

UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCABELICA

(Creada por Ley N° 25265)



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

TESIS

**“ESTUDIO DEL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS Y CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE DEL FRUTO DE MACHA MACHA (*Vaccinium
floribundum Kunth*) DURANTE LA MADURACION”**

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

CIENCIA Y TECNOLOGIA DE PROYECTOS AGROINDUSTRIALES

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

PRESENTADO POR

LLIMPE PEREZ, PETER

HUANCABELICA, 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCABELICA

(Creada por Ley N° 25265)



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

TESIS

**“ESTUDIO DEL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS Y CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE DEL FRUTO DE MACHA MACHA (*Vaccinium
floribundum Kunth*) DURANTE LA MADURACION”**

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

CIENCIA Y TECNOLOGIA DE PROYECTOS AGROINDUSTRIALES

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

PRESENTADO POR

LLIMPE PEREZ, PETER

HUANCABELICA, 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL HUANCAMELICA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

ACTA DE SUSTENTACION O APROBACION DE UNA DE LAS MODALIDADES DE TITULACION

En la Ciudad Universitaria "Común Era"; auditorio de la Facultad de Ciencias Agrarias, a los 16 días del mes de Mayo del año 2017, a horas 3:30 p.m., se reunieron; el Jurado Calificador, conformado de la siguiente manera:

Presidente: M. Sc. Roberto Carlos CHUQUILIN GOICOCHEA

Secretario: Ing. Jimmy Pablo ECHEVARRIA VICTORIO

Vocal: Ing. Perfecto CHAGUA RODRIGUEZ

Designados con resolución N° 052-2017; del: proyecto de investigación. Titulado:

"ESTUDIO DEL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL FRUTO DE MACHA MACHA (*Vaccinium floribundum Kunth*) DURANTE LA MADURACION"

Cuyo autor es el graduado:

BACHILLER: Peter Llimpe Pérez.

Asesorado por. Mtro. Alfonso RUIZ RODRIGUEZ

Co-Asesor Ing. Franklin ORE ARECHE.

A fin de proceder con la evaluación y calificación de la sustentación del: proyecto de investigación.

Finalizado la evaluación; se invitó al público presente y al sustentante abandonar el recinto; y, luego de una amplia deliberación por parte del jurado, se llegó al siguiente el resultado:

APROBADO ☒ POR MAYORIA

DESAPROBADO ☐

En conformidad a lo actuado firmamos al pie.

