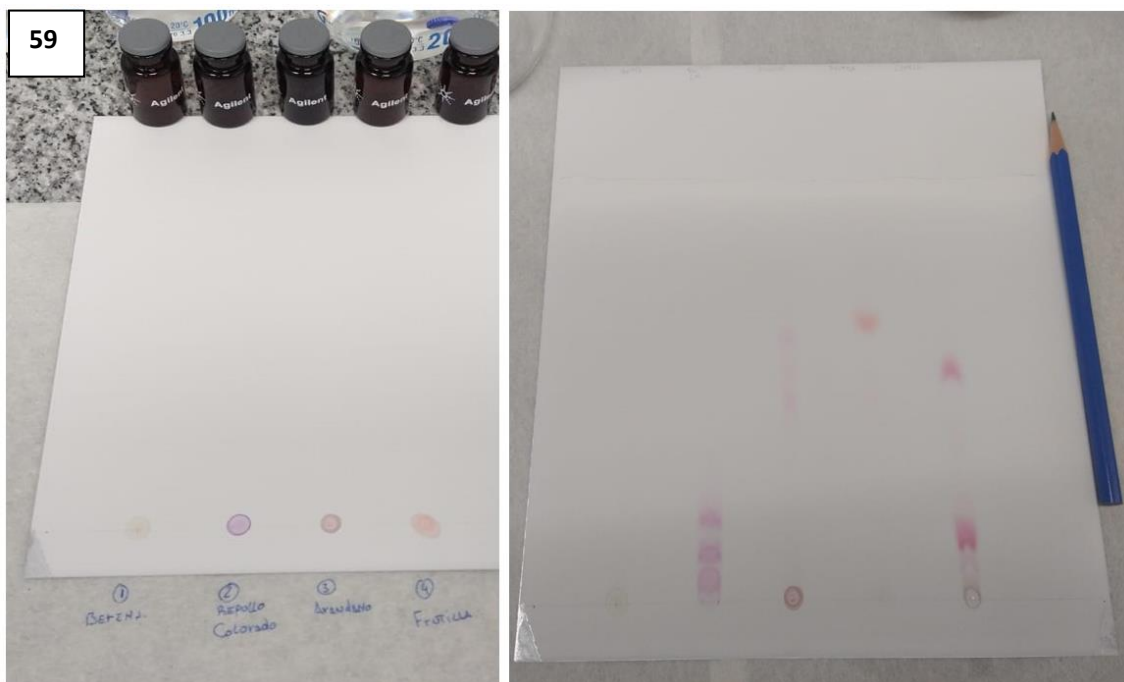


**Figura 57:** Prueba del ensayo TLC, siendo las muestras (de izquierda a derecha): berenjena, repollo colorado, frutilla y arándanos. La quinta muestra no corresponde al trabajo presentado, siendo una muestra preparada por fuera del mismo. En la parte superior se aprecia como el daño a la sílica afecto en la corrida desde un comienzo.



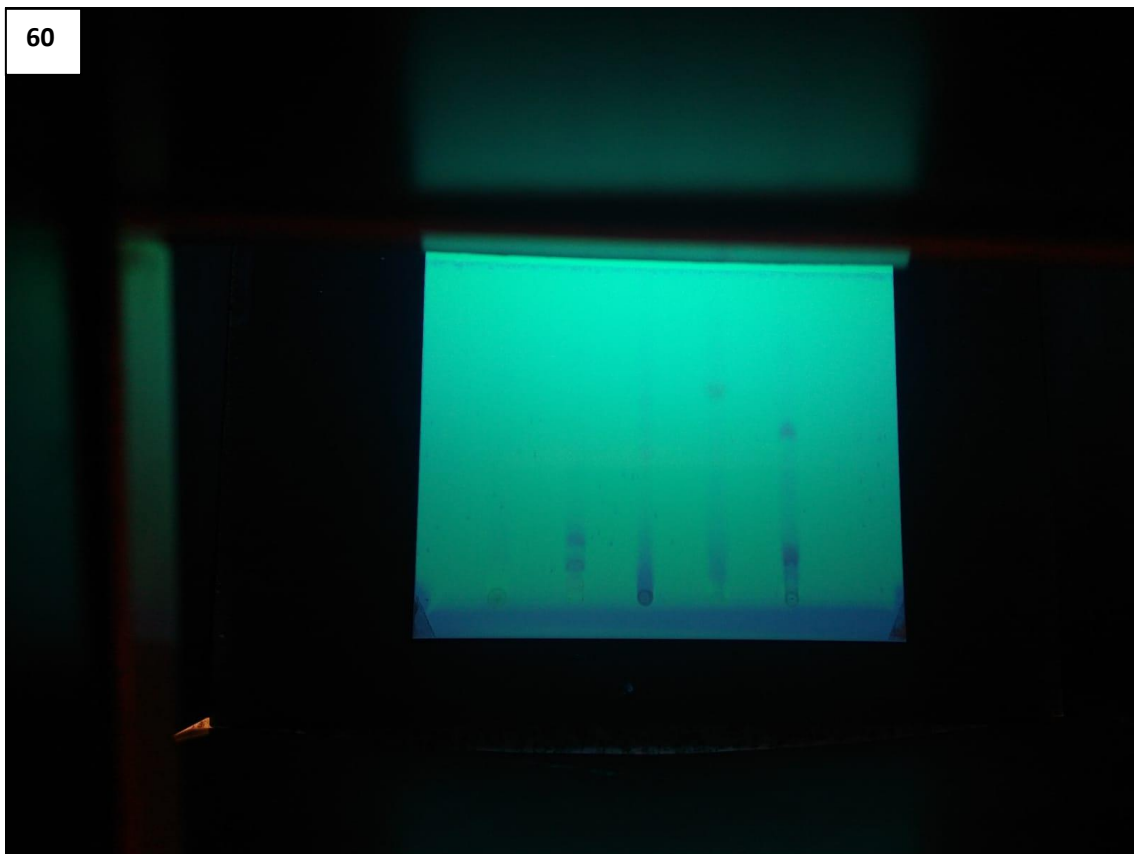
**Figura 58:** Revelado UV de la primera prueba del ensayo TLC.

A partir de esta prueba, se determinó que el sistema de siembra debía ser en punto, y para mejorar la elución en los bordes se desprendió un poco de la sílica en las esquinas inferiores a modo de cuña. En este caso, si bien la placa corrió bien, al momento de realizar las lecturas en el FT-IR las señales obtenidas eran muy chicas, en relación con el ruido (ver **ANEXO 3**). Esto se le atribuye a la baja concentración de muestra, por lo que en la última prueba se aumentó el volumen de siembra hasta los 20  $\mu\text{L}$  (ver **Figuras 59 y 60**) (ver **ANEXO 4**)



**Figura 59:** Tercer ensayo de la prueba TLC-IR, a la derecha es el momento previo a la corrida y a la izquierda al finalizar. Las muestras son, de izquierda a derecha: Berenjena, repollo colorado, arándano y frutilla.

60



**Figura 60:** Revelado UV del tercer ensayo de la prueba TLC-IR.

## METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA

La búsqueda de la bibliografía se realizó en forma digital, se consultaron los siguientes repositorios: Google Académico, EBSCO, Elsevier, Scielo y Dialnet y SEDICI UNLP.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados obtenidos en determinación de antocianinas totales

Las lecturas obtenidas y cálculos realizados sobre las muestras al inicio del ensayo se muestran en la siguiente **Tabla 7**.

<b>Tiempo 0</b>			Mediciones				Calculos			Antocianinas como Eq. de Cianidin-3-glucosido (mg/ 100g )			
Muestras			Buffer pH 1,0		Buffer pH 4,5		Buffer pH 1,0	Buffer pH 4,5	A	Des. Std. A	Calculo final	PROMEDIO	
Producto / especie	Num	Peso (gr)	Abs 520 nm	Abs 700 nm	Abs 520 nm	Abs 700 nm	520 - 700 nm	520 - 700 nm					
Berenjena -1-	1-1	5,07	0,932	0,007	0,133	0,010	0,925	0,123	0,802	0,09	135,800	134,819	
	1-2	5,01	0,833	0,007	0,128	0,010	0,826	0,118	0,708		118,465		
	1-3	5,07	1,038	0,009	0,154	0,012	1,029	0,142	0,887		150,193		
Rapollo Colorado -2-	2-1	5,12	2,154	0,004	0,313	0,003	2,150	0,310	1,840	0,10	314,634	323,153	
	2-2	5,00	2,158	0,003	0,295	0,002	2,155	0,293	1,862				310,933
	2-3	5,10	2,352	0,003	0,333	0,003	2,349	0,330	2,019				343,893
Morrón Rojo -3-	3-1	5,04	0,228	0,094	0,237	0,100	0,134	0,137	-0,003	0,00	-0,505	-0,451	
	3-2	5,05	0,222	0,087	0,233	0,095	0,135	0,138	-0,003				-0,506
	3-3	5,12	0,183	0,070	0,186	0,071	0,113	0,115	-0,002				-0,342
Arándanos -4-	4-1	5,04	0,861	0,004	0,090	0,004	0,857	0,086	0,771	0,21	129,778	168,475	
	4-2	5,04	1,305	0,005	0,128	0,005	1,300	0,123	1,177				198,118
	4-3	5,01	1,178	0,006	0,115	0,004	1,172	0,111	1,061				177,530
Frutillas -5-	5-1	5,08	0,443	0,014	0,072	0,016	0,429	0,056	0,373	0,05	63,28	72,576	
	5-2	5,00	0,554	0,025	0,102	0,028	0,529	0,074	0,455				75,980
	5-3	5,02	0,564	0,022	0,098	0,024	0,542	0,074	0,468				78,463
Cerezas -6-	6-1	5,09	0,400	0,001	0,074	0,004	0,399	0,070	0,329	0,07	55,928	43,333	
	6-2	5,09	0,316	0,002	0,066	0,003	0,314	0,063	0,251				42,669
	6-3	5,11	0,242	0,002	0,059	0,003	0,240	0,056	0,184				31,402

**Tabla 7:** Mediciones obtenidas y cálculos realizados de las muestras a tiempo cero. Primero se realiza la corrección en las mediciones en cada pH y de allí se calcula A.

De los datos obtenidos se puede determinar que el repollo colorado presenta la mayor concentración de antocianinas totales (323,15 mg/100g). En segundo lugar, se encuentran las muestras de arándanos (168,48 mg/100g) junto con las muestras de berenjena (134,82 mg/100g), de las que se utilizó solo la piel.

En el morrón rojo se detectó una mínima concentración de antocianinas, menor a 1mg/ L. En todas las otras muestras analizadas se aprecia un viraje de color inmediato a un rojo intenso a pH: 1, mientras que en las muestras del morrón no se detecta cambio alguno (**Figura 61**). Inclusive se puede determinar en el espectro UV-Vis llevado a cabo a las muestras, que el morrón no presenta un máximo de absorción en la longitud de onda donde las antocianinas absorben a pH=1,0 (520 nm aproximadamente). Se observa una señal a los 260 nm en pH=4,5 que se le podría atribuir a la quercetina, flavonoide del tipo flavonol, que se halla en máxima proporción en los pimientos morrones. Esta absorción corresponde al sistema conjugado del anillo A o sistema benzoil. Por el contrario, los pimientos morrones poseen gran cantidad de carotenoides. El espectro visible de los carotenoides es característico en el rango de 400 a 500 nm. Se observa un máximo alrededor de 450 nm. Para un carotenoide específico dado, las posiciones de las bandas de máxima absorción están en función del número de dobles enlaces conjugados presentes en la molécula. su posición de máxima absorción puede variar dependiendo de la interacción de estas moléculas con el solvente en el cual ha sido disuelto.

Otras señales se observan en las otras muestras, pero es algo de esperar ya que la extracción no es específica (Ver espectros UV en **Anexo 1**).



**Figura 61:** Muestras de morrón rojo -3- con medio pH 1,0. Siendo la 3-1 llevada totalmente a volumen con el buffer, la muestra 3-2 parcialmente, y finalmente la 3-3 sin el agregado de buffer pH 1,0. Aquí se observa claramente que no hay cambio de color en la solución más allá del efectuado por la dilución en sí de carotenoides en morrón rojo

Los resultados obtenidos con las muestras que simularon el residuo (muestras almacenadas a temperatura ambiente por 7 días), se presentan en la **Tabla 8**. Los cambios más relevantes son los de la muestra de berenjena, cuyos niveles de antocianinas disminuyen hasta anularse, luego de 7 días de almacenamiento. Esto podría atribuirse a una menor estabilidad de sus antocianinas. En general, se observa una disminución en las cantidades medidas, con excepción de las muestras de arándanos y cerezas. En ambos casos, las lecturas luego del periodo de 7 días fueron superiores. Se observó que las muestras de arándanos, cerezas y de repollo colorado fueron las menos deterioradas microbiológicamente, seguramente por el poder antimicrobiano de sus polifenoles, que en ellas se hayan en alta concentración (**Figuras 63, 64, 65, 66, 67 y 68**).

Numerosos investigadores comprobaron la efectividad antimicrobiana de los flavonoides. Díaz - Solares et al., (2017) demostraron la acción inhibitoria de flavonoides aislados de morera (*Morus alba* L.) sobre algunas bacterias enteropatógenas como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Streptococcus*  $\alpha$ -hemolítico

Muestras			Mediciones				Calculos			Antocianinas como Eq. de Cianidin-3-glucosido (mg/ 100g)		
Producto / especie	Num	Peso (gr)	Buffer pH 1,0		Buffer pH 4,5		Buffer pH 1,0	Buffer pH 4,5	A	Des. Std. A	Calculo final	PROMEDIO
			Abs 520 nm	Abs 700 nm	Abs 520 nm	Abs 700 nm	520 - 700 nm	520 - 700 nm				
Berenjena -1-	1-1	5,02	0,102	0,021	0,129	0,028	0,081	0,101	-0,020	0,01	-3,353	-2,299
	1-2	5,05	0,095	0,020	0,109	0,023	0,075	0,086	-0,011		-1,855	
	1-3	5,06	0,094	0,017	0,106	0,019	0,077	0,087	-0,010		-1,690	
Rapollo Colorado -2-	2-1	5,09	2,141	0,007	0,330	0,012	2,134	0,318	1,816	0,40	308,710	292,237
	2-2	5,06	1,505	0,007	0,227	0,011	1,498	0,216	1,282		216,649	
	2-3	5,07	2,432	0,013	0,357	0,013	2,419	0,344	2,075		351,353	
Morrón Rojo -3-	3-1	5,02	0,184	0,098	0,181	0,095	0,086	0,086	0,000	0,01	0,000	0,450
	3-2	5,07	0,203	0,111	0,169	0,092	0,092	0,077	0,015		2,540	
	3-3	5,09	0,273	0,149	0,282	0,151	0,124	0,131	-0,007		-1,190	
Arandanos -4-	4-1	5,08	1,256	0,005	0,130	0,005	1,251	0,125	1,126	0,12	191,038	187,652
	4-2	5,06	1,101	0,007	0,115	0,005	1,094	0,110	0,984		166,289	
	4-3	5,08	1,353	0,007	0,140	0,006	1,346	0,134	1,212		205,629	
Frutillas -5-	5-1	5,01	0,154	0,003	0,035	0,003	0,151	0,032	0,119	0,03	19,911	25,931
	5-2	5,00	0,222	0,005	0,036	0,002	0,217	0,034	0,183		30,559	
	5-3	5,05	0,201	0,003	0,038	0,002	0,198	0,036	0,162		27,323	
Cerezas -6-	6-1	5,05	0,960	0,004	0,120	0,005	0,956	0,115	0,841	0,11	141,842	132,444
	6-2	5,10	0,983	0,005	0,132	0,006	0,978	0,126	0,852		145,120	
	6-3	5,03	0,767	0,003	0,112	0,005	0,764	0,107	0,657		110,370	

Tabla 8: Resultados experimentales obtenidos y cálculos realizados de las muestras que simulan los residuos.

Respecto del desvío estándar calculado sobre A, puede ser un indicativo de la eficiencia de la extracción. Se notó que, en caso del repollo colorado, la muestra dio una absorbancia menor que las otras dos muestras. Al revisar los tubos donde se realizó la extracción se pudo apreciar que parte de la fase vegetal aún poseía un color distintivo de su contenido en antocianinas (Figura 62). La diferencia entre el contenido de antocianinas en el repollo colorado en estado fresco y luego de 7 días de almacenamiento (residuo simulado) podría atribuirse a la falta de estabilidad de algunas antocianinas presentes en este vegetal que se degradaron en el transcurso del tiempo.

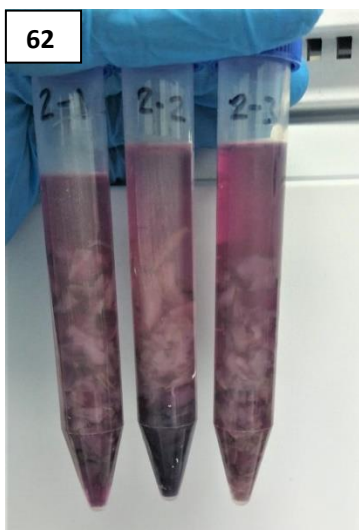
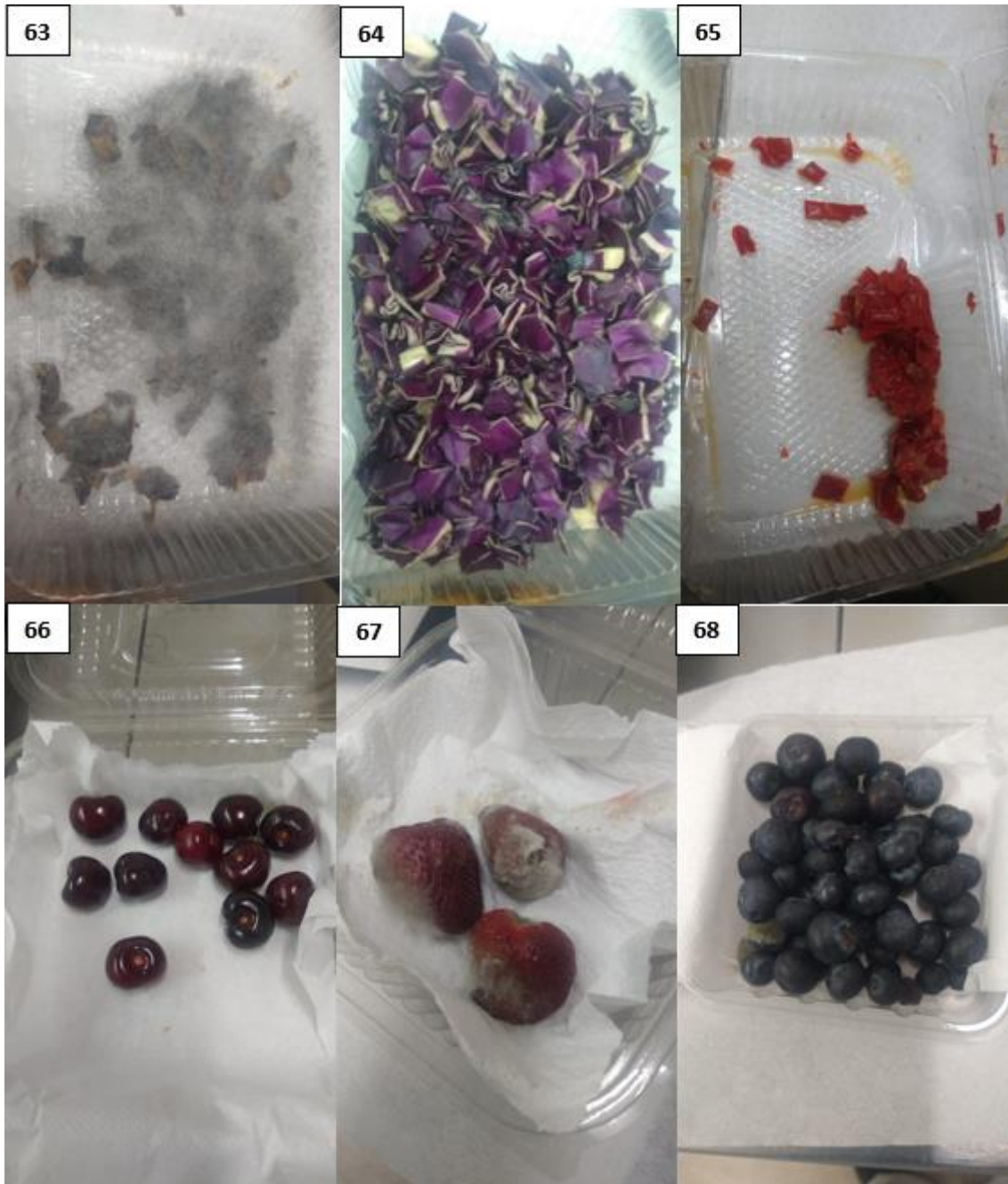


Figura 62: Muestras de repollo con 7 días, se observa que en la muestra 2-2 parte del material vegetal en el fondo del tubo aún conserva su color.



**Figura 63 a 68:** De izquierda a derecha y de superiores a inferiores, muestra de berenjena, repollo colorado, morrón rojo, arándano, frutilla y cerera, pasados 7 días.

Con excepción de los arándanos y las cerezas, el resto de las muestras presentaba cierto grado de deterioro. Ya sea crecimiento de microorganismos (hongos principalmente), clara descomposición de tejidos o exudación de líquidos. A parte, todas las muestras presentaron mucha menor resistencia al momento de homogenizarlas y moretearlas, demostrando debilitamiento de las estructuras celulares.



En la **Tabla 9** se presentan los valores de antocianinas de las muestras frescas y luego de 7 días sin refrigeración a temperatura ambiente junto a conclusiones para cada muestra.

Resultados expresados como Eq. de Cianidin-3-glucosido (mg/ 1000 mL)				
Producto / especie	Muestras 0 días	Muestras 7 días	Diferencia (mg/ L)	CONCLUSIONES INDIVIDUALES
Berenjena -1-	134,819	-2,299	<b>137,119</b>	La muestra de berenjena presenta una disminución total del contenido de antocianinas en el periodo de tiempo elegido. La muestra envejecida presentaba mucha proliferación de hongos, y durante su tratamiento fue más fácil de homogenizar (la rigidez inicial de la muestra se perdió completamente)
Repollo Colorado -2-	323,153	292,237	<b>30,916</b>	La muestra de repollo colorado tuvo una pérdida de antocianinas de aproximadamente del 10% respecto del tiempo inicial. La muestra luego de una semana no presentaba hongos visibles, ni otras formas de deterioro. La única diferencia al momento de mortear respecto de la muestra fresca, fue la facilidad para homogenizarla (mucha menos rigidez)
Morrón Rojo -3-	-0,451	0,450	<b>-0,901</b>	Las muestras de morrón rojo no presentan antocianinas en base a los resultados de este estudio (tanto a nivel del método de pH diferencial tanto como el espectro UV-Vis). Seguramente tengan otros componentes colorantes, pueden ser carotenoides o clorofilas (o familias de estos, buscar en bibliografía). Fueron las muestras que presentaron mayor nivel de degradación junto con las frutillas.
Arandanos -4-	168,475	187,652	<b>-19,176</b>	Las muestras de arandanos fueron las segundas en mayor concentración de antocianinas (solo por detrás del repollo colorado), además no presentaron disminución de su contenido en el periodo de los 7 días; por el contrario, estas últimas dieron un resultado levemente superior. Esto puede deberse a: 1- la extracción en la segunda prueba fue más eficiente que en la primera (es posible, con una muestra de repollo se observó una clara falta de extracción, foto). A esto se suma que con las muestras envejecidas resultó más sencillo el homogenizar y mortearlas (debido a la menor rigidez que presentaban). 2- Otra posibilidad es que las muestras de arandanos no estuviesen completamente maduras, y en el periodo del ensayo su contenido de antocianinas se haya elevado un poco.
Frutillas -5-	72,576	25,931	<b>46,645</b>	Las muestras de frutillas fueron afectadas significativamente por hongos y descomposición de sus tejidos. En cuanto a su contenido de antocianinas luego de los 7 días se redujo en más del 50% (calcular el % exacto de disminución en cada muestra).
Cerezas -6-	43,333	132,444	<b>-89,111</b>	Las muestras de cerezas, al igual que las de arandano, presentaron un incremento en los niveles de antocianinas. Para estas muestras fue significativo (de más del triple). Una posible explicación puede ser el estado de maduración de las mismas. Junto a los arandanos y el repollo las cerezas no presentaron muchas alteraciones visibles (presencia de hongos, olor ni cambios significativos en el color). Es posible que el nivel de antocianinas presentes en el alimento afecte también su vida útil como alimento (ventana de tiempo en la cual las muestras pueden ser aptas para consumo humano).

**Tabla 9:** Comparación entre ambos análisis de las muestras y conclusiones preliminares para cada una.

En la **Tabla 10** se presentan los resultados de antocianinas expresados como equivalentes de cianidin-3-glucosido cada 100 gramos de muestra fresca o envejecida, según corresponda.

	Antocianinas como Eq. de Cianidin-3-glucosido (mg/ 100g Muestra)				
	Tiempo 0 días		Tiempo 7 días		Diferencia T0 - T7
Berenjena -1-	135,800	134,819	-3,353	-2,299	137,119
	118,465		-1,855		
	150,193		-1,690		
Repollo Colorado -2-	314,634	323,153	308,710	292,237	30,916
	310,933		216,649		
	343,893		351,353		
Morrón Rojo -3-	-0,505	-0,451	0,000	0,450	-0,901
	-0,506		2,540		
	-0,342		-1,190		
Arandanos -4-	129,778	168,475	191,038	187,652	-19,176
	198,118		166,289		
	177,530		205,629		
Frutillas -5-	63,283	72,576	19,911	25,931	46,645
	75,980		30,559		
	78,463		27,323		
Cerezas -6-	55,928	43,333	141,842	132,444	-89,111
	42,669		145,120		
	31,402		110,370		

**Tabla 10:** Resultados y comparación expresados como mg. Antocianinas cada 100 g. muestra.

Se pudo determinar que las muestras con mayor contenido de antocianinas en el caso de las verduras fueron el repollo colorado (323 mg/100g) seguido de la berenjena (135 mg/100g). Pichardo Pérez, 2019 ajustó el extracto de repollo colorado a tres pHs diferentes, así obtuvo tres pigmentos de color rosa, violeta y azul y sus correspondientes valores de antocianinas fueron 314; 715 y 216 mg/100g, respectivamente

Arrazola et al., 2014b, obtuvieron una concentración de antocianinas de 115 mg/100 g en la cáscara de berenjena, empleando como solvente (Etanol). Este valor es muy similar al obtenido en este trabajo, como puede apreciarse en la **Tabla 10**, a pesar de que usaron un disolvente diferente. El repollo colorado fue la muestra que más se conservó a lo largo del tiempo, presentó la mejor resistencia a la formación de hongos. En el caso de la berenjena, transcurrido el período de 7 días, las antocianinas se degradaron completamente, esto puede atribuirse a la matriz alimenticia formada por otros componentes que acompañan a las antocianinas y que pueden no proteger a las mismas de factores como la luz, el oxígeno etc. Las antocianinas tienen baja estabilidad a los cambios de pH, temperatura, luz, el oxígeno, entre otros factores, los cuales se convierten en la principal limitación de estos pigmentos para ser aplicados como sustitutos potenciales de los colorantes artificiales. Por ello, la necesidad de la encapsulación de las antocianinas para evitar su degradación. Del pimiento morrón se puede concluir que la cantidad de antocianinas es despreciable y sería inviable el tratar de obtenerlos a partir de este vegetal.

La coloración roja de los pimientos morrones se debe a otros pigmentos distintos a las antocianinas, como son los carotenoides.

En el caso de las frutas, los arándanos son los que poseen un mayor contenido de antocianinas. Las frutillas y las cerezas poseen valores bastantes similares inicialmente, a tiempos inicial, aunque las cerezas tienen menor contenido. Las cerezas presentaron mayor concentración de antocianinas luego de los siete días, y pocos signos de descomposición. Este fenómeno puede atribuirse a la falta de maduración de las muestras a tiempo inicial, y que haya incrementado su contenido en antocianinas a medida que se logra un mayor nivel de maduración del fruto en el tiempo. El valor se triplicó al final de dicho período de tiempo. En los arándanos también se registró un incremento de las antocianinas en los residuos simulados, pero en este caso el aumento fue de solo un 10 % respecto de su valor en estado inicial.

### Resultados del ensayo: Identificación de antocianinas por HPLC

En el caso del ensayo para identificación de las antocianinas presentes en las muestras, mediante HPLC, se terminó optando por correr las muestras con un único método. El mismo fue el usado por Cesa, S., et. Al., (2017). Los motivos que llevaron a inclinarse por este fueron los siguientes:

- El uso del equipo en cuestión era muy limitado, y no era posible el realizar pruebas con todos los sistemas para determinar cuál era el mejor. Tampoco se podía optimizar demasiado el mismo o realizar un gran número de pruebas.
- Los materiales y reactivos necesarios se encontraban con mayor facilidad.
- La fase móvil A (ácido fórmico 5%) era la misma en tres de los cuatro métodos disponibles. Por lo que no debería haber incompatibilidades. Inclusive, el cuatro método que utilizaba ácido tricloroacético, lo hacía en una concentración bastante baja, por lo que lo más probable es que el uso de este solo fuera para aportar el pH necesario.
- La columna solicitada era la más similar en características a las disponibles. En todos los casos el material era el mismo (cadenas de octadecil silanos o C18), por lo que las interacciones serán similares. Los tiempos de retención variarían por otros parámetros de la columna usada (como su longitud, diámetro interno y tamaño de partícula) y el gradiente utilizado.
- El gradiente dentro de la corrida era el más constante entre todos los métodos, siendo también el más gradual. Para los métodos de la berenjena (Sadilova, E., et. Al., 2006) y repollos colorados (Arapitsas, P., et. Al., 2008), los gradientes usados en ambos son muy específicos. Por lo que se asume que los métodos fueron optimizados para dichas muestras. No se tendría certeza de como serían los resultados con otras matrices. Este

último (berenjena) por las características de la columna y el flujo de trabajo, parecería indicar que se trata más de un sistema de UPLC o en su defecto de UHPLC (equipos que trabajan a mayores presiones, con flujos más bajos y columnas con medidas específicas).

- También se tuvo en consideración que las muestras de arándanos fueron de las que presentaron mejores rendimientos en la extracción y en la prueba de estabilidad. Si bien el repollo colorado tuvo mejores resultados, los requerimientos del método cromatográfico de dicha muestra requerían de insumos no disponibles.

Siendo que el propósito de este ensayo era el aportar una idea de que compuestos eran los mayoritarios en cada muestra, pero sin poder demostrarlo fehacientemente. Ya que para poder determinar que las señales obtenidas son las mismas que los compuestos a los que se le atribuyen, se debería optar por una comparación contra sustancias de referencia de los mismos compuestos. En su defecto, se podría emplear un sistema de detección con capacidad para discriminar entre las señales, como es el caso de los equipos masa (MS, o detector de masa por sus siglas en inglés). Estos al generar la partición de los compuestos, producen partículas que poseen una relación masa/carga específica. A su vez estas partículas obtenidas de cada señal pueden ser comparadas contra una biblioteca digital para determinar si provienen efectivamente del compuesto en cuestión. De esta forma se podría asegurar con mayor certeza que las señales observadas corresponden a los compuestos mencionados/ sospechados.

Los compuestos detectados en cada muestra se corresponden a los informados en sus respectivos métodos. Se asignan de forma tentativa, teniendo en consideración el tamaño de los mismos y los tiempos de retención relativos. Para los compuestos con menor concentración o menos señal, el error es mayor, por lo que solo se nombrara los compuestos mayoritarios.

Muestra 1 - Extracto de piel de Berenjena.

Tomando los resultados que se obtuvieron en el estudio llevado a cabo por Sadilova, et. Al., (2006) (**Figura 70** y **Tabla 11**) se determina que los compuestos correspondientes a las señales obtenidas en el cromatograma (**Figura 69**) son:

1. TR= 11,276: Del-3-Rut-5-Glu.
2. TR= 17,205: Del-3-Rut-Glu o Del-3-Glu (no se puede definir con la información disponible).
3. TR= 22,480: Del-3-Rut.

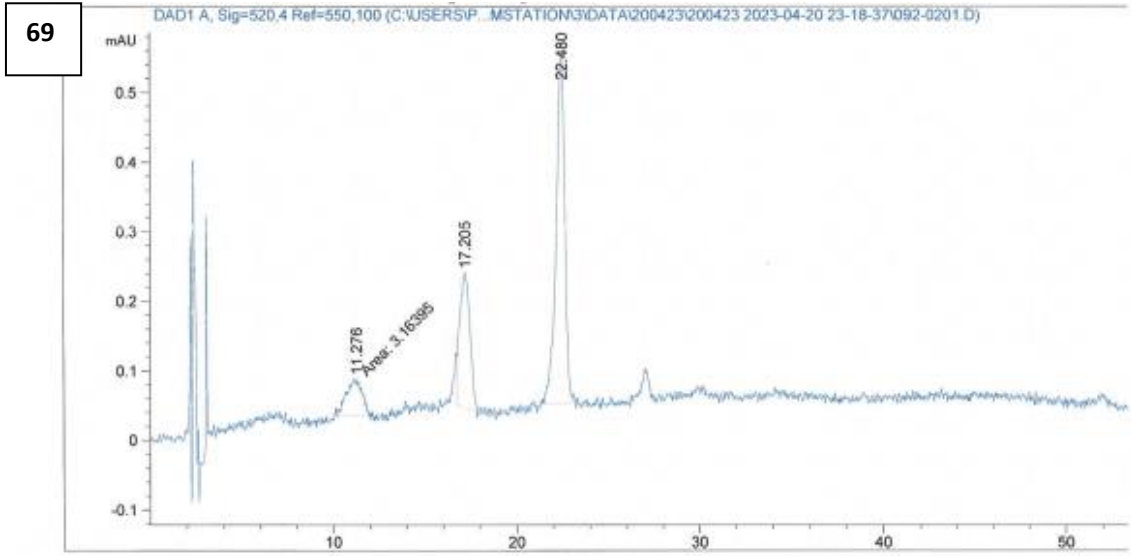


Figura 69: Cromatograma obtenido de la muestra de berenjena, ver en Anexo 2.

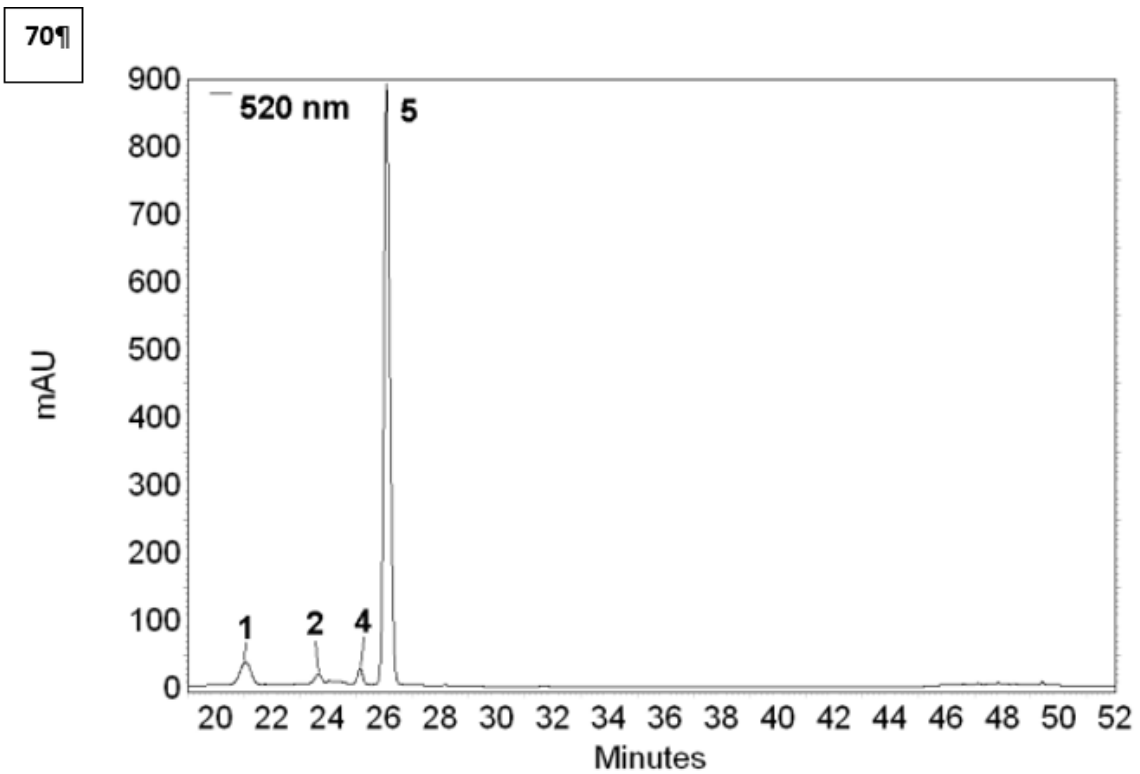


Figura 70: Cromatograma HPLC-DAD de extracto de la cáscara de berenjena monitorizado a 520 nm. Fuente: Sadilova, et. Al., (2006).

Table I. HPLC-DAD-MS data and contents of anthocyanins from eggplant (EP) and violet pepper (VP) peel extracts (x = present).

Anthocyanin <sup>a</sup>	$R_t$ [min]	$\lambda_{vis-max}$ [nm]	$A_{310} / A_{vis-max}$ (%)	$m/z$ [M] <sup>+</sup>	$MS^2$ $m/z$ [M] <sup>+</sup>	$MS^3$ $m/z$ [M] <sup>+</sup>	EP	VP	EP [mg/kg] $\pm$ SD <sup>b</sup>	VP
<b>1</b> Del-3-rut-5-glc	20.8	526	– <sup>c</sup>	773	611, 465, 303	465, 303	x	x	36.5 $\pm$ 0.8	1.5 $\pm$ 0.1
<b>2<sup>d</sup></b> Del-3-rut-glc	23.3	522	– <sup>c</sup>	773	627, 465, 303	303	x		19.1 $\pm$ 0.1	
<b>3</b> – <sup>e</sup>	24.3	526	– <sup>c</sup>	– <sup>c</sup>	– <sup>c</sup>	– <sup>c</sup>		x		– <sup>c</sup>
<b>4</b> Del-3-glc	24.9	527	– <sup>c</sup>	465	303	303	x	x	16.5 $\pm$ 1.0	2.2 $\pm$ 0.0
<b>5</b> Del-3-rut	25.8	525	– <sup>c</sup>	611	465, 303	303	x	x	378.0 $\pm$ 9.9	2.9 $\pm$ 0.2
<b>6</b> Del-3-rham	30.0	526	– <sup>c</sup>	449	303	192		x		2.4 $\pm$ 0.5
<b>7</b> Del-3-caffeoylrut-5-glc	38.5	529	51	935	773, 465, 303	611, 465, 303		x		7.8 $\pm$ 0.4
<b>8</b> Del-3-cis-coumaroylrut-5-glc	43.2	532	52	919	757, 465, 303	611, 465, 303		x		14.7 $\pm$ 0.8
<b>9</b> Del-3-trans-coumaroylrut-5-glc	45.8	530	80	919	757, 465, 303	611, 465, 303		x		286.2 $\pm$ 1.7
<b>10<sup>d</sup></b> Del-3-feruloylrut-5-hex	47.1	530	135	949	787, 465, 303	465, 303		x		3.8 $\pm$ 0.1
<b>11</b> – <sup>e</sup>	48.0	525	– <sup>c</sup>	– <sup>c</sup>	– <sup>c</sup>	– <sup>c</sup>		x		– <sup>c</sup>
<b>12<sup>d</sup></b> Del-3-coumaroyl-hex	48.3	529	106	611	465, 303	303		x		– <sup>c</sup>
<b>13<sup>d</sup></b> Pet-3-coumaroyl-hex	51.9	– <sup>c</sup>	– <sup>c</sup>	625	479, 317	317		x		– <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Del, delphinidin; Pet, petunidin; glc, glucoside; hex, hexoside; rham, rhamnoside; rut, rutinoside.

