

# **ANEXOS**

**ANEXO A**

**ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DE LOS**

**EQUIPOS UTILIZADOS EN EL**

**LABORATORIO**

### Espectrofotómetro UV-VIS



**Marca:** J.P. Selecta, s.a.  
**Accesorios:** Juego de Cubetas  
**Tensión:** 230/240 V  
**Amper:** 112 mA  
**Frecuencia:** 50-60 Hz  
**Lugar de Ensayo y Propiedad:** UAJMS-LOU (Laboratorio de Operaciones Unitarias).

### Rota-Evaporador



**Marca:** Heidolph  
**Tipo:** Heizbad HB digit  
**Accesorios:** 2 balones, bomba, baño maría, mangueras y condensador  
**Frecuencia:** 50 - 60 Hz  
**Tensión:** 230/240 V  
**Temperatura:** 30-180 °C  
**Voltaje:** 230  
**Lugar de Ensayo y Propiedad:** UAJMS-LOU (Laboratorio de Operaciones Unitarias).

### Balanza analítica



**Marca:** GIBERTINI

**Accesorios:** Bandeja y tapa de vidrio

**Tensión:** 230/240 V

**Máximo:** 510 gramos

**Mínimo:** 1 gramo

**Error:** 0.01 gramo

**Voltaje:** 230

**Lugar de Ensayo y Propiedad:** UAJMS-LOU (Laboratorio de Operaciones Unitarias).

### Licadora



**Marca:** Holstein Housewares

**Modelo:** HH-0910107R

**Motor:** Reversible

**Alimentación de corriente:**

220 V, 50 hz, 440 W

**Velocidad:** 6 niveles

**Bomba de vacío**



**Marca:** Telstar

**Voltaje:** 230 V

**Frecuencia:** 50/60 Hz

**Potencia:** 0,23 Kw

**Agitador Magnético**



**Marca:** J.P SELECTA

**Voltaje:**230 V

**Potencia:** 640 W

**Frecuencia:** 50Hz

**Temperatura máxima** 350 °C

**Velocidad:** 60- 1600 RPM

**peso:** 3,5Kg

### Termo balanza de infrarrojo



**Marca:** SARTORIUS

**Modelo:** MA 100

**Rango de temperatura:** 20-200°C

**Capacidad:** 100g

**Voltaje:** 230°C

### pH-metro



**Marca:** ATC

**Rango:** 0,0 a 14

**Rango de temperatura:** 0°C a 50°C

**Calibración:** manual, un punto

**Peso:** 50 gr

**Dimensiones:** 152 x 30 x 21 mm

**ANEXO B**

**ANALISIS FISICOQUIMICO**

# Resultado de los análisis fisicoquímicos de la materia prima

CEANID-FOR-88  
Versión 01  
Fecha de emisión: 2018-10-31



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA "JUAN MISAEL SARACHO"  
FACULTAD DE "CIENCIAS Y TECNOLOGÍA"  
CENTRO DE ANÁLISIS, INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO "CEANID"  
Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes  
Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos  
Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes  
Laboratorio Oficial del "SENASAG"



## INFORME DE ENSAYO

### I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	Carmen Lisset Cuevas Mercado		
Solicitante:	Carmen Lisset Cuevas Mercado		
Dirección:	Comunidad de Erquiz		
Teléfono/Fax:	78250056	Correo-e:	*****
Código:	AL 383/19		

### II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Mora		
Código de muestreo:	M 1	Fecha de vencimiento:	*****
Lote:	*****		
Fecha y hora de muestreo:	2019-12-03 Hr. 07:00		
Procedencia (Localidad/Prov./ Depto):	Erquiz - Mendez - Tarija - Bolivia		
Lugar de muestreo:	Erquiz		
Responsable de muestreo:	Carmen Lisset Cuevas Mercado		
Código de la muestra:	1534 FQ 896	Fecha de recepción de la muestra:	2019-12-03
Cantidad recibida:	150 g	Fecha de ejecución de ensayo:	De 2019-12-03 al 2019-12-11

