

CARACTERIZACIÓN DE LAS ANTOCIANINAS DE LOS FRUTOS DE *Berberis boliviana* Lechler

Carla Del Carpio Jiménez^{*a}, Carlos Serrano Flores^b, Mónica Giusti^c.

RESUMEN

Berberis boliviana Lechler, es una especie silvestre del Perú¹; pertenece a la familia Berberidaceae; su fruto es una pequeña baya comestible de color morado; en las diferentes zonas donde crece se le conoce como cheqche, queswa cheqche, quisca-quisca, ailampo. El análisis preliminar del pigmento determinó la presencia de antocianinas, cuyo contenido fue determinado por el método del pH diferencial, siendo de 7 g/100 g en el tejido separado de las semillas del fruto seco.

El análisis por HPLC-PDA (Cromatografía Líquida de Alta Resolución, con detector con arreglo de fotodiodos) de la muestra hidrolizada mostró la presencia de 5 aglicones: delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, las cuales fueron identificadas por comparación de los picos del cromatograma obtenido al correr simultáneamente una muestra del pigmento de los frutos de uva (*Vitis vinifera*).

El análisis por HPLC - espectrometría de masas Tandem, confirmó la presencia de 10 picos y los pesos moleculares permitieron conocer las antocianinas presentes en *Berberis boliviana* Lechler, las cuales son: delfinidina-3-glucósido, delfinidina-3-rutinósido, cianidina-3-glucósido, cianidina-3-rutinósido, petunidina-3-glucósido, petunidina-3-rutinósido, peonidina-3-glucósido, peonidina-3-rutinósido, malvidina-3-glucósido y malvidina-3-rutinósido.

La petunidina-3-glucósido fue identificada como el principal pigmento, en una concentración de 24,43%.

Esta es la primera vez que se establece el perfil de las antocianinas de *Berberis boliviana* Lechler, siendo esto último importante tratándose de una especie silvestre de nuestro país.

Palabras clave: Caracterización, antocianinas, *Berberis boliviana* L, HPLC-espectrometría de masas

CHARACTERIZATION OF *Berberis boliviana* Lechler FRUITS ANTHOCYANINS

ABSTRACT

Berberis boliviana Lechler, is a wild specie from Peru, belongs to the Berberidaceae family; the fruit is an edible purple dark berry that grows in different zones and is called as cheqche, queswa cheqche, quisca quisca, ailampo.

The preliminary analysis of the pigment determined the presence of anthocyanins, the content

^a Facultad de Ciencias Químicas, Físicas y Matemáticas, Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Av. De La Cultura 733, Cusco, Perú, carla123dc@yahoo.es.

^b Facultad de Ciencias Químicas, Físicas y Matemáticas, Carrera Profesional de Química, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Av. De La Cultura 733, Cusco, Perú.

^c Food Science & Technology Department, The Ohio State University, 110 Parker Food Science & Technology, 2015 Fyffe Road, Columbus, OH 43210-1007.

was determined by the pH differential method as a 7 g / 100g in dry fruit's seeds (epidermal tissue).

The HPLC analysis of the acid hidrolisys sample showed the presence of five aglycones: delphinidin, cyanidin, petunidin, peonidin and malvidin, which were established by comparison using a well known commodity, grape extract by comparison of the peaks.

The HPLC-MSMS analysis of the extract confirmed the presence of ten peaks and the molecular weights let us know the identity of each one, the anthocyanins present in *B. boliviana* L are delphinidin-3-glucoside, delphinidin-3-rutinoside, cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-rutinoside, petunidin-3-glucoside, petunidin-3-rutinoside, peonidin-3-glucoside, peonidin-3-rutinoside, malvidin-3-glucoside and malvidin-3-rutinoside.

The petunidina 3 glucoside was identified as the principal pigment, in a concentration of 24,43 %.

This is the first time that the profile of *B. boliviana* L. anthocyanins was established, and this is important because this is a wild specie from our country.

Key words: Characterization, anthocyanins, *Berberis boliviana* L, HPLC- mass spectrometry

INTRODUCCIÓN

Las antocianinas pertenecen a un gran y muy distribuido grupo de metabolitos secundarios, que se conocen colectivamente como flavonoides. Las antocianinas naturales más comunes son las 3-O-glicósidos y las 3,5 di-O-glicósidos².

Las antocianinas son los componentes que otorgan a las plantas colores rojos, azules, morados, particularmente en partes como frutos, flores y hojas³.