<sup>b</sup> Mean anthocyanin content  $\pm$  standard deviation ( $n = 2$ ).

<sup>c</sup> Not detected.

<sup>d</sup> Tentatively assigned.

<sup>e</sup> Not identified.

**Tabla 11:** Identificación de antocianinas en el estudio “Anthocyanins, Colour and Antioxidant Properties of Eggplant (*Solanum melongena* L.) and Violet Pepper (*Capsicum annuum* L.) Peel Extracts.”. Fuente: Sadilova, et. Al., (2006).

Muestra 2, Extracto de Repollo Colorado.

Para la identificación de los picos de esta muestra se utilizó como referencia los resultados obtenidos por Arapitsas, P., et. Al, (2008) (**Figura 72** y **Tabla 12**). Aunque en este caso, debido a las condiciones de corrida utilizadas, es muy probable que solo se registraran los primeros compuestos. Es decir, que la corrida no haya tenido las condiciones necesarias para permitir la elución de todos los compuestos dentro del tiempo definido. Esto se debe a que en el método de referencia si bien utilizan un flujo menor (0,2 ml/ minuto), la longitud de la columna es significativamente menor (100 mm vs 250 mm). Sumado a que el gradiente llega a un mayor porcentaje de AcN lo que le confiere más poder de elución a la fase móvil. Pese a todo, se puede asumir que los compuestos detectados (**Figura 71**) en la corrida corresponden a los siguientes compuestos, todos obtenidos antes de los 15 minutos en el estudio de referencia:

1. TR= 14,453: Cyd-3-Soph-5-Glu.
2. TR= 20,755: No identificable (no hay pico similar en la referencia, es posible que este solapado con el primero).
3. TR= 33,859: Cyd-3,5-diGlu.
4. TR= 39,776: Cyd-3(p-OH-Ben) Soph-5-(Oxa) Glu.
5. TR= 47,924: Cyd-3(Sin) Triglu-5-Glu.

71

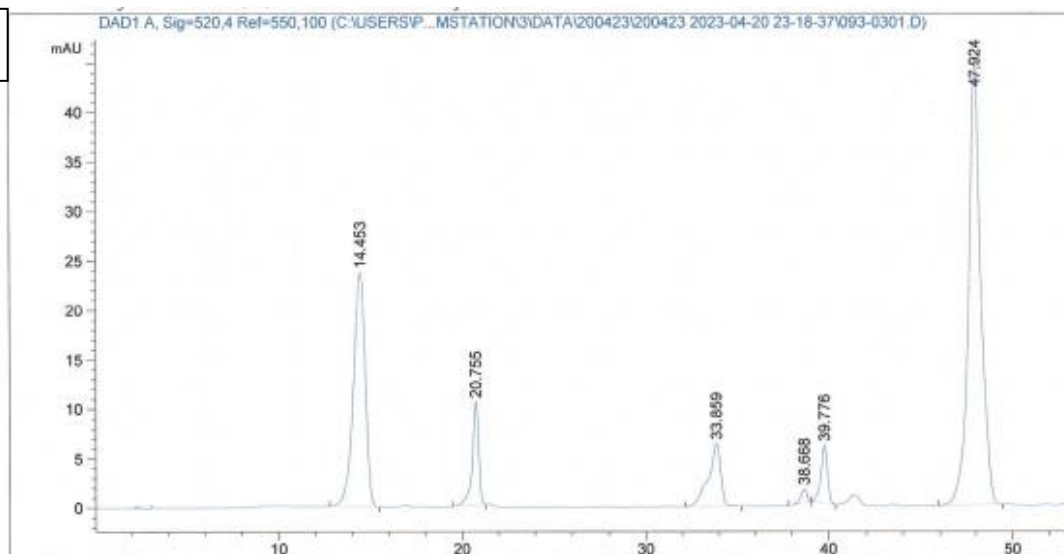


Figura 71: Cromatograma obtenido del extracto de la muestra de repollo colorado (2), ver en Anexo 2.

72

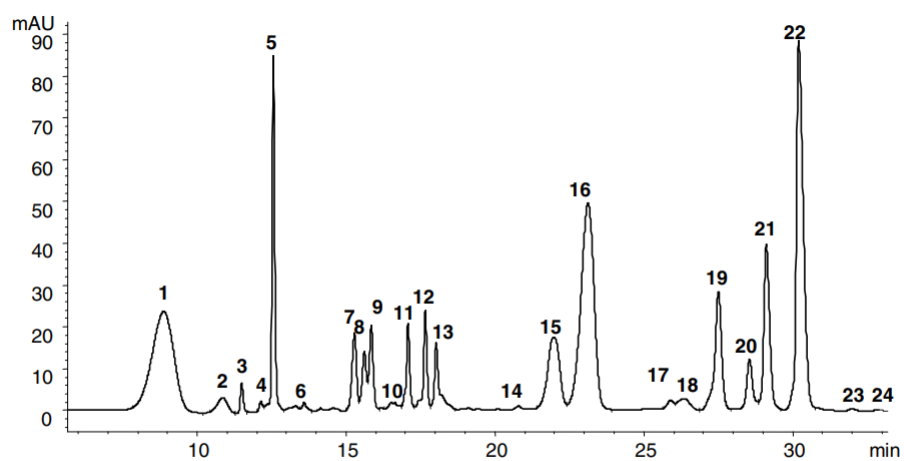


Fig. 2. HPLC/DAD chromatogram of a red cabbage extract recorded at 520 nm.

Figura 72: Cromatograma de referencia de muestra de repollo colorado. Fuente: Arapitsas, P., et. Al, (2008).

Table 1  
Chromatographic and spectroscopic properties of anthocyanins from red cabbage

Peak	$t_R$ (min)	$\lambda_{vis}$	$\lambda_{405}$	$E_{440}/E_{vis}$ (%)	$E_{405}/E_{vis}$ (%)	$E_{440}/E_{vis}$ indicating	$E_{405}/E_{vis}$ indicating	$M^+$ $m/z$	Fragment ions $m/z$	Tentative identification
1	8.87	514		17		Bioside		773	611, 449, 287	Cyan-3-soph-5-glu
2	10.86	514		17		Bioside		611	449, 287	Cyan-3,5-diglu
3	11.49	530	272	17	55	Bioside	Monoacylated	965	803, 449, 287	Cyan-3( <i>p</i> -OH-ben)soph-5-(ox)gluc
4	12.14	514		17		Bioside		743	611, 419, 287	Cyan-3-soph-5-xyloside
5 <sup>a</sup>	12.55	528	294	19	60	Bioside	Monoacylated	1141	979, 817, 449, 287, 207	Cyan-3(sin)triglu-5-glu
6	13.59	528	330	19	98	Bioside	Diacylated	1081	919, 754, 449, 287, 163, 147	Cyan-3(caf) <i>p</i> -coum)soph-5-glu
7 <sup>a</sup>	15.28	528	334	16	61	Bioside	Diacylated	1111	949, 787, 449, 287, 177, 163	Cyan-3(caf)fer)soph-5-glu
8 <sup>a</sup>	15.61	522	336	16	103	Bioside	Diacylated	1141	979, 817, 449, 287, 207, 163	Cyan-3(caf)sin)soph-5-glu
9 <sup>a</sup>	15.85	522	286	19	57	Bioside	Monoacylated	1081	919, 757, 449, 287, 147	Cyan-3( <i>p</i> -coum)triglu-5-glu
10 <sup>a</sup>	16.64	524	286	16	59	Bioside	Monoacylated	1019	919, 449, 287, 147	Cyan-3( <i>p</i> -coum)soph-5-(suc)glu
11	17.08	536	296	19	106	Bioside	Diacylated	1287	1125, 979, 449, 287, 207, 147	Cyan-3(sin) <i>p</i> -coum)triglu-5-glu
12	17.66	538	326	20	92	Bioside	Diacylated	1317	1155, 979, 449, 287, 207, 177	Cyan-3(sin)fer)triglu-5-glu
13	18.02	536	326	16	92	Bioside	Diacylated	1347	1185, 979, 449, 287, 207	Cyan-3(sin)sin)soph-5-glu
14	21.06	522	288	16	56	Bioside	Monoacylated	919	757, 449, 287, 147	Cyan-3( <i>p</i> -coum)glu-5-glu
15	21.99	525	294	19	63	Bioside	Monoacylated	949	787, 449, 287, 177	Cyan-3(fer)soph-5-glu
16	23.12	522	300	17	61	Bioside	Monoacylated	979	817, 449, 287, 207	Cyan-3(sin)soph-5-glu
17 <sup>a</sup>	25.89	526	294	21	99	Bioside	Diacylated	1287	1125, 449, 287, 207, 147	Cyan-3(glucop-sin) <i>p</i> -coum)soph-5-glu
18 <sup>a</sup>	26.34	526	326	20	98	Bioside	Diacylated	1317	1155, 449, 287, 177, 207	Cyan-3(glucop-sin)fer)soph-5-glu
19	27.50	526	324	21	101	Bioside	Diacylated	1125	979, 449, 287, 207, 147	Cyan-3(sin) <i>p</i> -coum)soph-5-glu
20 <sup>a</sup>	28.55	536	324	18	102	Bioside	Diacylated	1347	1185, 1023, 979, 449, 287, 207	Cyan-3(glucop-sin)sin)soph-5-glu
21	29.11	530	324	16	100	Bioside	Diacylated	1155	993, 949, 287, 207, 177	Cyan-3(sin)fer)soph-5-glu
22	30.20	536	324	23	103	Bioside	Diacylated	1185	1023, 979, 287, 207	Cyan-3(sin)sin)soph-5-glu
23 <sup>a</sup>	32.07	524	327	19	126	Bioside	Diacylated	1155	949, 449, 207, 177	Cyan-3(fer)soph-5-(sin)glu
24	33.13	538	330	18	110	Bioside	Diacylated	1185	979, 449, 287, 207	Cyan-3(sin)soph-5-(sin)glu

Abbreviations: cyan: cyanidin, glu: glucoside, triglu: triglucoside, soph: sophoroside, caf: caffeoyl, fer: feruloyl, coum: coumaroyl, sin: sinapoyl, glucop: glucopyranosyl, ben: benzenoyl, ox: oxaloyl and suc: succinoyl.

<sup>a</sup> Anthocyanins identified in red cabbage for first time. The absorption maxima  $\lambda_{vis}$  is due to the presence of the anthocyanidin chromophore while  $\lambda_{405}$  is due to the chromophore of the acylating aromatic group, and  $E_{vis}$  and  $E_{405}$  are the absorptivities at the corresponding maxima while  $E_{440}$  is the absorptivity at 440 nm. Peak numbering refers to the peaks of Fig. 2.

**Tabla 12:** Antocianinas identificadas en el repollo colorado, referencia. Fuente: Arapitsas, P., et. Al, (2008).

### Muestra 3, Extracto de Arándanos.

Para esta muestra, el método de referencia (Cesa, S., et. Al., 2017) y el usado son el mismo prácticamente (solo se extendió un poco el tiempo de corrida con el gradiente final y se colocó temperatura ambiente a la columna). Las diferencias que se pueden observar en ambos cromatogramas (**Figura 55 y 56**, página 70) se deben a la columna utilizada. Lo que se destaca es la mejor resolución obtenida que en el original, especialmente con los picos 2 y 3 de este.

1. TR= 21,966: Del-3-O-Gal.
2. TR= 24,439: Cyd-3-O-Gal.
3. TR= 25,752: No identificable (no hay pico similar en la referencia, es posible que este solapado con el primero).
4. TR= 27,152: Del-3-O-Ara
5. TR= 30,139: Pet-3-O-Gal.
6. TR= 33,257: Pet-3-O-Ara (con posible superposición del Cyd-3-O-Ara).
7. TR= 35,765: Mal-3-O-Glu.
8. TR= 39,292: Mal-3-O-Ara.

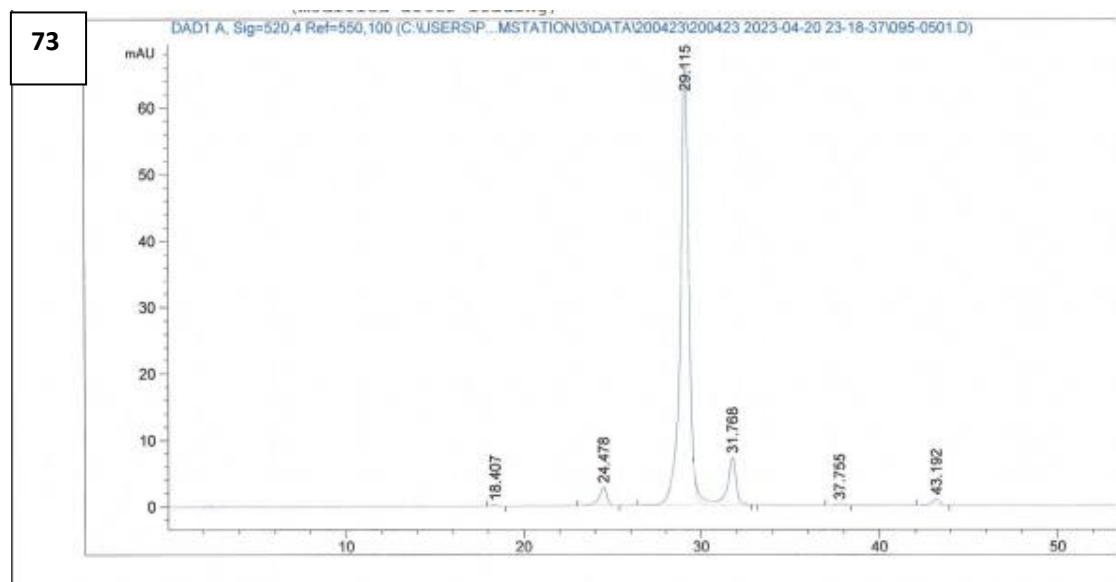
### Muestra 4, Extracto de Frutillas.

En este caso, se puede identificar tres activos mayoritarios y bien característicos (**Figuras 74 y Tabla 13**). Además, el estudio de referencia (Da Silva, F. L., et. Al., 2007) fue realizado sobre distintas variedades de frutillas. En todas estas los tres compuestos son claramente visibles e identificables. Comparando con los resultados obtenidos (**Figura 73**), se puede identificar



fácilmente a estas tres antocianinas, con el correspondiente cambio en los tiempos de retención debido a las diferencias en los parámetros cromatográficos.

1. TR= 24,478: Cyd-3 -Glu.
2. TR= 29,115: Peg-3 -Glu.
3. TR= 31,768: Peg-3-Rut.



**Figura 73:** Cromatograma obtenido del extracto de la muestra de Frutillas (4), ver en **Anexo 2**.

74

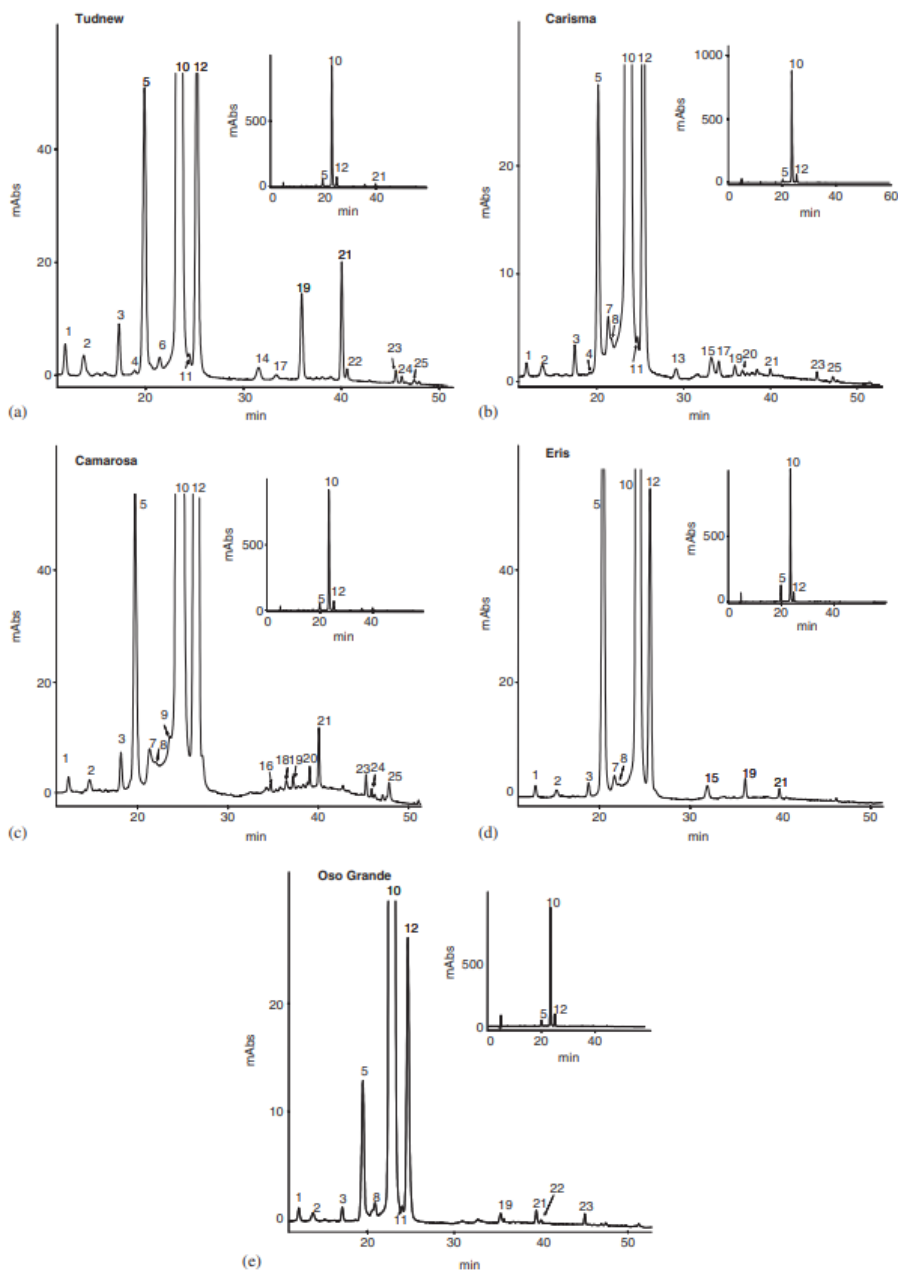


Fig. 2. Chromatograms (zoom) recorded at 520nm showing the anthocyanin profiles of the strawberry samples. (a) cv. *Tudnew*; (b) cv. *Carisma*, (c) cv. *Camarosa*, (d) cv. *Eris*, (e) cv. *Oso Grande*. Full chromatogram is shown in the small window. See Table 1 for peak identification.

**Figura 74:** Cromatogramas de muestras de frutillas, 5 variedades. En todas se destacan las señales 5, 10 y 12. Correspondientes a los compuestos antes mencionados. Fuente: Da Silva, F. L., et. Al., (2007).

Table 1  
Retention time (Rt), wavelengths of maximum absorption in the visible region ( $\lambda_{\max}$ ), mass spectral data, tentative identification of anthocyanin pigments and strawberry varieties in which they were detected

Peak	Rt (min)	$\lambda_{\max}$ (nm)	Molecular ion [M <sup>+</sup> ] (m/z)	MS <sup>2</sup> (m/z)	Tentative identification <sup>a</sup>	Strawberry variety <sup>b</sup>
1	12.3	515	721	559, 407, 313, 271	Catechin-(4→8)-Pg 3-glucoside	Ca, Cr, Er, Os, Tu
2	14.0	517	721	559, 407, 313, 271	Epicatechin-(4→8)-Pg 3-glucoside	Ca, Cr, Er, Os, Tu
3	17.7	515	705	543, 407, 313, 271	(Epi)afzelechin-(4→8)-Pg 3-glucoside	Ca, Cr, Er, Os, Tu
4	19.3	518	851	543, 407, 313, 271	(Epi)afzelechin-(4→8)-Pg 3-rutinoside	Ca, Cr, Tu
5	20.3	515	449	287	Cy 3-glucoside	Ca, Cr, Er, Os, Tu
6	21.5	500	433	271	Pg-3-galactoside	Ca, Tu
7	21.5	500	595	433, 271	Pg 3,5-diglucoside	Ca, Cr, Er, Os
8	21.8	515	595	449, 287	Cy 3-rutinoside	Ca, Cr, Er, Os
9	23.0	524	697	535, 449, 287	Cy 3-malonylglucosyl-5-glucoside	Ca
10	23.8	502	433	271	Pg 3-glucoside	Ca, Cr, Er, Os, Tu
11	24.8	492	501	339	5-carboxypyranopelargonidin-3-glucoside	Cr, Os, Tu
12	25.5	503	579	433, 271	Pg 3-rutinoside	Ca, Cr, Er, Os, Tu
13	29.3	503	549	271	Pg 3-malylglucoside	Cr
14	31.6	504	422	331	Unknown	Ca, Er, Tu
15	32.6	503	607	271	Pg-dissaccharide (hexose + pentose) acylated with acetic acid	Ca, Cr, Er
16	32.9	503	607	271	Pg-dissaccharide (hexose + pentose) acylated with acetic acid	Ca
17	33.3	503	403	271	Pg 3-arabinoside	Cr, Tu
18	33.5	n.a.	535	287	Cy 3-malonylglucoside	Ca
19	35.5	504	519	271	Pg 3-malonylglucoside	Ca, Cr, Er, Os, Tu
20	38.4	n.a.	563	271	Pg dirhamnoside?	Ca, Cr
21	39.9	504	475	271	Pg 3-acetylglucoside	Ca, Cr, Er, Os, Tu
22	40.6	504	533	271	Pg 3-succinylglucoside? Pg 3-methylmalonylglucoside?	Os, Tu
23	45.3	508	503	271	Pg 3-succinylarabinoside? Pg malonylramnoside? (Pg 3-methylmalonylarabinoside?)	Ca, Cr, Os, Tu
24	46.2	n.a.	549	287	Cy 3-succinylglucoside? Cy malylramnoside? (Cy 3-methylmalonylglucoside?)	Ca, Tu
25	47.1	n.a.	517	271	Pg 3-diacetylglucoside? (Pg succinylramnoside?) (Pg 3-methylmalonylramnoside?)	Ca, Cr, Tu

<sup>a</sup>Pg, pelargonidin; Cy, cyanidin; n.a., not available.

<sup>b</sup>Ca, *Camarosa*; Cr, *Carisma*; Er, *Eris*; Os, *Oso Grande*; Tu, *Tudnew*.

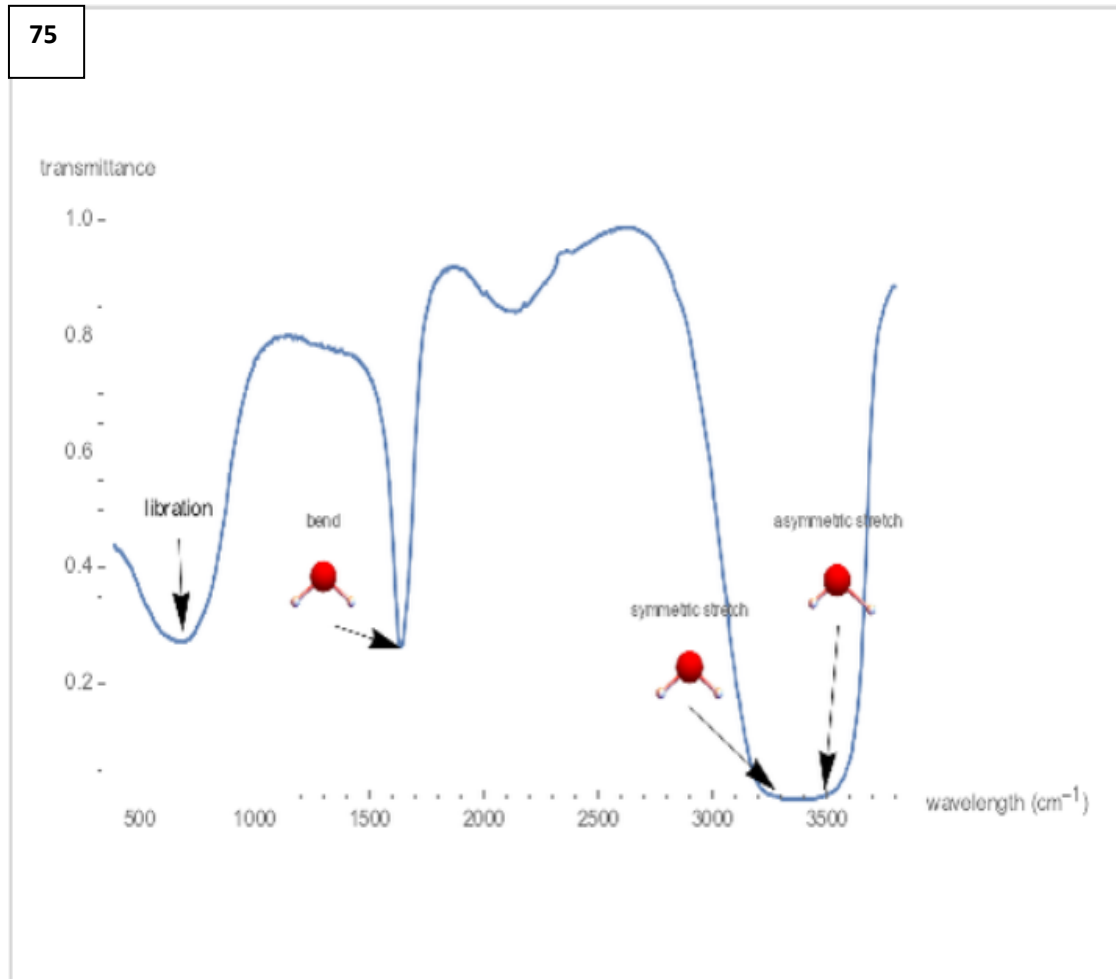
**Tabla 13:** Lista tentativa de las antocianinas identificadas en las distintas muestras en el estudio de referencia para las frutillas. Fuente: Da Silva, F. L., et. Al., (2007).

## Resultados del ensayo: Identificación por TLC-IR

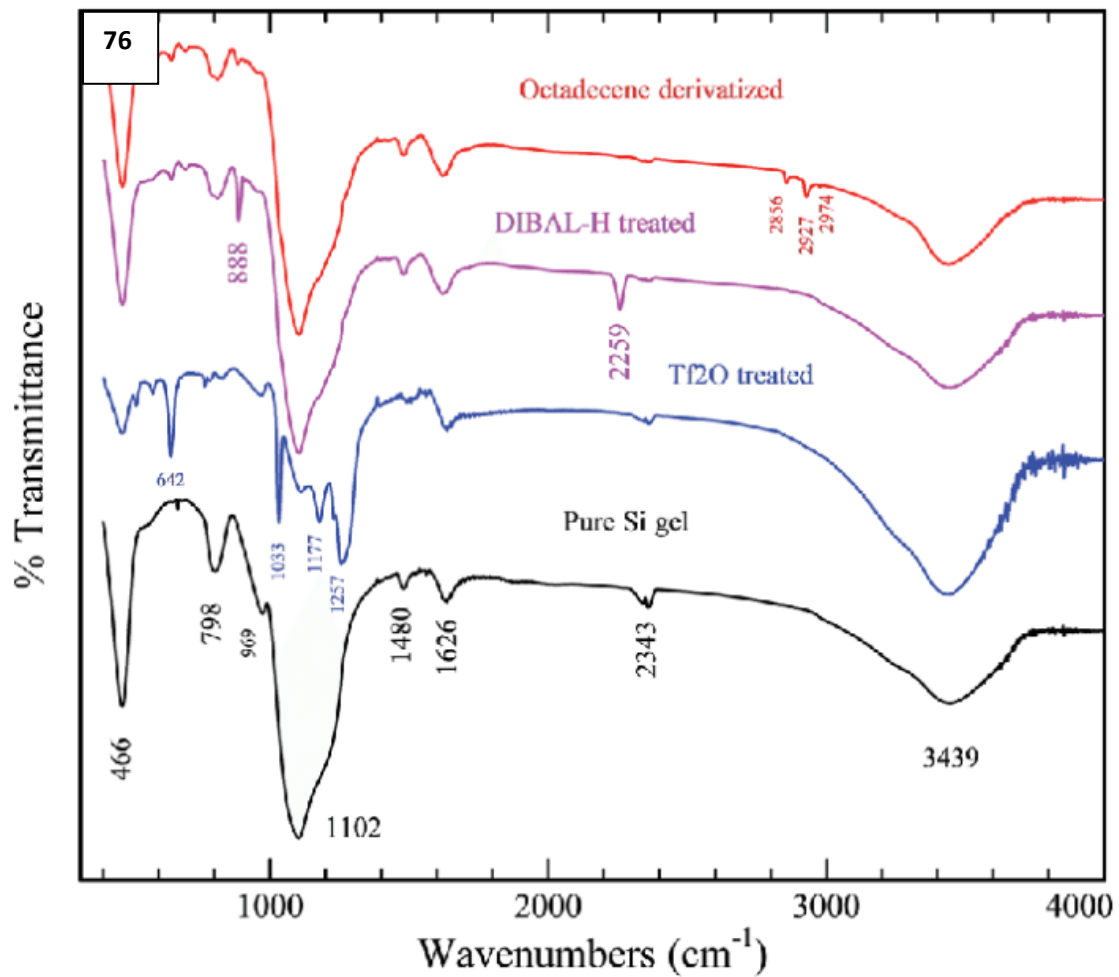
Los resultados obtenidos en los ensayos TLC-IR no son tan claros como los de la identificación por HPLC. La resolución ofrecida por la técnica TLC es significativamente menor, y los parámetros que se pueden modificar para mejorar dicha resolución son más acotados. Aun así, en casi todas las muestras se pudieron observar más de una señal (salvo en la de berenjena) aunque fuesen muy tenues o no presentaran una resolución adecuada para leerlas individualmente (como fue el caso de la frutilla).

En cuanto a los espectros IR, algo a destacar es el ruido en la línea de base (blanco). Esto se le puede atribuir tanto a la silica misma junto a restos de agua de la fase móvil. Ambos compuestos dan señales (ver **Figuras 75 y 76**) que pueden solaparse con las emitidas por las muestras. En el caso del agua, si bien se secaron las placas mediante corriente de aire (por aproximadamente 10 minutos) no se puede garantizar de que todo el solvente haya sido removido. Se busco minimizar la variación que estos compuestos podían tener en las lecturas

realizando un “background” o blanco. Por lo que todas las mediciones posteriores tendrían en cuenta esto. Pero es imposible predecir si la distribución del solvente fue uniforme en todas las partes de la placa (en especial en las zonas donde quedaron retenidas las antocianinas de las muestras).



**Figura 75:** Espectro IR (transmitancia) del agua. Se pueden observar señales en los 3500 a 3250  $\text{cm}^{-1}$ , como también en los 1640  $\text{cm}^{-1}$ , 2150  $\text{cm}^{-1}$  y 700  $\text{cm}^{-1}$ . Fuente: M. Chaplin (2019), en <https://demonstrations.wolfram.com/InfraredActiveVibrationalModesInWater/>



FT-IR spectra of silica gel at various stages of the reaction: pure Si gel (black); after treatment with triflic anhydride (blue); DIBAL-H reduced (pink); and after treatment with 1-octadecene (red).

**Figura 76:** Espectro IR de la silica gel (negro), presenta picos en los 3439  $\text{cm}^{-1}$ , 2343  $\text{cm}^{-1}$ , 1626  $\text{cm}^{-1}$ , 1480  $\text{cm}^{-1}$ , 1102  $\text{cm}^{-1}$ , 969  $\text{cm}^{-1}$ , 798  $\text{cm}^{-1}$  y 466  $\text{cm}^{-1}$ . Las señales principales se deben a estiramientos de los grupos Si-OH junto a la presencia de agua (3439  $\text{cm}^{-1}$ ) y estiramiento de Si-O-Si (1102  $\text{cm}^{-1}$ ). Fuente: Darmakkolla, S. R., et al. (2016).

## CONCLUSIONES

Los pigmentos naturales que imparten colores a las plantas como las antocianinas, tipo de flavonoide natural, pueden emplearse como reemplazo competitivo de los colorantes sintéticos en alimentos, así como también pueden utilizarse como antioxidantes en productos alimenticios, farmacéuticos, y cosméticos. Asimismo, actualmente reemplazan los pigmentos sintéticos como los complejos metálicos de rutenio y zirconio en celdas solares, resultando así celdas más ecológicas.

Dadas las numerosas aplicaciones de las antocianinas, en este trabajo se pretendió analizar su posible aprovechamiento a partir de residuos alimenticios de frutihortícolas, y se pudo establecer que, en el caso del repollo colorado, las berenjenas, los arándanos, las frutillas y las cerezas es factible. Sin embargo, es necesario proteger las antocianinas de su degradación por factores ambientales como la luz, la temperatura, el oxígeno, etc. y de esta manera, disminuir sus pérdidas en el tiempo. Además, en algunos casos, como en las antocianinas provenientes de las berenjenas será necesario estabilizarlas por microencapsulación o con uniones a otros compuestos como pueden ser ácidos o iones metálicos. En el caso del pimiento morrón, se demostró que no posee antocianinas que le otorgan su coloración típica, si bien posee quercetina en baja concentración como principal flavonoide. Su coloración se debe principalmente a su contenido en carotenoides.

Por el método de pH diferencial se pudo establecer la cantidad de antocianinas totales monoméricas en las muestras frescas y en las muestras que se almacenaron a temperatura ambiente durante 7 días, que simulaban los residuos vegetales. El repollo colorado y los arándanos fueron las muestras frescas con mayor contenido de antocianinas: 323, 15 y 168,48 mg/100g, respectivamente. En las muestras que simulaban residuos se pudo apreciar una disminución del 10 % en repollo colorado y un aumento del 11 % en los arándanos, luego de transcurridos 7 días de almacenamiento a temperatura ambiente. La disminución observada en el repollo podría deberse a la posible degradación de algunas antocianinas en su composición, si bien en este vegetal la mayoría de las antocianinas presentan acilación, que les otorga una mejora en su estabilidad. El incremento en los arándanos podría atribuirse a una superior maduración de los arándanos luego de los 7 días de almacenamiento que produce un aumento en el contenido de antocianinas.

De los análisis por HPLC se pudieron identificar en las diferentes muestras analizadas, las principales antocianinas que se hallan en su composición:

En la muestra de berenjena, las antocianinas encontradas fueron: Del-3-Rut-5-Glu, Del-3-Glu, Del-3-Rut.

En la muestra de repollo colorado, Cyd-3-Soph-5-Glu, Cyd-3,5-diGlu, Cyd-3(p-OH-Ben) Soph-5-(Oxa) Glu, Cyd-3(Sin) Triglu-5-Glu.

En la muestra de arándanos, se hallaron una amplia variedad de antocianinas. Ellas fueron:

Del-3-O-Gal., Cyd-3-O-Gal., Del-3-O-Ara., Pet-3-O-Gal., Pet-3-O-Ara., Cyd-3-O-Ara., Mal-3-O-Glu., Mal-3-O-Ara.

En la muestra de frutilla, se encontraron principalmente; Cyd-3 -Glu., Peg-3 -Glu., Peg-3-Rut.

Por consiguiente, podemos afirmar que, de todas las muestras, los arándanos son los que poseen una más compleja variedad de antocianinas.

En todos los espectros del infrarrojo cercano, IR, se pudieron observar bandas de absorción características de C=O entre 1680 y 1620, aromáticos entre 1600 y 1500 y la de -OH a 3500-3200, que indican la presencia de estos grupos funcionales propios de una estructura correspondiente a las antocianinas.

De los resultados obtenidos se pudo apreciar variaciones en el contenido de las antocianinas durante el almacenamiento. En las muestras de berenjenas se produjo una importante pérdida y en las frutillas también, aunque en estas fue más leve. Es por ello que es necesario continuar investigando en cuanto a la estabilización de las antocianinas en matrices específicas. Una alternativa para mejorar su estabilidad es acomplejarlas con algunos iones metálicos como se encuentran naturalmente en algunos vegetales o a través de la microencapsulación. Esta última tecnología se emplea ampliamente en la industria alimenticia para la fabricación de yogures, bebidas, dulces y productos de confitería enriquecidos con antioxidantes.

Las antocianinas presentan diferente color según el pH del medio en que se encuentran. Este fenómeno es importante si se emplearán como colorantes. Debido a la deficiencia electrónica (carga positiva) del núcleo flavilio, estos pigmentos funcionan como verdaderos indicadores de pH; es decir, su color también depende de las condiciones de acidez o alcalinidad del sistema en que se encuentran. A pH ácidos adquieren una estructura estable de catión flavilio rojo; cuando se incrementa el pH, la distribución electrónica se modifica hasta llegar a la forma quinoidal azul; la hidratación del flavilio produce la base carbinol incolora.

Como se mencionó precedentemente, el aprovechamiento de las antocianinas a partir de residuos alimenticios de frutihortícolas es posible. Sin embargo, se requiere un análisis de la viabilidad económica del proyecto de recuperación de antocianinas de residuos vegetales, dado el consumo de recursos tanto de reactivos, como de energía sumados a la inversión inicial que un proyecto de estas características requiere. Las políticas y tendencias a nivel mundial parecen favorecer este tipo de iniciativas, dado que los colorantes artificiales están cayendo en desuso por sus efectos adversos en la salud y en el medio ambiente. Además, la intención de agregarle valor económico a lo que de otro modo sería un residuo es compatible con la idea de una economía circular que comienza a ser tendencia mundial. Para evitar el deterioro del producto por microorganismos, se puede recurrir a la técnica de liofilización para mantener los extractos



en forma sólida y de esta forma aumentar su vida útil. Entre las muestras analizadas, las más viables serían el repollo colorado, debido a su elevada concentración de antocianinas y su resistencia al deterioro por microorganismos, seguido de los arándanos, que también posee un alto contenido del pigmento. Restaría estimar el tiempo para recuperar las antocianinas de ambos productos antes de que su concentración disminuya demasiado por degradación en el residuo. Las antocianinas del repollo colorado poseen gran interés en su uso como aditivo indicador de color en envases inteligentes por su amplia gama de cambios de color con el rango de variaciones de pH. Estas modificaciones de color en envases inteligentes, nos puede indicar que el alimento no se considera apto para su consumo por algunas transformaciones indeseables ocurridas en él que producen una variación en el pH.