### III. RESULTADOS MICROBIOLÓGICO

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	LÍMITES PERMISIBLES		REFERENCIA DE LOS LÍMITES
				Min.	Max.	
Grasa	NB 313019:06	%	0,06	Sin Referencia		Sin Referencia
Humedad	NB 313010:05	%	88,55	Sin Referencia		Sin Referencia
Sólidos solubles	NB 36003:02	*Brix	7,9	Sin Referencia		Sin Referencia
pH (20°C)	NB 38028:2006		2,77	Sin Referencia		Sin Referencia

NB: Norma Boliviana

% porcentaje

- 1) Los resultados reportados se remiten a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe solo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente

Tarija, 11 de diciembre del 2019

  
Ing. Aguilid Aceituno Cáceres  
JEFE DEL CEANID



Original Cliente

Copia CEANID

Dirección: Campus Universitario Facultad de Ciencias y Tecnología Zona "El Tejar" Tel. (591) (4) 6645648  
Fax: (591) (4) 6643403 - Email: ceanid@uajms.edu.bo - Casilla 51 - TARIJA - BOLIVIA

Página 1 de 1





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA "JUAN MISAEL SARACHO"  
 FACULTAD DE "CIENCIAS Y TECNOLOGÍA"  
 CENTRO DE ANÁLISIS, INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO "CEANID"  
 Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes  
 Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos  
 Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes  
 Laboratorio Oficial del "SENASAG"



CEANID-FOR-88  
 Versión 01  
 Fecha de emisión: 2016-10-31

### INFORME DE ENSAYO

#### I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	Carmen Lisset Cuevas Mercado				
Solicitante:	Carmen Lisset Cuevas Mercado				
Dirección:	Barrio El Tejar				
Teléfono/Fax:	78250056	Correo-e:	*****	Código:	AL 010/20

#### II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Mora				
Código de muestreo:	M 1	Fecha de vencimiento:	*****	Lote:	*****
Fecha y hora de muestreo:	2020-02-19 Hr. 09:00				
Procedencia (Localidad/Prov./País):	Turumayo - Cercado - Tarija Bolivia				
Lugar de muestreo:	Mercado Campesino				
Responsable de muestreo:	Carmen Lisset Cuevas Mercado				
Código de la muestra:	044 FQ 022	Fecha de recepción de la muestra:	2020-02-19		
Cantidad recibida:	500 g	Fecha de ejecución de ensayo:	De 2020-02-19 al 2020-02-28		

#### III. RESULTADOS MICROBIOLÓGICO

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	LÍMITES PERMISIBLES		REFERENCIA DE LOS LÍMITES
				Min.	Max.	
Acidez (como ac. cítrico)	NB 229:98	%	1,11	Sin Referencia	Sin Referencia	
Azúcares totales	NB 38033:06	%	4,36	Sin Referencia	Sin Referencia	
Ceniza	NB 39034:10	%	0,47	Sin Referencia	Sin Referencia	
Densidad	NB 230:99	g/ml	0,98	Sin Referencia	Sin Referencia	
Fibra	Gravimétrico	%	1,33	Sin Referencia	Sin Referencia	
Proteína total (Nx6,25)	NB/ISO 8968-1:08	%	1,85	Sin Referencia	Sin Referencia	

NB: Norma Boliviana

ISO: International organization for standardization

% porcentaje

g/ml Gramos por muestra

- 1) Los resultados reportados se remiten a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe sólo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente

Tarija, 28 de febrero del 2020

Ing. Raúl Aceituno Cáceres  
 JEFE DEL CEANID



Original: Cliente

Copia: CEANID

Dirección: Campus Universitario Facultad de Ciencias y Tecnología Zona "El Tejar" Tel. (591) (4) 6645648  
 Fax: (591) (4) 6643403 - Email: ceanid@uajms.edu.bo - Casilla 51 - TARIJA - BOLIVIA

## Resultado de extracto de Antocianinas



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA "JUAN MISAEL SARACHO"  
FACULTAD DE "CIENCIAS Y TECNOLOGÍA"  
CENTRO DE ANÁLISIS, INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO "CEANID"  
Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes  
Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos  
Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes  
Laboratorio Oficial del "SENASAG"