M. Sc. Roberto Carlos CHUQUILIN GOICOCHEA

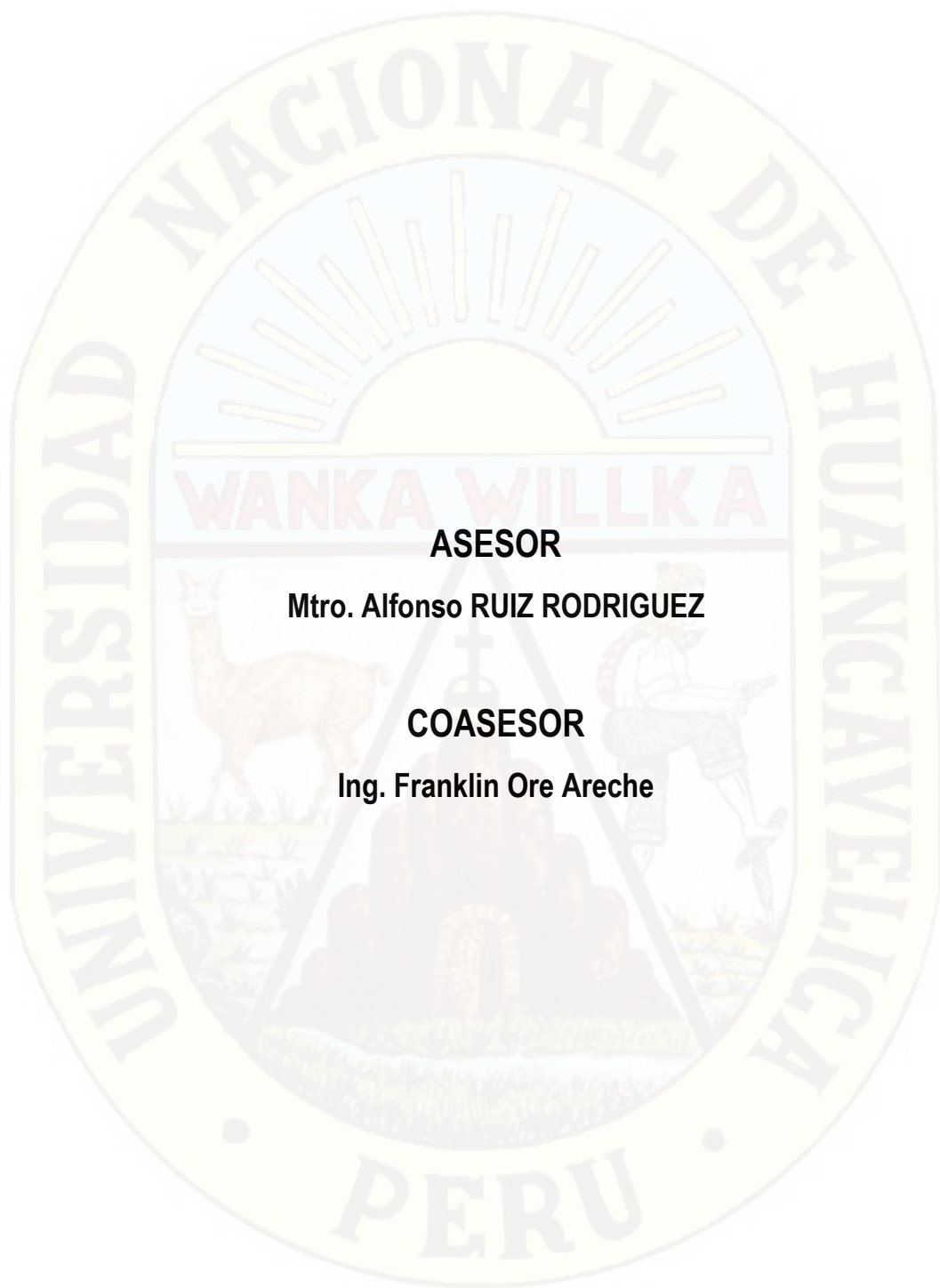
PRESIDENTE

Ing. Jimmy Pablo ECHEVARRIA VICTORIO

SECRETARIO

Ing. Perfecto CHAGUA RODRIGUEZ

VOCAL

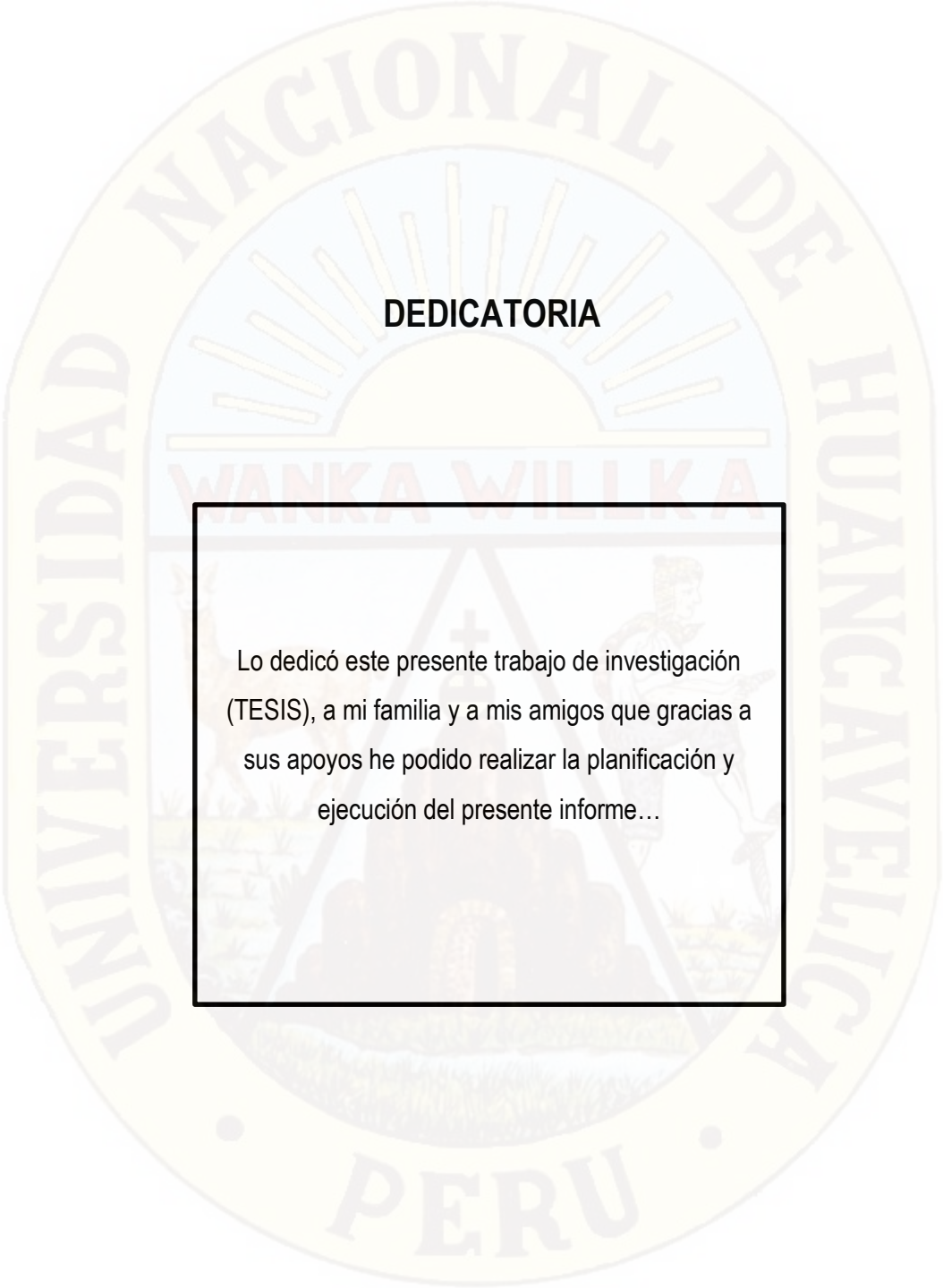


ASESOR

Mtro. Alfonso RUIZ RODRIGUEZ

COASESOR

Ing. Franklin Ore Areche

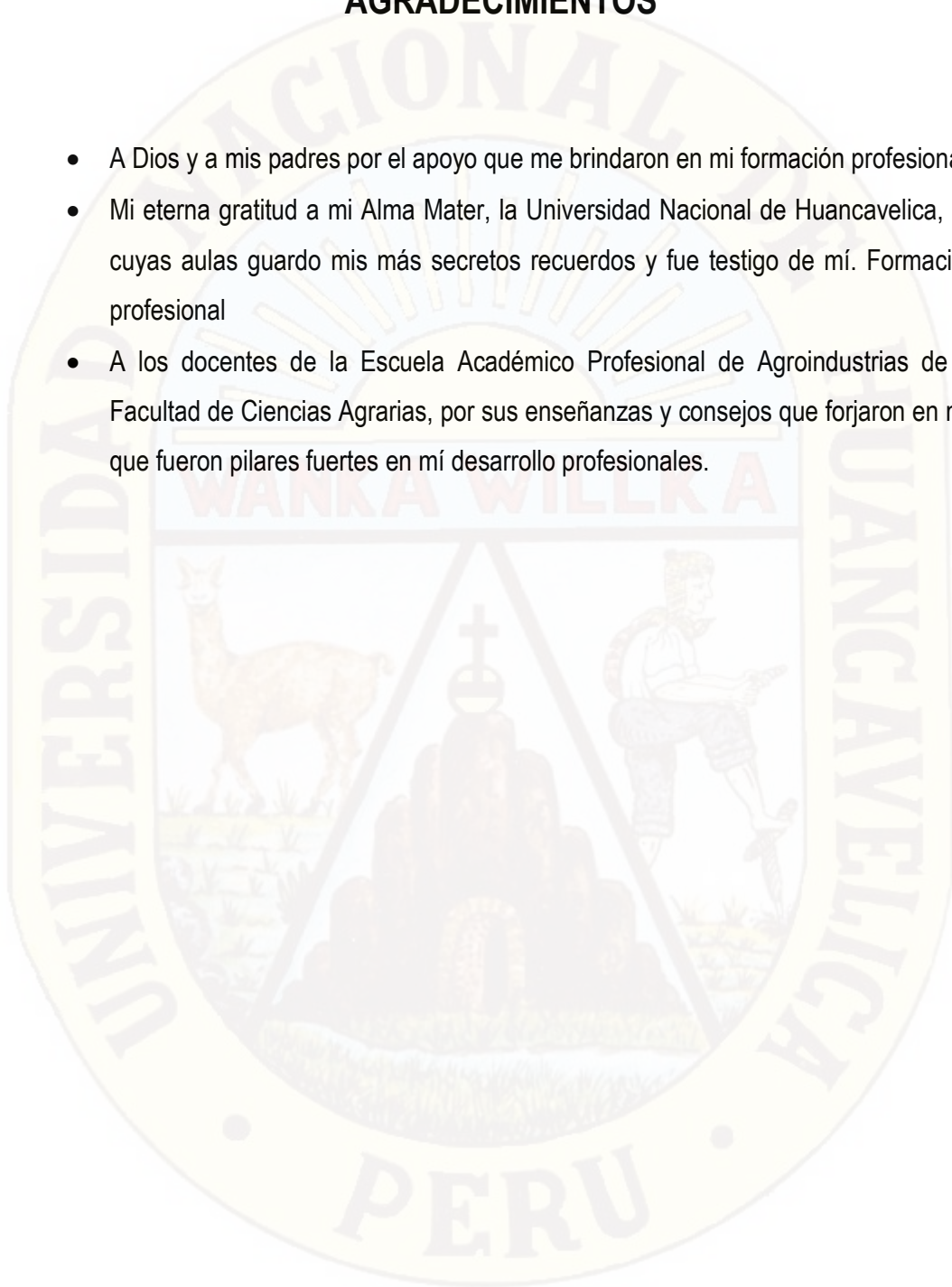


DEDICATORIA

Lo dedicó este presente trabajo de investigación (TESIS), a mi familia y a mis amigos que gracias a sus apoyos he podido realizar la planificación y ejecución del presente informe...

AGRADECIMIENTOS

- A Dios y a mis padres por el apoyo que me brindaron en mi formación profesional.
- Mi eterna gratitud a mi Alma Mater, la Universidad Nacional de Huancavelica, en cuyas aulas guardo mis más secretos recuerdos y fue testigo de mí. Formación profesional
- A los docentes de la Escuela Académico Profesional de Agroindustrias de la Facultad de Ciencias Agrarias, por sus enseñanzas y consejos que forjaron en mí, que fueron pilares fuertes en mi desarrollo profesionales.



RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el contenido de antocianinas y la capacidad antioxidante del fruto de Macha macha (*Vaccinium floribundum Kunth*) en tres estados de maduración, una especie silvestre del Perú, cuyas potencialidades hasta ahora se desconocían. Se analizó el contenido de antocianinas totales por el método pH diferencial, y se halló: 0.519, 4.242 y 10.532 mg de Cianidina/g de muestra en estado verde, pintón y maduro, respectivamente. En estado maduro se presentó mayor contenido.

La actividad antioxidante fue evaluada por el método radical DPPH, y se obtuvo valores de 569.3637, 550.1427 y 323.9630 Umol TE/g muestra en estado verde, pintón y maduro, respectivamente. El verde presentó una mayor capacidad antioxidante.