En cuanto a los diferentes métodos de extracción que se ensayan para mejorar la recuperación de las antocianinas de los residuos, su propósito es usar la menor cantidad de solventes posibles o eliminarlos totalmente, de manera tal de aplicar una tecnología acorde al desarrollo sustentable.

Las técnicas más empleadas como extracción asistida de las antocianinas son: las microondas, los campos eléctricos pulsados, los fluidos supercríticos y el ultrasonido. La extracción asistida por ultrasonidos es más eficiente que las extracciones tradicionales con solventes y más económica que la extracción asistida por microondas y por fluidos supercríticos. Por lo tanto, el ultrasonido se considera que presenta posible viabilidad para su aplicación a nivel industrial.

La implementación de sistemas de producción de alimentos sostenibles es esencial para garantizar las necesidades futuras de alimentos seguros, saludables y nutritivos para la creciente población. De esta forma, el uso eficiente de los recursos naturales, el desperdicio prácticamente nulo o reducido de alimentos y la adopción de sistemas de producción de alimentos con elevada eficiencia y bajo consumo de energía son partes esenciales para el logro de una producción sostenible de alimentos.

## REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Aal, E-S.M. and Hucl, P.J. (2003). *Composition and stability of anthocyanins in blue-grained wheat*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(8), pp. 2174-2180
- Abedi-Firoozjah, R., Yousefi, S., Heydari, M., Seyedfatehi, F., Jafarzadeh, S., Mohammadi, R., Rouhi, M., & Garavand, F. (2022). *Application of Red Cabbage Anthocyanins as pH-Sensitive Pigments in Smart Food Packaging and Sensors*. Polymers14, no. 8: 1629. <https://doi.org/10.3390/polym14081629>
- Aguilera Ortíz M., Reza Vargas M.d.C., Madinaveitia R. G. C. & Meza Velázquez J. A. (2011). *Propiedades funcionales de las antocianinas*. Biotecnia Vol. 13 Núm. 2. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Juárez del Estado de Durango, México. <https://doi.org/10.18633/bt.v13i2.81>.
- . Al-Weshahy, A., Rao, V.A., (2009). *Isolation and characterization of functional components from peel samples of six potatoes varieties growing in Ontario*. Food Res. Int. 42, 1062–1066.
- Al-Weshahy, A., Rao, A.V., (2012). *Potato peel as a source of important phytochemical antioxidant nutraceuticals and their role in human health – a review*. In: Rao, V. (Ed.), *Phytochemicals as Nutraceuticals –Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health*. InTech, Rijeka, Croatia.
- Andersen, O.M., Jordheim, M. (2016). *Basic Anthocyanin Chemistry and Dietary Source*. In: *Anthocyanins in Health and Disease*. CRC PressEditors: Taylor C. Wallace, M. Monica Giusti.
- Aoki, P. W. (2002). *Physikalische Chemie*, VCH, Weinheim.
- Arrazola, G., Herazo, I., & Alvis, A. (2014). *Microencapsulación de Antocianinas de Berenjena (Solanum melongena L.) mediante Secado por Aspersión y Evaluación de la Estabilidad de su Color y Capacidad Antioxidante*. Información tecnológica, 25(3), 31-42. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642014000300006>
- Arrazola, G., Herazo, I., & Alvis, A. (2014). *Obtención y Evaluación de la Estabilidad de Antocianinas de Berenjena (Solanum melongena L.) en Bebidas*. Información tecnológica, 25(3), 43–52. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642014000300007>.
- Arruda, H. S., Silva, E. K., Araujo, N. M. P., Pereira, G. A., Pastore, G. M., & Marostica Jr., M. R. (2021). *Anthocyanins Recovered from Agri-Food By-Products Using Innovative Processes: Trends, Challenges, and Perspectives for Their Application in Food Systems*. Molecules 26, no. 9: 2632. <https://doi.org/10.3390/molecules26092632>.
- Attoe, E., & Von Elbe, J. (1981). *Photochemical degradation of betanine and select anthocyanins*. Journal of Food Science, 46(6), 1934-1937.
- Bakker J, Preston N.W., Timberlake C.F. (1986) *The determination of anthocyanins in aged red wines: comparison of HPLC and spectral methods*. Am. J. Enol. Vitic. 37(2): 121-126.
- Banerjee, J., Singh, R., Vijayaraghavan, R., MacFarlane, D., Patti, A. F., & Arora, A. (2017). *Bioactives from fruit processing wastes: Green approaches to valuable chemicals*. Food Chemistry, 225, 10–22. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.093>

- Barres J. M. *Fruto joven de arándanos (Ribes). Microscopio óptico X40*. Recuperado en 16 de diciembre de 2022, de <https://www.alamy.es/fruto-joven-de-arandanos-ribes-microscopio-optico-x40-image387992258.html?imageid=74179142-BFA4-4B3B-9409-CA01F1056395&p=1358185&pn=1&searchId=356ce0c605d2964a0749ee157f390860&searchType=0>.
- Bechtold T. & Mussak R. (2009). *Handbook of Natural Colorants*. ISBN: 978-0-470-51199-2. Editorial Jhon Wiley & Sons, Ltd.
- Boulton, R. (2001). *The copigmentation of anthocyanins and its role in the colour of red wine: A critical review*. Am. J. Enol.Vitic., 52,67-85.
- Bridle P. & Timberlake C.F. (1996). *Anthocyanins as natural food colours—selected aspects, Food Chemistry*, Vol 58, Issues 1–2. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00222-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00222-1).
- Brouillard, R (1982). *Anthocyanins as food colors*. En: Markakis P (ed.) Academic Press, New York.
- Brouillard, R., Dangles, O. (1994). Anthocyanin molecular interactions: the first step in the formation of new pigments during wine aging. *Food Chemistry*, Volume 51, Issue 4, 365-371. ISSN 0308-8146, [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(94\)90187-2](https://doi.org/10.1016/0308-8146(94)90187-2).
- Bueno J. M., Sáez-Plaza P., Ramos-Escudero F., Jiménez A. M., Fett R. & Asuero A. G. (2012). *Analysis and Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments. Part II: Chemical Structure, Color, and Intake of Anthocyanins*. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 42(2), 126–151. 10.1080/10408347.2011.632314
- Cabanas, C. G. (2014). *Guía práctica para el consumidor: cómo reducir el desperdicio alimentario “Buen Aprovecho”*. Gobierno de España. Recuperado en 10 de diciembre de 2022, de: [https://www.oneplanetnetwork.org/sites/default/files/buen\\_provecho\\_-\\_guia\\_practica\\_para\\_el\\_consumidor\\_como\\_reducir\\_el\\_desperdicio\\_alimentario-compressed-compressed2.pdf](https://www.oneplanetnetwork.org/sites/default/files/buen_provecho_-_guia_practica_para_el_consumidor_como_reducir_el_desperdicio_alimentario-compressed-compressed2.pdf).
- Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Mantegna, S., Cravotto, G., & Perego, P. (2010). *Extraction of phenolics from Vitis vinifera wastes using non-conventional techniques*. *Journal of Food Engineering*, 100(1), 50–55. 10.1016/j.jfoodeng.2010.03.026.
- Castañeda-Sánchez, A., y Guerrero-Beltrán, J. (2015). *Pigmentos en frutas y hortalizas rojas: antocianinas*. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 9, 25-33
- Castellanos Ruiz, J. A. (2019). *Compuestos bioactivos en pimientos tradicionales en diferentes condiciones de cultivo* (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València).
- Chiou, T. Y., Neoh, T. L., Kobayashi, T., & Adachi, S. (2012). *Properties of extract obtained from defatted rice bran by extraction with aqueous ethanol under subcritical conditions*. *Food Science and Technology Research*, 18(1), 37–45. <https://doi.org/10.3136/fstr.18.37>
- Cosavalente Burgos, Kevin S., Ganoza Yupanqui, S. G., & Ganoza, M. L. (2016). *Antocianinas totales y capacidad antioxidante in vitro de extractos de diferente grado etanólico del fruto de Vacciniumcorymbosum “Arándano”*. *UCV-Scientia*, 8(1), 44–48. <https://doi.org/10.18050/RevUcv-Scientia.v8n1a5>

- Cunha R., Trigueiro P., Orta Cuevas M.d.M., Medina-Carrasco S., Duarte TM, Honório L.M.d.C., Damacena D.H.L., Fonseca M.G., da Silva-Filho E.C., Osajima J.A. (2023) *The Stability of Anthocyanins and Their Derivatives through Clay Minerals*: Revising the Current Literature. *Minerals*; 13(2):268. <https://doi.org/10.3390/min13020268>
- Curtin, C., Zhang, W., & Franco, C. (2003). *Manipulating anthocyanin composition in Vitis vinifera suspension cultures by elicitation with jasmonic acid and light irradiation*. *Biotechnology letters*, 25, 1131-1135. <https://doi.org/10.1023/A:1024556825544>
- Darre, M., Zaro, M.J.; Concellón, a., Lemoien, M.L., Vicente, A.R. (2021). *Rol de los antioxidantes de la piel de berenjena en la tolerancia al daño por frío*. Congreso; III Congreso Argentino de Biología y Tecnología postcosecha-CABTP; 2021. Santa Fé, Argentina.
- De Luca M. & Rosso M. (2007). *Estudio de calidad de los residuos sólidos de la ciudad autónoma de buenos aires estación climatologica: invierno resumen ejecutivo*. Instituto de Ingeniería Sanitaria, Facultad de ingeniería Universidad de Buenos Aires; CEAMSE Coordinación Ecológica Área Metropolitana Sociedad del Estado. Recuperado en 3 de diciembre de 2022, de [https://cms.fi.uba.ar/uploads/resumen\\_ejecutivo\\_ECRSU\\_invierno\\_VF\\_3\\_ddcb455bad.pdf](https://cms.fi.uba.ar/uploads/resumen_ejecutivo_ECRSU_invierno_VF_3_ddcb455bad.pdf)
- Dell'Acqua A., Moyano M. B., Galvan J., Rios De Gonzalez L. & Paz C. (2019). *Comercialización y competitividad del arándano argentino*. Ediciones INTA. Recuperado en 16 de noviembre de 2022, de <https://inta.gob.ar/documentos/comercializacion-y-competitividad-del-arandano-argentino>. <http://hdl.handle.net/20.500.12123/4671>
- Dergal, S. B., Rodriguez, H. B., & Morales, A. A. (2006). *Química de los alimentos*. No. 04; TX354 B3 2006. Editorial Pearson educación. <http://madejaseinsumos.com/descargables/Quimica%20de%20los%20alimentos.pdf>
- Eshbaugh, W. (1993). *History and exploitation of a serendipitous new crop discovery*. (J. Janick, & J. Simon, Edits.) *New crops*, 132-139
- Espino, G. (2014). *Antocianinas: los otros pigmentos del reino vegetal*. Obtenido de <http://ubuscientia.blogspot.com.ar/2014/01/antocianinas-los-otros-pigmentos-del.html>.
- Fan S, Guo L, Zhang Y, Sun Q, Yang B, Huang C. (2013). *Okra polysaccharide improves metabolic disorders in high-fat diet-induced obese C57BL/6 mice*. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2013;57(11) :2075-78.
- FAO, (2014). *Save food – global initiative on food loss and waste reduction*. Available from: <http://www.fao.org/docrep/015/i2776e/i2776e00.pdf>

- Fári, M. (1986). *Pepper (Capsicum annum L.)*. In: Bajaj, Y.P.S. (eds) *Crops I. Biotechnology in Agriculture and Forestry*, vol 2. Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-61625-9\\_18](https://doi.org/10.1007/978-3-642-61625-9_18).
- Flores-Aguilar, E., & Flores-Rivera, E. P. (2018). *Estabilidad de Antocianinas, Fenoles totales y Capacidad Antioxidante de Bebidas de Maíz Morado (Zea mays L.) y Uña de Gato (Uncaria tomentosa sp.)*. *Información tecnológica*, 29(2), 175-184. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642018000200175>
- Franceschinis, L. E. (2016). *Propiedades fisicoquímicas y funcionales de productos deshidratados en base a cerezas y zarzamoras de la Patagonia argentina*. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Recuperado en 6 de diciembre de 2022, de [https://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis\\_n6120 Franceschinis](https://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n6120_Franceschinis).
- . Galanakis, C.M., Tornberg, E., Gekas, V., (2010a). *A study of the recovery of the dietary fibres from olive mill wastewater and the gelling ability of the soluble fibre fraction*. *LWT-Food Sci. Technol.* 43, 1009–1017.
- . Galanakis, C.M., Tornberg, E., Gekas, V., (2010b). *Clarification of high-added value products from olive mill wastewater*. *J. Food Eng.* 99, 190–197.
- Galanakis, C.M., Tornberg, E., Gekas, V., (2010c). *Dietary fiber suspensions from olive mill wastewater as potential fat replacements in meatballs*. *LWT-Food Sci. Technol.* 43, 1018–1025.
- Galanakis, C.M., Tornberg, E., Gekas, V., (2010d). *Recovery and preservation of phenols from olive waste in ethanolic extracts*. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 85, 1148–1155.
- Galanakis, C.M., Tornberg, E., Gekas, V., (2010e). *The effect of heat processing on the functional properties of pectin contained in olive mill wastewater*. *LWT-Food Sci. Technol.* 43, 1001–1008.
- Galanakis, C.M., (2012). *Recovery of high added-value components from food wastes: conventional, emerging technologies and commercialized applications*. *Trends Food Sci. Tech.* 26, 68–87.
- Galanakis, C.M., (2013). *Emerging technologies for the production of nutraceuticals from agricultural byproducts: a viewpoint of opportunities and challenges*. *Food Bioprod. Process.* 91, 575–579.
- Galanakis, C.M., (2015). *Separation of functional macromolecules and micromolecules: from ultrafiltration to the border of nanofiltration*. *Trends Food Sci. Tech.* 42(1), 44–63.
- García C. (2011). *Caracterización de variedades locales de Solanáceas*. Tesis de Maestría en Agricultura Ecológica, Universidad de Barcelona.
- García M. (2014). *Hypolipidemic potential of plants used in Cuba*. *Pharmacology online* 2014; 1:73-80.

- García Pastor, M.E. (2016). *Contenido en antocianos y compuestos fenólicos en diferentes frutos secos y deshidratados*. Tesis de Maestría de la Universidad Miguel Hernández de Elche, España.
- Garzón, G.A. (2008). *Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión*, en: Acta biol. Colomb. 13(3): 27-36.
- Ghasemnezhad, M., Sherafati, M., & Ali Payvast, G. (2011). *Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (Capsicum annum) fruits at two different harvest times*. Journal of Functional Foods, 3(1), 44-49.
- Ghosh, D. (2005). *Anthocyanins And Anthocyanin-Rich Extracts In Biology And Medicine: Biochemical , Cellular , And Medicinal Properties*, 3(2), 113–124.
- Giacobone, G., Castronuovo, L., Tiscornia, V. & Allemandi, L. (2018). *Análisis de la cadena de suministro de frutas y verduras en Argentina*. Estudio financiado por IDRC-Canadá. Argentina: Fundación InterAmericana del Corazón-Argentina.
- Gil Garzón, M. A., Vélez Acosta, L. M., Millán Cardona, L. J., Acosta Hurtado, M. A., Díez Rodriguez, A. C., Cardona Taborda, N., Rocha Gutiérrez, L. A., & Villa Mejía, G. C. (2011). *Desarrollo de un producto de panadería con alto valor nutricional a partir de la harina obtenida del banano verde con cáscara: una nueva opción para el aprovechamiento de residuos de la industria de exportación*. Producción + Limpia, 6(1), 96-107. Retrieved May 27, 2023, from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S190904552011000100009&lng=en&tlng=](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S190904552011000100009&lng=en&tlng=).
- Giusti M. M., Rodriguez-Saona L. E., Griffin D., & Wrolstad R. E. (1999). *Electrospray and tandem mass spectroscopy as tools for anthocyanin characterization*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 4657–4664. 10.1021/jf981242.
- Górecka, D., Pacholczyk, B., Dziedzic, K., Górecka, M., (2010). *Raspberry pomace as a potential fiber source for cookies enrichment*. Acta Sci. Pol. Technol. Aliment. 9, 451–461
- Görgüç A., Gençdağ E., Yılmaz F. M. (2020). *Bioactive peptides derived from plant origin by-products: biological activities and techno-functional utilizations in food developments—a review*. Food Research International. 2020;136.
- Gravier Rodriguez, G & Jurado Basante, S. (2022). *Evaluación de la inclusión de las antocianinas en biopelículas inteligentes elaboradas a partir de ácido poliláctico (PLA) y materiales compuestos con fibras naturales*. Universidad de los Andes.

- Guaadaoui A., Benaicha S., Elmajdoub N., Bellaoui M., Hamal A. (2014). *What is a bioactive compound? A combined definition for a preliminary consensus*. International Journal of Nutrition and Food Sciences. 2014;3(3):174–179. 10.11648/j.ijnfs.20140303.16.
- Guntero V.A., Longo M.B., Ciparicci S.A., Martini R.E. & Andreatta A.E. (2015). *Comparación de métodos de extracción de polifenoles a partir de residuos de la industria vitivinícola*. UTN, Fac. Reg. San Fco. Av. de la Universidad 501, 2400, San Francisco, Córdoba. IDTQ- Grupo Vinculado PLAPIQUI – CONICET- FCEFyN - UNC. Av. Vélez Sarsfield 1611, Córdoba.
- Han, M. H., Kim, H. J., Jeong, J. W., Park, C., Kim, B. W., & Choi, Y. H. (2018). *Inhibition of Adipocyte Differentiation by Anthocyanins Isolated from the Fruit of Vitis coignetiae Pulliat is Associated with the Activation of AMPK Signaling Pathway*. Toxicological research, 34(1), 13–21. <https://doi.org/10.5487/TR.2018.34.1.013>
- Hrazdina, G., Iredale, H., & Mattick, L. R. (1977). *Anthocyanin composition of Brassica oleracea cv. Red Danish*. Phytochemistry, 16(2), 297-299.
- Horbowicz M. Kosson R., Grzesiuk A. & Debski H. (2008). *Anthocyanins of Fruits and Vegetables-their occurrence, analysis and role in human nutrition*. Vegetables Crops Research Bulletin, 68:5-22.
- Howard, L., Talcott, S., Brenes, C., & Villalon, B. (2000). *Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (Capsicum species) as influenced by maturity*. J Agric Food Chem, 48(5), 1713-1720
- Sistema Integrado de Información Taxonómica. Recuperado en 6 de diciembre de 2022, de <https://www.itis.gov/>
- Lamanauskas, N.; Pataro, G.; Bobinas, Č.; Šatkauskas, S.; Viškėlis, P.; Bobinaitė, R.; Ferrari, G. (2016). *Impact of pulsed electric field treatment on juice yield and recovery of bioactive compounds from raspberries and their by-products*. Zemdirb.-Agric. 2016, 103, 83–90.
- Larocca C. (2007). *Gacetilla Informativa del Sector Agroalimentario. Tema: Berenjena - Situación de Mercado*. Dirección de Mercados Agrícolas dependiente de la Dirección Nacional de Mercados de la Subsecretaría de Política Agropecuaria y Alimentos. Recuperado en 2 de diciembre de 2022, de [https://www.magyp.gob.ar/new/0-0/programas/dma/newsletters/nro35/newsletter\\_berenjena\\_0111.php#:~:text=Esto%20permite%20estimar%20una%20producci%C3%B3n,provincias%20aunque%20en%20menor%20medida](https://www.magyp.gob.ar/new/0-0/programas/dma/newsletters/nro35/newsletter_berenjena_0111.php#:~:text=Esto%20permite%20estimar%20una%20producci%C3%B3n,provincias%20aunque%20en%20menor%20medida).
- López Iriart, M, de Redin, L, Subira, I.; Irache, J. M., Risso, P. (2017). *Evaluación de la encapsulación de antocianinas en micropartículas proteica*. XVIII Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas. Facultad de Ciencias Veterinarias. V Jornada Latinoamericana III Jornadas de Ciencia y Tecnología. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Rosario.



- Kappel, F.; Fisher-Fleming, B.; Hogue, E. (1996). *Fruit characteristics and sensory attributes of an ideal sweet cherry*. HortScience 31(3): pp. 443-446.
- Kalt, W., Ryan, D. A. J., Duy, J. C., Prior, R. L., Ehlenfeldt, M. K. & Vander Kloet, S. P. (2001). *Interspecific Variation in Anthocyanins, Phenolics, and Antioxidant Capacity among Genotypes of Highbush and Lowbush Blueberries (Vaccinium Section cyanococcus spp.)*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(10), 4761–4767. doi:10.1021/jf010653e
- Kang S.Y, Seeram N.P, Nair M.G, Bourquin L.D. (2003). *Tart cherry anthocyanins inhibit tumor development in ApcMin mice and reduce proliferation of human colon cancer cells*. Cancer Lett. 2003;194(1):13–19.
- Kollmannsberger, H., Rodríguez-Burruezo, A., Nitz, S., & Nuez, F. (2011). *Volatile and capsaicinoid composition of ají (Capsicum baccatum) and rocoto (Capsicum pubescens), two Andean species of chile peppers*. Journal of the Science Food of Food and Agriculture, 91(9), 1598-1611
- Kirakosyan, A.; Seymour, E.; Urcuyo Llanes, D.; Kaufman, P.; Bolling, S. (2009). *Chemical profile and antioxidant capacities of tart cherry products*. Food Chemistry, 115: 20-25.
- Lee J., Durst R. W. & Wrolstad R. E. (2005). *Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study*. Journal of AOAC INTERNATIONAL, Volume 88, Issue 5, Pages 1269–1278. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.5.1269>
- Lee, J., Rennaker, C. & Wrolstad, R. E. (2008). *Correlation of two anthocyanin quantification methods: HPLC and spectrophotometric methods*. Food Chemistry, 110(3), 782–786. 10.1016/j.foodchem.2008.03.010
- León Ropero M. & Soledad B. (2020). *Estudio del perfil de antocianinas en Rubus Niveus utilizando cromatografía líquida (HPLC) y pH diferencial*. Universidad Católica Andrés Bello. ISSN: 1856-9587.
- Malmberg, A., Theander, O., (1984). *Free and conjugated phenolic acids and aldehydes in potato tubers*. Swed. J. Agric. Res. 14, 119–125.
- Markakis, P., & Jurd, L. (1974). *Anthocyanins and their stability in foods*. Critical Reviews in Food Technology, 4(4), 437-456.
- Matsufuji, H., Nakamuro, H., Chino, M., & Mitsuharo, T. (1998). *Antioxidant activity of capsanthin and the fatty acid esters in paprika (Capsicum annum)*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 3462-3472.

- Mazza, G., Brouillard, R. (1990) The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions, *Phytochemistry*, Volume 29, Issue 4, 1097-1102, ISSN 0031-9422, [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(90\)85411-8](https://doi.org/10.1016/0031-9422(90)85411-8).
- Mazza, G.; Miniati, E. (1993). *Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains*. Boca Raton Florida: CRC Press, 131-216
- McCune, L.M., Kubota, C., Stendell-Hollis, N.R., Thomson, C.A. (2010). *Cherries and Health: A Review*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(1): 1-12.
- McDougall, G. J. & Stewart, D. (2005). *The inhibitory effects of berry polyphenols on digestive enzymes*. *Biofactors* 23, 189-195. 10.1002/biof.5520230403
- Mei X., Qin H., Wang J., Wang G., Liu C. & Cai Y. (2014). *Studies on Physicochemical Characteristics of Anthocyanin from Super Dark Maize*. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2(3), 109-114. 10.12691/jfnr-2-3-3.
- Mildner-Szkudlarz, S., Bajerska, J., Zawirska-Wojtasiak, R., Górecka, D., (2013). *White grape pomace as a source of dietary fibre and polyphenols and its effect on physical and nutraceutical characteristics of wheat biscuits*. *J. Sci. Food Agric.* 93 (2), 389–395. Mirabella, N., Castellani, V., Sala, S., 2014. Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review. *J. Clean. Prod.* 65, 28–41.
- .Misi, S.N., Forster, C.F., (2002). *Semi-continuous anaerobic co-digestion of agrowastes*. *Environ. Technol.* 23, 445–451
- Molina N., Gimenez L. & Richieri C. (2007). *Economía del sector hortícola de corrientes. Producción frutillera regional y su relación con la oferta nacional y del Mercosur*. Publicación técnica 22, ISSN 1515-9299. Bella Vista, Argentina: EEA Bella Vista INTA.
- Miñano, A., Chico, J., López, E., Sisniegas, M., & Bobadilla, M. (2004). *Efecto de la concentración de sacarosa en la producción de antocianinas a partir de cultivos celulares de Vitis vinifera L. var. red globe*. *Revista Peruana de Biología*, 11(2), 187-192. Recuperado en 12 de febrero de 2023, de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-99332004000200011&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332004000200011&lng=es&tlng=es).
- . Mišan, A., Šaric, B., Nedeljkovic´, N., Pestoric, M., Jovanov, P., Pojic, M., Tomic, J., Filipc, B., Hadnaev, M., Mandic, A., (2014). *Gluten-free cookies enriched with blueberry pomace: optimization of baking process*. *World Acad. Sci. Eng. Technol., Int. J. Biol., Veter. Agric. Food Eng.* 8, 330–333
- Myer, R. O.; Brendemuhl, J. H.; Johnson, D. D. (1999). *Evaluation of dehydrated restaurant food waste products as feedstuffs for finishing pigs*. *J Anim Sci.* 77(3):685 - 92. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.08.020>.

- Nucifora, V. (2022). *Recubrimientos comestibles para prolongar la vida útil de arándanos*. Tesis de grado de la Universidad de Belgrano. 2022.
- Olmstead, R., & Bohs, L. (2007). *A Summary of Molecular Systematic Research in Solanaceae: 1982-2006*. Acta horticulturae, 745(745).
- Orestes López Hernández D. & Vanessa Telenchana Pérez E. (2019). *Evaluación de la actividad antioxidante y antiinflamatoria de antocianinas microencapsuladas a partir de cáscaras de berenjena (Solanum melongena)*. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Carrera de Ingeniería Bioquímica. Recuperado en 17 de noviembre de 2022, de <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/30541>.
- Pataro, G.; Bobinaitė, R.; Bobinas, Č.; Šatkauskas, S.; Raudonis, R.; Visockis, M.; Ferrari, G.; Viškelis, P. (2017). *Improving the Extraction of Juice and Anthocyanins from Blueberry Fruits and Their By-products by Application of Pulsed Electric Fields*. Food Bioprocess Technol. 2017, 10, 1595–1605.]
- Pereira, G.A.; Silva, E.K.; Peixoto Araujo, N.M.; Arruda, H.S.; Meireles, M.A.A.; Pastore, G.M. (2019). *Obtaining a novel mucilage from mutamba seeds exploring different high-intensity ultrasound process conditions*. Ultrason. Sonochem. 2019, 55, 332–340.
- Pereyra N. M., Muñiz A., Pizarro C., Quiroga Martin M. I. (2019). *Cereza*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Mendoza Argentina. Recuperado en 29 de noviembre de 2022, de <https://inta.gob.ar/documentos/cereza>
- Pérez-Urria Carril E. & Ávalos García A. (2009). *Metabolismo secundario de plantas*. REDUCA, 2 (3). pp. 119-145. ISSN 1989-3620. Facultad de Biología. Universidad Complutense, Madrid. Recuperado en 11 de noviembre de 2022, de [https://eprints.ucm.es/id/eprint/9603/1/Metabolismo\\_secundario\\_de\\_plantas.pdf](https://eprints.ucm.es/id/eprint/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf)
- Piccaglia R., Marotti, M. & Baldoni G. (2002). *Factors influencing anthocyanin content in red cabbage (Brassica oleracea var capitata L f rubra (L) Thell)*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 82(13), 1504–1509. doi:10.1002/jsfa.1226.
- Pichardo Pérez, F.F. (2019). *Obtención de pigmentos bioactivos a partir de col morada y evaluación de su aplicación en un producto alimenticio*. Tesis de grado de la Universidad Autónoma de México.
- Piñol, M. (1999). *Aplicación de las Nuevas Tecnologías para la Producción de Metabolitos Secundarios*. XIII Reunion Nacional de la Sociedad Española de Fisiología Vegetal. VI Congreso Hispano - Uso de la Fisiología Vegetal. Sevilla. España.
- Plazas, M., López-Gresa, M.P., Vilanova, S., Torres, C., Hurtado, M., Gramazio, P., Andújar, I., Herráiz, F.J., Bellés, J.M., Prohens, J. (2013). *Diversity and relationships in key traits for functional and apparent quality in a collection of eggplant: Fruit phenolics content, antioxidant activity,*

*polyphenol oxidase activity, and browning*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61, 8871-88.

Qin, P.; Xu, L.; Cai, P.; Hu, Y.; Yu, A.C.H. (2013). *Subcellular impact of sonoporation on plant cells: Issues to be addressed in ultrasound-mediated gene transfer*. Ultrason. Sonochem. 2013, 20, 247–253.

Qudsieh, H., Yusof, S., Osman, A., & Rahman, R. (2002). *Effect of maturity on chlorophyll, tannin, color and polyphenol oxidase (PPO) activity of sugarcane juice (Saccharum officinarum Var. Yellow Cane)*. Agricultural and Food Chemistry, 1615-1618.

Raffo Benegas M. D.; Curetti M. Mañueco M. L., Candan A. P. & Villarreal P. (2022). *Producción de cerezas: alternativas para mejorar la calidad*. Fruticultura & Diversificación 28 (90): 42-49. (2022). Editorial: EEA Alto Valle, INTA. ISSN 2683-9997. <http://hdl.handle.net/20.500.12123/12369> <https://inta.gov.ar/documentos/fruticultura-diversificacion-no-90>.

Rahmanian, N., Jafari, S.M., Galanakis, C.M., (2014). *Recovery and removal of phenolic compounds from olive mill wastewater*. J. Am. Oil Chem. Soc. 91, 1–18.

Ramirez, V.; Peñuela, L.; Perez, M. (2017). *Los residuos orgánicos como alternativa para la alimentación en porcinos*. Rev. Cienc. Agr.34(2): 107-124.doi:<http://dx.doi.org/10.22267/rcia.173402.76>.

Ramos Lalaleo, E. (2019). *Extracción y Microencapsulación de antocianinas a partir de col morada (Brassica oleracea L.)*. Tesis de grado de la carrera de Ingeniería Bioquímica de la Universidad de Ambato, Ecuador.

Ravindran, R., & Jaiswal, A. K. (2016). *Exploitation of Food Industry Waste for High Value Products*. Trends in Biotechnology, 34(1), 58–69. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.10.008>.

Rein M. (2005). *Copigmentation Reactions and Color Stability of Berry Anthocyanins*. University of Helsinki, Helsinki, pp.10-14.

Robinson W.D., Weiers L.D., Bertino J.J., Mattick L.R. (1966). *Anthocyanins and betalains*. En: Natural Food

Colorants (GA Hendry and JD Houghton, eds.), Blackie and Son Ltd., Glasgow, p. 192.

. Roselló-Soto, E., Barba, F.J., Parniakov, O., Galanakis, C.M., Grimi, N., Lebovka, N., Vorobiev, E., (2015). *High voltage electrical discharges, pulsed electric field and ultrasounds assisted extraction of protein and phenolic compounds from olive kernel*. Food Bioprocess Tech. 8, 885–894.

Sadilova E., Stintzing F. C. & Carle R. (2006) *Anthocyanins, colour and antioxidant properties of eggplant (Solanum melongena L.) and violet pepper (Capsicum annuum L.) peel extracts*. 61(7-8):527-35. 10.1515/znc-2006-7-810.

- Şahin, E.K.; Bilgin, M.; Şahin, S. (2020). *Recovery of anthocyanins from sour cherry (Prunus cerasus L.) peels via microwave assisted extraction: Monitoring the storage stability*. Prep. Biochem. Biotechnol. 2020, 1–11.
- Salami S. A., Luciano G., O'Grady M. N. (2019). *Sustainability of feeding plant by-products: a review of the implications for ruminant meat production*. Animal Feed Science and Technology. 2019; 251:37–55. 10.1016/j.anifeedsci.2019.02.006.
- Sari, P.; Wijaya, C. H.; Sajuthi, D.; Supratman, U. (2012). *Colour properties, stability, and free radical scavenging activity of jambolan (Syzygium cumini) fruit anthocyanins in a beverage model system: Natural and copigmented anthocyanins*. Food Chemistry, 132 (4), 1908–1914.
- Scheffeldt, P.; Hrazdina, G. (1978). *Co-pigmentation of anthocyanins under physiological conditions*. J. Food Sci., 43, 517-520.
- Shipp J. y Abdel-Aal S. M. (2010). *Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients*. The Open Food Science Journal, 4:7-22.
- Singh, P.P., Saldaña, M.D.A., (2011). *Subcritical water extraction of phenolic compounds from potato peel*. Food Res. Int. 44, 2452–2458.
- Singh, A., Sabally, K., Kubow, S., Donnelly, D.J., Gariepy, Y., Orsat, V., Raghavan, G.S.V., (2011). *Microwaveassisted extraction of phenolic antioxidants from potato peels*. Molecules 16, 2218–2232
- Singh, A.K., Singh, K., (2012). *Utilization of whey for the production of instant energy beverage by using response surface methodology*. Adv. J. Food Sci. Tech. 4, 103–111..
- Singh, J., Upadhyay, A. K., Bahadur, A., Singh, B., Singh, K. P., & Rai, M. (2006). *Antioxidant Phytochemicals In Cabbage (Brassica Oleracea L. Var. Capitata)*, 108, 233–237. <https://doi.org/10.1016/J.Scienta.2006.01.017>
- Smith M.A & Pépin M. (1999). *Stimulation of bioactive flavonoid production in suspension and bioreactor-based cell cultures*. In: Altman A, Ziv M, Izhar S, editors. Plant Biotechnology and In Vitro Biology in the 21st Century. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1999. pp. 333–336.
- Somos, A. (1984). *The paprika*. Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungría.
- Sudha, M.L., Baskaran, V., Leelavathi, K., (2007). *Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effect on the rheological characteristics and cake making*. Food Chem. 104, 686–692.

- Talavéra S., Felgines C., Texier O., Besson C., Gil-Izquierdo A., Lamaison J.L., & Rémésy C. (2005). *Anthocyanin Metabolism in Rats and Their Distribution to Digestive Area, Kidney, and Brain*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005 53 (10), 3902-3908. 10.1021/jf050145v
- Timberlake, C.F.; Henry, B.S. (1986). *Plant pigments as natural food colours*. *Endeavour* NS,10: 31-36.
- Tran, T. T. B., Lin, W., Su, J., & Wei, Y. (2018). *Microencapsulation of anthocyanins from black rice extract by spray drying and freeze drying*. *LWT-Food Science and Technology*, 87, 498-505. doi: 10.1016/j.lwt.2017.08.062
- Van Buren JP, Bertino JJ, Robinson WB (1968) *Anthocyanins and betalains*. En: *Natural Food Colorants*, Blackie and Son Ltd., Glasgow, p. 192, 199.
- Vaya, J., & Aviram, M. (2005). *Nutritional Antioxidants Mechanisms of Action, Analyses of Activities and Medical Applications*. *Current Medicinal Chemistry/Immunology, Endocrine & Metabolic Agents*, 1(1), 99–117. <https://doi.org/10.2174/1568013013359168>.
- Verbeyst L, Oey I, Van der Plancken I, Hendrickx M., Van Loey A. (2010). *Kinetic study on the thermal and pressure degradation of anthocyanins in strawberries*: *Food Chemistry*, 123(2):269–274.
- Verbeyst L, Oey I, Van der Plancken I, Hendrickx M., Van Loey A. (2011). *Anthocyanin degradation kinetics during thermal and high pressure treatments of raspberries*. *Journal of Food Engineering*, 105:513-521.
- . Vergara-Valencia, N., Granados-Pérez, E., Agama-Acevedo, E., Tovar, J., Ruales, J., Bello-Pérez, L.A., (2007). *Fibre concentrate from mango fruit: characterization, associated antioxidant capacity and application as a bakery product ingredient*. *LWT-Food Sci. Technol.* 40, 722–729.
- Wadhwa, M., Bakshi, M.P.S., (2013). *Utilization of Fruit and Vegetable Wastes as Livestock Feed and as Substrates for Generation of Other Value-Added Products*. FAO, Rome.
- Wang H, Nair M.G, Strasburg G.M. (1999). *Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries*. *J Nat Prod.* 1999;62(2):294–296.
- Wong D. (1995). *Química de los Alimentos: mecanismos y teoría*. Editorial Acribia, S. A. España.
- Wrolstad, R., Durst, R., Lee, J. (2005). *Tracking color and pigment changes in anthocyanin products*. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 423–428.
- Zapata L. M. (2014). *Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria*. Universitat Politècnica de València. <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/39105>.