CEANID-FOR 88  
Versión 01  
Fecha de emisión: 2016-10-31



### INFORME DE ENSAYO

#### I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	Carmen Lisset Cuevas Mercado				
Solicitante:	Carmen Lisset Cuevas Mercado				
Dirección:	Barrio El Tejar				
Teléfono/Fax:	78250056	Correo-e:	*****	Código:	AL 097/20

#### II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Extracto de antocianinas				
Código de muestreo:	M 1	Fecha de vencimiento:	*****	Lote:	*****
Fecha y hora de muestreo:	2020-12-02 Hr.: 12:00				
Procedencia (Localidad/Prov/ Depto):	Tarija - Cercado - Tarija - Bolivia				
Lugar de muestreo:	Laboratorio de Operaciones Unitarias "LOU - UAJMS"				
Responsable de muestreo:	Carmen Lisset Cuevas Mercado				
Código de la muestra:	507 FQ 351	Fecha de recepción de la muestra:	2020-12-02		
Cantidad recibida:	200 ml	Fecha de ejecución de ensayo:	Del 2020-12-02 al 2020-12-14		

#### III. RESULTADOS MICROBIOLÓGICO

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	LÍMITES PERMISIBLES		REFERENCIA DE LOS LÍMITES
				Min.	Max.	
Acidez (como ácido cítrico)	NB 36004:02	meq/Kg	1,09	Sin Referencia		Sin Referencia
Azúcares totales	NB 38033:06	%	3,07	Sin Referencia		Sin Referencia
Densidad relativa (20°C)	NB 230:99		0,8724	Sin Referencia		Sin Referencia
Grasa	NB 313019:06	%	0,12	Sin Referencia		Sin Referencia
Proteína total (Nx6,25)	NB/ISO 8968-1:08	%	0,22	Sin Referencia		Sin Referencia
pH (20°C)	SM 4500-H-B		4,38	Sin Referencia		Sin Referencia
Sólidos solubles	NB 36003:02	*Brix	21,1	Sin Referencia		Sin Referencia

NB: Norma Boliviana  
meq/Kg: Miliequivalente por kilogramo

ISO: Organización Internacional de Normalización  
SM: Standard Methods

%: porcentaje

- 1) Los resultados reportados se remiten a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe solo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente

Tarija, 14 de diciembre del 2020

Ing. Axelid Aceituno Cáceres  
JEFE DEL CEANID



Original: Cliente

Copia: CEANID

Dirección: Campus Universitario Facultad de Ciencias y Tecnología Zona "El Tejar" Tel. (591) (4) 6645648  
Fax: (591) (4) 6643403 - Email: ceanid@uajms.edu.bo - Casilla 51 - TARIJA - BOLIVIA

Página 1 de 1

**ANEXO C**

**PROTOCOLO PARA ANALISIS DE**

**ANTOCIANINAS**

# PROTOCOLO-DETERMINACION DE ANTOCIANINS EN LA MATERIA PRIMA

## METHANOL EXTRACTION OF ANTHOCYANINS

This is the classical method of extracting anthocyanins from plant materials. This procedure involves maceration or soaking of the plant material in methanol containing a small concentration of mineral acid (e.g., HCl). Methanol extraction is a rapid, easy, and efficient method for anthocyanin extraction. However, a crude aqueous extract with several contaminants is obtained, and methanol evaporation can result in hydrolysis of labile acyl linkages, which is aggravated by the presence of HCl.

*Additional Materials (also see Basic Protocol 1)*

Acidified methanol: 0.01% (v/v) HCl in methanol

1. Homogenize 50 g powdered plant material (accurately weighed and recorded) in 2 vol (w/v) acidified methanol. Allow it to macerate 1 hr.

*One hour should be sufficient time for anthocyanin extraction because of the high surface area of the powdered material. Materials are often allowed to extract overnight under refrigerated conditions, particularly when materials have been ground directly in the blender with acidified methanol and not previously powdered.*

2. Filter slurry through a Whatman no. 1 filter paper by vacuum suction using a Buchner funnel.
3. Reextract plant material with acidified methanol until a faint-colored extract is obtained. Pool filtrates and discard plant material.