El análisis de características fisicoquímicas del fruto de macha macha en estado maduro presento: pH 4.67, humedad 84.760%, acidez (expresado como ácido cítrico) 0,028, grasa 0.536%, proteína 0.897%, cenizas 0.478%, carbohidratos totales 13.329%.

Estos resultados revelan al fruto de macha macha como promisorio, para su aprovechamiento agroindustrial como fuente importante de antocianinas y antioxidantes.

Palabras claves: Macha macha, antocianinas, antioxidantes.

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the anthocyanin content and the antioxidant capacity of Macha macha fruit (*Vaccinium floribundum* Kunth) in three stages of maturation, a wild species from Peru, whose potentialities were unknown until now. The content of total anthocyanins was analyzed by the differential pH method, and it was found: 0.519, 4.242 and 10.532 mg of Cyanidin / g of sample in green, pinton and mature state, respectively. In mature state there was more content.

The antioxidant activity was evaluated by the DPPH radical method, and values of 569.3637, 550.1427 and 323.9630 Umol TE / g were obtained in the green, pinton and mature state, respectively. The green presented a greater antioxidant capacity.

The analysis of physicochemical characteristics of the macha fruit in mature state presented: pH 4.67, humidity 84.760%, acidity (expressed as citric acid) 0.028, fat 0.536%, protein 0.897%, ash 0.478%, total carbohydrates 13.329%.

These results reveal the fruit of macha macha as promising, for its agroindustrial use as an important source of anthocyanins.

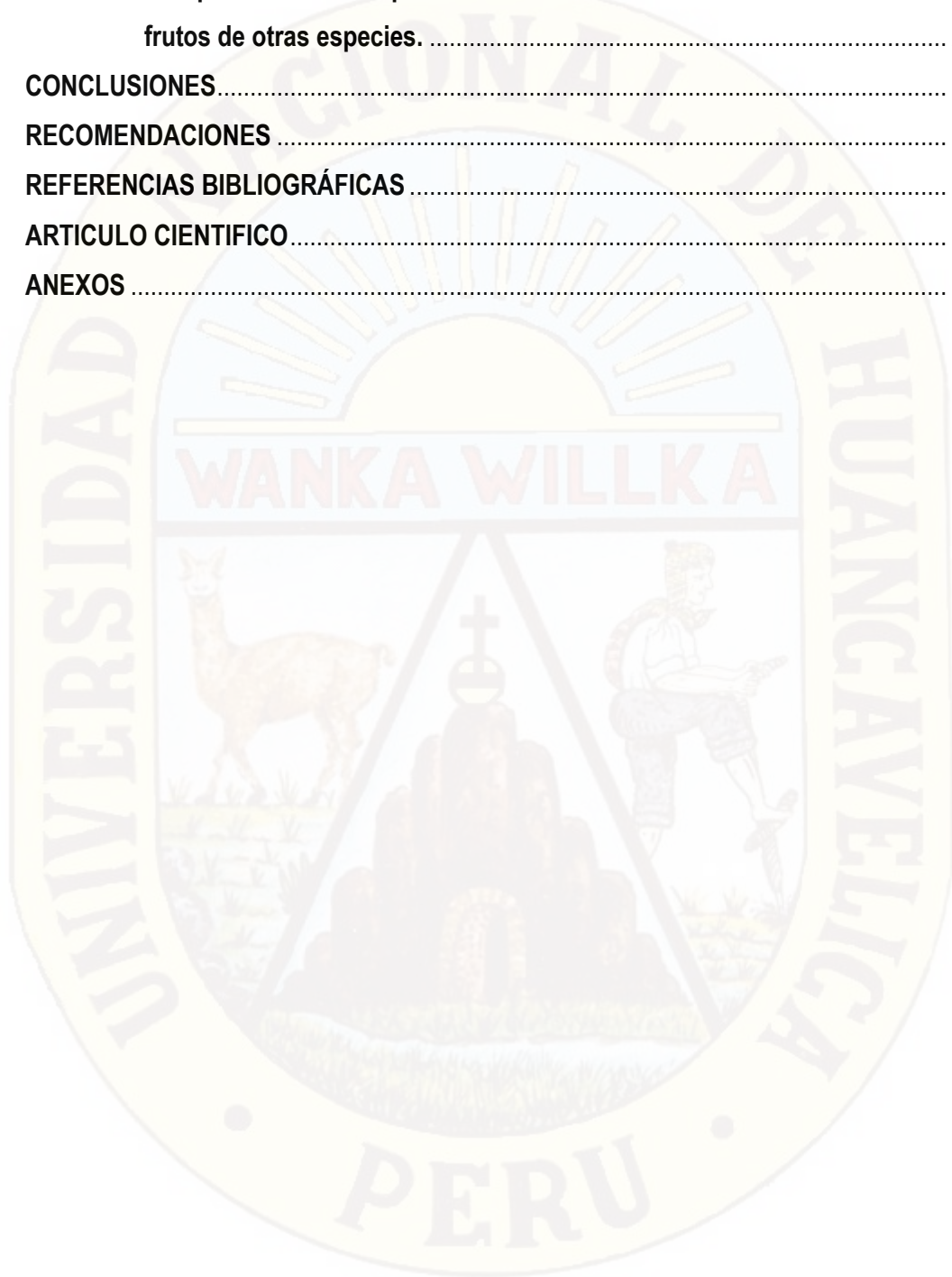
Key words: Macha macha, anthocyanins, antioxidants.