Estos pigmentos fueron consumidos por los hombres a lo largo de incontables generaciones sin causar aparentemente ningún efecto tóxico.

El interés por las antocianinas se ha incrementado debido a su potencial uso como colorantes naturales y por sus potenciales beneficios en la salud⁴.

Últimamente, la seguridad de los pigmentos sintéticos ha sido cuestionada, conduciendo a la reducción en el número de colorantes permitidos⁵.

Las antocianinas son pigmentos solubles en agua, lo que facilita su incorporación en los sistemas acuosos alimentarios⁶. Estas cualidades hacen que estos colorantes naturales sean atractivos como pigmentos naturales inocuos con considerable potencial en la industria alimentaria de productos con un rango de pH ácido.

Además de su color, se ha reportado que las antocianinas tienen beneficios para la salud como potentes antioxidantes y pueden incrementar la agudeza visual. Se ha observado también que poseen actividad antineoplásica, vasotónica, vasoprotectora, anti - inflamatoria y hepatoprotectora⁷.

En el Perú existen muchas especies silvestres, una de ellas es *Berberis boliviana* Lechler⁸, que crece especialmente alrededor de los campos de cultivo a manera de protección, debido a sus espinas grandes y filudas, sus flores son amarillas y sus frutos morados.

Existe información sobre esta especie en Perú desde tiempos de la conquista; especialmente, el cronista Bernabé Cobo describió a esta planta con el nombre común de quisca-quisca, que significa planta espinosa, con unas pequeñas flores amarillas y espinas filudas⁸, cuyos frutos dan un suave color morado cuando son usados como colorante. Asimismo, algunas tradiciones orales, sugieren que estos frutos eran usados por las ñustas durante el Incanato para lavar y cuidar sus cabellos a manera de un champú colorante natural.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

Para la investigación se recolectaron 623 g de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler, entre los meses de febrero y abril del 2004, meses en los cuales los frutos se encuentran completamente maduros y presentan la máxima coloración morada; fueron colectados en la localidad de Pata Pata, San Jerónimo, Cusco.

La planta fue identificada por comparación con especímenes del herbario Vargas CUZ de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC) por el M.Sc. Alfredo Tupayachi Herrera, habiéndose realizado el depósito de un espécimen⁹.

Antocianinas estándar y reactivos químicos

Los extractos concentrados de antocianinas comercialmente disponibles de *Vaccinium myrtillus* L. y *Aronia melanocarpa* E., fueron proporcionados por Artemis International, Inc (Fort Wayne, IN); el extracto de uva (*Vitis vinifera*) fue proporcionado por Polyphenolics, Inc (Madera, CA), y el extracto de Rabanito rojo (*Raphanus sativus*) fue proporcionado por la Dra. Mónica Giusti.

El acetonitrilo, el metanol, la acetona, el ácido fórmico usados fueron de grado HPLC y se obtuvieron de Fisher Scientific (Fair Lawn, N.J).

Métodos

Extracción del pigmento con acetona y cloroformo para la cuantificación e identificación de antocianinas por HPLC y Espectro de masas¹⁰

Los frutos secos congelados de *B. boliviana* Lechler (2,996 g) fueron separados de sus semillas; siendo licuados con una solución agua /acetona (30:70 v/v) y luego se filtró usando un embudo buchner. La torta residual del filtrado fue nuevamente re-extraída con la solución agua /acetona (30: 70 v/v) hasta obtener una solución clara. Los filtrados fueron combinados, llevados a una pera de decantación, agregándose cloroformo. La porción acuosa (parte superior) fue colectada y colocada en un rotavapor Büchi a 40°C durante 5 a 10 minutos, hasta que la acetona residual se evapora. El extracto acuoso fue llevado hasta un volumen conocido (100mL) usando agua destilada.

Cuantificación del total de antocianinas mediante el método del pH diferencial¹⁰

Las antocianinas desarrollan transformaciones estructurales reversibles con el cambio del pH manifestado por el espectro a diferentes absorbancias. La forma del oxonio coloreado 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 segura y rápidamente medir el total de antocianinas monoméricas¹¹.

Se utilizó un espectrofotómetro UV- visible Hewllet Packard 8453; las mediciones fueron realizadas a 520 (máxima longitud de onda determinada) y a 700 nm.