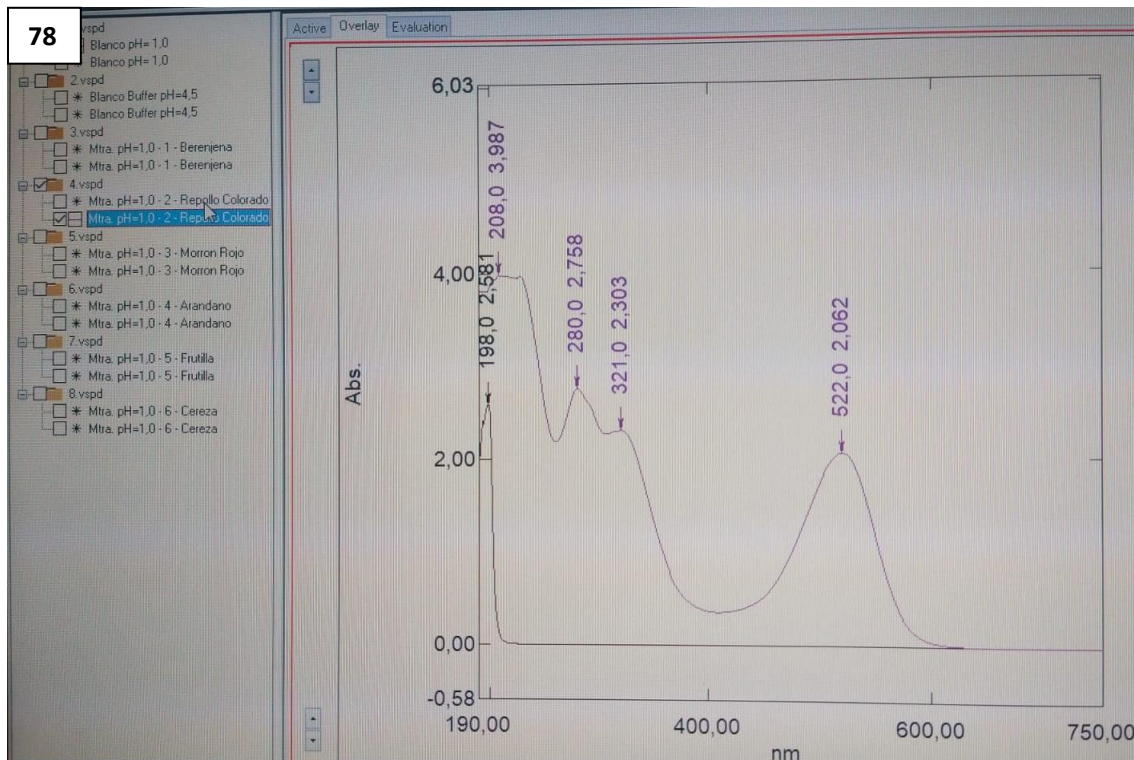
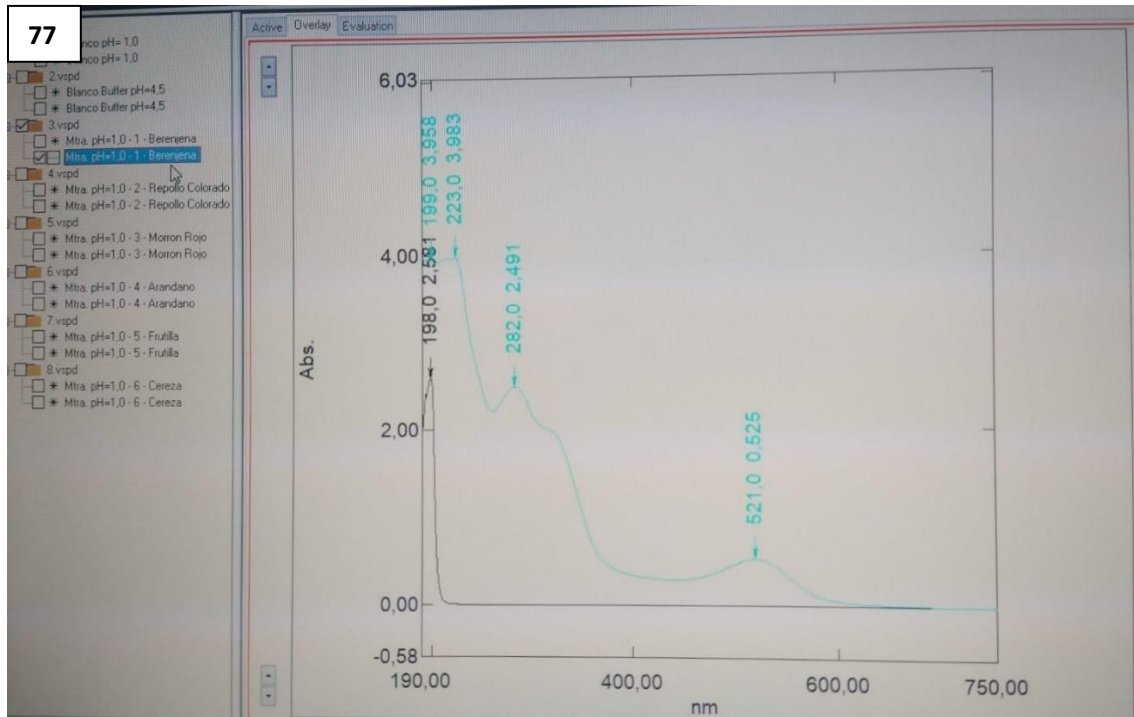
Yang, Y.; Li, Q.; Guo, X.; Tu, J.; Zhang, D. (2020). *Mechanisms underlying sonoporation: Interaction between microbubbles and cells*. Ultrason. Sonochem. 2020, 67, 105096.

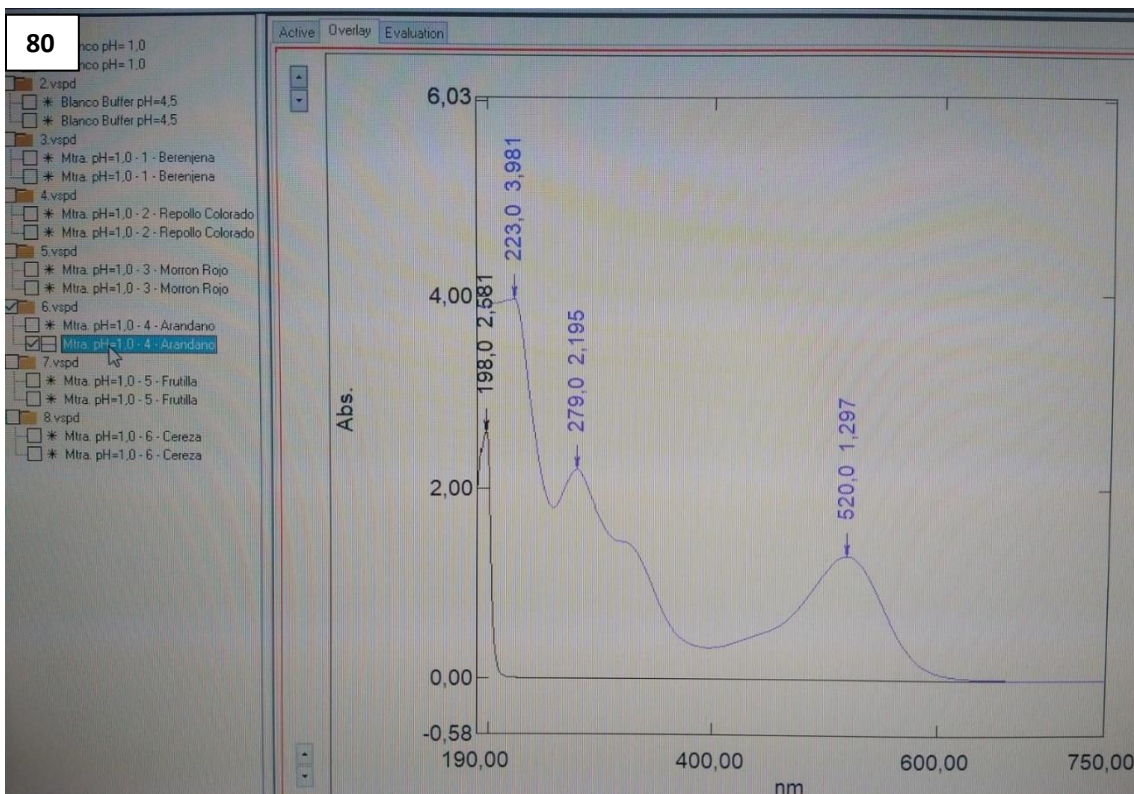
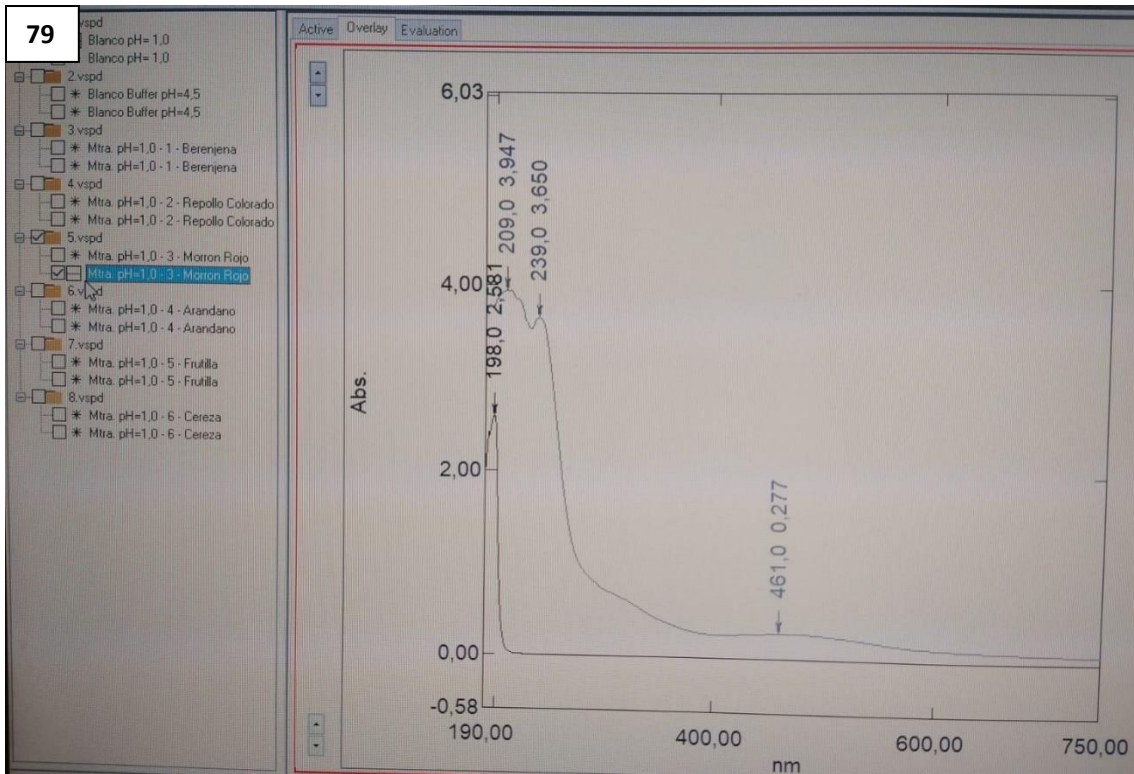
[https://www.researchgate.net/publication/343151436\\_Efecto\\_de\\_la\\_Copigmentacion\\_Intermolecular\\_Sobre\\_la\\_Estabilidad\\_de\\_las\\_Antocianinas\\_y\\_el\\_Acido\\_Ascorbico\\_en\\_Sistemas\\_de\\_Jugo\\_de\\_Fresa\\_Fragaria\\_ananassa](https://www.researchgate.net/publication/343151436_Efecto_de_la_Copigmentacion_Intermolecular_Sobre_la_Estabilidad_de_las_Antocianinas_y_el_Acido_Ascorbico_en_Sistemas_de_Jugo_de_Fresa_Fragaria_ananassa) [accessed May 21, 2023].

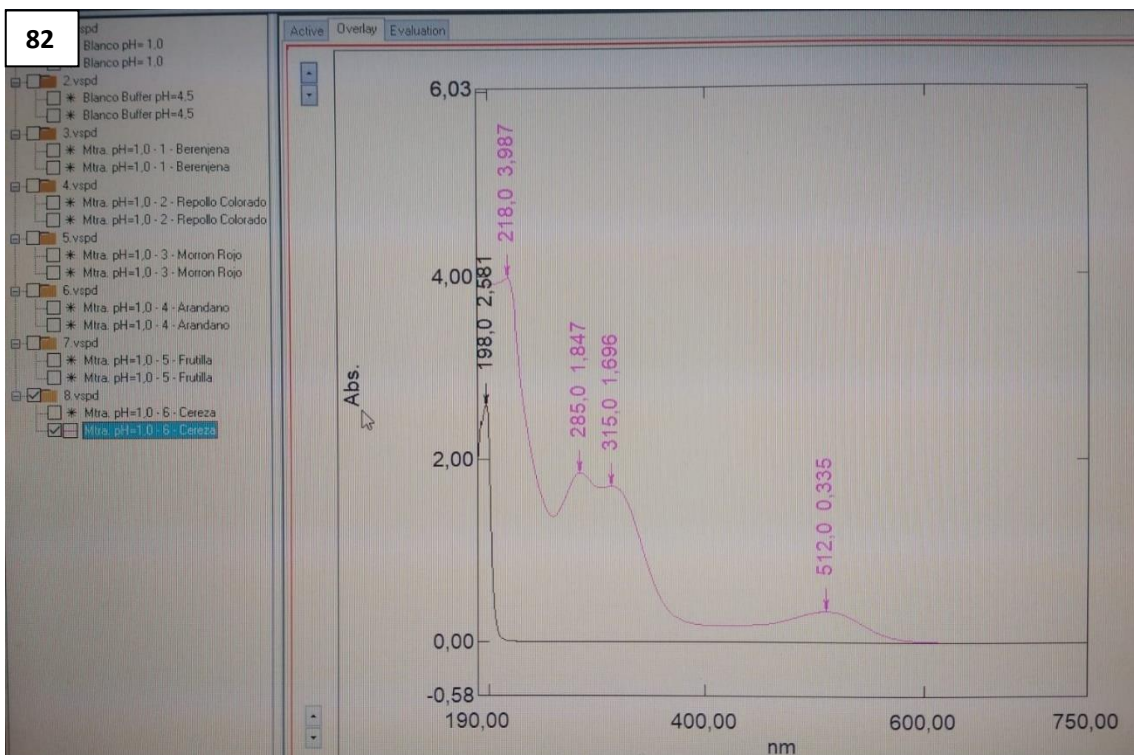
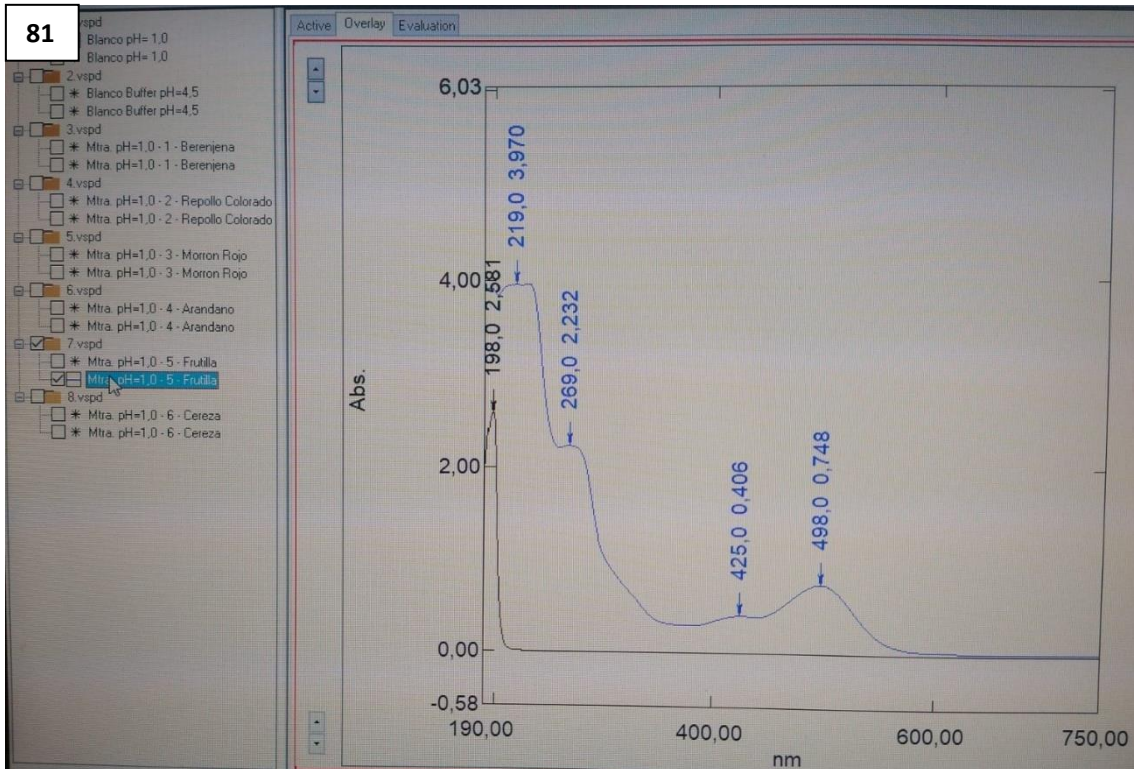
## Anexo 1

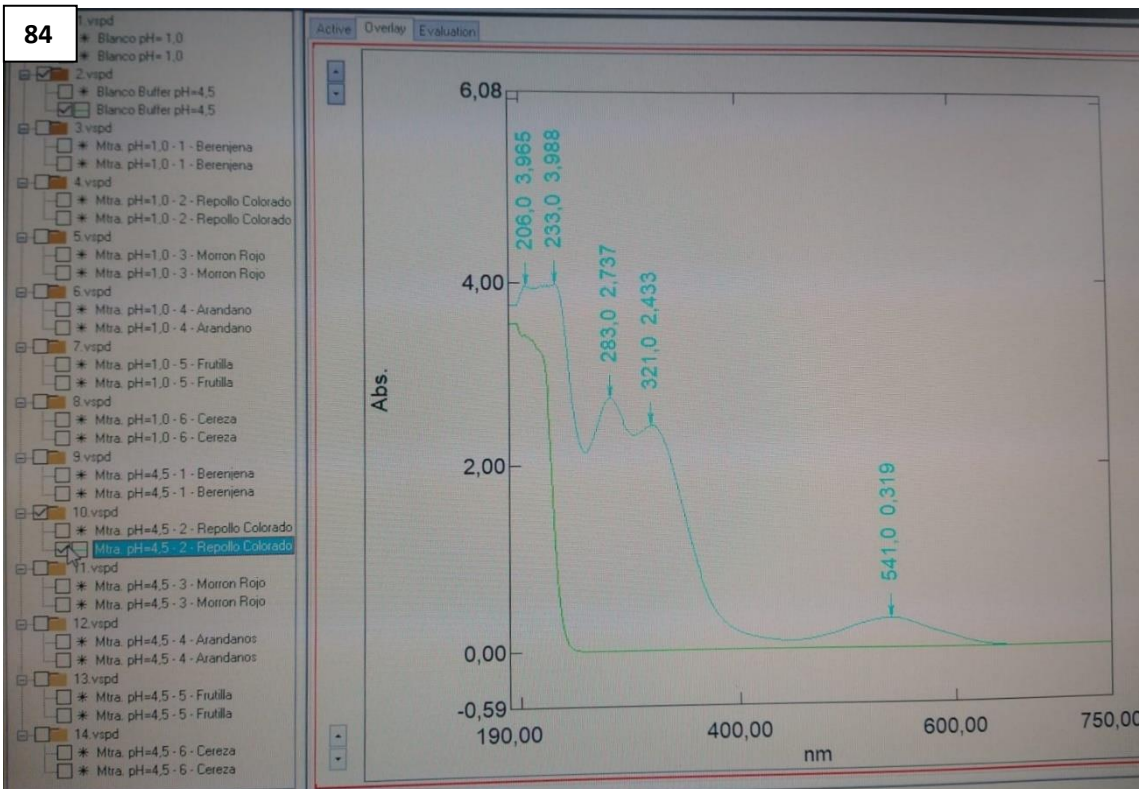
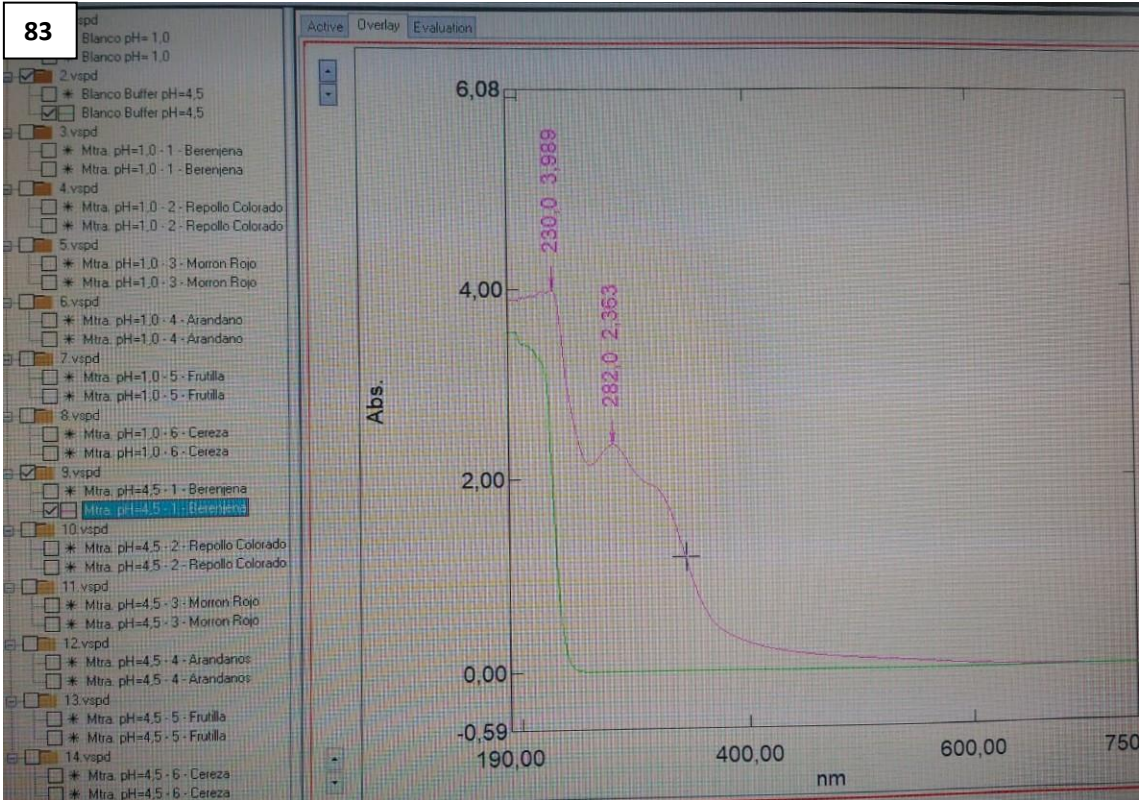


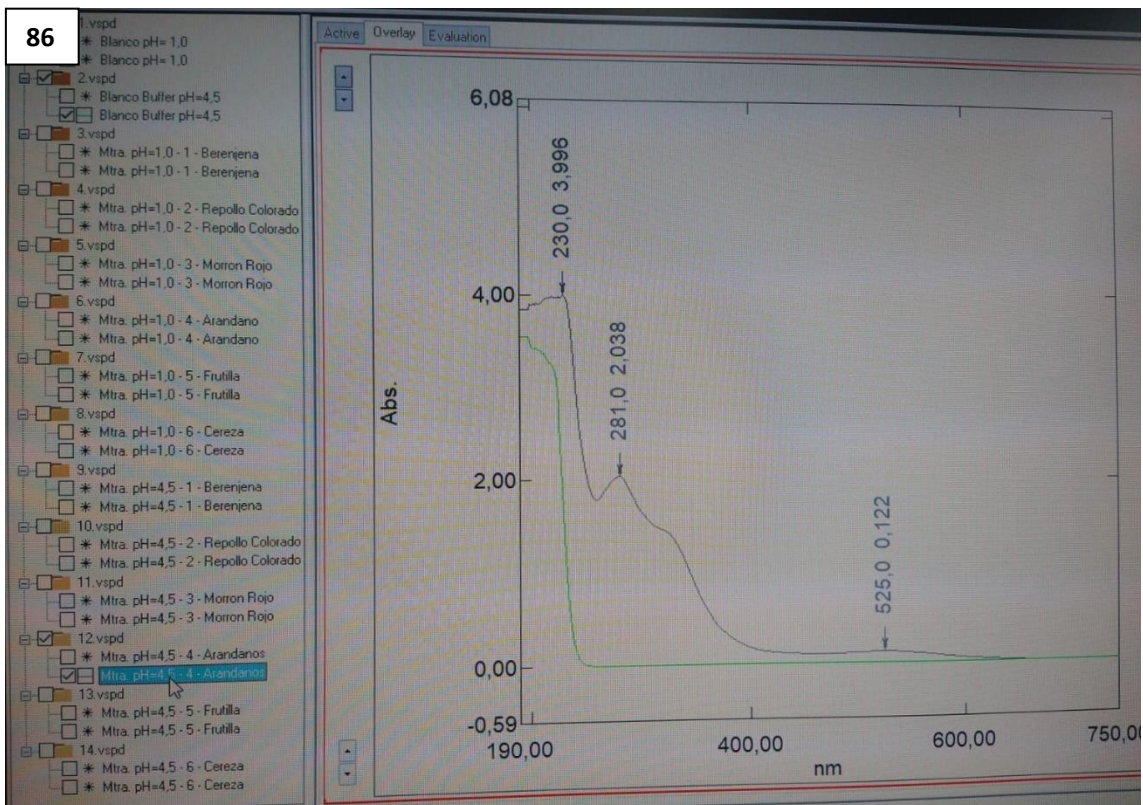
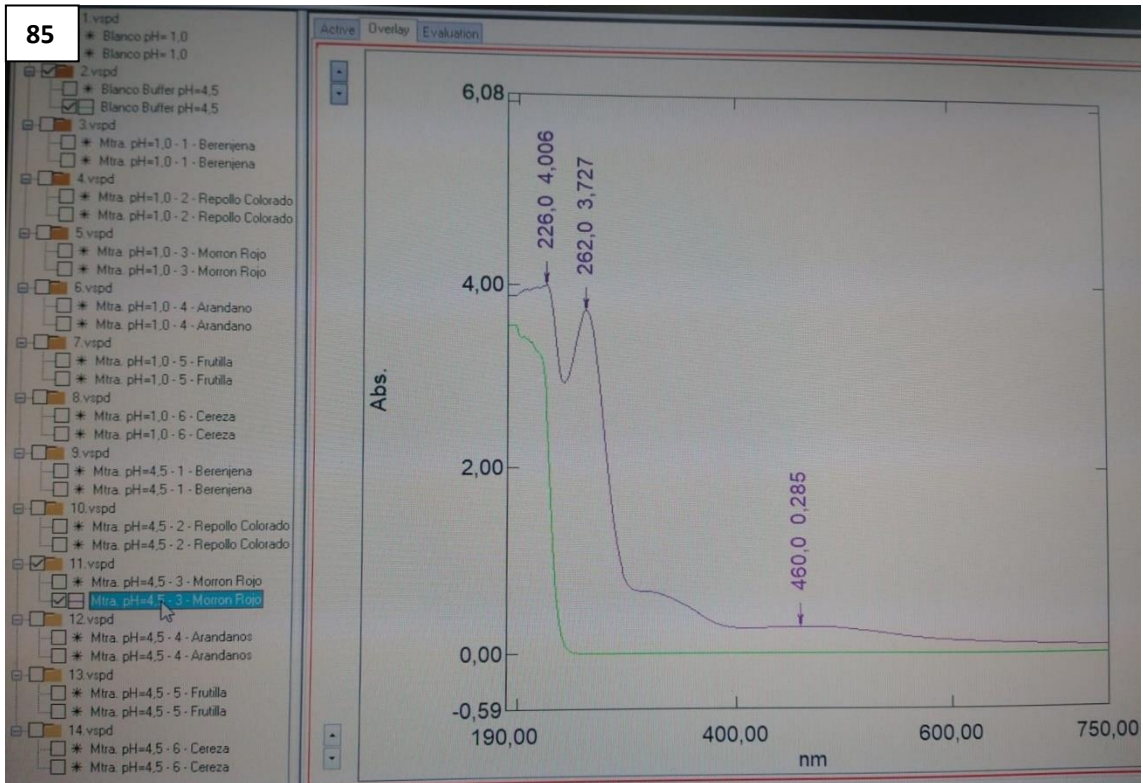
Espectros UV-Vis de las muestras en medios 1,0 y 4,5. Iniciando con el medio pH 1,0: berenjena (77), repollo colorado (78), morrón rojo (79), arándano (80), frutilla (81) y cereza (82). Luego en medio pH 4,5: berenjena (83), repollo colorado (84), morrón rojo (85), arándano (86), frutilla (87) y cereza (88). Últimas dos corresponden a la superposición de todas las lecturas, primero en medio pH 1,0 (89) y en medio pH 4,5 (90).

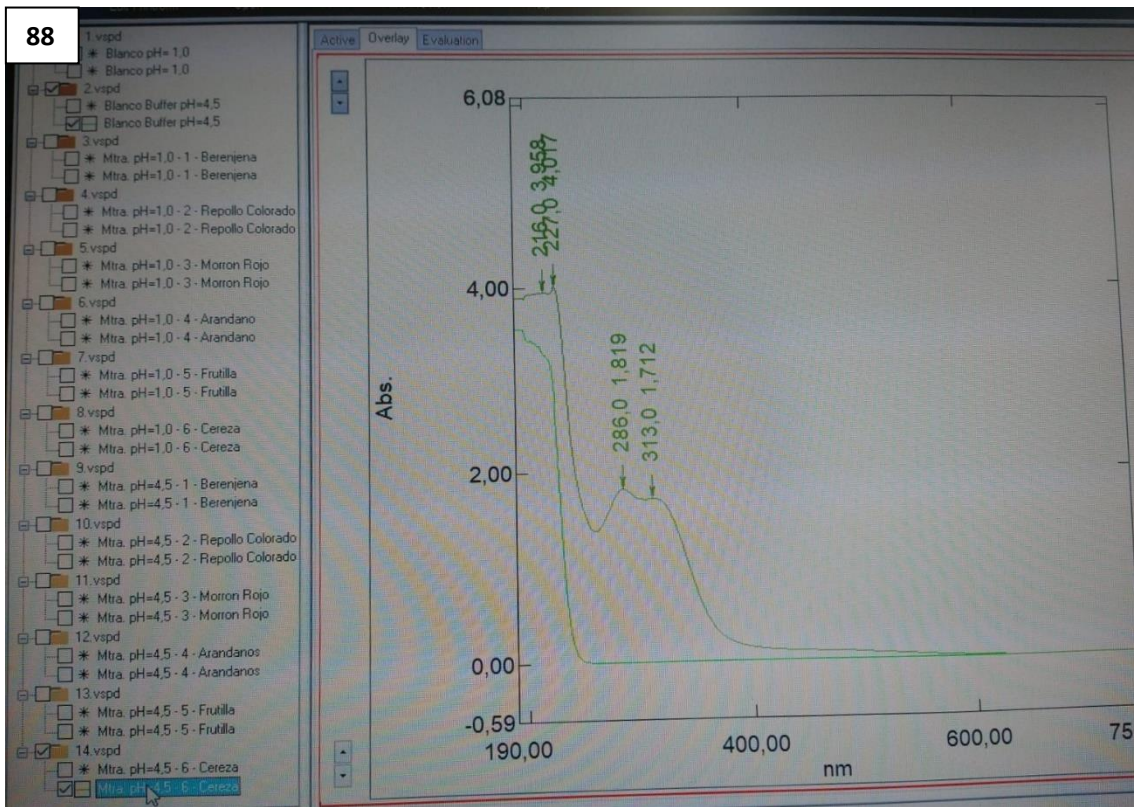
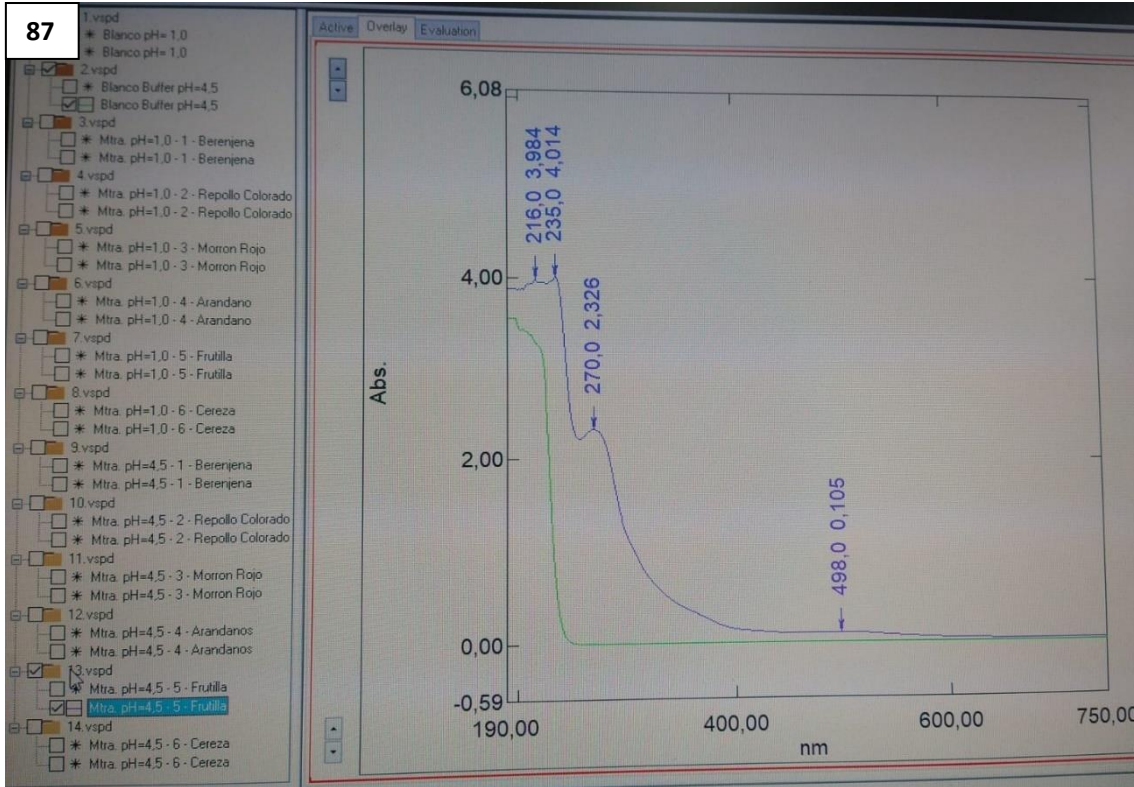


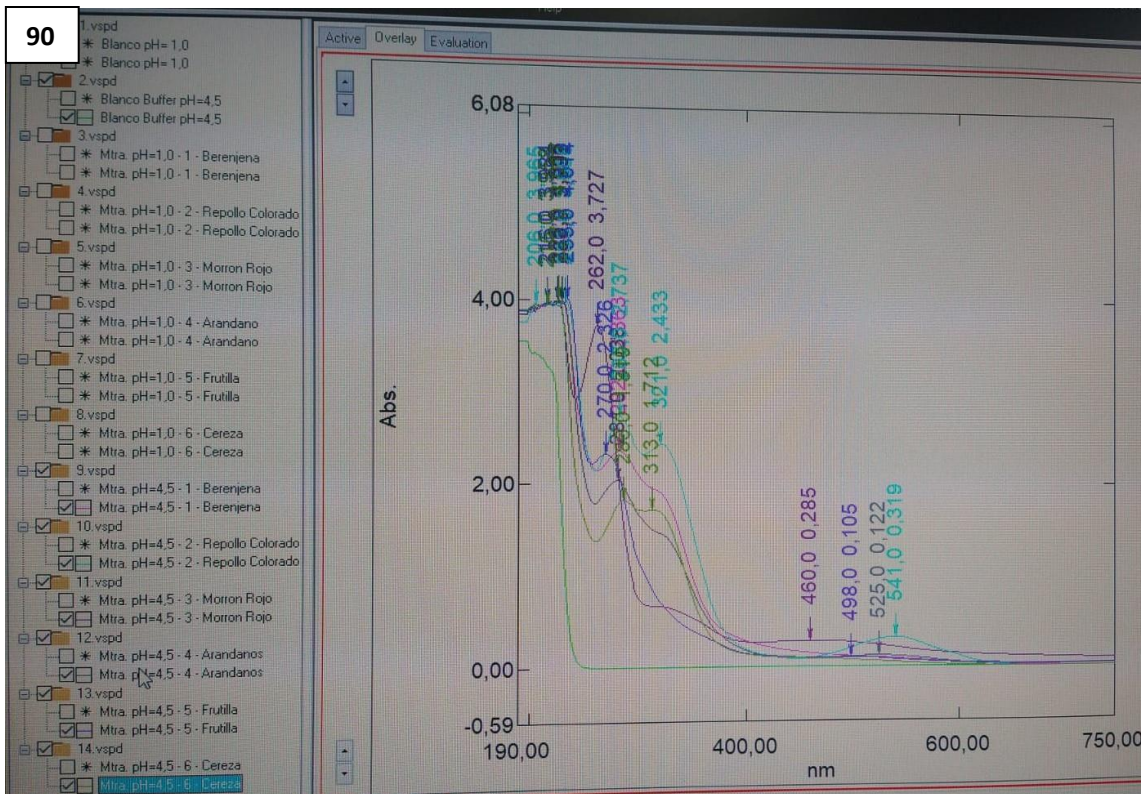
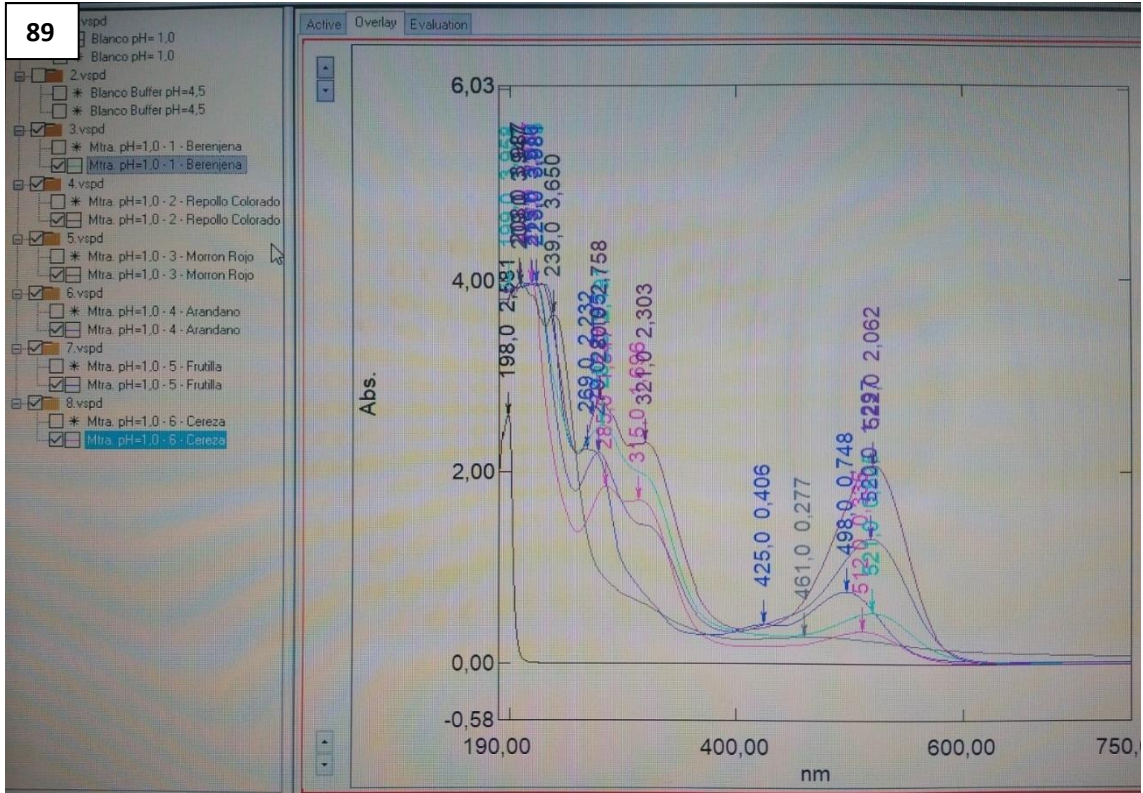












## Anexo 2

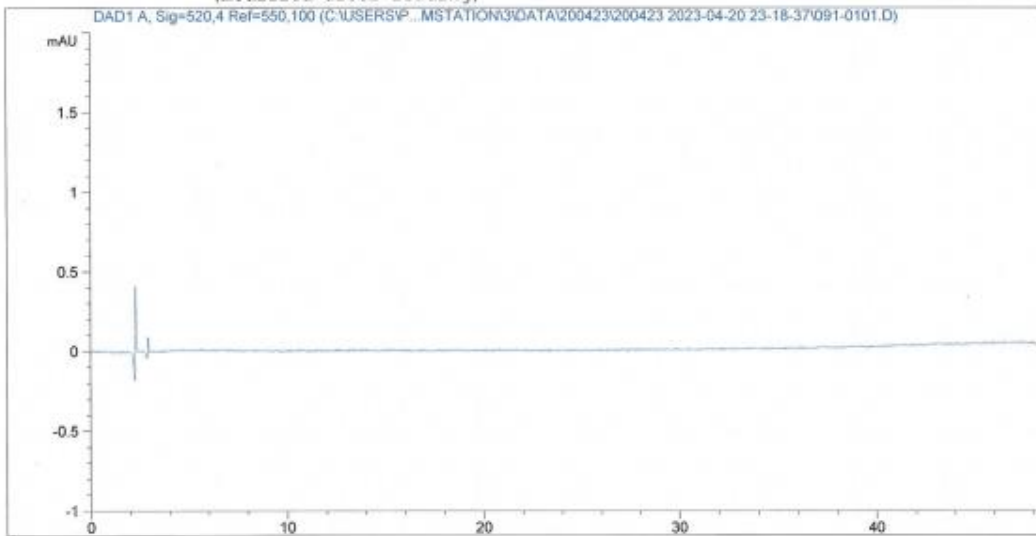


Cromatogramas obtenidos por HPLC-DAD de las muestras: Berenjena (Mtra 1), Repollo Colorado (Mtra 2), Arándanos (Mtra 3) y Frutillas (Mtra 4).