INDICE

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
CAPITULO I: PROBLEMA.....	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.	2
1.3. OBJETIVO: GENERAL Y ESPECÍFICOS.....	2
1.3.1. Objetivo general.....	2
1.3.2. Objetivo específico.....	2
1.4. JUSTIFICACIÓN	3
1.4.1. Científico	3
1.4.2. Social.....	3
1.4.3. Económico	3
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO	4
2.1. ANTECEDENTES	4
2.2. BASES TEÓRICAS.....	7
2.2.1. Macha macha (<i>Vaccinium floribundum Kunth</i>).....	7
2.2.1.1. Origen y distribución.....	7
2.2.1.2. Taxonomía y morfología de la Macha macha	8
2.2.1.3. Descripción botánica.....	8
2.2.1.4. Requerimientos para su producción.....	8
2.2.1.5. Morfología del fruto	9
2.2.2. Antioxidante.....	9
2.2.2.1. Mecanismos de acción antioxidante.....	9
2.2.3. Generalidades de la Antocianina	10
2.2.3.1. Estructura química y color de las antocianinas.....	12
2.2.3.2. Distribución.....	14
2.2.3.3. Biosíntesis.....	15
2.3. HIPÓTESIS.....	16
2.4. VARIABLES DE ESTUDIO.	16
2.4.1. Variables independientes:	16

2.4.2. Variables dependientes:	16
CAPITULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	17
3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO	17
3.1.1. Ubicación Política	17
3.1.2. Ubicación Geográfica	17
3.1.3. Factores Climáticos	17
3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN	17
3.3. NIVEL DE INVESTIGACIÓN	17
3.4. MÉTODO DE INVESTIGACIÓN	18
3.5. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	18
3.6. POBLACIÓN, MUESTRA, MUESTREO.	19
3.6.1. Población.	19
3.6.2. Muestra.	19
3.6.3. Muestreo.	19
3.7. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.	19
3.8. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	20
3.9. TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS	20
3.9.1. Estudios a realizar	20
CAPITULO IV: RESULTADOS	22
4.1. PRESENTACIÓN DE RESULTADO	22
4.1.1. Análisis fisicoquímico del fruto de macha macha en estado maduro.	22
4.1.2. Determinación de antocianinas del fruto de macha macha por el método pH diferencial.	23
4.1.3. Determinación de capacidad antioxidante por el método DPPH del fruto de macha macha.	24
4.2. DISCUSIONES	24
4.2.1. Cuantificación de características fisicoquímicas en el fruto de macha macha.	24
4.2.2. Comparación del contenido de antocianinas totales del fruto de macha macha con otras frutas del genero vaccinium.	25

4.2.3. Comparación de la capacidad antioxidante del fruto de macha macha con frutos de otras especies.	26
CONCLUSIONES.....	28
RECOMENDACIONES	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
ARTICULO CIENTIFICO.....	42
ANEXOS	50