El contenido de antocianinas monoméricas fue calculado como cianidina-3-glucósido, usando como coeficiente de extinción molar 26 900 L cm⁻¹mg⁻¹ y como peso molecular 449.6 g L⁻¹¹⁰. Se calculó un factor de dilución de 180. Los cálculos se realizaron usando las siguientes fórmulas:

Fórmula 1. Cálculo de la absorbancia de la muestra

$$A = (A_{\lambda_{\text{vis-max}}} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{\lambda_{\text{vis-max}}} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

Fórmula 2. Cálculo del contenido de antocianinas

$$\text{Contenido de antocianinas (p/p)} = \left(*A \times MW \times DF \times VWt \right) / (\epsilon \times l)$$

*A = Absorbancia de la muestra

MW = Peso molecular de la cianidina-3-glucósido (449,6 g/L)

DF = Factor de dilución (180)

V = Volumen final en mL

Wt = Peso de la muestra en mg

ϵ = Absortividad molar de la cianidina-3-glucósido (26 900 L cm⁻¹mg⁻¹)

l = Grosor de la cubeta (1cm)

Hidrólisis ácida de las antocianinas. Método para la determinación de los aglicones (antocianidinas)¹⁰.

El objetivo de este método es obtener los aglicones, por separación de los azúcares y otras sustancias como ácidos ligados a la estructura antocianina, con el único propósito de identificar las antocianidinas presentes en el pigmento.

En un tubo de ensayo, se disolvió el extracto acuoso acidificado (1mL) con 10 mL de HCl 4N; se puso en contacto el contenido con gas nitrógeno y se tapó herméticamente. El pigmento fue hidrolizado durante 45 minutos a 100°C, luego se enfrió en un baño de hielo. El hidrolizado fue purificado usando un cartucho C-18.

Determinación de las antocianinas por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-PDA)¹²

El HPLC es el método más común para realizar el análisis de antocianinas. La muestra fue semipurificada usando un cartucho C-18 y la fracción fenólica (conteniendo antocianinas) fue eluida con metanol acidificado con HCl 1%; se evaporó el metanol en un rotavapor Büchi, se utilizó agua acidificada con HCl 0,01% para lograr un volumen conocido y se filtró usando un filtro de polipropileno Whatman de 0,45 m antes de la inyección en el equipo HPLC. La separación de las antocianinas se llevó a cabo en una columna C-18 Waters Symmetry (4,6mm x 150mm, 3,5m) usando un sistema HPLC que constaba de un módulo de separación Waters 2695, equipado con un detector con arreglo de fotodiodos (PDA) Waters 2996, un software Empower y un automuestreador Waters 717 plus.

El rango de flujo fue de 0,8 mL/min; la fase móvil: A, ácido fórmico al 10% en agua grado HPLC; B, acetonitrilo; la gradiente utilizada fue: 0-1 min 95% A y 5% de B; 2 min 90% A y 10% B; 20 min 80% A y 20% B y a los 25 min 95% A y 5% B.

Se realizó una detección simultánea a las longitudes de onda: 520 nm para antocianinas, 280 nm para compuestos fenólicos y a 320 nm para ácidos cinámicos.

La identificación de los picos de las antocianinas fue realizado en base a la comparación de los cromatogramas y tiempos de retención de los extractos concentrados de antocianinas de las especies *Vaccinium myrtillus* (arándanos) y *Aronia melanocarpa* (Chokeberry), corridos bajo las mismas condiciones especificadas anteriormente.

Determinación de antocianinas por HPLC - MS/MS (Espectro de masas tandem)^{12,13}

La espectrometría de masas se basa en la medida directa de la relación de la masa con el número de cargas elementales positivas o negativas de los iones (m/z) en la fase gaseosa

obtenida de la sustancia a analizar. Esta relación se expresa en unidades de masa atómica (u), (1u= la doceava parte de la masa de un átomo de carbono 12) o en daltons (1 Da= a la masa del átomo de hidrógeno).

En este estudio se han utilizado, el análisis del ion precursor, análisis del producto iónico, análisis de pérdida neutral común y la monitorización selectiva de reacción, que son parte de la espectrometría de masas tandem (MS-MS), la cual tiene la ventaja de lograr dos separaciones de los componentes de la muestra, siendo ambas separaciones iónicas; debido a esta especificidad, esta técnica es usada para lograr análisis cuantitativos de analitos en mezclas simples en cuestión de minutos sin necesidad de una separación cromatográfica u otro tratamiento químico que elimine interferentes.