Data File C:\USERS\P...NTS\CHEMSTATION\3\DATA\200423\200423 2023-04-20 23-18-37\091-0101.D  
 Sample Name: Blanco

```

=====
Acq. Operator   : SYSTEM                               Seq. Line :    1
Sample Operator : SYSTEM
-----
Acq. Instrument : D-55 DAD                               Location  :   91
Injection Date  : 20/4/2023 23:19:37                    Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 20.000 µl
Acq. Method     : C:\Users\Public\Documents\ChemStation\3\Data\200423\200423 2023-04-20 23-18-37\200423.M
Last changed    : 20/4/2023 23:17:26 by SYSTEM
Analysis Method : C:\Users\Public\Documents\ChemStation\3\Data\200423\200423 2023-04-20 23-18-37\200423.M (Sequence Method)
Last changed    : 21/4/2023 16:59:04 by SYSTEM
                  (modified after loading)
=====
    
```



```

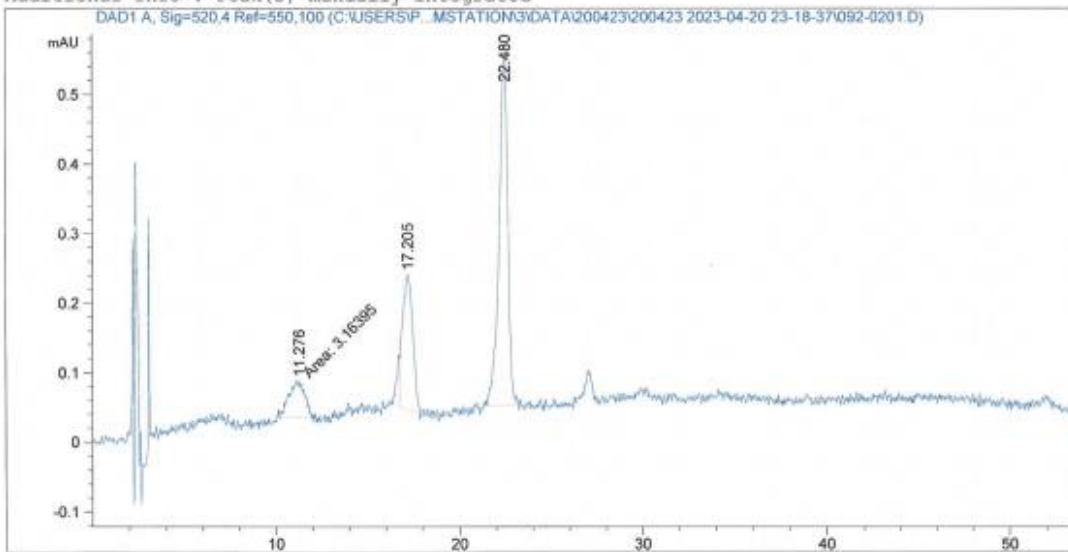
=====
                          Area Percent Report
=====
Sorted By      :      Signal
Multiplier     :      1.0000
Dilution      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

No peaks found

=====
                          *** End of Report ***
    
```

Data File C:\USERS\P...NTS\CHEMSTATION\3\DATA\200423\200423 2023-04-20 23-18-37\092-0201.D  
 Sample Name: Identificacion: Mtra 1

```
=====
Acq. Operator   : SYSTEM                               Seq. Line :    2
Sample Operator : SYSTEM
Acq. Instrument : D-55 DAD                             Location  :   92
Injection Date  : 21/4/2023 00:20:43                  Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 20.000 µl
Acq. Method    : C:\Users\Public\Documents\ChemStation\3\Data\200423\200423 2023-04-20 23-18-37\200423.M
Last changed   : 20/4/2023 23:17:26 by SYSTEM
Analysis Method: C:\Users\Public\Documents\ChemStation\3\Data\200423\200423 2023-04-20 23-18-37\200423.M (Sequence Method)
Last changed   : 21/4/2023 17:40:42 by SYSTEM
                (modified after loading)
Additional Info : Peak(s) manually integrated
=====
```



Area Percent Report

```
Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=520,4 Ref=550,100

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	11.276	MM	0.9893	3.16395	5.33009e-2	11.4989
2	17.205	VB	0.4691	7.67719	1.95090e-1	27.9015
3	22.480	BV R	0.4137	16.67418	5.01794e-1	60.5996

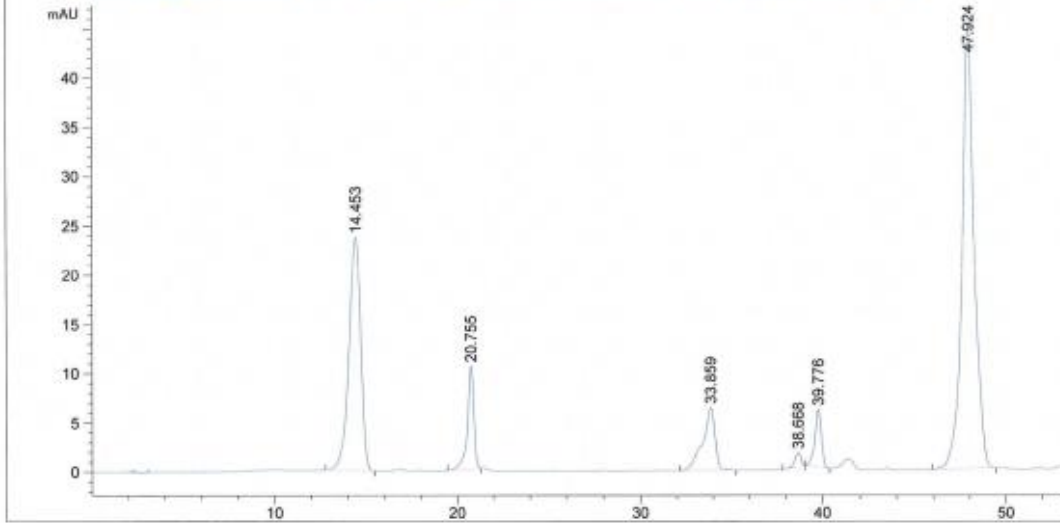
Totals : 27.51532 7.50184e-1

Sample Name: Identificacion: Mtra 2

```

=====
Acq. Operator   : SYSTEM                               Seq. Line :    3
Sample Operator : SYSTEM
Acq. Instrument : D-55 DAD                             Location  :   93
Injection Date  : 21/4/2023 01:21:48                 Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 20.000 µl
Acq. Method    : C:\Users\Public\Documents\CHEMSTATION\3\Data\200423\200423 2023-04-20 23-
                  18-37\200423.M
Last changed   : 20/4/2023 23:17:26 by SYSTEM
Analysis Method: C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\3\METHODS\200423.M
Last changed   : 20/4/2023 23:17:26 by SYSTEM
    
```

DAD1 A, Sig=520,4 Ref=550,100 (C:\USERS\P...MSTATION3\DATA\200423\200423 2023-04-20 23-18-37\093-0301.D)



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=520,4 Ref=550,100

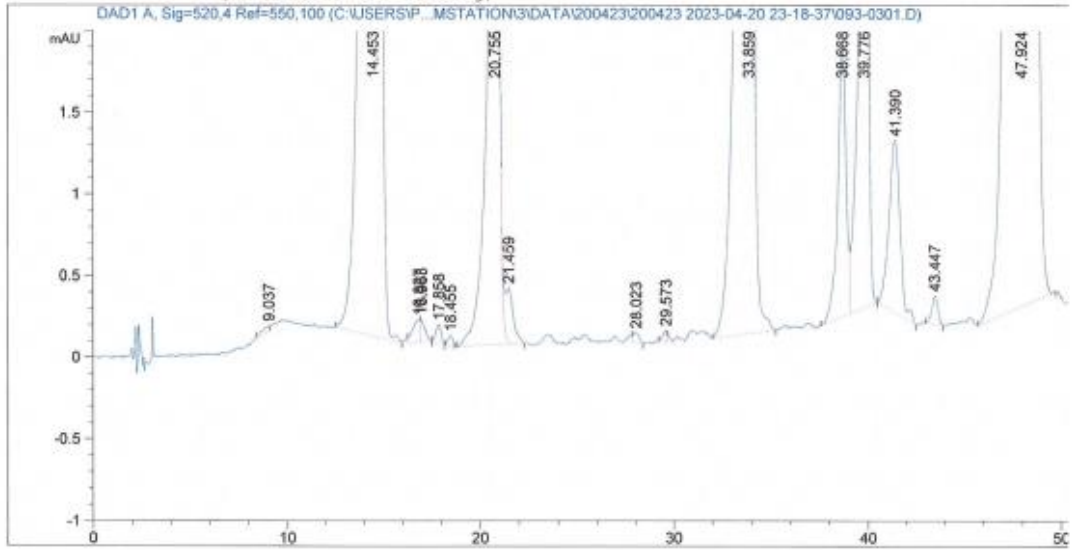
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	14.453	BB	0.6748	1049.75208	23.69758	26.8529
2	20.755	BB	0.3608	254.10356	10.40878	6.5000
3	33.859	BB	0.6532	299.46881	6.38441	7.6605
4	38.668	BB	0.3517	32.94606	1.42494	0.8428
5	39.776	BB	0.3775	147.17236	5.84970	3.7647
6	47.924	BB	0.6836	2125.83301	44.80059	54.3792

Totals : 3909.27588 92.56600

Data File C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\3\DATA\200423\200423 2023-04-20 23-18-37\093-0301.D  
 Sample Name: Identificacion: Mtra 2

```

=====
Acq. Operator   : SYSTEM                      Seq. Line :    3
Sample Operator : SYSTEM
Acq. Instrument : D-55-DAD                    Location  :   93
Injection Date  : 21/4/2023 01:21:48         Inj       :    1
                                                Inj Volume: 20.000 µl
Acq. Method     : C:\Users\Public\Documents\ChemStation\3\Data\200423\200423 2023-04-20 23-18-37\200423.M
Last changed    : 20/4/2023 23:17:26 by SYSTEM
Analysis Method : C:\Users\Public\Documents\ChemStation\3\Data\200423\200423 2023-04-20 23-18-37\200423.M (Sequence Method)
Last changed    : 21/4/2023 17:25:37 by SYSTEM
                  (modified after loading)
    
```



Area Percent Report

```

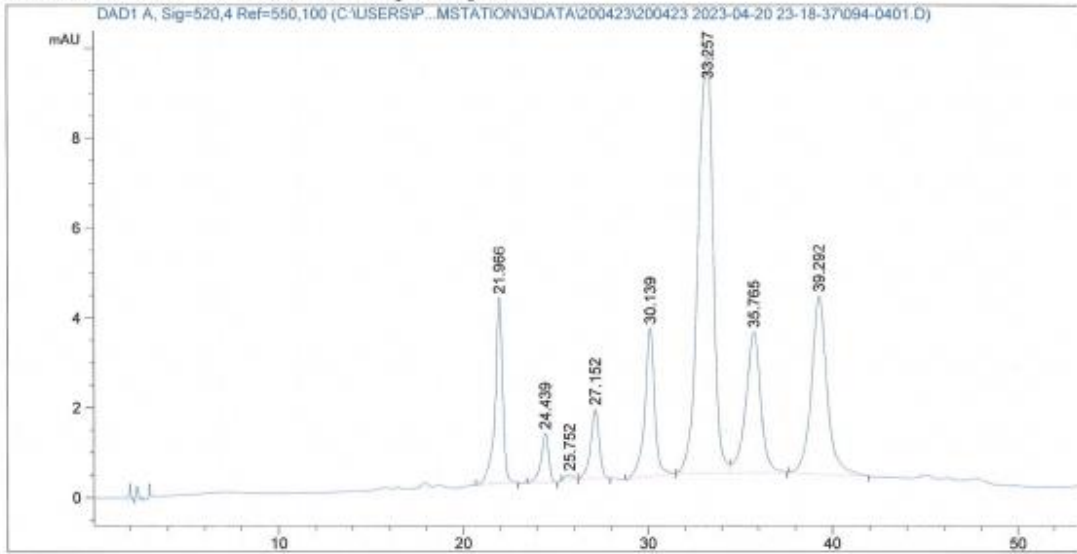
Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=520,4 Ref=550,100

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	9.037	VV	0.3930	1.17965	3.55666e-2	0.0291
2	14.453	VV R	0.6769	1055.18018	23.72292	26.0734
3	16.827	VV	0.3017	3.56337	1.41563e-1	0.0881
4	16.963	VB	0.2057	2.41971	1.45727e-1	0.0598
5	17.858	VB R	0.2175	2.15689	1.18983e-1	0.0533
6	18.455	BV	0.2007	1.08303	6.48865e-2	0.0268

Data File C:\USERS\P...NTS\CHEMSTATION\3\DATA\200423\200423 2023-04-20 23-18-37\094-0401.D  
 Sample Name: Identificacion: Mtra 3

```
=====
Acq. Operator   : SYSTEM                               Seq. Line :    4
Sample Operator : SYSTEM
=====
Acq. Instrument : D-55 DAD                             Location  :   94
Injection Date  : 21/4/2023 02:22:52                   Inj       :    1
                                                    Inj Volume: 20.000 µl
Acq. Method     : C:\Users\Public\Documents\ChemStation\3\Data\200423\200423 2023-04-20 23-18-37\200423.M
Last changed    : 20/4/2023 23:17:26 by SYSTEM
Analysis Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\3\METHODS\200423.M
Last changed    : 21/4/2023 17:56:02 by SYSTEM
                (modified after loading)
Additional Info  : Peak(s) manually integrated
=====
```



Area Percent Report

```
Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=520,4 Ref=550,100

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	21.966	BV R	0.4254	121.27428	4.14429	9.4648
2	24.439	VV R	0.4099	32.22561	1.10624	2.5150
3	25.752	VBA	0.3638	3.69429	1.21123e-1	0.2883
4	27.152	VV R	0.4207	49.43428	1.54746	3.8581
5	30.139	BV R	0.5405	122.78767	3.31217	9.5829
6	33.257	BV	0.7769	537.97668	9.35492	41.9861

D-55 DAD 21/4/2023 17:56:12 SYSTEM

Page 1 of 2

Data File C:\USERS\P...NTS\CHEMSTATION\3\DATA\200423\200423 2023-04-20 23-18-37\094-0401.D  
 Sample Name: Identificacion: Mtra 3

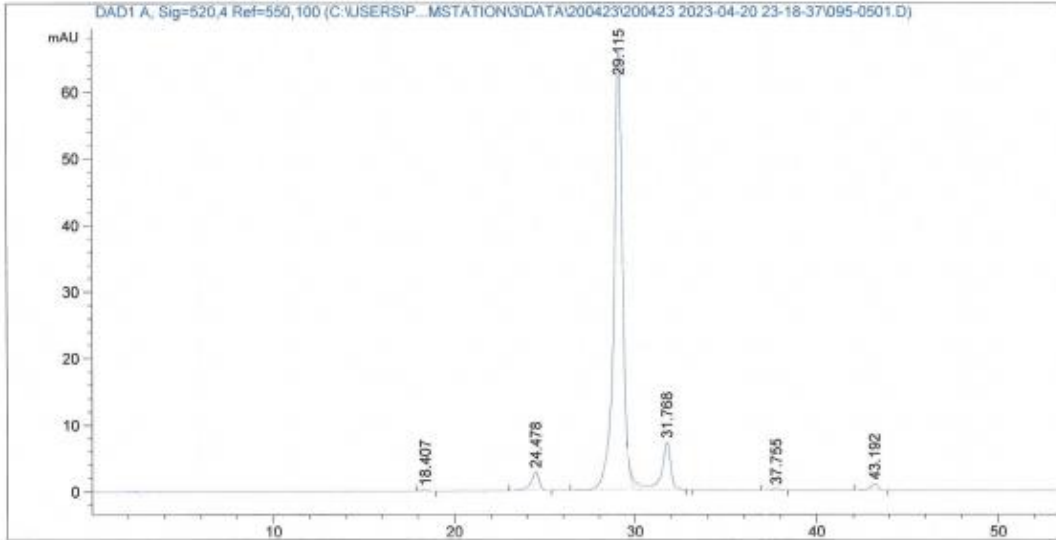
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
7	35.765	VV R	0.6951	178.51833	3.15025	13.9324
8	39.292	BV R	0.7757	235.40984	3.97035	18.3724
Totals :				1281.32098	26.70679	

=====  
 \*\*\* End of Report \*\*\*

Data File C:\USERS\P...NTS\CHEMSTATION\3\DATA\200423\200423 2023-04-20 23-18-37\095-0501.D  
 Sample Name: Identificacion: Mtra 4

```

=====
Acq. Operator   : SYSTEM                      Seq. Line :    5
Sample Operator : SYSTEM
Acq. Instrument : D-55 DAD                   Location  :   95
Injection Date  : 21/4/2023 03:23:57         Inj       :    1
                                                Inj Volume: 20.000 µl
Acq. Method     : C:\Users\Public\Documents\ChemStation\3\Data\200423\200423 2023-04-20 23-18-37\200423.M
Last changed    : 20/4/2023 23:17:26 by SYSTEM
Analysis Method : C:\USERS\PUBLIC\DOCUMENTS\CHEMSTATION\3\METHODS\200423.M
Last changed    : 21/4/2023 17:56:02 by SYSTEM
                (modified after loading)
    
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=520,4 Ref=550,100

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	18.407	VB	0.3240	5.61497	2.09953e-1	0.2115
2	24.478	VV R	0.4533	86.67937	2.78366	3.2642
3	29.115	VV R	0.4977	2239.89819	66.03257	84.3514
4	31.768	VV E	0.5564	285.09796	7.19263	10.7364
5	37.755	VV R	0.3647	7.33504	2.41268e-1	0.2762
6	43.192	VV R	0.4066	30.81231	9.59617e-1	1.1603

Data File C:\USERS\P...NTS\CHEMSTATION\3\DATA\200423\200423 2023-04-20 23-18-37\095-0501.D  
Sample Name: Identificacion: Mtra 4

Totals :                    2655.43784    77.41969

---

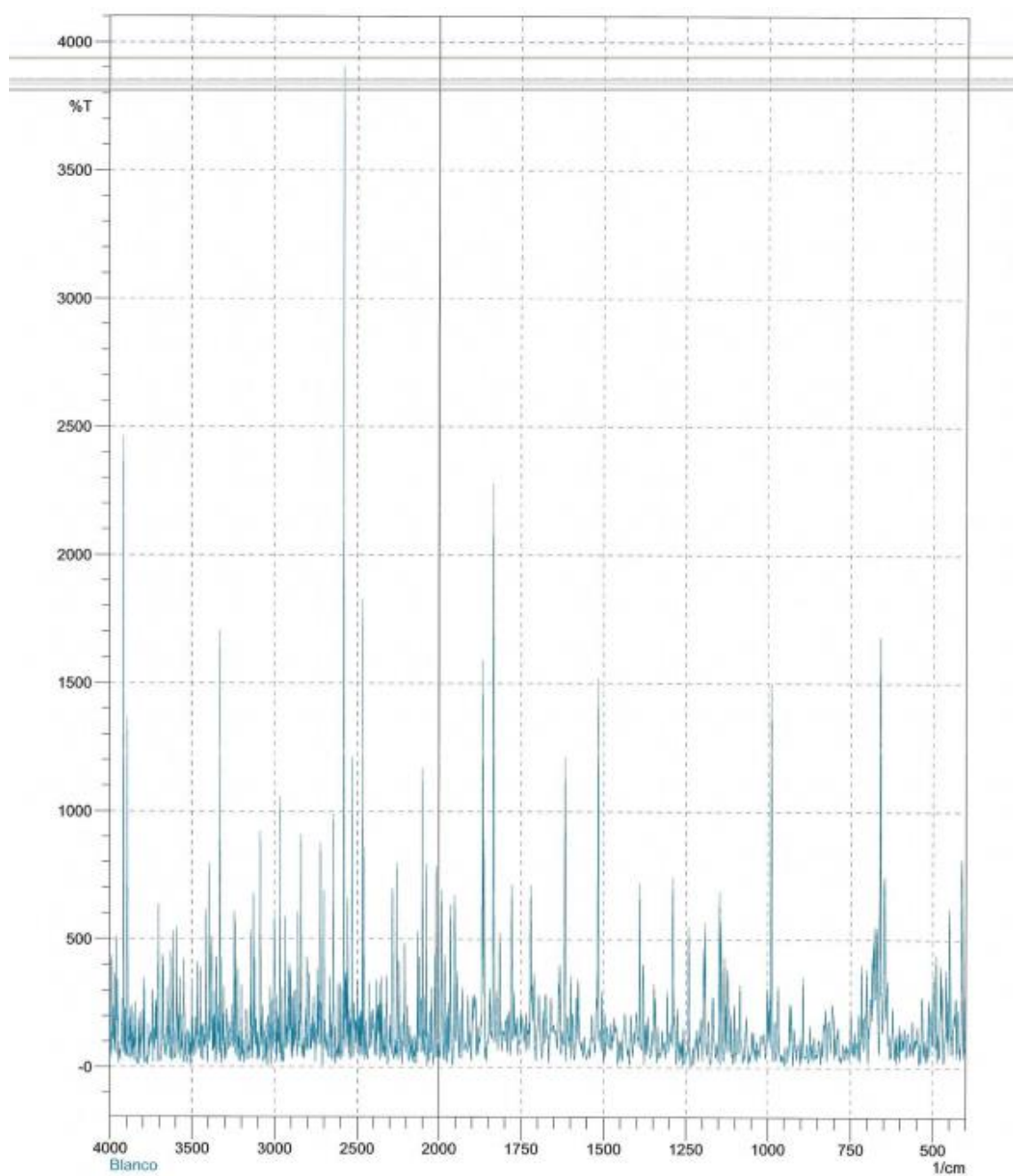
---

\*\*\* End of Report \*\*\*



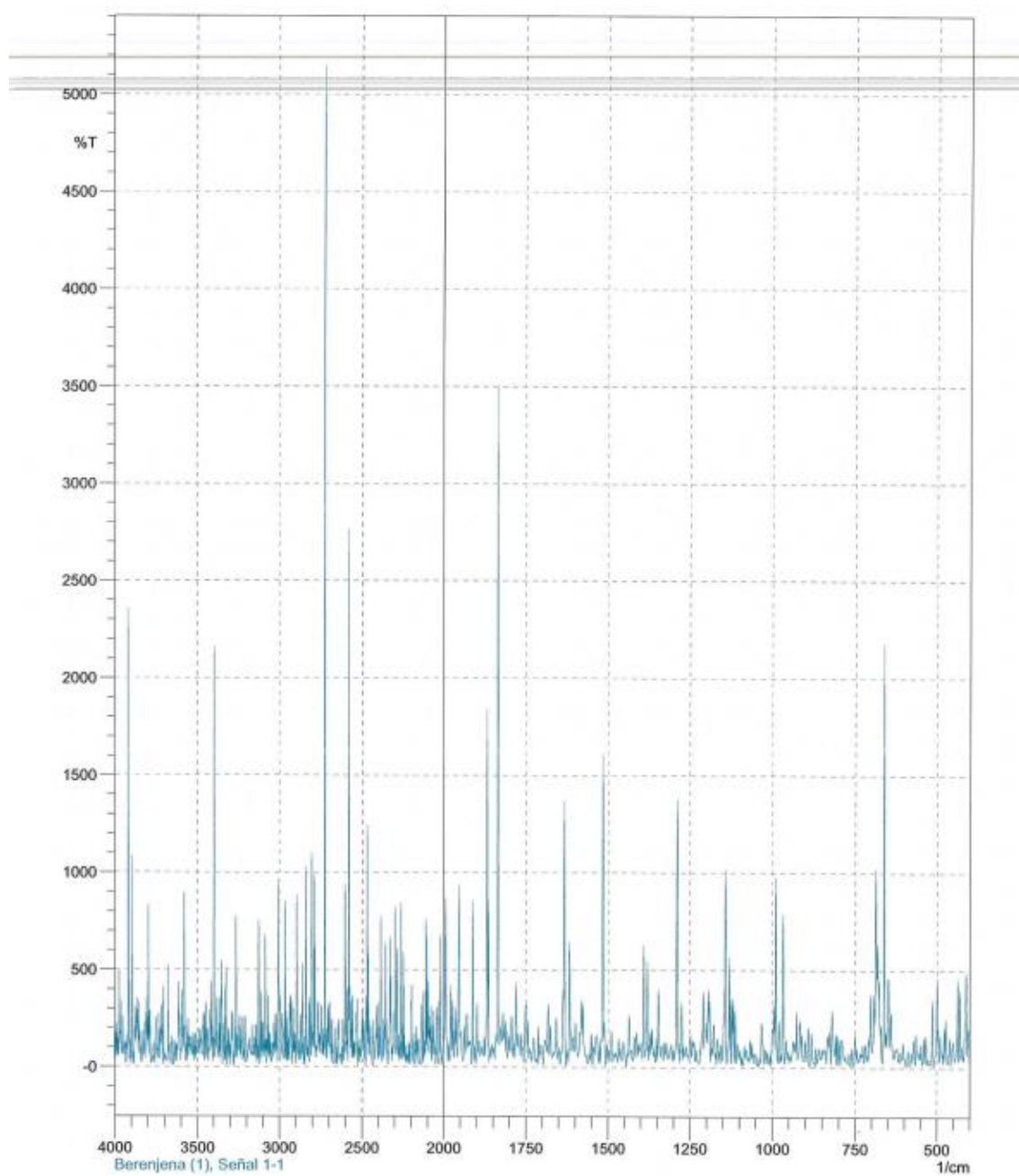
## Anexo 3

Espectros IR (segunda prueba y transmitancia únicamente) obtenidos de las señales detectadas en la placa de TLC. Muestras: Berenjena (1), Repollo Colorado (2), arándanos (3) y frutillas (4).



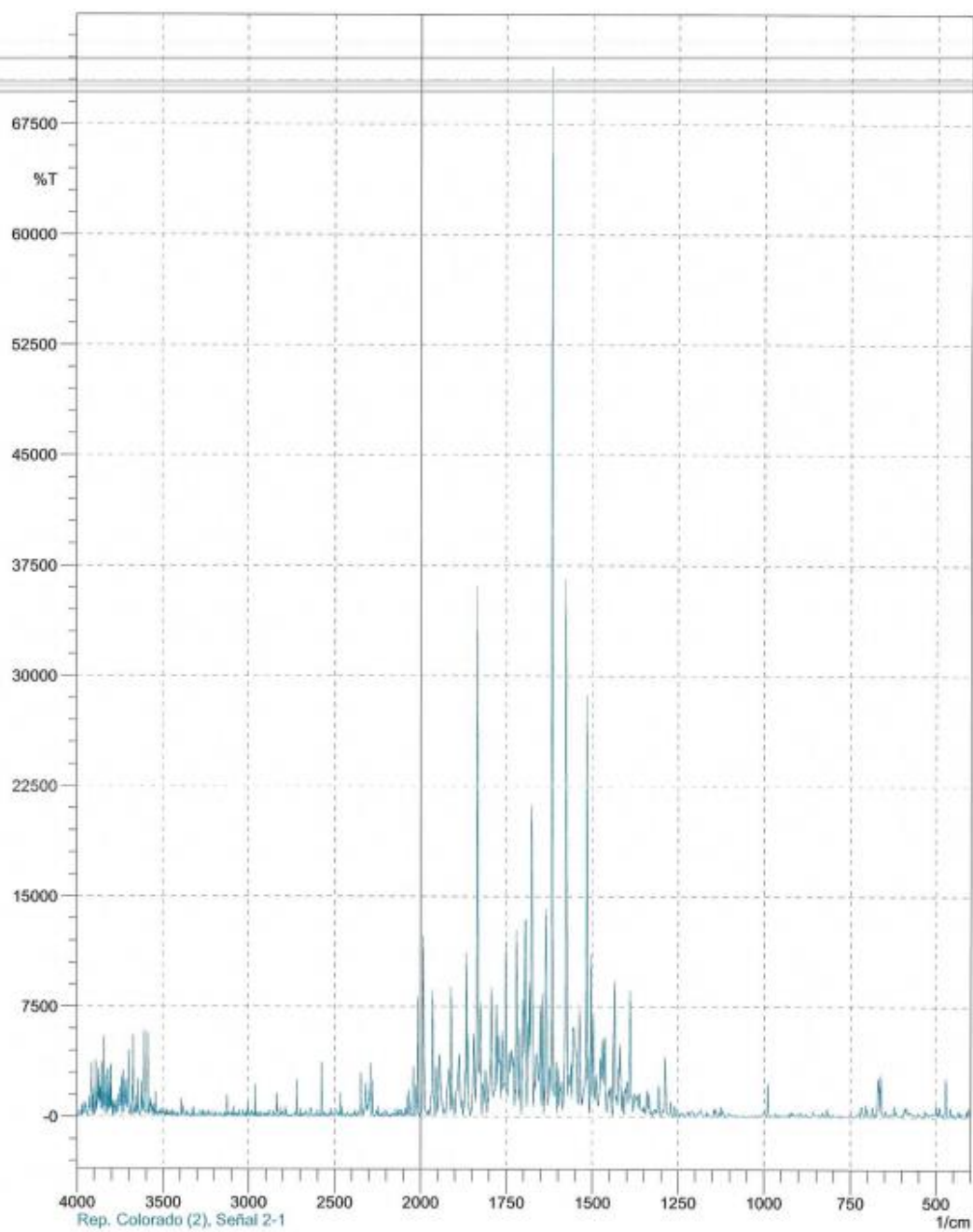
Comment;  
Blanco

Date/Time: 21/04/2023 22:27:19  
No. of Scans: 20  
Resolution: 4 [1/cm]



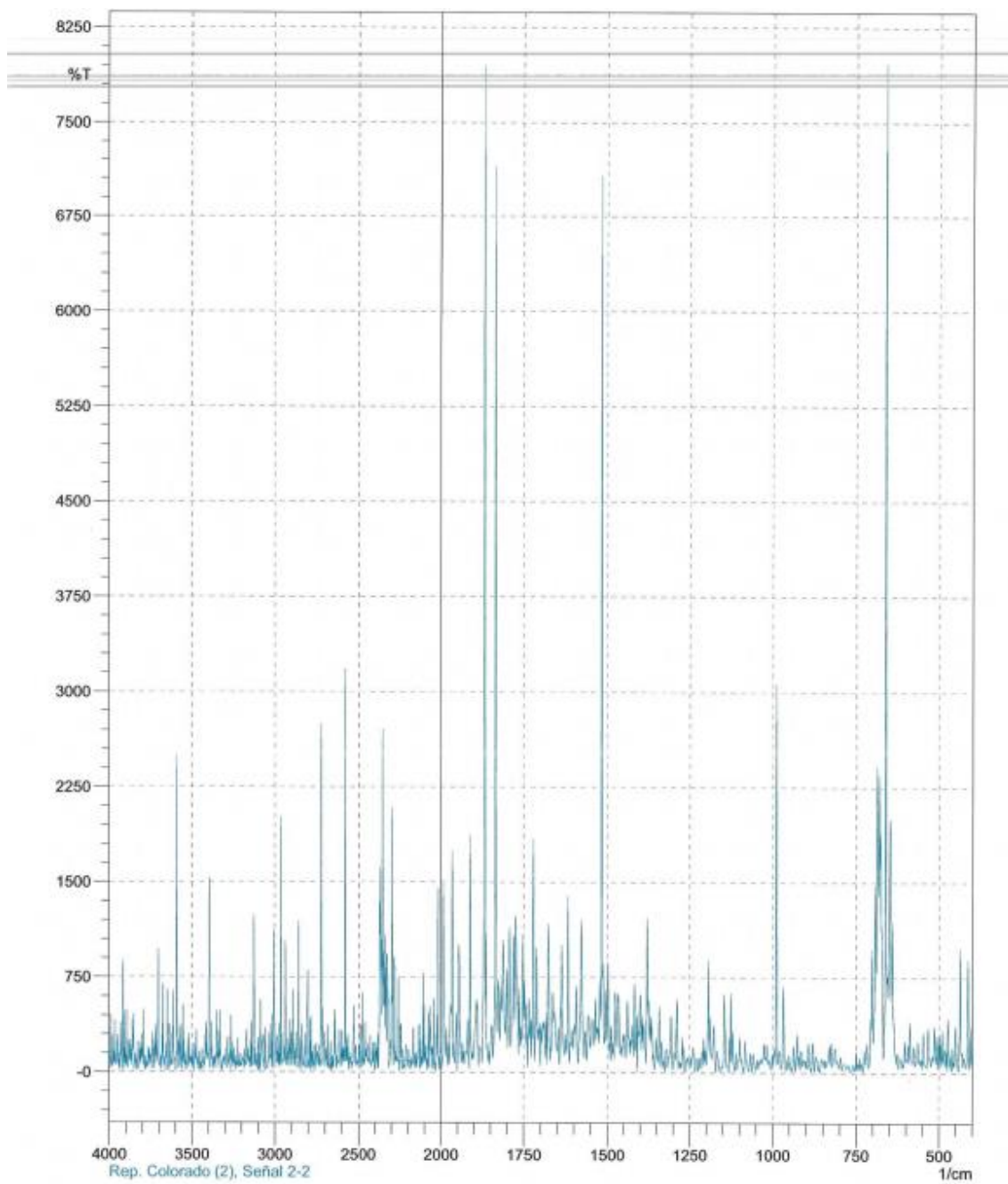
Comment:  
Berenjena (1), Señal 1-1

Date/Time; 21/04/2023 22:28:50  
No. of Scans; 20  
Resolution; 4 [1/cm]



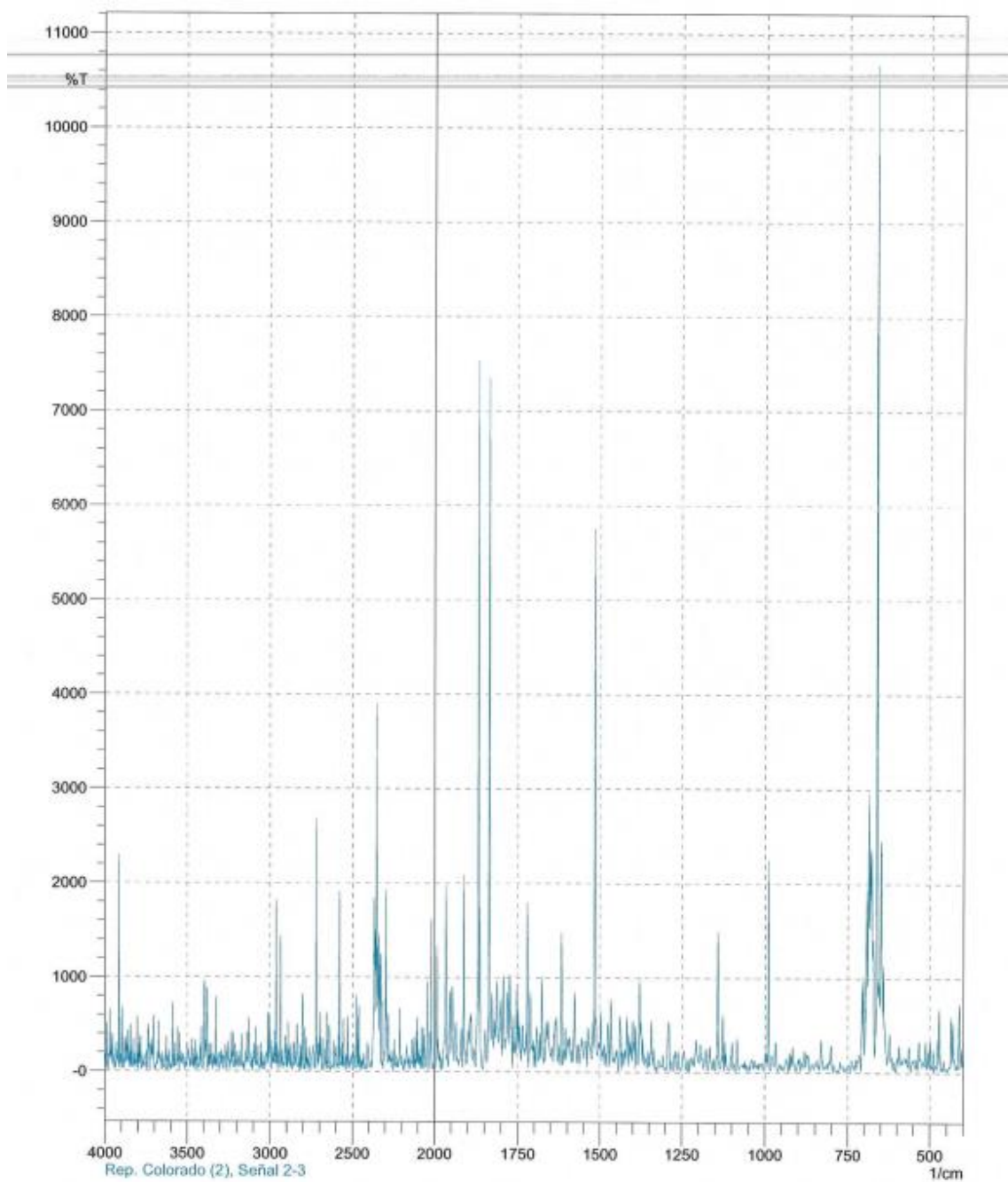
Comment;  
Rep. Colorado (2), Señal 2-1

Date/Time; 21/04/2023 22:32:00  
No. of Scans; 20  
Resolution; 4 [1/cm]