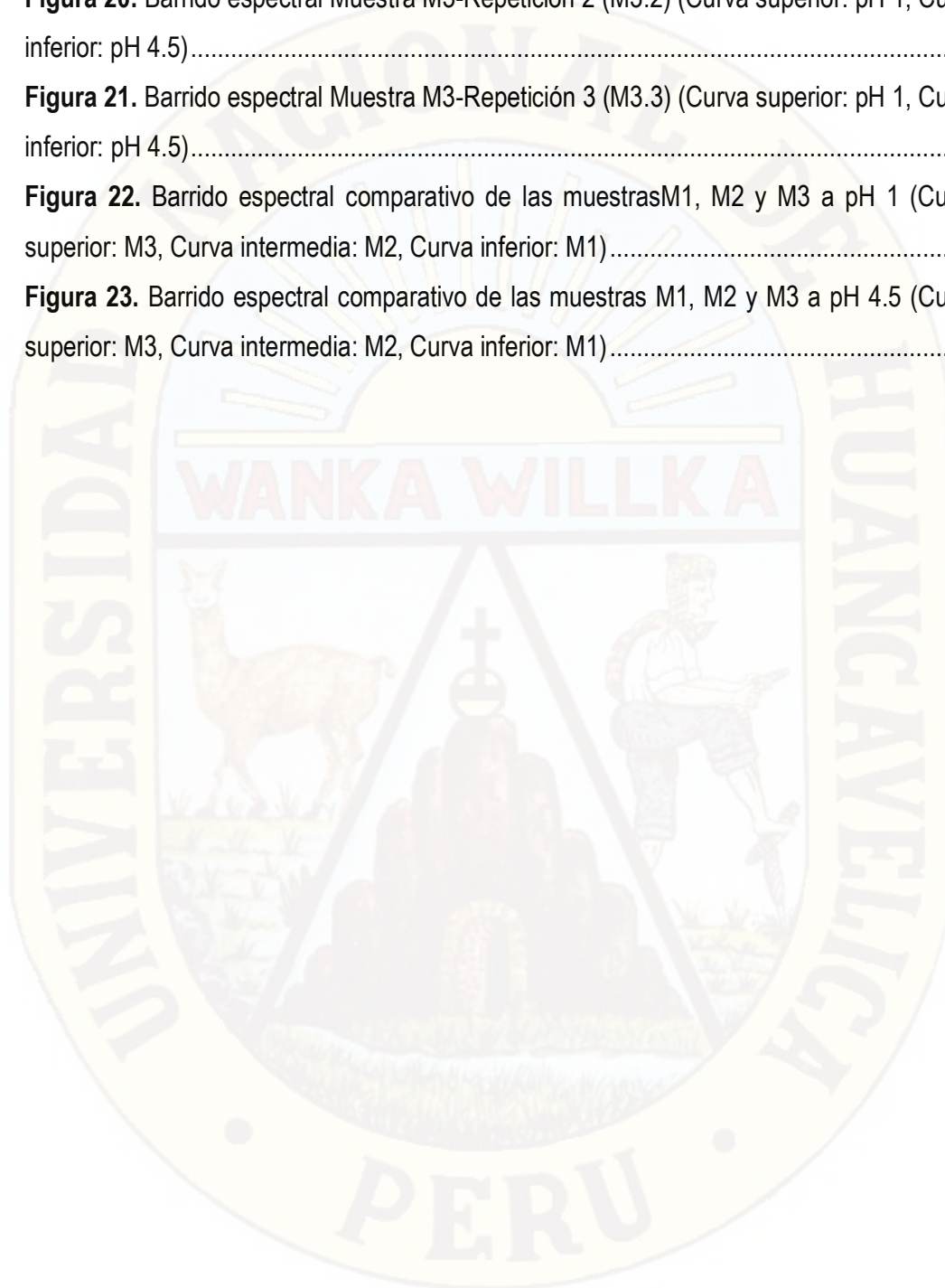
INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sustituyentes de las antocianinas	13
Tabla 2. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.	19
Tabla 3. Procedimiento de recolección de datos.....	20
Tabla 4. Características fisicoquímicos del fruto de macha macha en estado maduro	22
Tabla 5. Identificación de la muestra.....	23
Tabla 6. Determinación de antocianinas del fruto de macha macha por el método pH diferencial.	23
Tabla 7. Determinación de capacidad antioxidante del fruto de macha macha por el método DPPH.....	24
Tabla 8. Comparación de características fisicoquímicas de macha macha con otras frutas.	24
Tabla 9. Comparación de características fisicoquímicas de macha macha con otras frutas.	25
Tabla 10. Comparación del contenido de antocianinas del fruto de macha macha con otras frutas del genero vaccinium.....	26
Tabla 11. Comparación de la capacidad antioxidante del fruto de macha macha con frutos de otras especies.	27
Tabla 12. Mezcla de reacción para la Curva de Calibración TROLOX.....	58
Tabla 13. Mezcla de reacción para las muestras	59
Tabla 14. Concentración del Trolox y sus respectivas Absorbancias.....	59
Tabla 15. Resultados de las Absorbancias de las muestras	60
Tabla 16. Resultados de Humedad de las muestras (Secado a 40°C, 2 semanas)	60
Tabla 17. Resultados de las curvas espectrofotometricas de las muestras M1, M2 y M3 en el rango de 400 a 700 nm.....	61

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reacciones químicas de las antocianinas en diferente pH.	10
Figura 2. Estructura general de la antocianina, núcleo flaván.	11
Figura 3. Estructura de antocianina, catión flavilio.	11
Figura 4. Estructura de las antocianinas.	12
Figura 5. Estructura de las diferentes antocianidinas.	14
Figura 6. Ruta general de biosíntesis de las antocianinas.	16
Figura 7. Pasos de diseño de investigación realizada	18
Figura 8. Diagrama de procesos para la preparación de muestra	54
Figura 9. Diagrama de procesos para la cuantificación de antocianinas	55
Figura 10. Diagramas de procesos para la preparación de la curva de calibración de TROLOX.	57
Figura 11. Diagramas de procesos para la preparación de la curva de calibración de TROLOX.	58
Figura 12. Curva de Calibración de Trolox-DPPH	60
Figura 13. Barrido espectral Muestra M1-Repetición 1 (M1.1) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5).	76
Figura 14. Barrido espectral Muestra M1-Repetición 2 (M1.2) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5).	76
Figura 15. Barrido espectral Muestra M1-Repetición 3 (M1.3) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5).	77
Figura 16. Barrido espectral Muestra M2-Repetición 1 (M2.1) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5).	77
Figura 17. Barrido espectral Muestra M2-Repetición 2 (M2.2) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5).	78
Figura 18. Barrido espectral Muestra M2-Repetición 3 (M2.3) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5).	78
Figura 19. Barrido espectral Muestra M3-Repetición 1 (M3.1) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5).	79

Figura 20. Barrido espectral Muestra M3-Repetición 2 (M3.2) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5).....	79
Figura 21. Barrido espectral Muestra M3-Repetición 3 (M3.3) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5).....	80
Figura 22. Barrido espectral comparativo de las muestras M1, M2 y M3 a pH 1 (Curva superior: M3, Curva intermedia: M2, Curva inferior: M1).....	80
Figura 23. Barrido espectral comparativo de las muestras M1, M2 y M3 a pH 4.5 (Curva superior: M3, Curva intermedia: M2, Curva inferior: M1).....	81



INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. INFORME TECNICO N° 1020 - 16 – LAB.12	51
ANEXO 2. INFORME TECNICO N° 1020 – A - 16 – LAB.12	53
ANEXO 3. Procedimiento de determinacion del contenido de antocianinas en el fruto de macha macha	54
ANEXO 4. Cuantificacion de antocianinas por pH diferencial.....	55
ANEXO 5. Capacidad antioxidante por DPPH.....	57
ANEXO 6. Tabla deresultados de las curvas espectrofotometricas de las Muestras M1, M2 y M3 en el rango de 400 a 700nm	61
ANEXO 7. Espectros UV-Visible de 400 a 700nm.....	76
ANEXO 8. Determinacion de humedad	82
ANEXO 9. Determinacion de proteina	83
ANEXO 10. Determinacion de cenizas	85
ANEXO 11. Determinacion de fibra total.	86
ANEXO 12. Registro fotografico	88