La caracterización de cada una de las antocianinas se realizó utilizando la monitorización selectiva de reacción (SRM), y el análisis del ion precursor, el cual detecta todos los iones precursores en una muestra que se fragmenta como un producto iónico común en tanto que el análisis de pérdida neutral común detecta aquellos iones precursores que se fragmentan para producir iones con una diferencia común en *mz* producida por la pérdida de un fragmento característico de un producto o de una familia de compuestos¹⁴.

La separación de las antocianinas fue llevada a cabo en una columna C-18 Waters Symmetry (4,6 x 75 mm, 3,5m); se usó un túnel de triple cuadrupolo (Quattro Ultima, Micromass, UK Limited, Manchester, UK). El rango de flujo del HPLC se estableció en 1 mL/min, la fase móvil: A, ácido fórmico al 10%; B, acetonitrilo; la gradiente usada; 0-20 min, 100%-85% A; 20-25 min, 85%-100% A. El espectro de absorción de las antocianinas fue realizado en el rango 200 – 600 nm. Los espectros de masas fueron obtenidos usando la Monitorización Selectiva de Iones (SIM). Aproximadamente 100 L del eluato del HPLC fueron separados por una microválvula y se depositaron en la fuente ESI. El cuadrupolo fue operado según las siguientes condiciones: Voltaje capilar 3,2 kV, voltaje de cono 35 V, RF lense 1,50 V, temperatura del gas de desolvación 500°C con un flujo de 269 L/h, temperatura de la fuente 105°C, presión de colisión de gas (argón) 7 psi; la energía de colisión fue establecida en 25 eV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

-Cuantificación del total de antocianinas mediante el método del pH diferencial

Las antocianinas se encuentran en una concentración en peso de 7g / 100g de fruto seco separado de las semillas de *Berberis boliviana* Lechler, sabiendo que los frutos frescos presentan un contenido de humedad de 56,30%, pudimos realizar una aproximación al contenido de antocianinas en tejido epidérmico fresco, siendo de 1 500 mg/100g de frutos.

El contenido en antocianinas en estos frutos es bastante alto comparado con algunas otras fuentes ricas en antocianinas como **arándanos** (*Vaccinium myrtillus*) que son una fuente muy conocida y con un alto contenido en antocianinas (300 – 320 mg/100g de fruto fresco), **saúco** (*Sambucus nigra*) que tiene 450 mg / 100g de fruto fresco⁽¹⁰⁾, se puede concluir que los frutos de *Berberis boliviana* Lechler constituyen una fuente bastante rica de antocianinas.

De la hidrólisis ácida del pigmento de *Berberis boliviana* Lechler . Método para la determinación de aglicones (antocianidinas).

Al someter el hidrolizado a un análisis HPLC, se verificó la presencia de **5 aglicones**; simultáneamente, se realizó la hidrólisis y posterior análisis HPLC de dos extractos concentrados de antocianinas, *Vitis vinifera* (Uva) y *Raphanus sativus* L. (rabanito rojo) para tener patrones de comparación que nos ayuden a identificar los picos del cromatograma. Todas las muestras fueron analizadas bajo las mismas condiciones.

Al comparar los cromatogramas (figura 1), el perfil de elución de las antocianidinas presentes

en los frutos de *Berberis boliviana* Lechler, coincide exactamente con el de los frutos de *Vitis vinifera*, que es una fuente muy conocida y bien estudiada de 5 aglicones, a saber, cianidina, delphinidina, malvidina, peonidina y petunidina, en tanto que la antocianidina presente en *Raphanus sativus*, la pelargonidina, no se encuentra presente ni en *Berberis boliviana* L ni en *Vitis vinifera*; los 5 aglicones identificados son: **delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina.**