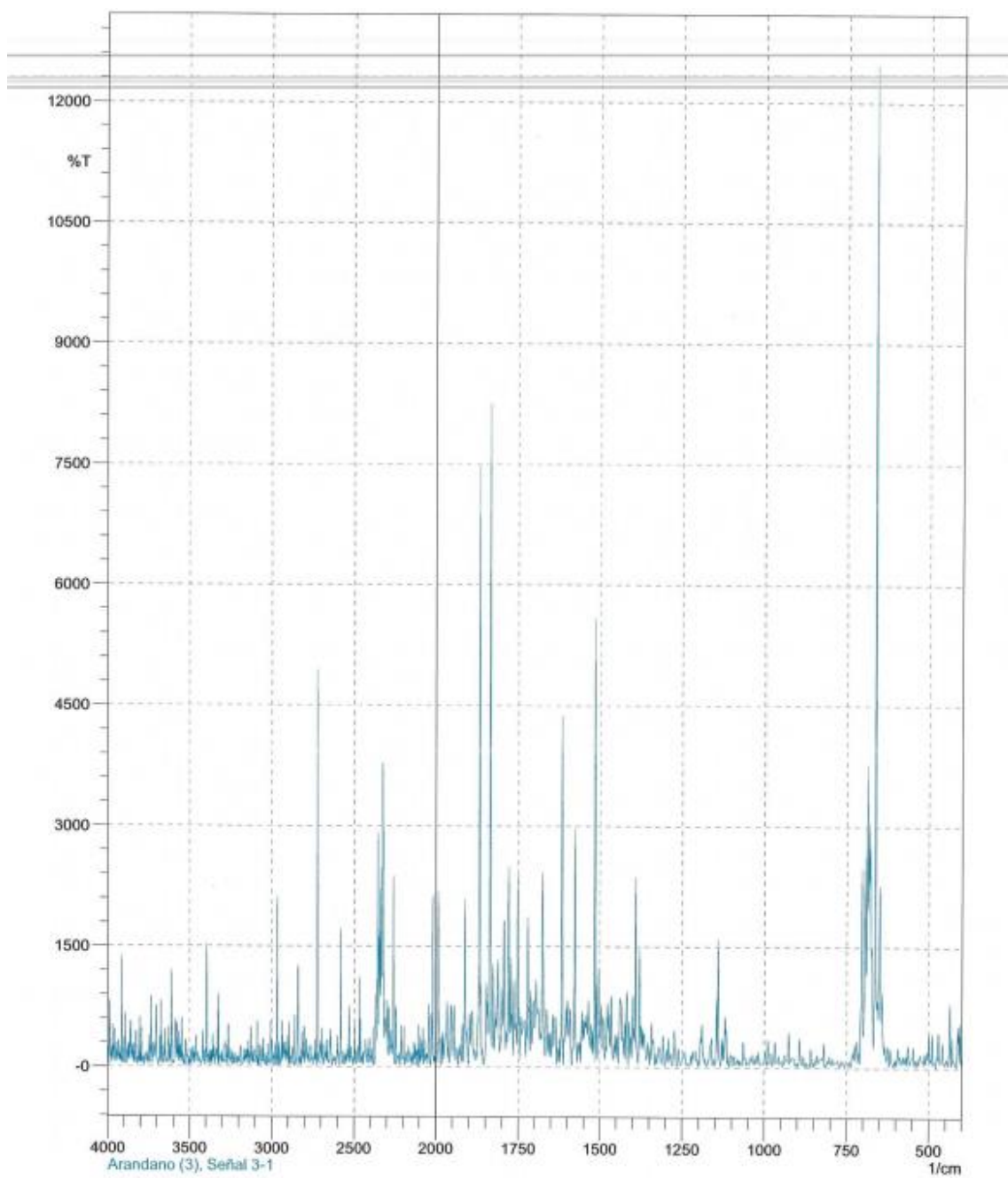
Comment:  
Rep. Colorado (2), Se-1 2-2

Date/Time: 21/04/2023 22:35:05  
No. of Scans: 20  
Resolution: 4 [1/cm]



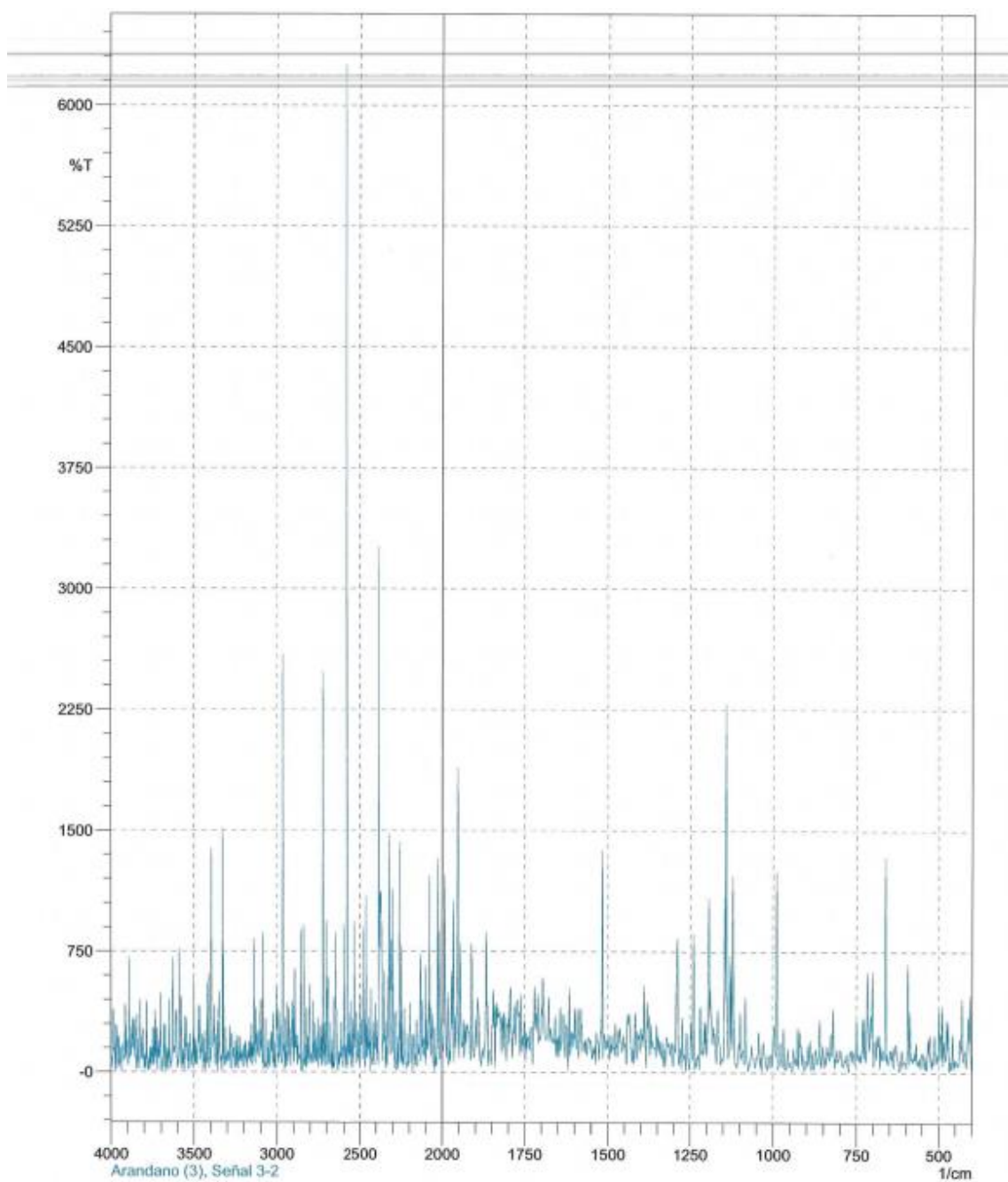
Comment:  
Rep. Colorado (2), Se-I 2-3

Date/Time: 21/04/2023 22:38:42  
No. of Scans: 20  
Resolution: 4 [1/cm]



Comment;  
Arandano (3), Se-I 3-1

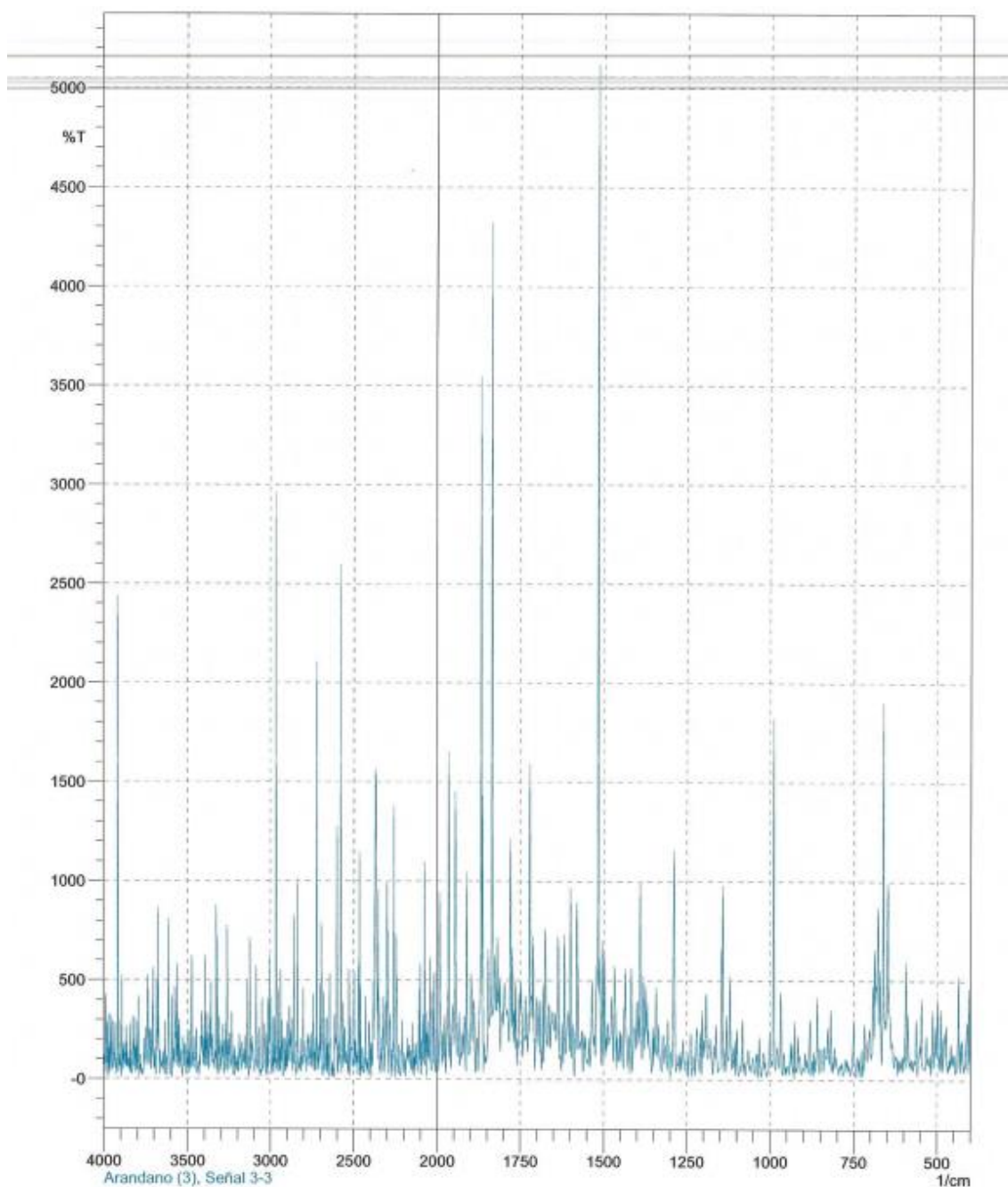
Date/Time; 21/04/2023 22:42:23  
No. of Scans; 20  
Resolution; 4 [1/cm]



Comment:  
Arandano (3), Se-I 3-2

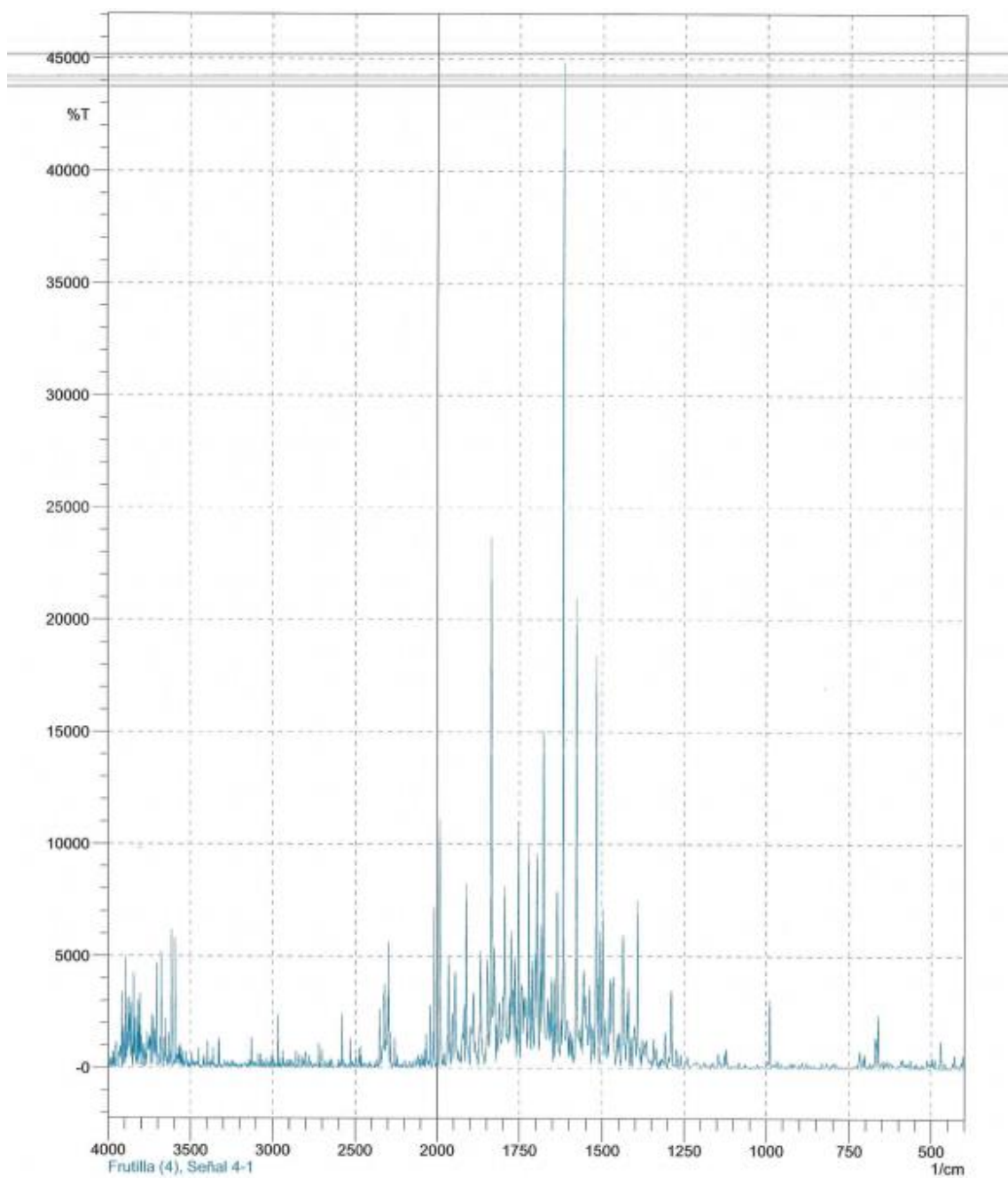
Date/Time; 21/04/2023 22:46:25  
No. of Scans; 20  
Resolution; 4 [1/cm]





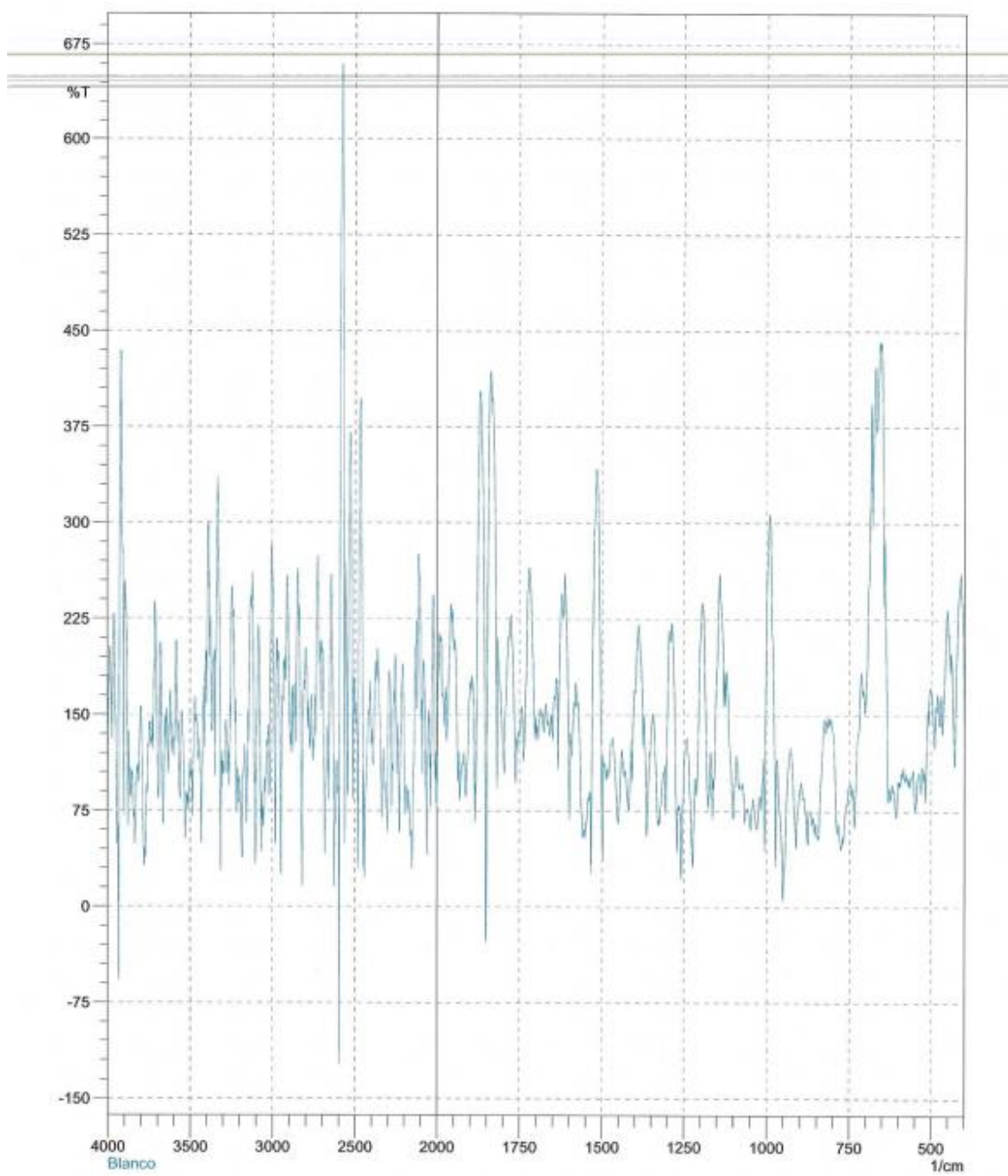
Comment:  
Arandano (3), Señal 3-3

Date/Time: 21/04/2023 22:49:07  
No. of Scans: 20  
Resolution: 4 [1/cm]



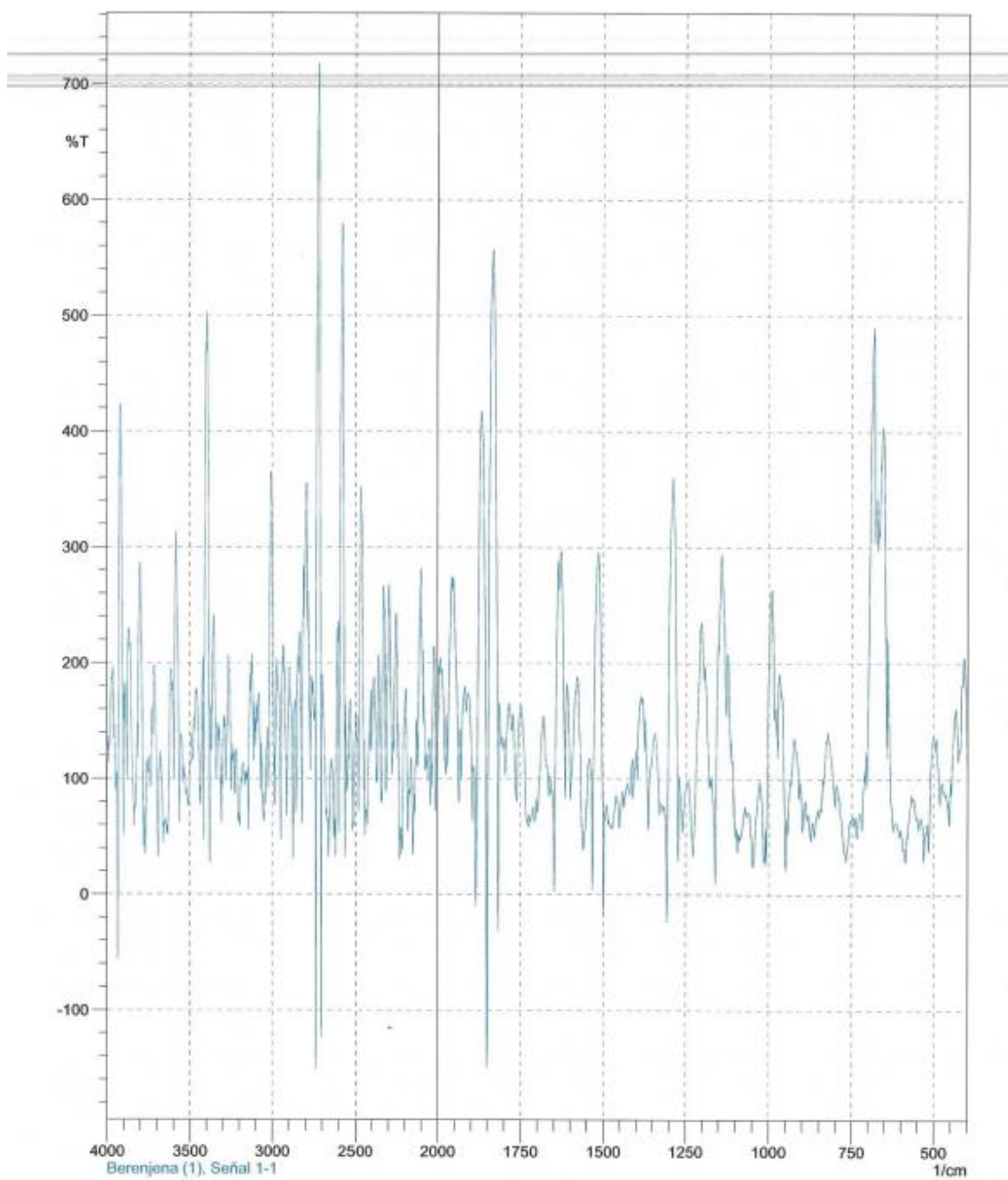
Comment;  
Frutilla (4), Señal 4-1

Date/Time: 21/04/2023 22:53:04  
No. of Scans: 20  
Resolution: 4 [1/cm]



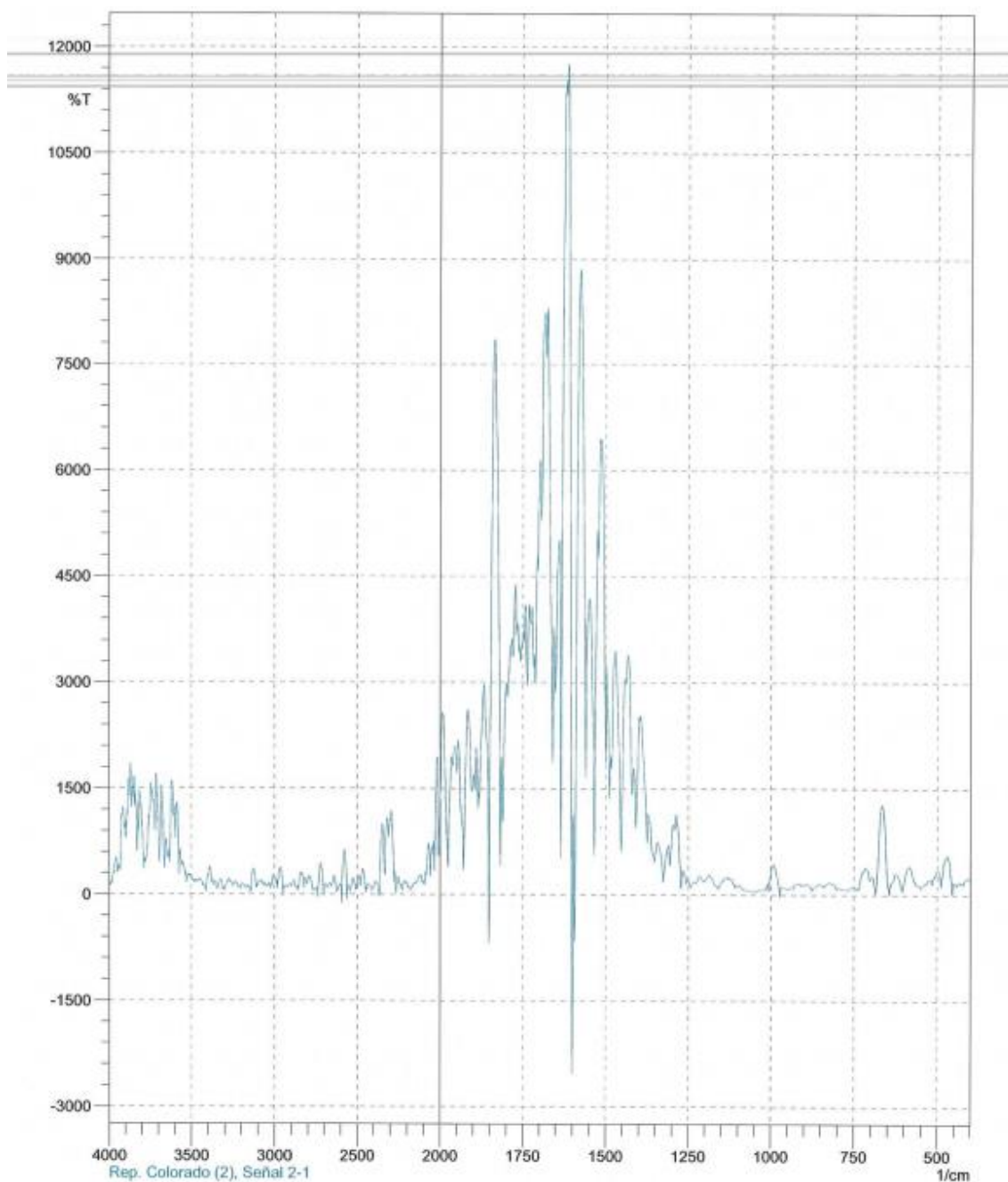
Comment;  
Blanco

Date/Time; 21/04/2023 22:27:19  
No. of Scans;  
Resolution;



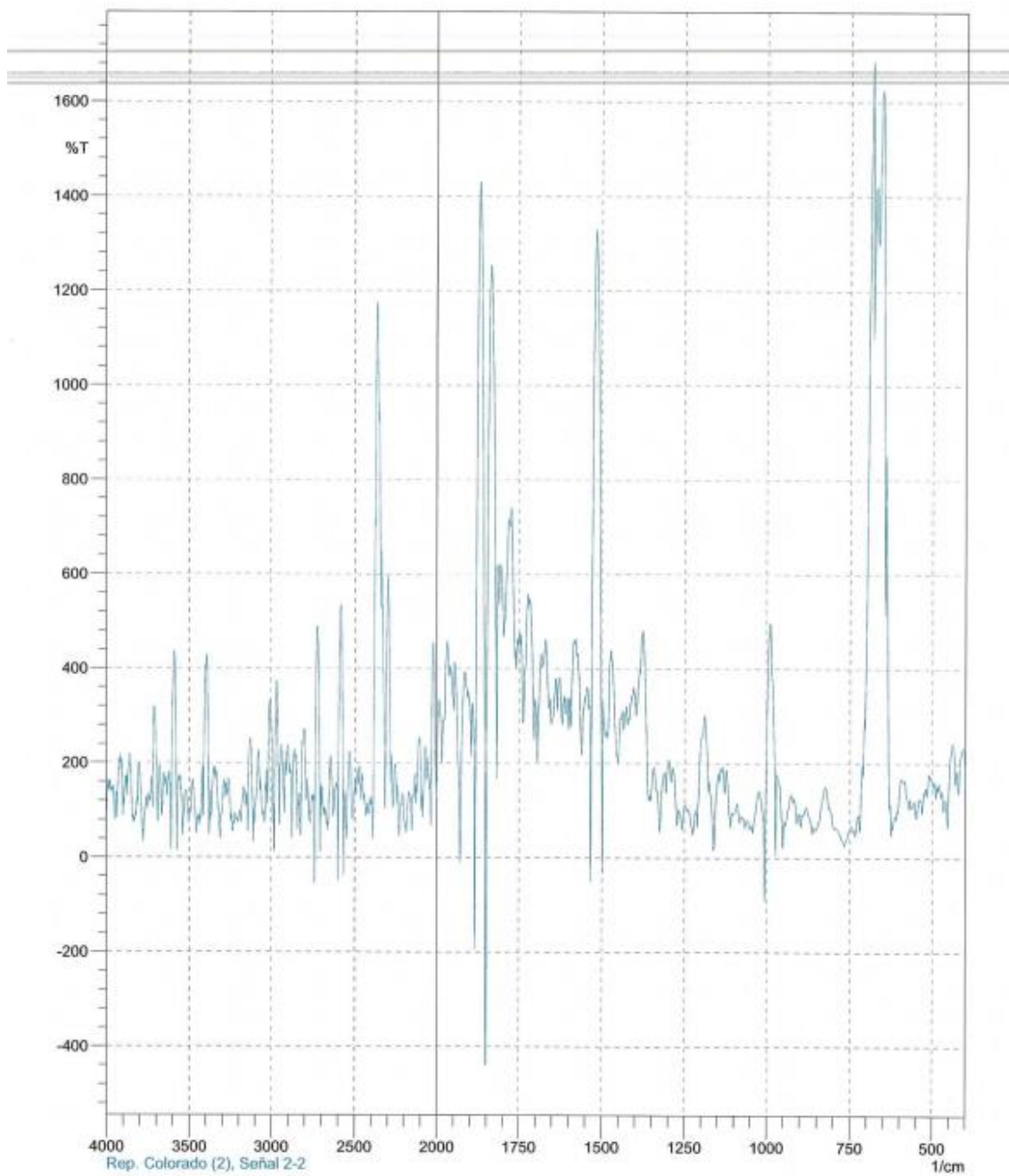
Comment:  
Berenjena (1), Se-I 1-1

Date/Time: 21/04/2023 22:28:50  
No. of Scans:  
Resolution:



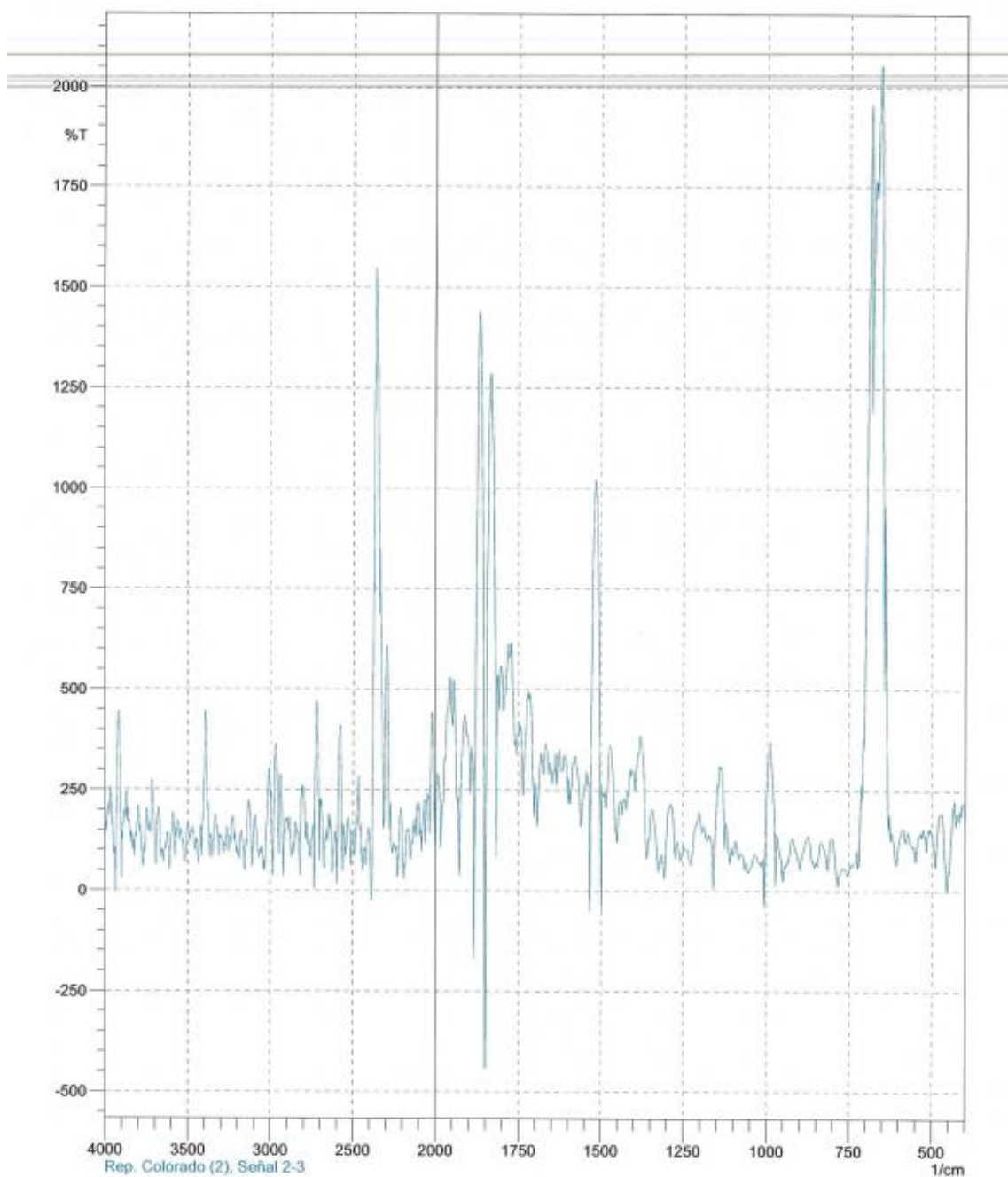
Comment;  
Rep. Colorado (2), Señal 2-1

Date/Time; 21/04/2023 22:32:00  
No. of Scans;  
Resolution;



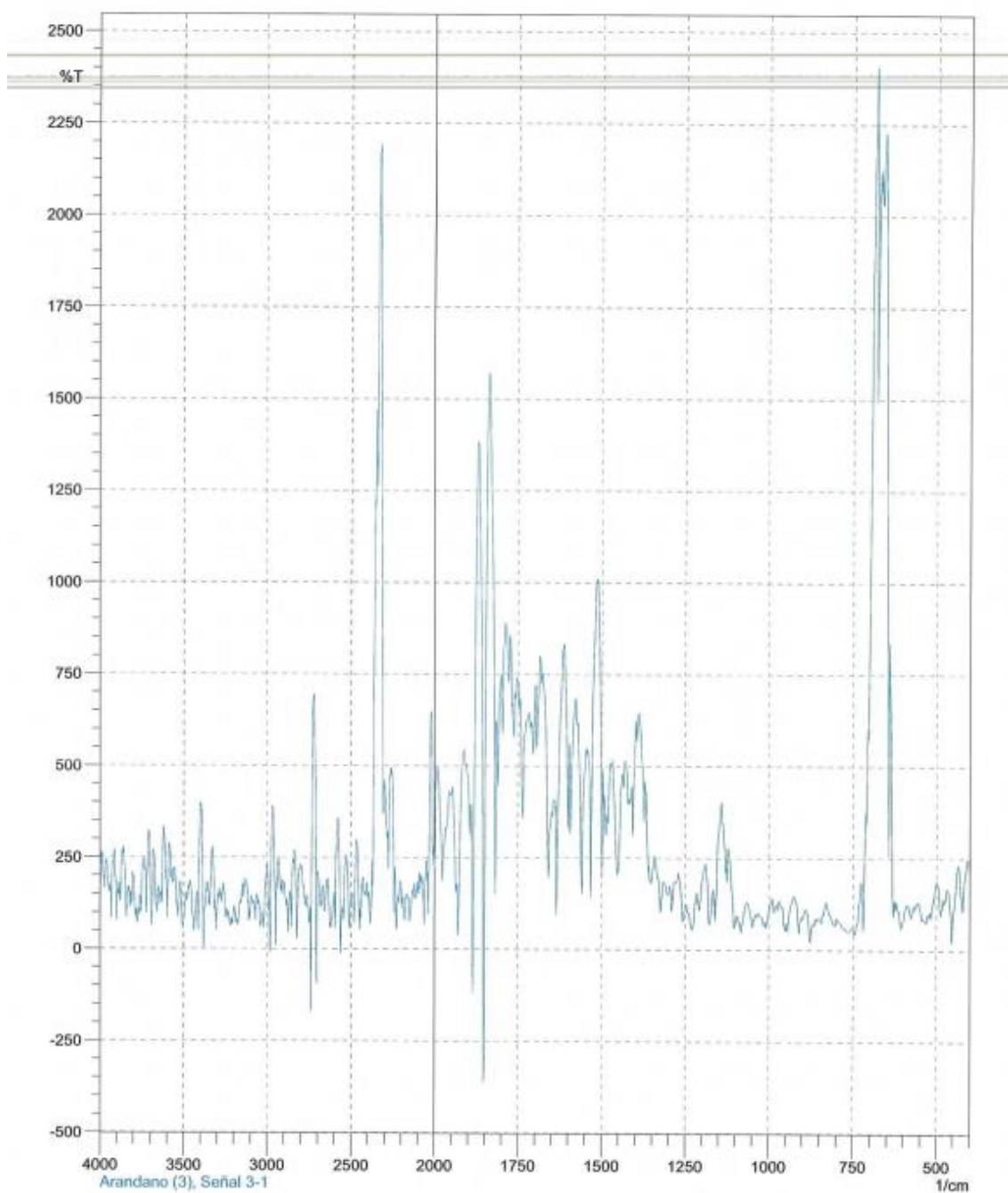
Comment;  
Rep. Colorado (2), Se-I 2-2

Date/Time; 21/04/2023 22:35:05  
No. of Scans;  
Resolution;