INDICE DE FOTOGRAFIAS

Fotografía 1. Fruto de planta “Macha macha”.	88
Fotografía 2. Muestra fresca pulverizada con el molino criogénico.....	88
Fotografía 3. Secado de muestras en horno eléctrico para cálculo de la humedad. (Secado a 40°C, 2 semanas).....	88
Fotografía 4. Obtención del extracto metanólico con ultrasonido.....	88
Fotografía 5. Concentración del extracto metanólico con rotavapor.....	89
Fotografía 6. Extractos metanólicos de las muestras.....	89
Fotografía 7. Equipo uv-visible para la determinación de antocianinas por el método de pH diferencial y capacidad antioxidante por el método DPPH.....	90

CAPITULO I: PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En todo el mundo se observa un aumento destacado en el consumo de frutas tropicales pero también existen frutas silvestres que todavía no son valorados por desconocimiento de sus propiedades. Estos frutos, en adición a los nutrientes esenciales y a una serie de micronutrientes tales como minerales, fibras y vitaminas, aportan diversos componentes metabolitos secundarios de naturaleza fenólica, denominados polifenoles. El consumo de frutas y verduras está asociado al bajo riesgo de incidencias y mortalidad de cáncer, y a menores índices de mortalidad por enfermedad coronaria, según se desprende de diversos estudios epidemiológicos. Los fenoles, especialmente los flavonoides y los antocianos, muestran una gran capacidad para captar radicales libres causantes del estrés oxidativo, atribuyéndoseles a su vez un efecto beneficioso en la prevención de enfermedades tales como: cardiovasculares, circulatorias, cancerígenas y neurológicas. Poseen actividades anti-inflamatoria, antialérgica, antitrombótica, antimicrobiana y antineoplásica.

En el departamento de Huancavelica se encuentran recursos andinos no tradicionales subutilizados que por falta de su promoción y/o revaloración de estos recursos no son aprovechados por los mismos pobladores y más aún en el sector agroindustrial.

La Macha macha es un fruto silvestre que se encuentra en la provincia de Acobamba pero no es aprovechado por falta de conocimientos de sus cualidades de la planta solo lo aprovechan en consumo directo como fruta silvestre en fresco.

En la provincia de Acobamba este fruto abunda y es una planta nativa o endémica de esta zona por lo tanto se pretende valorar, incentivando a la población de Acobamba de dar un mejor cuidado y uso adecuado.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

El presente trabajo pretende encontrar respuesta a la siguiente interrogante:

¿Cuál será el contenido de antocianinas y la capacidad antioxidante del fruto de Macha macha (*Vaccinium floribundum Kunth*) en sus diferentes estados de maduración?

1.3. OBJETIVO: GENERAL Y ESPECÍFICOS.

1.3.1. Objetivo general.

Evaluar el contenido de antocianinas y la capacidad antioxidante del fruto de Macha macha (*Vaccinium floribundum Kunth*) en tres estados de maduración.

1.3.2. Objetivo específico.

- ✓ Determinar el contenido de antocianinas y la capacidad antioxidante del fruto de Macha macha (*Vaccinium floribundum Kunth*) en estado verde.
- ✓ Determinar el contenido de antocianinas y la capacidad antioxidante del fruto de Macha macha (*Vaccinium floribundum Kunth*) en estado pintón.
- ✓ Determinar el contenido de antocianinas y la capacidad antioxidante del fruto de Macha macha (*Vaccinium floribundum Kunth*) en estado maduro.

1.4. JUSTIFICACIÓN

La Macha macha actualmente no se aprovecha, y esta se puede usar como materia prima para la elaboración de diversos productos agroindustriales dando un valor agregado.

1.4.1. Científico

El presente trabajo de investigación nace como una idea de innovación, por el aporte que nos brinda nuestra bondadosa naturaleza, entonces existe la necesidad de determinar la capacidad antioxidante del fruto de macha macha, ya que presenta una gran cantidad de poli fenoles, especialmente los flavonoides y los antocianos, que captan radicales libres, atribuyéndoseles a su vez un efecto beneficioso en la prevención de muchas enfermedades. También posee la habilidad de retardar la degradación oxidativa de lípidos y por lo tanto conservar la calidad y el valor nutricional del alimento, la actividad de antocianinas posee la habilidad de retardar la degradación oxidativa de lípidos y por lo tanto conservar la calidad y el valor nutricional del alimento.

1.4.2. Social

Planteará una alternativa de solución al problema de las necesidades de oportunidad de transformación de los cultivos andinos, en los miembros de la comunidad, será una alternativa comercial que permitirá obtener mayores ganancias para la contribución en la mejora de las condiciones de vida. No afecta al medio ambiente en forma significativa; sin embargo, cualquier acción dirigida a incrementar el daño medio ambiental debe ser tomada en cuenta y tomar las acciones correctivas necesarias para mantener un desarrollo sostenible para futuras generaciones.

1.4.3. Económico

El presente proyecto busca mejorar la situación económica de la población, mediante la industrialización de la macha macha (*Vaccinium floribundum Kunth*)” de esta manera utilizar el colorante de la macha macha como un aditivo alimentario y así representar un potencial económico con fines Agroindustriales.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