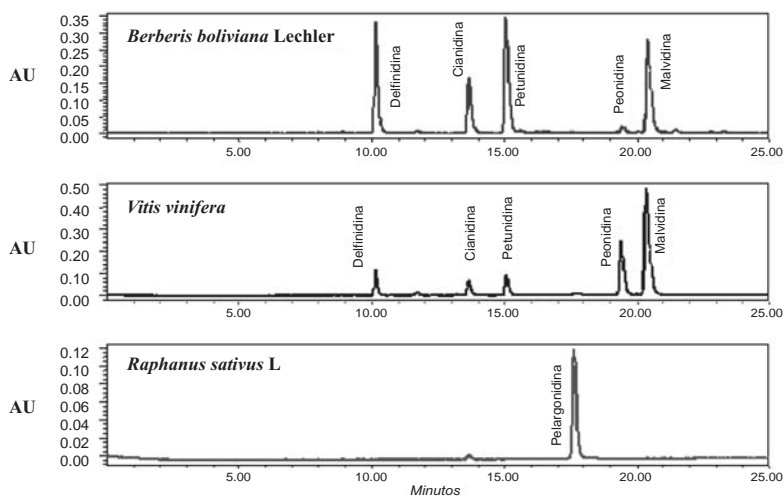


Figura 1. Cromatogramas de comparación obtenidos a 520nm de las especies *Berberis boliviana* Lechler; *Vitis vinifera* y *Raphanus sativus* L. Perfiles obtenidos luego de haber realizado la hidrólisis ácida correspondiente. En la especie *Vitis vinifera*, se encuentran 5 antocianidinas y en *Paphanus sativus* L. existe una sola antocianidina.

Solo las antocianidinas de *Vitis vinifera* están presentes en *Berberis boliviana* Lechler.

- De la determinación de antocianinas por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-PDA)

Se obtuvieron cromatogramas a diferentes longitudes de onda, 280nm, 320nm y 520nm con la finalidad de determinar compuestos fenólicos, ácidos hidroxicinámicos y antocianinas, respectivamente, como se muestra en la figura 2.

La separación por HPLC del extracto purificado de antocianinas de *Berberis boliviana* Lechler mostró la presencia de 10 antocianinas (figura 3).

Al comparar los cromatogramas (B) y (C) de la figura 2, correspondientes a 520 nm y 280 nm, respectivamente, se verifica que las antocianinas serían los únicos compuestos fenólicos presentes en los frutos de *Berberis boliviana* Lechler, debido a que no existen diferencias significativas entre ambos cromatogramas; este hecho es sumamente importante debido a que se trataría de una fuente natural de composición exclusivamente antocianina; asimismo, la cantidad de ácidos hidroxicinámicos es muy pequeña, pues como se muestra en el cromatograma (A) presentan absorbancias muy reducidas, menores de 0,1AU (Unidades de Absorbancia), demostrándose su baja concentración.

Para determinar la identidad de los picos presentes en el cromatograma obtenido, fue necesario utilizar extractos concentrados de antocianinas de *Vaccinium myrtillus* y *Aronia melanocarpa*, los cuales fueron corridos bajo las mismas condiciones, ambas especies tienen

3 azúcares diferentes unidos a sus antocianinas, galactosa, glucosa y arabinosa, la comparación de los cromatogramas determinó que, uno de los azúcares presentes en el pigmento de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler, es la glucosa (figura 4), asimismo, se pudieron identificar sólo 5 antocianinas como se muestra en los cromatogramas de la figura 5, estas son: delfinidina-3-glucósido, cianidina-3-glucósido, petunidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido y malvidina-3-glucósido.

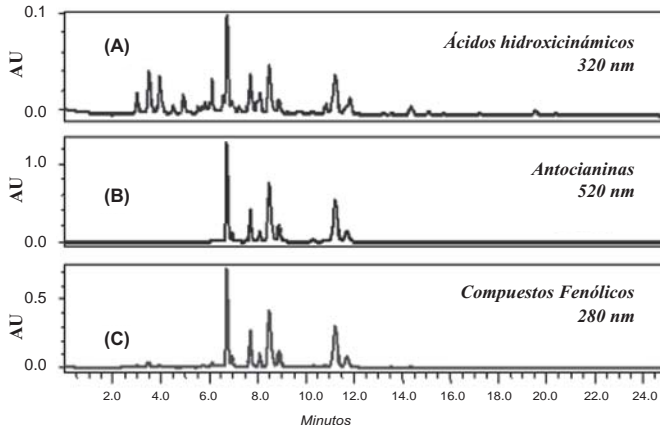


Figura 2. Los cromatogramas obtenidos a diferentes longitudes de onda, nos muestra que las antocianinas presentes en los frutos de *Berberis boliviana* Lechler, están casi puras, debido a que a 280nm (C), que es longitud de onda a la cual se pueden identificar otros componentes fenólicos sólo aparecen las antocianinas, por lo que se puede considerar a estos frutos como una fuente casi pura de antocianinas.