Comment:  
Rep. Colorado (2), Señal 2-3

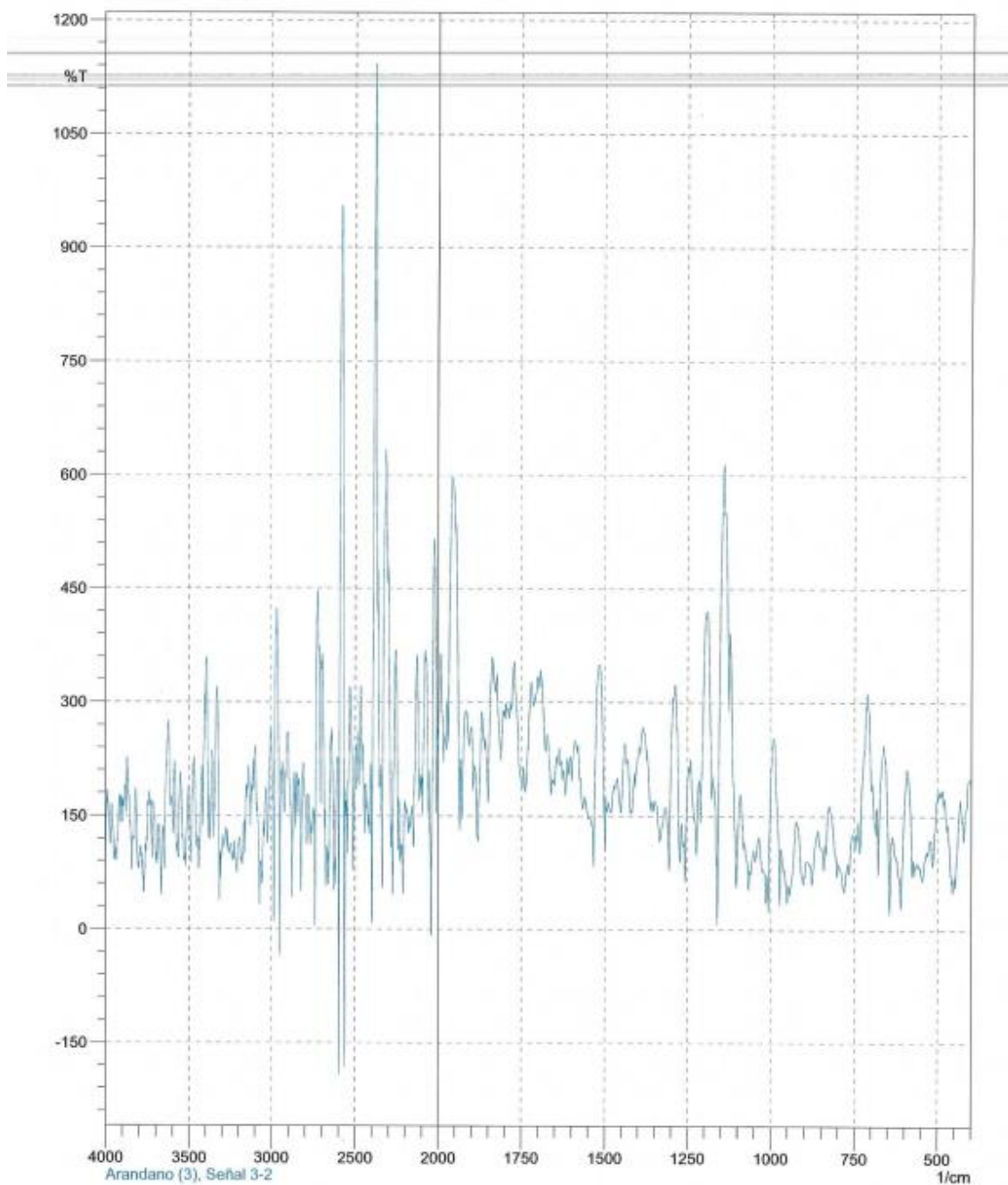
Date/Time: 21/04/2023 22:38:42  
No. of Scans;  
Resolution;



Comment:  
Arandano (3), Se-I 3-1

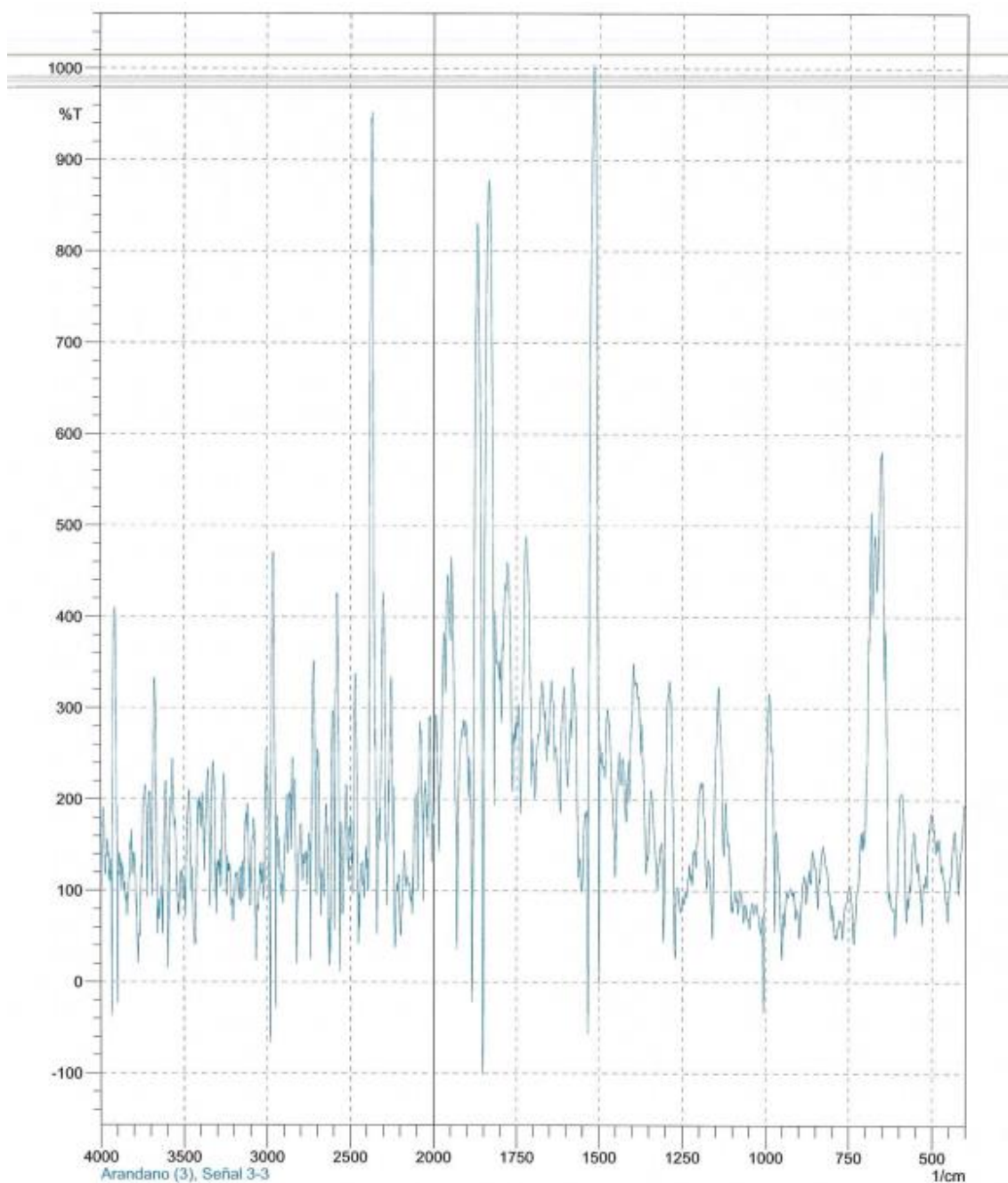
Date/Time: 21/04/2023 22:42:23  
No. of Scans;  
Resolution;





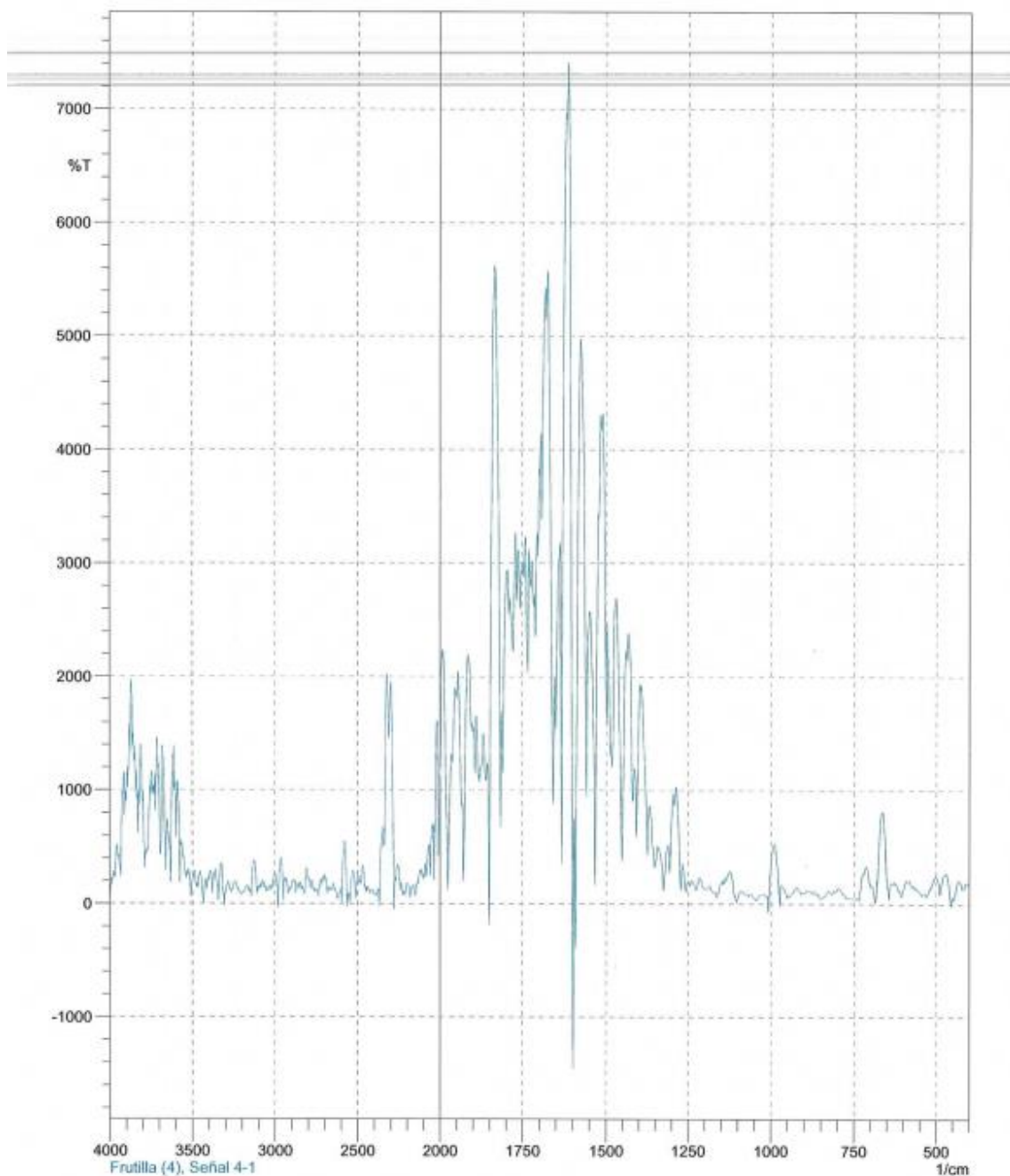
Comment:  
Arandano (3), Se-1 3-2

Date/Time: 21/04/2023 22:46:25  
No. of Scans:  
Resolution:



Comment:  
Arandano (3), Se-I 3-3

Date/Time: 21/04/2023 22:49:07  
No. of Scans:  
Resolution:

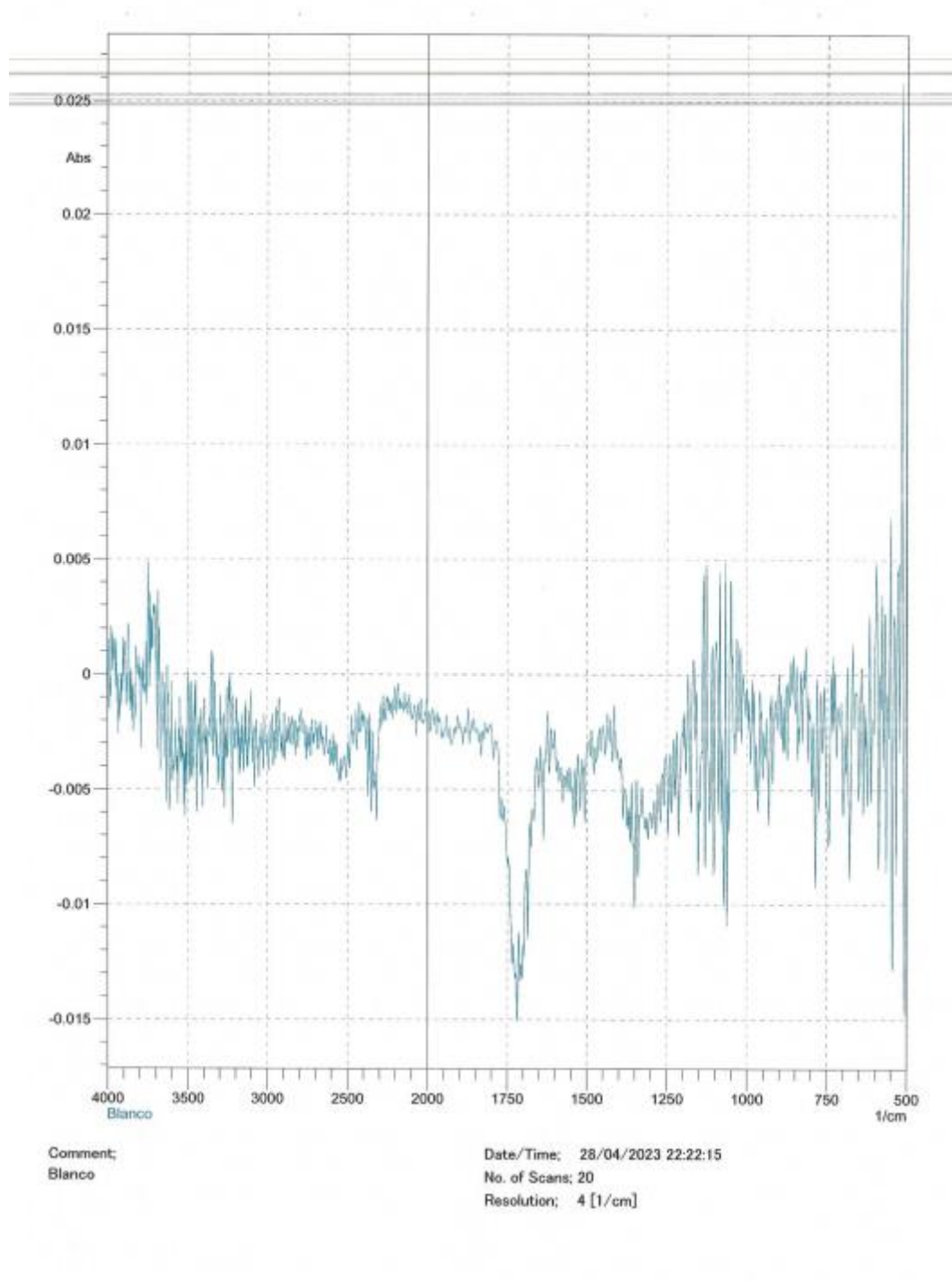


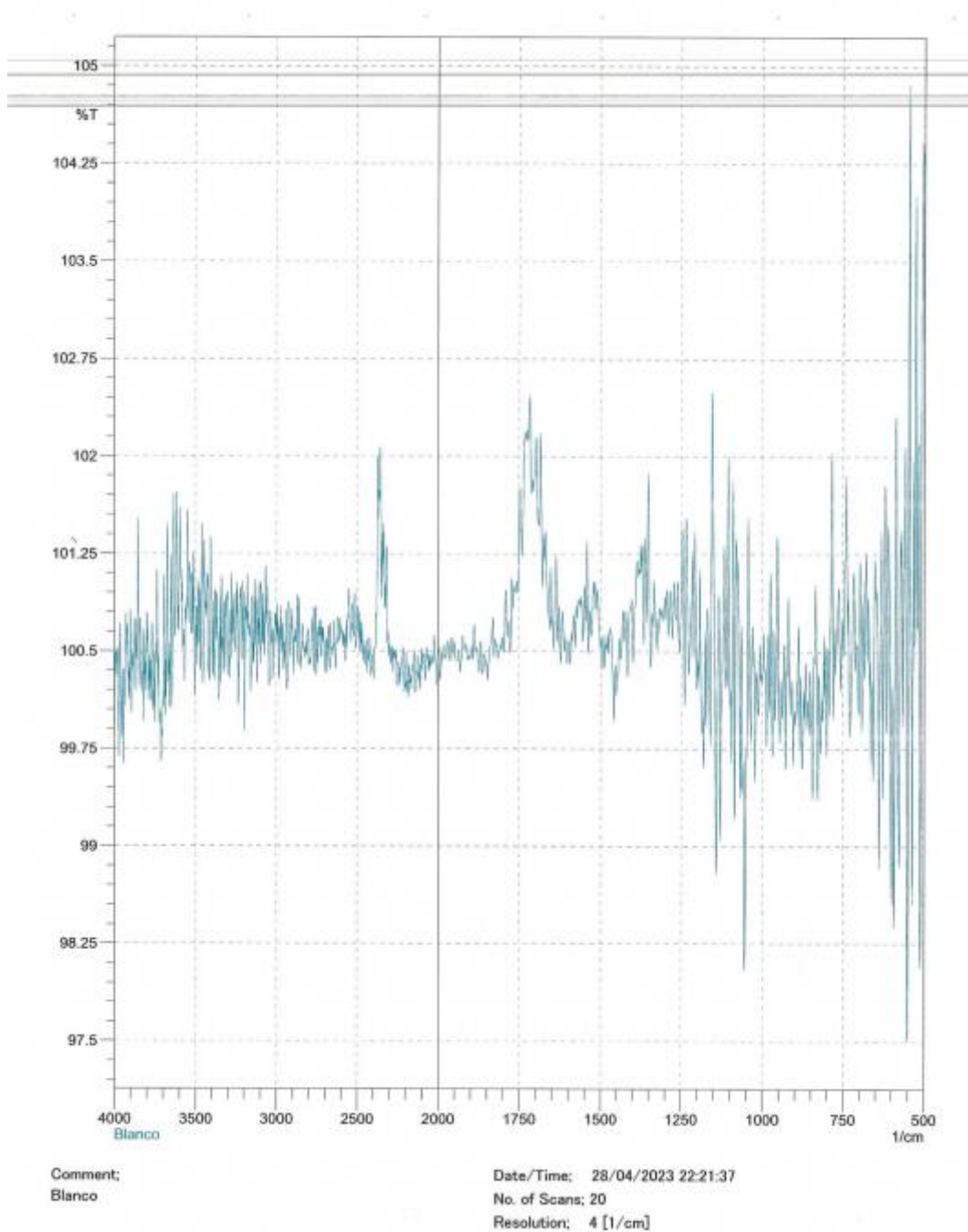
Comment;  
Frutilla (4), Se-1 4-1

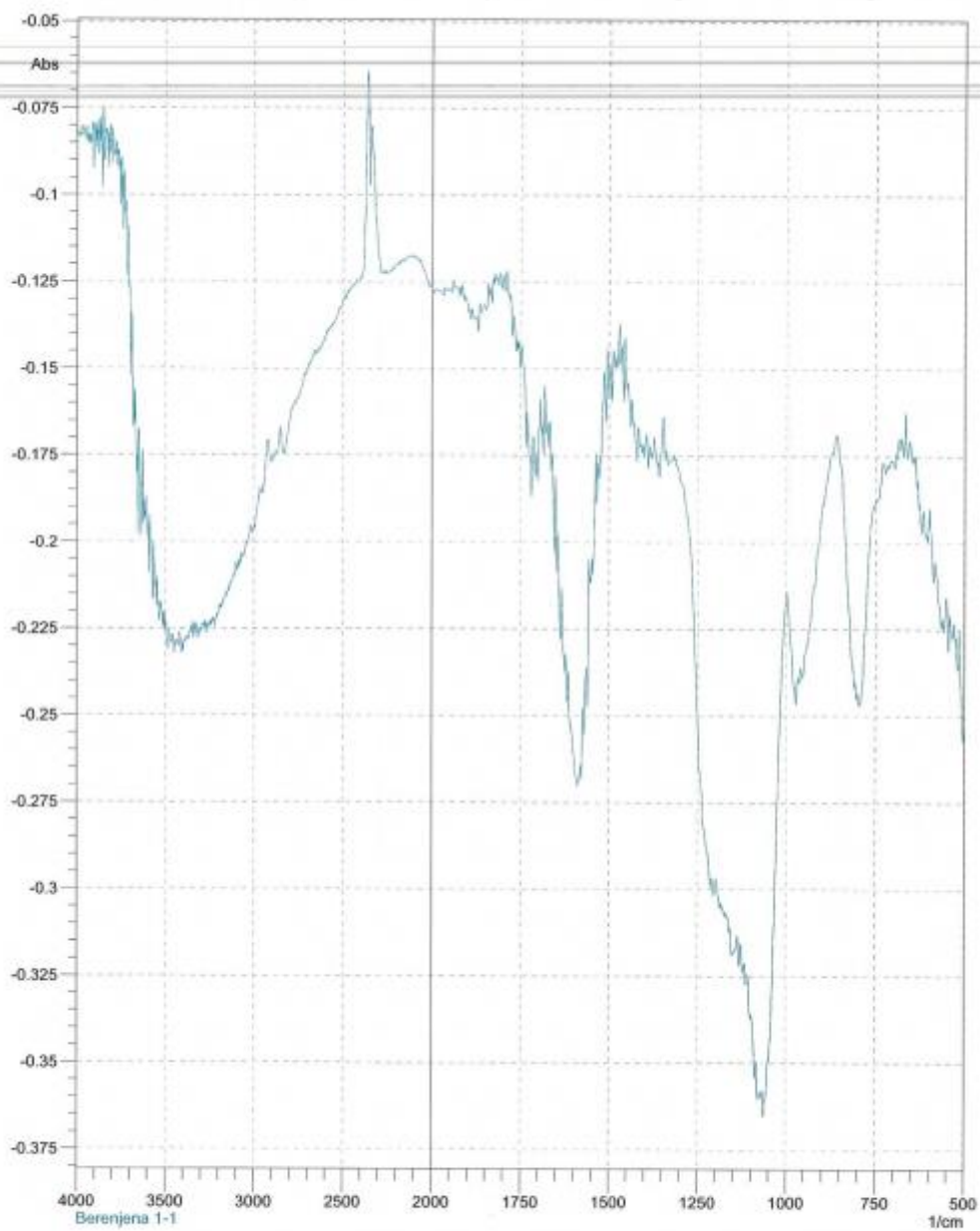
Date/Time; 21/04/2023 22:53:04  
No. of Scans;  
Resolution;

## Anexo 4

Espectros IR (tercera prueba, mediciones en absorbancia y transmitancia) obtenidos de las señales detectadas en la placa de TLC. Muestras: Berenjena (1), Repollo Colorado (2), arándanos (3) y frutillas (4).

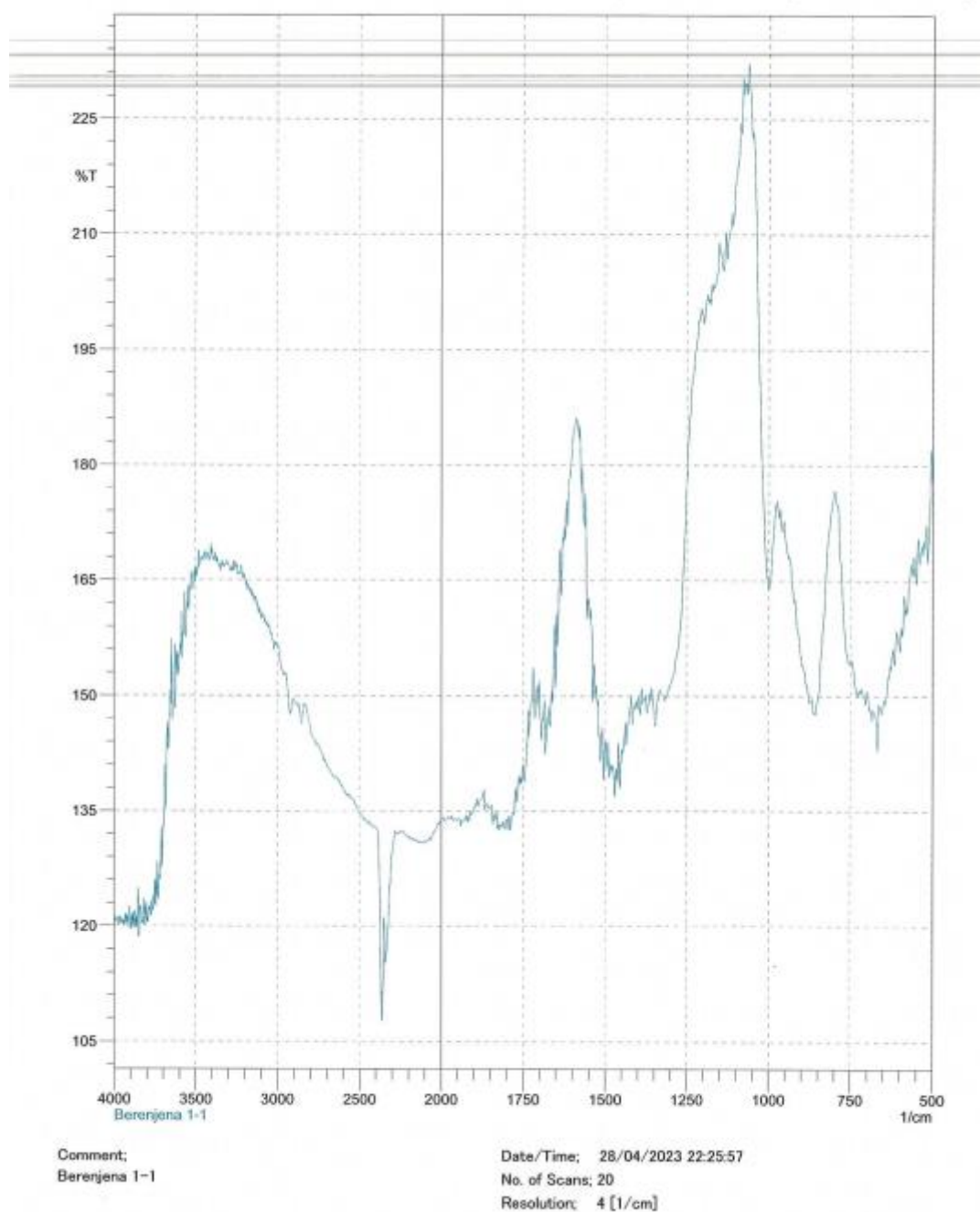




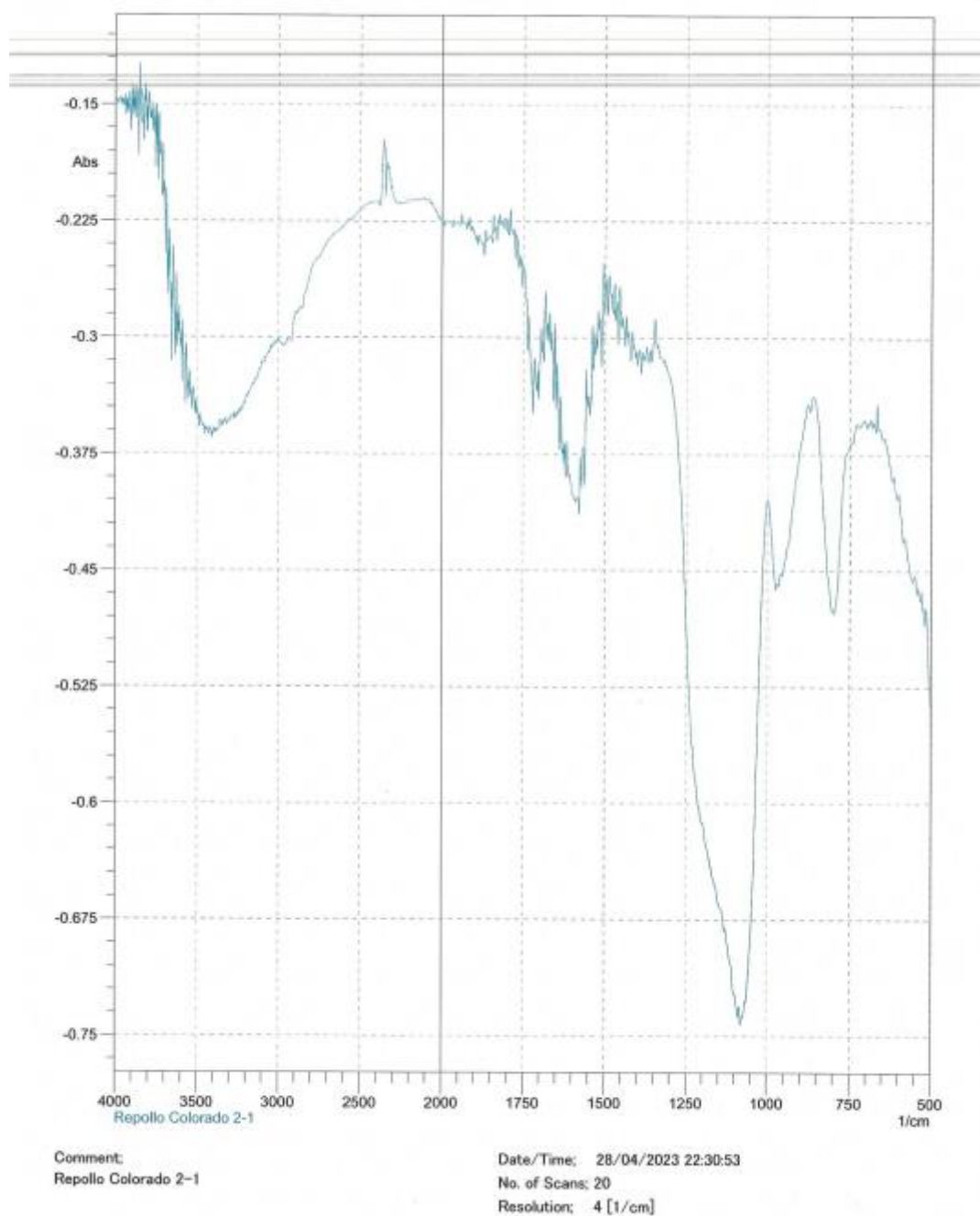


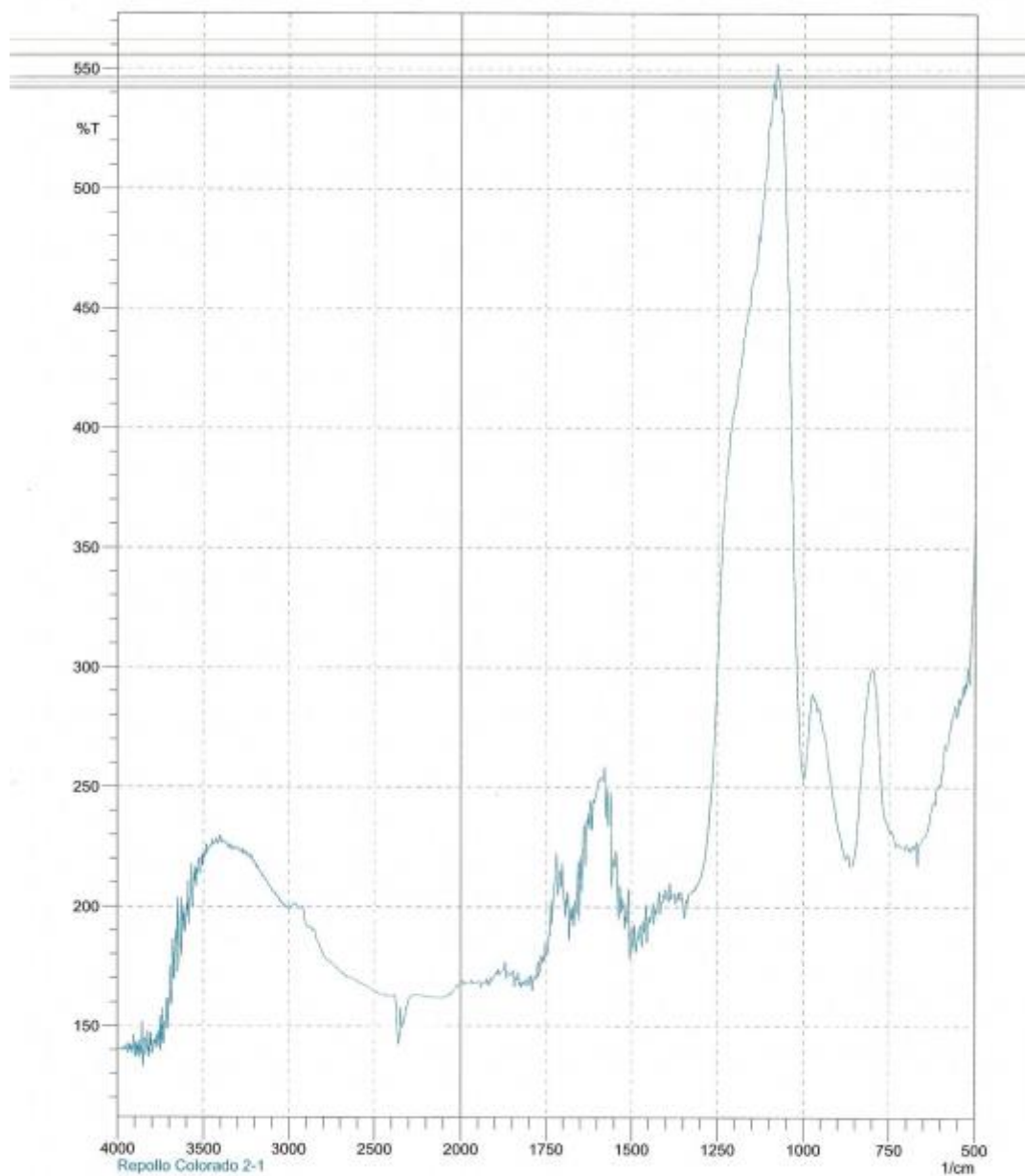
Comment:  
Berenjena 1-1

Date/Time: 28/04/2023 22:26:35  
No. of Scans: 20  
Resolution: 4 [1/cm]