En la tesis “**Estudio de la capacidad antioxidante del arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) durante la maduración**” se realizó, a partir del epicarpio y mesocarpio de la fruta en cuatro estados de madurez (verde, pintón, maduro y sobremaduro), la extracción de compuestos fenólicos (utilizando como solvente una mezcla de agua: acetona, (inicial 50:50 y posterior de 70:30) y su análisis (método colorimétrico de Folin-Ciocalteu), y se identificaron parcialmente por HPLC en fase reversa, con arreglo de diodos, encontrando los ácidos clorogénico, gálico y caféico como fenoles mayoritarios responsables de la actividad antioxidante. El contenido de polifenoles en el mesocarpio es mayor en el estado verde (1200 mg/1000 g fruto BH) seguido del maduro (1100 mg/1000 g fruto BH), pintón(905 mg/1000 g fruto BH) y sobremaduro (550 mg/1000 g fruto BH), mientras que en el epicarpio es mayor en estado maduro (170 mg/1000 g fruto BH) y verde (295 mg/1000 g fruto BH), seguido del pintón (100 mg/1000 g fruto BH) y sobremaduro (50 mg/1000 g fruto BH). La capacidad antioxidante fue determinada por métodos hidrofílicos (ABTS, DPPH y FRAP) encontrando que en el mesocarpio la capacidad antioxidante medida por todos los métodos es mayor en estado verde seguido del maduro, pintón y sobremaduro mientras en el epicarpio es mayor en maduro y verde seguido del pintón y sobremaduro. Se determinó la capacidad antioxidante por un método lipofílico (decoloración del β -caroteno) encontrando que en el mesocarpio es mayor en estado maduro (110 mg/1000 g fruto BH) y pintón (90 mg/1000 g fruto BH), seguido del sobremaduro (75 mg/1000 g fruto BH) y verde (26 mg/1000 g fruto BH) y en el epicarpio es mayor en sobremaduro (50 mg/1000 g fruto BH) seguido del verde (45 mg/1000 g fruto BH), maduro (55 mg/1000 g fruto BH) y pintón (25 mg/1000 g fruto BH). Finalmente se concluye que el fruto de arazá en los estados verde y maduro presenta la mayor capacidad antioxidante, siendo los ácidos fenólicos los principales contribuyentes¹³.

En el trabajo **“Caracterización de las antocianinas de los frutos de Lechler (*Berberis boliviana*)”**, concluyeron que, el pigmento de los frutos de Lechler presenta un contenido en antocianinas monoméricas de 7 g/100 g 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 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%¹⁴.

En la tesis **“Actividad antioxidante de antocianinas presentes en cáscara de pitahaya (*hylocereus undatus*)”** propuso cuantificar y determinar la capacidad antioxidante de las antocianinas presentes en la cáscara de pitahaya. La cuantificación de las antocianinas se realizó en polvo de cáscara siguiendo la metodología del pH diferencial, en tanto que la actividad antioxidante de se determinó mediante el método del DPPH (2,2---difetil---1---picril hidrato) y el ABTS (ácido 2.2', azino---bis (3---etilbenzotiazolin)---6--- sulfónico). Los resultados indican que el contenido de antocianinas en la cáscara de pitahaya presentó un valor medio de 323.9087 mg cianidina 3---glucósido/100 g de peso fresco de muestra, En cuanto a la capacidad antioxidante, las muestras analizadas mediante el método del DPPH presentaron un mayor porcentaje de inhibición o reducción del radical (31.5157%) en comparación con el método del ABTS cuyo porcentaje de inhibición fue menor (12.17%). Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran que la cáscara de pitahaya (*Hylocereus undatus*) pueden ser una fuente natural de antioxidantes con potencial aplicación en alimentos o la industria farmacéutica, dada la actividad encontrada en los extractos de antocianinas bajo los dos métodos (DPPH, ABTS) evaluados¹⁵.

En la tesis **“Determinación de antocianinas, fenoles totales y Actividad Antioxidante en licores y fruto de mora”** se evaluó en diferentes marcas de licores el contenido de antocianinas monoméricas y % color polimérico, fenoles totales y

actividad antioxidante, así como sus propiedades fisicoquímicas. El intervalo de contenido de antocianinas monoméricas en los licores fluctúa de 3.56 ± 0.09 a 76.95 ± 1.20 mg de cianidina 3-glucósido/L; el contenido de fenoles totales se encuentra en un intervalo de 477.12 ± 0.04 a 884.98 ± 0.04 a 884.98 ± 0.03 mg EAG/100 mL y la actividad antioxidante de 110.51 ± 0.88 a 304.47 ± 2.65 mM equivalente de Trolox/mL de licor. Encontrándose mediante un análisis de MANOVA que con excepción de 2 muestras, si existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los licores evaluados, lo cual puede atribuirse a sus diferentes condiciones de procesamiento y almacenamiento. Mediante una correlación canónica se obtuvo que a menor pH y mayor porcentaje de azúcares reductores, existe un mayor contenido de antocianinas monoméricas, es decir bajo estas condiciones se favorece la presencia de estos compuestos bioactivos que ayudan a la prevención de enfermedades crónico-degenerativas¹⁶.

En la tesis “**Análisis químico de antocianinas en frutos silvestres colombianos**” se realizó el análisis cualitativo y cuantitativo de los pigmentos antocianicos en cuatro frutas tropicales colombianas: uva de árbol (*Myrciaria aff cauliflora* (Mart.)D.Bery), coral (*Hyeronima macrocarpa* Mull. Arg), mora pequeña (*Rubus megalococcus* Focke) y motilón (*Hyeronima macrocarpa* Mull. Arg). Se obtuvieron los extractos enriquecidos en antocianinas (AREs) por adsorción selectiva sobre Amberlita XAD-7 del extracto metanólico de las frutas. Estos extractos se analizaron por cromatografía líquida acoplada a un detector de arreglo de diodos (LC-DAD) y cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas con interfase electrospray (LC/MS-ESI). Estos análisis junto con la coinyección con patrones permitieron elucidar la estructura de la mayoría de los compuestos. La cuantificación se realizó mediante el método de estándar externo. Los análisis realizados en el coral y el motilón, confirmaron la presencia de la antocianina delfinidina-3-rutinósido como compuesto mayoritario, seguido por delfinidina-3-glucósido, cianidina-3-rutinósido y petunidina-3-rutinósido. En estas dos frutas se identificaron las mismas antocianinas, siendo mucho mayor la concentración en el motilón que en el coral. En la mora pequeña se confirmó la presencia de cianidina-3-glucósido como compuesto mayoritario junto con cianidina-

3-rutinósido; y en la uva de árbol se identificó la antocianina cianidina-3-glucósido como compuesto mayoritario junto con la antocianina delfinidina-3-glucósido.

Posteriormente se evaluó la actividad antioxidante de los extractos de las cuatro frutas frente a los radicales libres ABTS y DPPH mediante espectroscopía UV-Vis y EPR (Resonancia electrónica paramagnética). Con los resultados de espectroscopía UV-Vis se determinó que el extracto más activo fue el de motilón, seguido por el de uva, coral y mora. El uso de la técnica de EPR permitió seguir el curso de la reacción de atrapamiento de los dos radicales libres por las sustancias antioxidantes presentes en los AREs, observando una disminución en la concentración de radicales libres con el tiempo y una cinética de segundo orden. Al aplicar dicho modelo cinético, se confirmó que el extracto más activo frente a los dos radicales libres era el de motilón, y que frente al ABTS se encontraban diferencias de actividad más significativas que con el DPPH. La técnica de EPR es más exacta porque permite la evaluación directa de la cantidad de radicales libres en solución.