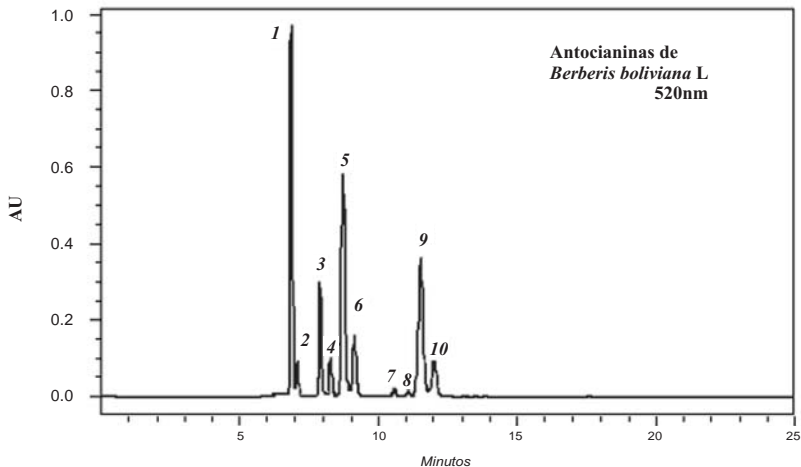


Figura 3. Cromatograma desarrollado en el equipo de HPLC, en el cual se observan 10 picos importantes, que representan a las 10 antocianinas presentes en *Berberis boliviana* Lechler

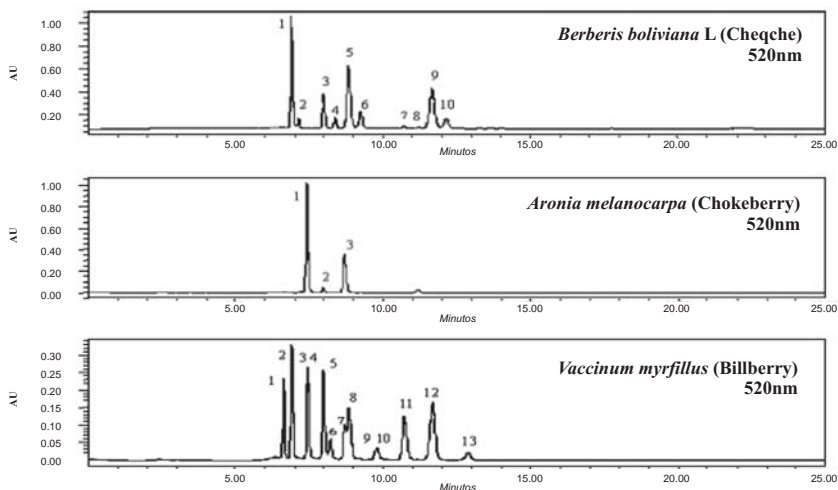


Figura 4. Cromatogramas de comparación de las especies *Berberis boliviana* Lechler, *Aronia melanocarpa* y *Vaccinium myrtilus* a 520nm.

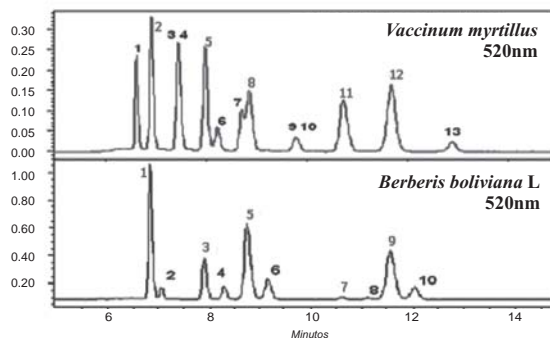


Figura 5. Cromatogramas de comparación obtenidos a 520nm de las especies *Vaccinium myrtilus* (13 antocianinas, detalladas en la Tabla N° 4.9) y *Berberis boliviana* Lechler (10 antocianinas). Perfiles obtenidos luego de haber realizado la correspondiente corrida cromatográfica bajo las mismas condiciones de columna para ambas especies. La comparación sirvió para identificar el azúcar (glucosa) y la correspondiente antocianina en *Berberis boliviana* Lechler, como se muestra, los picos 1, 3, 5, 7 y 9, coinciden con los picos 2, 5, 8, 11, y 12 respectivamente.