*Three subsequent extractions should be sufficient.*

4. Transfer filtrates to a boiling flask and evaporate methanol in a rotary evaporator at 40°C under vacuum.

*The evaporating flask should be less than one-half full for efficient solvent removal. Prolonged evaporation time should be avoided to minimize pigment degradation. A marked reduction in the rate of evaporation as well as an apparent increase in viscosity is indicative that the residual liquid is mostly water.*

*If pigment isolate is to be analyzed in an aqueous system, the extract should not be taken to dryness. For some analytical applications, the sample should be taken to dryness and then dissolved in methanol or other appropriate solvent. In the latter concentration stages, azeotropic removal of water can be facilitated by addition of methanol.*

5. Make up remaining aqueous extract to a known volume with acidified deionized distilled water, water, methanol, or other appropriate solvent. If the sample is to be analyzed within 2 days, store extract at 4°C. For longer periods (up to 1 year or even longer), store at -18°C. Avoid repeated freezing and thawing.

*Extract should be made up in acidified water or water if continuing with Basic Protocol 2.*

**ALTERNATE  
PROTOCOL**

**Fuente:** (Whitaker, 2001)

## PROTOCOLO- Determinación de antocianinas totales por el método de pH diferencial.

### Fundamento teórico del método de antocianinas monoméricas totales por el método del pH-diferencial

Los pigmentos de antocianinas sufren transformaciones estructurales reversibles con un cambio en pH manifiesto por espectros de absorbancia notablemente diferentes. La forma coloreada del oxonio predomina a pH 1.0 y la forma hemiacetal incolora a pH 4.5. El método del pH-diferencial se basa en esta reacción, y permite la medida exacta y rápida de las antocianinas totales, incluso en presencia de pigmentos polimerizados degradados y otros compuestos interferentes.

### Materiales

buffer de cloruro de potasio 0.025 M, pH 1.0 (ver receta)

buffer de acetato de sodio 0.4 M, pH 4.5 (ver receta)

1. Encender el espectrofotómetro. Permitir al instrumento calentarse por lo menos 30 min antes de tomar las medidas.
2. Determinar el factor de dilución apropiado para la muestra diluyendo con el buffer de cloruro de potasio, pH 1.0, hasta que la absorbancia de la muestra a la  $\lambda_{\text{vis-max}}$  esté dentro del rango lineal del espectrofotómetro (o sea, para la mayoría de los espectrofotómetros las absorbancias deben ser menores a 1.2). Dividir el último volumen de la muestra por el volumen inicial para obtener el factor de dilución (DF; por ejemplo ver el paso 7).

*NOTA IMPORTANTE: Para no exceder la capacidad del buffer, la muestra no debe exceder 20% del volumen total.*

3. Poner a cero el espectrofotómetro con el agua destilada para todas las longitudes de onda que se usarán ( $\lambda_{\text{vis-max}}$  y 700 nm).

*Muchos espectrofotómetros permiten una corrección básica rápida para poner a cero usando la línea de ajuste de fondo.*

4. Preparar dos diluciones de la muestra, una con el buffer de cloruro de potasio, pH 1.0, y la otra con el buffer de acetato de sodio, pH 4.5, diluyendo cada una por el factor de dilución previamente determinado (paso 2). Permita que estas diluciones se equilibren por 15 min.
5. Medir la absorbancia de cada dilución a  $\lambda_{\text{vis-max}}$  y a 700 nm (para corregir por la turbidez), contra una celda blanco llena con agua destilada.

*Todas las medidas deben hacerse entre 15 min y 1 h después de preparar la muestra, ya que tiempos mayores de espera tienden a incrementar las lecturas observadas.*

*Las lecturas de absorbancia se hacen contra blancos de agua, aun cuando las muestras estén en buffer o soluciones de bisulfito, ya que la absorbancia del buffer o del bisulfito es nula en las longitudes de onda medidas. Los autores han comparado los valores obtenidos usando el agua como blanco comparado con buffer o bisulfito como blancos en sistemas diferentes y no han*



encontrado ninguna diferencia en los valores finales obtenidos para el contenido de antocianinas monoméricas y/o poliméricas; por otro lado, leer las muestras diluidas contra el buffer correspondiente y/o la solución de bisulfito consume más tiempo y extiende el procedimiento innecesariamente.