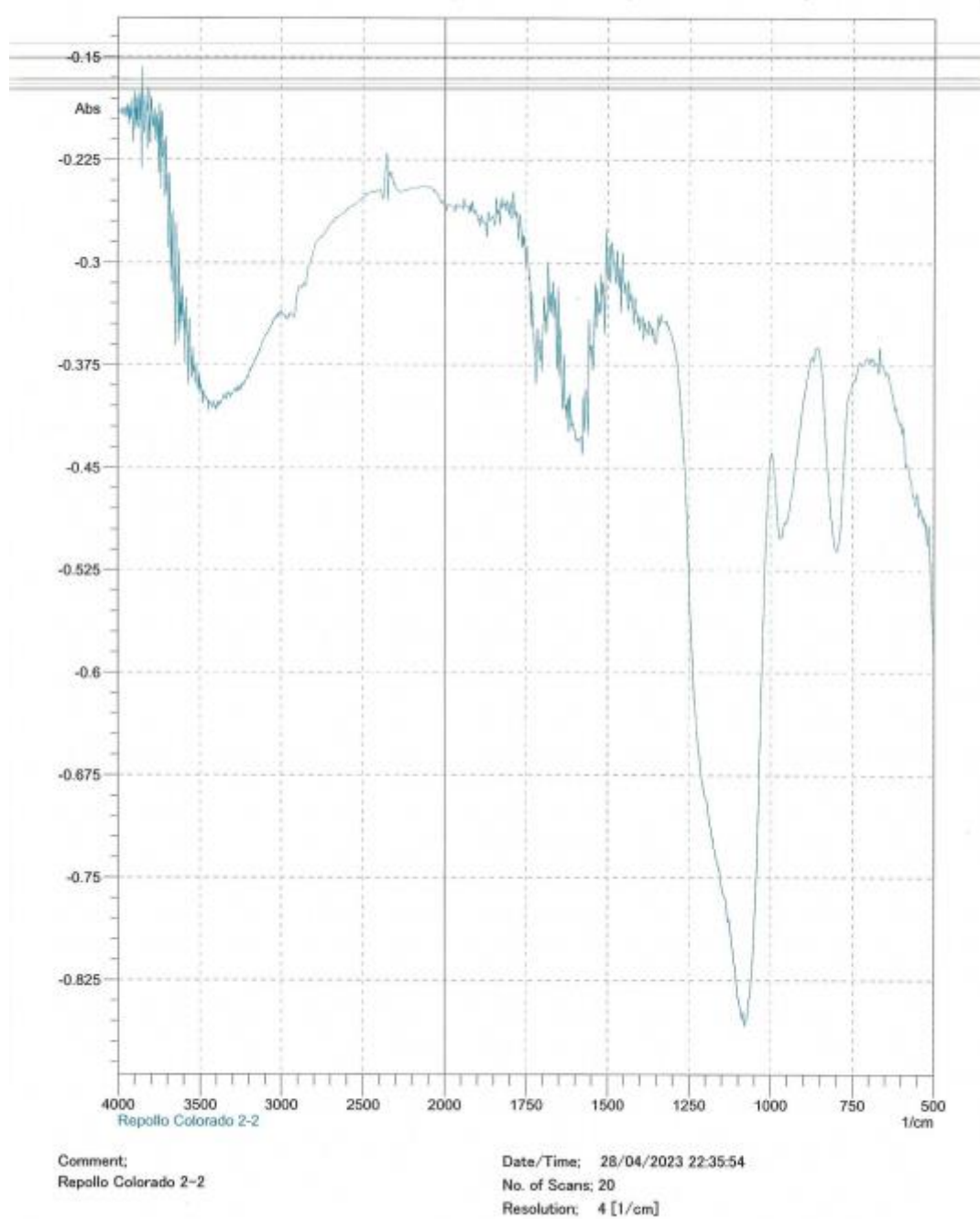


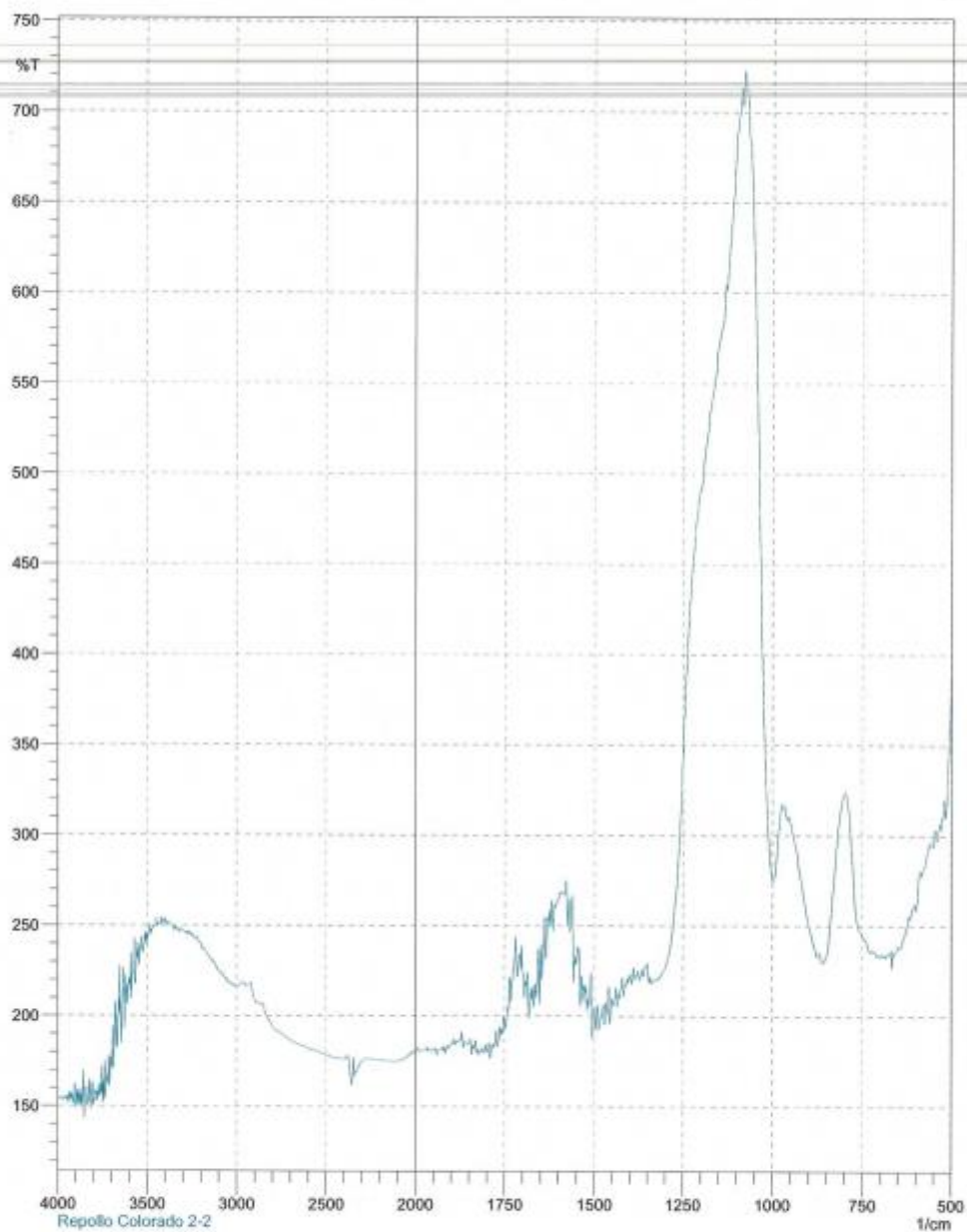




Comment:  
Repollo Colorado 2-1

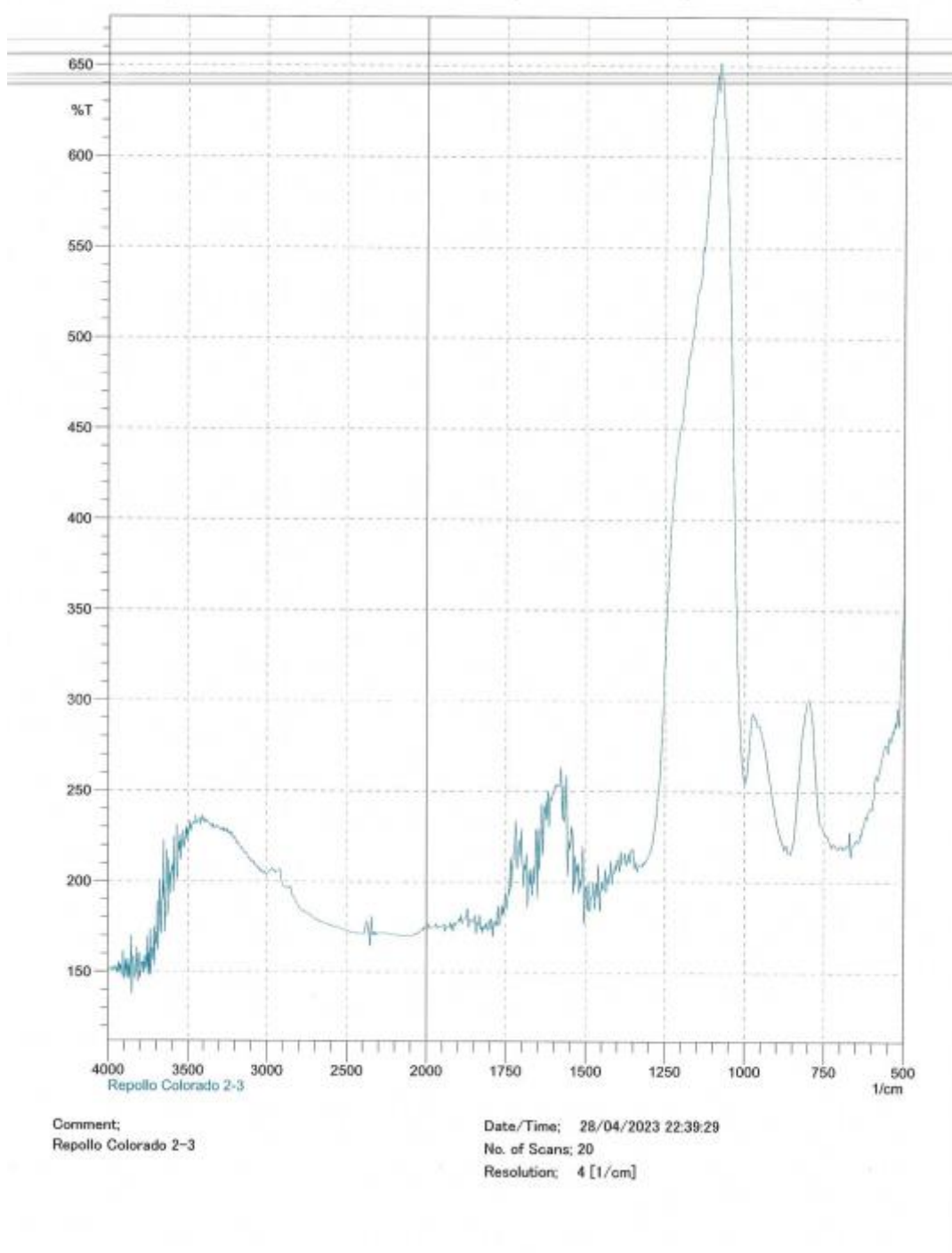
Date/Time: 28/04/2023 22:30:10  
No. of Scans: 20  
Resolution: 4 [1/cm]

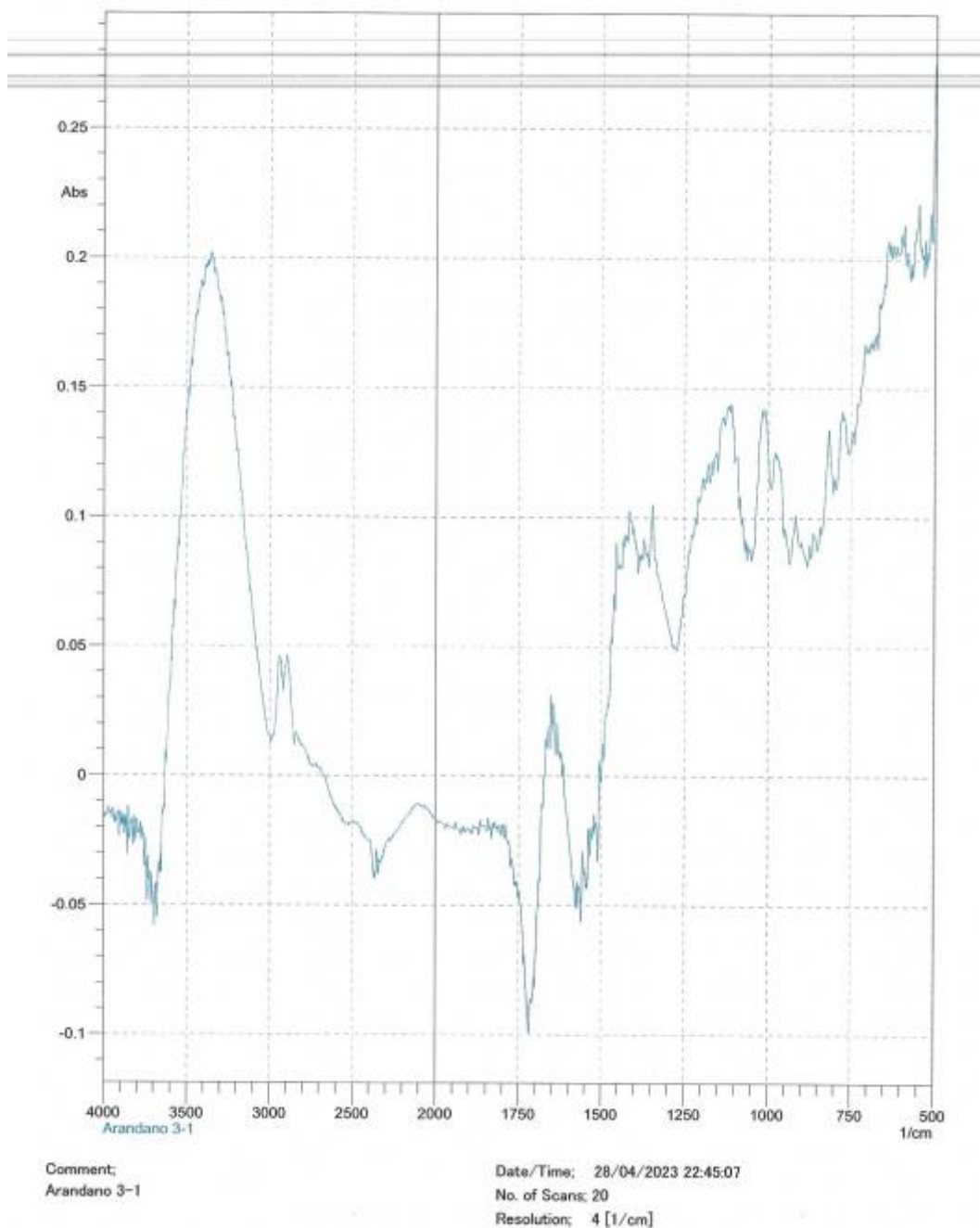


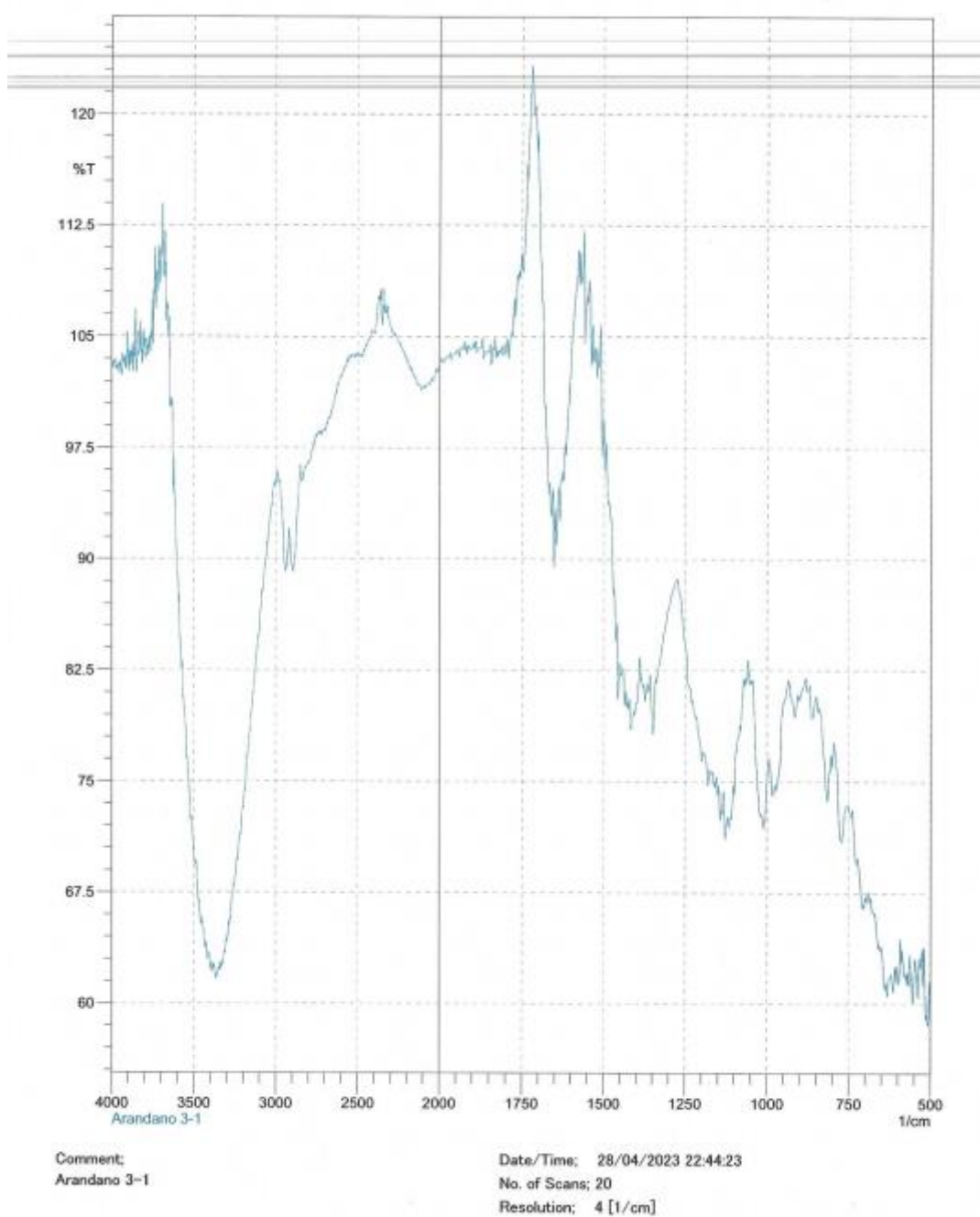


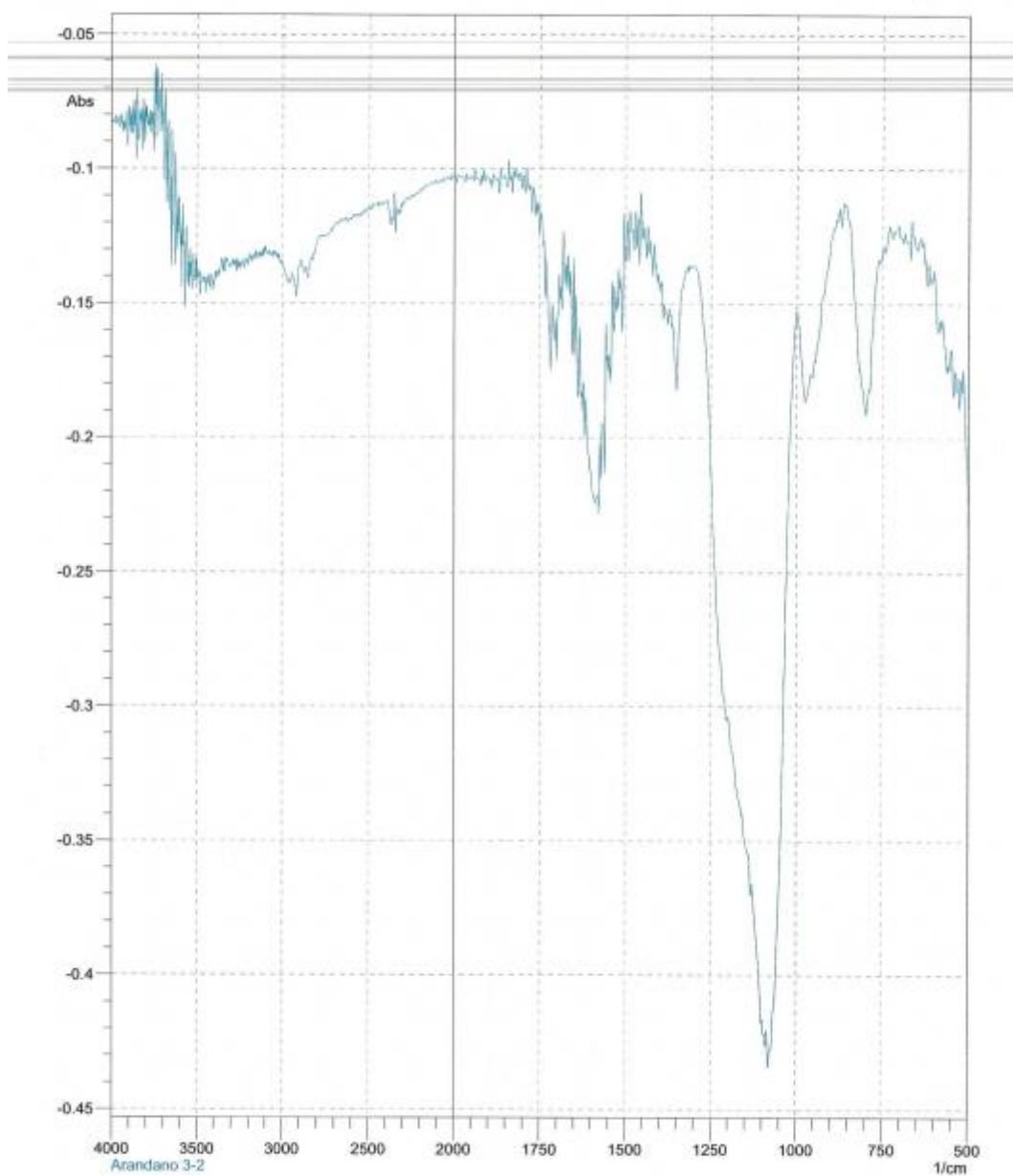
Comment:  
Repollo Colorado 2-2

Date/Time: 28/04/2023 22:35:13  
No. of Scans: 20  
Resolution: 4 [1/cm]





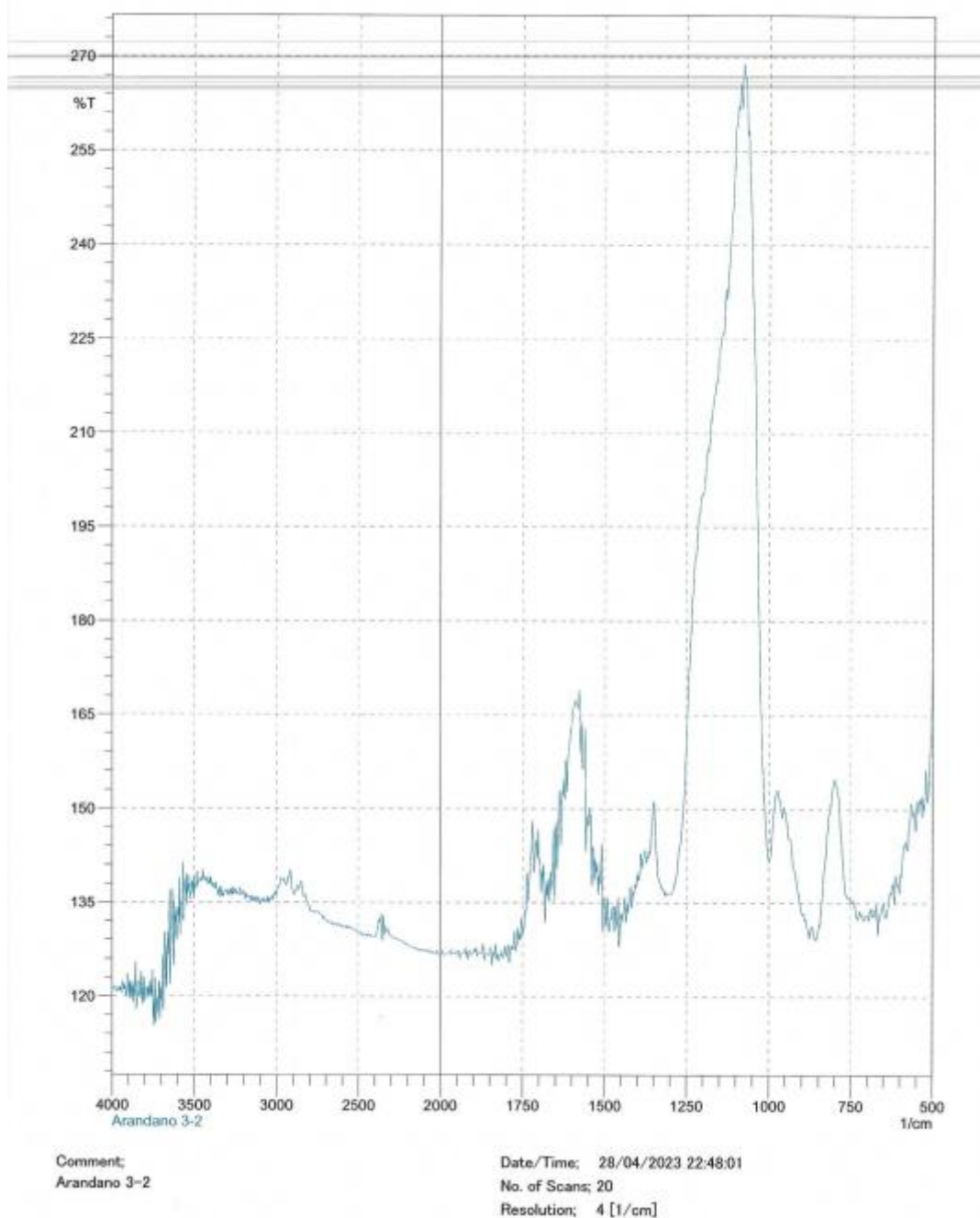


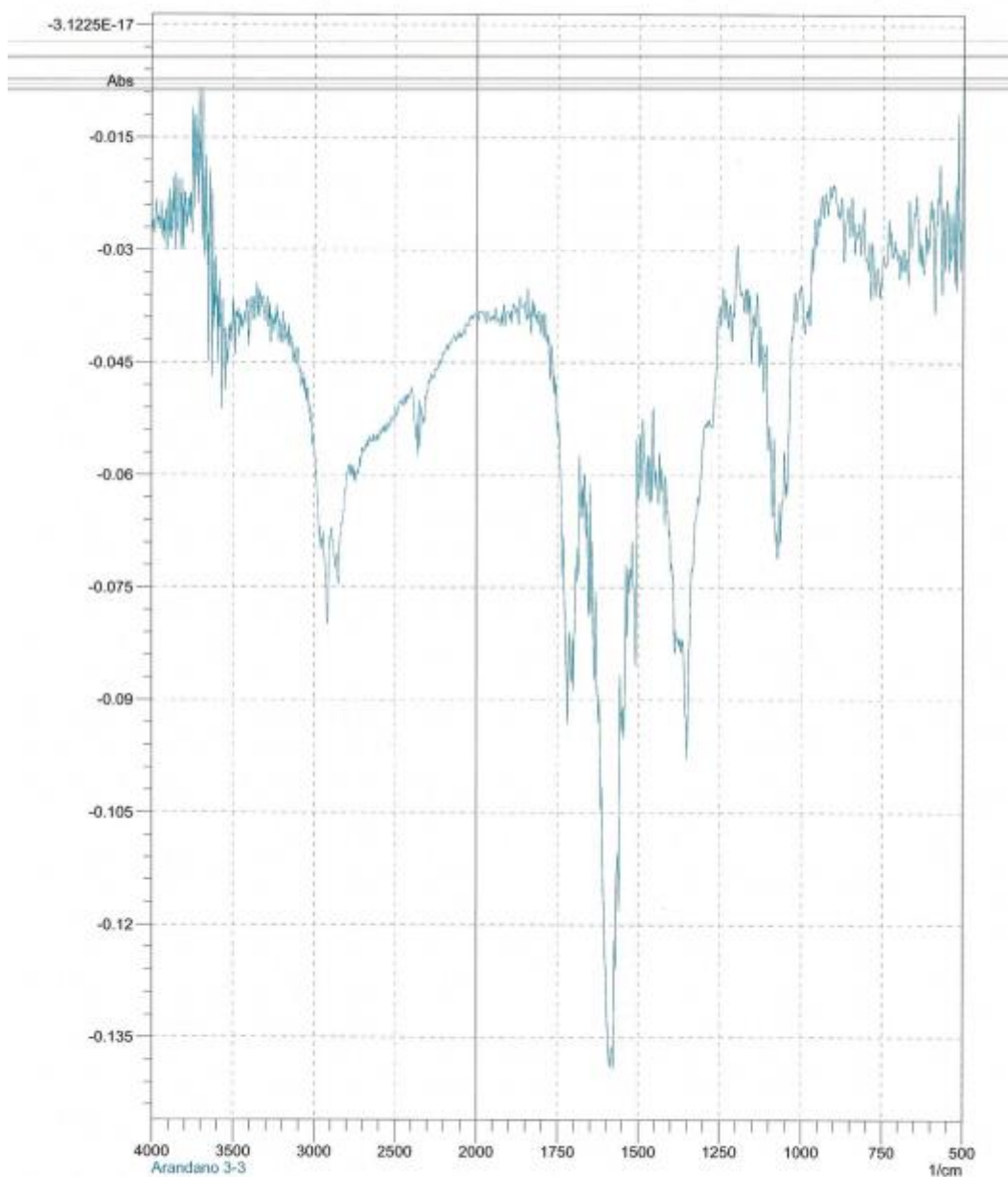


Comment:  
Arandano 3-2

Date/Time: 28/04/2023 22:48:37  
No. of Scans: 20  
Resolution: 4 [1/cm]

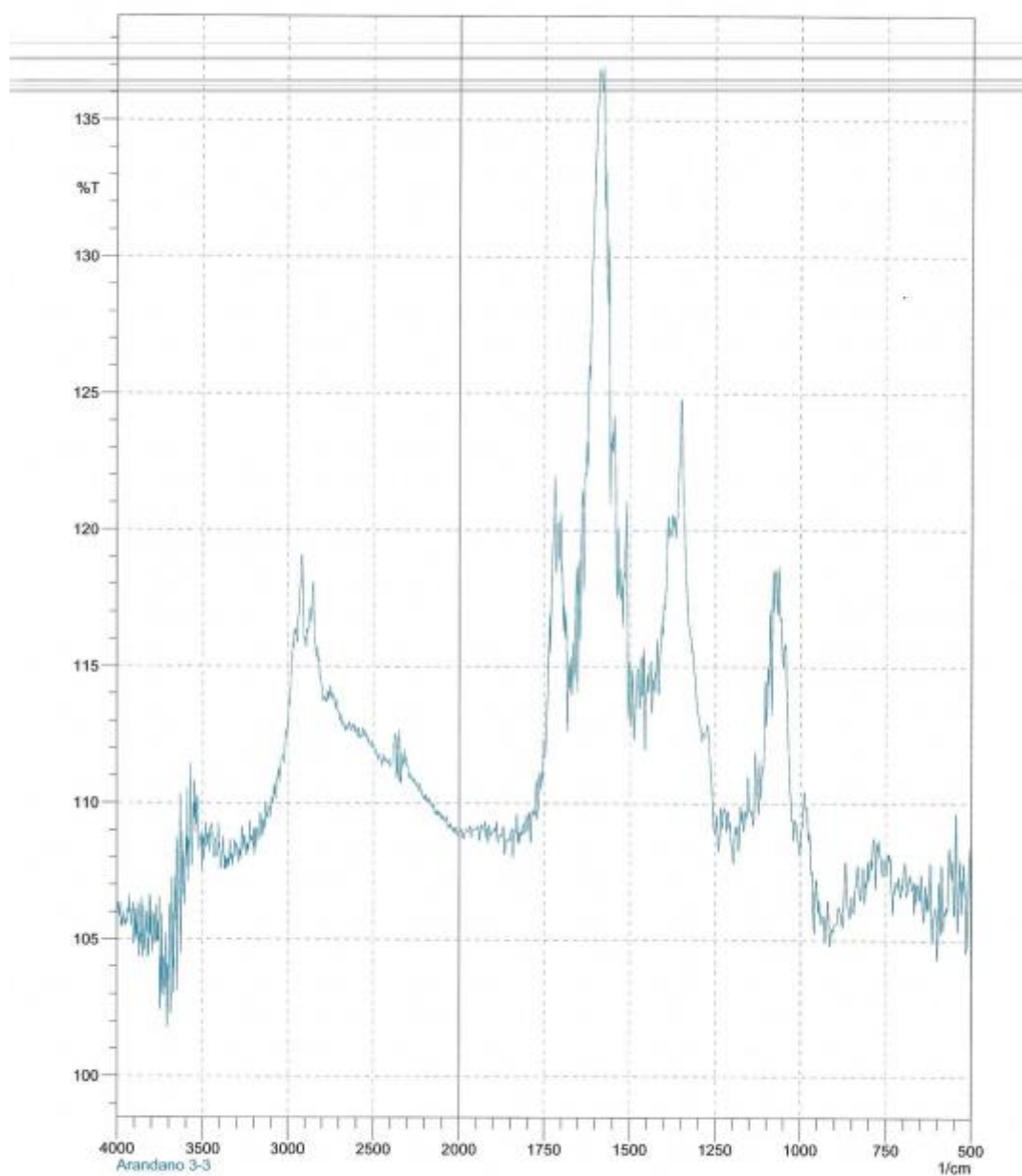






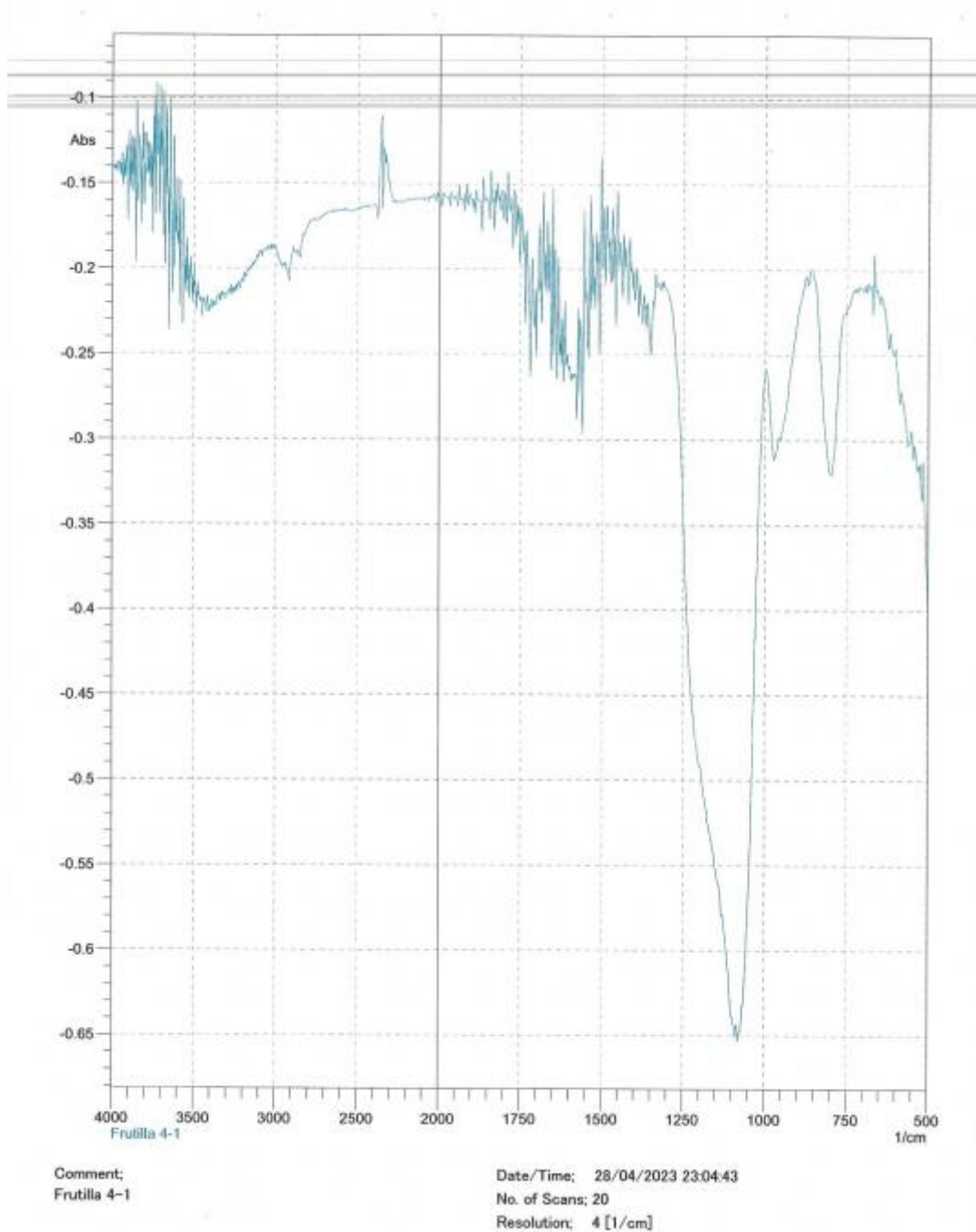
Comment:  
Arandano 3-3

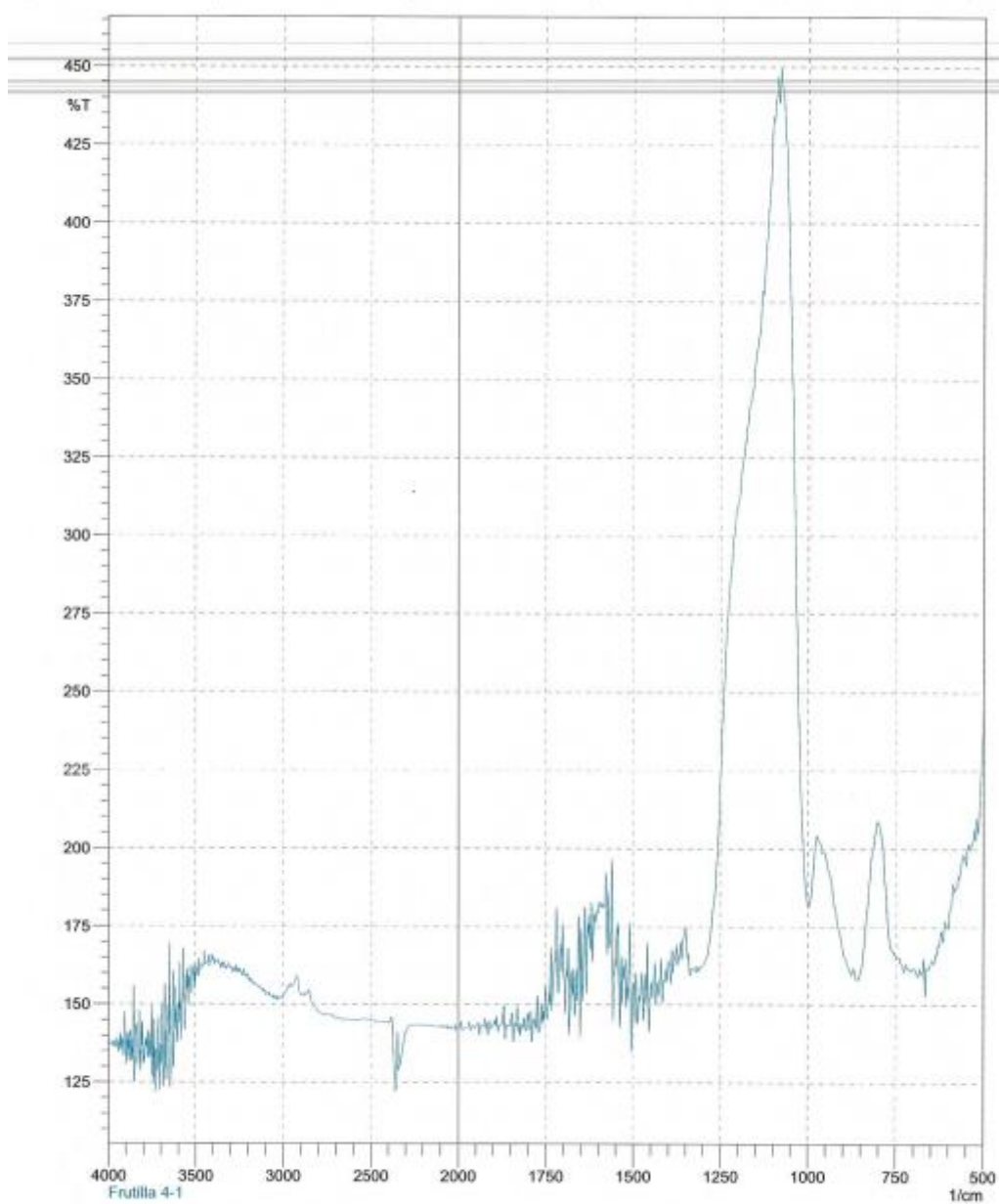
Date/Time: 28/04/2023 22:51:32  
No. of Scans: 20  
Resolution: 4 [1/cm]



Comment:  
Arandano 3-3.

Date/Time: 28/04/2023 22:50:49  
No. of Scans: 20  
Resolution: 4 [1/cm]





Comment;  
Frutilla 4-1

Date/Time; 28/04/2023 23:04:07  
No. of Scans; 20  
Resolution; 4 [1/cm]