De la determinación de antocianinas por HPLC-MS/MS (Espectro de masas tandem)

El **pico 1**, tiene un ion molecular (M^+) a m/z 465 y un ion de fragmentación a m/z 303 el cual corresponde a la delphinidina, habiendo pérdida de una masa molecular de 162, que corresponde a una unidad glucosilo, por lo que se concluye que el pico 1 corresponde a la **delphinidina-3-glucósido**. El **pico 2**, tiene un ion molecular (M^+) a m/z 611 y evidencia de la presencia de una delphinidina a m/z 303, habiendo pérdida de una masa molecular de 308, lo que corresponde a la ruptura de un ramnosilo y de un glucosilo, que corresponde a la masa molecular de una rutinosa, siendo esta la **delphinidina-3-rutinósido**. El **pico 3**, mostró un ion molecular (M^+) a m/z 449 y la presencia de una cianidina por el fragmento iónico a m/z 287,

habiendo pérdida de una masa molecular de 162, lo que corresponde a una unidad glucosilo, identificándose la **cianidina-3-glucósido**. El **pico 4**, con un ion molecular (M^+) a m/z 595 y un ion de fragmentación a m/z 287, lo que corresponde a una cianidina, se observa la pérdida de una masa molecular de 308, que corresponde a la ruptura de una unidad de ramnosilo y glucosilo, siendo la antocianina presente la **cianidina-3-rutinósido**. El **pico 5**, con un ion molecular (M^+) de m/z 479 y un ion de fragmentación de 317 que corresponde a una petunidina, observándose pérdida de una masa molecular de 162, identificándose la **petunidina-3-glucósido**. El **pico 6**, tiene un ion molecular (M^+) m/z 625 y un ion de fragmentación a m/z 317, que corresponde a la petunidina, observándose pérdida de una masa molecular de 308, correspondiendo a una rutinosa, siendo la antocianina identificada la **petunidina-3-rutinósido**. El **pico 7**, con un ion molecular (M^+) m/z 463 y un ion de fragmentación m/z 301 que corresponde a la peonidina, mostrando la pérdida de una masa molecular de 162, siendo la antocianina identificada la **peonidina-3-glucósido**. El **pico 8**, con un ion molecular (M^+) m/z 609 y un ion de fragmentación a m/z 301, que corresponde a la peonidina, habiendo una pérdida de masa molecular de 308, que corresponde a una unidad de rutinosa, siendo la antocianina presente la **peonidina-3-rutinósido**. El **pico 9**, con un ion molecular (M^+) m/z 493 y un ion de fragmentación a m/z 331, que corresponde a la malvidina, observándose además la pérdida de una masa molecular de 162, determinándose la **malvidina-3-glucósido**. El **pico 10**, con un ion molecular (M^+) m/z 639 y un ion de fragmentación m/z de 331 que corresponde a la malvidina, observándose la pérdida de una masa molecular de 308, que corresponde a una rutinosa, determinándose la **malvidina-3-rutinósido**. (figura 6).

En algunos casos en los que los pesos moleculares son idénticos y no se puede distinguir entre uno y otro, es necesario acudir a un método que nos pueda aclarar la identidad de las sustancias; por ejemplo, tanto glucosa como galactosa, son azúcares presentes en una gran cantidad de antocianinas, tienen el mismo peso molecular, por lo que a través de un espectro de masas es imposible diferenciarlos, en nuestro caso la diferenciación fue posible gracias al análisis HPLC utilizando extractos concentrados de antocianinas de variedades conocidas y cuyos perfiles antocianínicos están bien establecidos, constituyendo éste un método rápido, sencillo y barato de identificación.

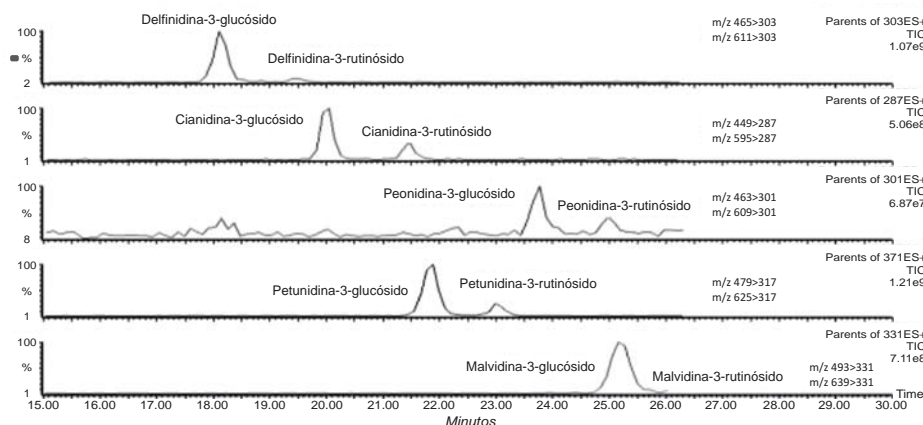


Figura 6. LC-ESI/MS/MS (Liquid chromatography - electrospray ionization - mass spectrometry) de las antocianinas presentes en el extracto de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler, usando la monitorización selectiva de la reacción (SMR).