Las muestras a ser medidas deben estar claras y no contener ninguna turbidez o sedimentos; sin embargo, algunos materiales coloidales pueden suspenderse en la muestra, causando dispersión de luz y una apariencia nublada (niebla). Esta dispersión de luz necesita ser corregida leyendo a una longitud de onda donde ninguna absorbancia de la muestra ocurra, es decir, 700 nm.

7. Calcular la absorbancia de la muestra diluida ( $A$ ) como sigue:

8. 
$$A = (A_{\lambda_{\text{vis-max}} \text{ 700 pH 1.0}} - A_{\lambda_{\text{vis-max}} \text{ 700 pH 4.5}})$$

6. Calcular la concentración de pigmento de antocianina monomérica en la muestra original usando la fórmula siguiente:

7.

$$\text{Pigmento de antocianina monomérica (mg/litro)} = (A \times MW \times DF \times 1000) / (\epsilon \times l)$$

donde MW es la masa molecular, DF es el factor de dilución (por ej., si 0.2 mL de una muestra se diluyen a 3 mL, DF = 15), y  $\epsilon$  es la absorptividad molar.

*NOTA IMPORTANTE: El  $M_w$  y  $\epsilon$  usado en esta fórmula corresponde a la antocianina predominante en la muestra. Use la  $\epsilon$  reportada en la literatura para el pigmento de antocianina en el solvente acuoso ácido. Si el  $\epsilon$  del pigmento principal no está disponible, o si la composición de la muestra es desconocida, calcule el contenido del pigmento como cianidin-3-glucósido, donde  $MW = 449.2$  y  $\epsilon = 26,900$  (ver Información de Apoyo, discusión de la absorptividad molar).*

**Fuente:** (Alvarado, 2011)

## **Protocolo para la Preparación de soluciones Buffer**

### **Solución Buffer de cloruro de potasio 0,025 M pH 1**

Mezclar 1,86 g de KC y 980 ml de agua en un recipiente. Medir el pH y ajustar a 1 con HCl concentrado. Transferir a un frasco volumétrico de 1 litro y llenar con agua destilada.

La solución debe ser estable a temperatura ambiente durante unos pocos meses, pero el pH debe verificarse y ajustarse antes de su uso.

### **Solución buffer de Acetato de sodio, 0,4 M-PH 4,5**

Mezclar 54,43 g de  $\text{NaCH}_3\text{CO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  y 960 ml de agua destilada en un recipiente, medir el pH y ajustar con HCl concentrado.

La solución debe ser estable a temperatura ambiente durante unos pocos meses, pero el pH debe verificarse y ajustarse antes de su uso. (Carvallo, 2019)

**ANEXO D**

**FOTOGRAFÍAS DEL PROCESO**





Lavado y cortado de la materia prima



pesado



Medición de pH solución acidificada



Triturado de moras



Extracción con Agitación



Filtrado



(ML)Residuo primera extracción



(ML) Residuo segunda extracción



(MCM) Residuo primera extracción



(MCM) Residuo segunda extracción



Filtrado primera extracción (ML)



Filtrado segunda Extracción (ML)





Filtrado primera Extracción (MCM)



Filtrado segunda Extracción (MCM)



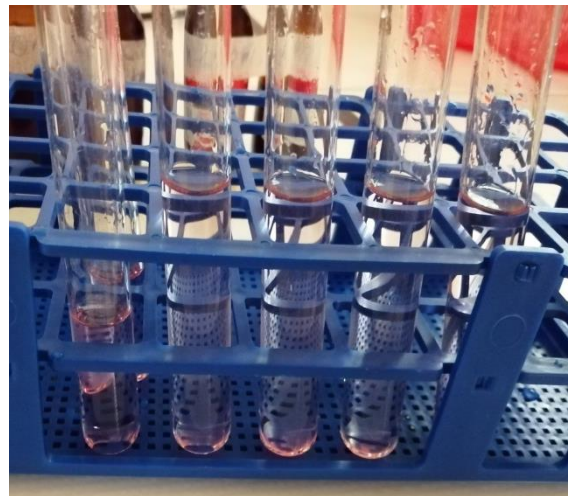
Concentración del extracto en Rota-evaporador



Extracto concentrado de Antocianinas



Muestras a pH-1



Muestras a pH-4,5