CONCLUSIONES

- El pigmento de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler presenta un contenido en antocianinas monoméricas de 7g/100g de frutos secos separados de las semillas, estando casi puras pues las cantidades de otros componentes fenólicos son mínimas.
- Las antocianinas identificadas por HPLC-MS/MS (espectro de masas tandem) y por comparación con el cromatograma del extracto concentrado de antocianinas de *Vaccinium myrtillus*, son: delfinidina-3-glucósido en un 23,43%, delfinidina-3-rutinósido en un 2,65%, cianidina-3-glucósido en un 10,16%, cianidina-3-rutinósido en un 3,75%, petunidina-3-glucósido en un 24,21%, petunidina-3-rutinósido en un 7,15%, peonidina-3-glucósido en un 1,12%, peonidina-3-rutinósido en un 0,94%, malvidina-3-glucósido en un 21,64% y malvidina-3-rutinósido en un 4,95%.

AGRADECIMIENTO

Mi reconocimiento y agradecimiento al Dr. Steven Schwartz, por haber autorizado el desarrollo de este trabajo de investigación en los laboratorios de la Facultad de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Ohio State Univeristy, Ohio, USA.

Mi profundo agradecimiento a la Dra. Mónica Giusti, compatriota, que realiza docencia en dicha casa de estudios y quien asumió la responsabilidad de guiarme mientras realizaba la pasantía, y al Mgt. Carlos Serrano Flores, por la asesoría y orientación brindada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Brako, L; Zarucchi, J.L; Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Perú, Vol. 45, Missouri Botanical Garden, 1993.
2. Cao, Guohua; Muccitelli, Helen,U; Sanchez Moreno, Concepción; Prior, Ronald,L, Anthocyanins are absorbed in glycated forms in elderly women : A pharmacokinetic study. *The American Journal of clinical nutrition*, 73(5): 920-962. 2001.
3. Rein, Maarit, 2002, Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins (Academic Dissertation) EKT series 1331. University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology, 2005.
4. Giusti, M.M; Rodriguez-Saona, L y Wrolstad, R.E; Molar absorptivity and color characteristics of acylated and non acylated Pelargonidin-based anthocyanins; *J.Agric.Food Chem.*,47,4631-4637, 1999a
5. Feakes, D.M ; Giusti, M.M; Feasibility of the use of acylated anthocyanins to color low-acid dairy products, 2003 IFT Annual Meeting – Chicago, 2003.
6. Mozetic, Branka ; Trebse, Polonca ; Hribar, Janez., Determination and Quantitation of anthocyanins and hydroxycinnamic acids in different cultivars of sweet cherries (*Prunus avium* L) from Nova Gorica region (Slovenia), *J. Food Technol. Biothechnol*, 40(3)207-212, 2002.
7. Jin – Ming Kong, Lian – Sai Chia; Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* 64, 923-933, Pergamon, 2003.
8. Yacovleff And Herrera F.L., El mundo vegetal de los antiguos peruanos, Revista del Museo Nacional, Tomo IV N° 1, 1er semestre, pág.501, 1935.
9. Del Carpio Jiménez, Carla, Estudio del colorante de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler “Cheq’che”, Tesis para optar al grado académico de Magíster en Ciencias, mención Química, especialidad Productos Naturales en la Escuela de Post Grado de la UNSAAC, 2006.

10. Wrolstad, Ronald E; Acree, Terry E., Current Protocols in food analytical chemistry, volumen 1; John Wiley and Sons Inc, F1.1.1-F1.3.9., 2001.
11. Giusti, M.M y Wrolstad, R.E.; Characterization of red radish anthocyanins. *J.Food Sci.* 61(2):322-326, 1996.
12. Hong, V. And Wrolstad, R.E; Use of HPLC separationphotodiode array detection for characterization of anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 38: 708-715, 1990.
13. Giusti, M.M; Rodríguez Saona, Luis E; Griffin, Donald, Wrolstad, Ronald E; Electrospray and tandem mass spectroscopy as tools for anthocyanins characterization, *J. Agric. Food Chem.* 47, 4657-4664, 1999b.
14. Real Farmacopea Española, Suplemento 2.2, segunda edición; 40-42.