Finalmente, se evaluó la estabilidad de los diferentes extractos frente a variaciones de pH y durante un periodo de almacenamiento de un mes. Se confirmó que el pH es un factor que afecta significativamente el color de los AREs y con base en las medidas de colorimetría triestímulo a diferentes pHs (1.5, 3.5, 5.5 y 7.5) se concluyó que el extracto más estable era el de uva de árbol porque se encontraron menores variaciones en el croma con respecto a las otras frutas.

Con estos resultados se comprobó que las frutas estudiadas son una fuente promisoría de pigmentos naturales, siendo más interesantes el motilón y la uva de árbol debido a su contenido de antocianinas, actividad antioxidante y estabilidad del color de los extractos.¹⁷.

2.2. BASES TEÓRICAS.

2.2.1. Macha macha (*Vaccinium floribundum* Kunth)

2.2.1.1. Origen y distribución

El género *Vaccinium spp* es un frutal perteneciente a la familia de las Ericáceas, las cuales constituyen un grupo de especies ampliamente distribuidas por el Hemisferio Norte, básicamente por Norteamérica, América Central, parte de América del Sur, Europa Central y Eurasia;

unas pocas especies existen también en África y Madagascar. En América del Sur está distribuido especialmente por los países que recorre la Cordillera de los Andes ¹⁸.

La macha macha (*Vaccinium floribundum* Kunth) es endémico del norte de Sudamérica, entre Perú, Ecuador y Colombia. En estos países al mortiño se lo puede encontrar en los páramos altos de la cordillera de los andes ¹⁹.

2.2.1.2. Taxonomía y morfología de la Macha macha

Clasificación taxonómica de la Macha macha ²⁰

Nombre científico	: (<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth).
Nombre popular	: Macha macha
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Ericales
Familia	: Ericaceae
Género	: <i>Vaccinium</i>
Especie	: <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth

2.2.1.3. Descripción botánica

La planta de macha macha es un arbusto enano, de 1.5 m de alto, ramificado con hojas alternas de 2 cm de largo, con el margen aserrado o crenado, cuya nervación es pinnada. La inflorescencia se presenta en racimos de 6 a 10 flores. Las flores miden 8 mm de largo, la corola es cilíndrica con 4 o 5 dientes, de color blanco o rosado rojizo, el ovario es ínfero, el estilo es ligeramente más largo que el tubo de la corola. Los frutos son bayas redondeadas, miden hasta 8 mm de diámetro, carnosos, de color negro-azul, morado a veces con una cubierta cerosa ²¹.

2.2.1.4. Requerimientos para su producción

La planta de la Macha macha necesita de clima frío-templado, con temperatura de 7-14°C, suelo arenoso, húmico, suelto, rico en materia orgánica, con características húmedas (60-80%) y ácidas (pH

4-5) para crecer, que tengan un buen drenaje, debido a que posee un sistema radicular superficial (no soporta encharcamientos) y una pluviosidad de 800 a 2000 mm ²².

2.2.1.5. Morfología del fruto

Los frutos de macha macha son de forma redonda (figura 2), poseen un color rojizo que representa su madurez fisiológica y un color negro azulado cuando alcanza su madurez hortícola, con un diámetro aproximado de 6.5 a 7 mm y generalmente pesa de 0.4 a 0.6 gramos. Presenta antocianinas localizadas en la cáscara y su pulpa es jugosa con un excelente sabor que permite consumirlo en fresco, sin necesidad de lavarlo o retirar sus semillas de color pardo, ya que estas son imperceptibles²³.

2.2.2. Antioxidante

El término antioxidante fue utilizado originalmente para referirse a un producto químico, que previniera el consumo de oxígeno ²⁴.

Los antioxidantes son moléculas que previenen o retardan la oxidación de otras moléculas mediante su capacidad de captar radicales libres oxidantes, aunque la denominación correcta de éstas es inhibidores de la oxidación ²⁵.

Los inhibidores de la oxidación comprenden un diverso grupo de sustancias con estructuras y mecanismos de acción variados, como son: la captación e inactivación de radicales libres (antioxidantes propiamente dichos), prevención de la descomposición de hidroperóxidos en radicales libres, reducción de hidroperóxidos por vías libres de radicales y la unión de metales pesados a compuestos inactivos ²⁶.

2.2.2.1. Mecanismos de acción antioxidante

Las reacciones de oxidación, que se dan intracelularmente, pueden producir radicales libres, que inician reacciones en cadena, que derivan en el daño de las células ²⁷.

Estos radicales son especies químicas muy reactivas, que pueden producir daños como:

- ✓ Rupturas en la cadena del ADN y también cambios en las bases con lo que se producirían mutaciones, que podrían derivar en la carcinogénesis.
- ✓ Peroxidación de los residuos de ácidos grasos poliinsaturados en las membranas.
- ✓ Oxidación de los residuos de ácidos grasos poliinsaturados en las proteínas de baja densidad, con lo que se podría inducir la arterioesclerosis.
- ✓ Degradación del ácido hialurónico con lo que se disminuye la cantidad de líquido sinovial en las articulaciones.
- ✓ Daño en las proteínas, fragmentación, oxidación de iones metálicos y oxidación de los grupos sulfhidrilo de la cisteína.

2.2.3. Generalidades de la Antocianina

Las antocianinas son pigmentos flavonoides que se comportan como indicadores ácido – base debido a la reacción ²⁸.

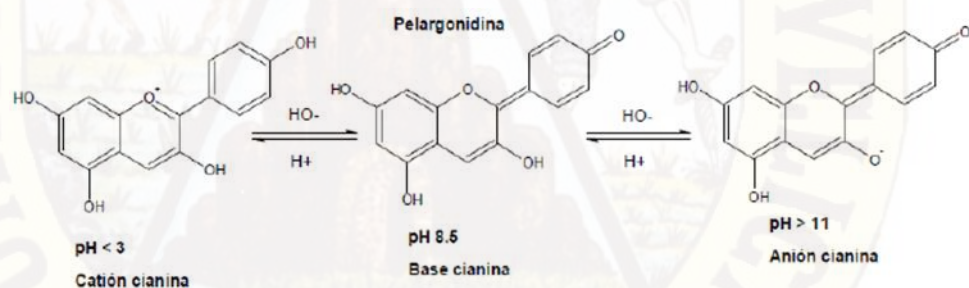


Figura 1. Reacciones químicas de las antocianinas en diferente pH ²⁸.

La palabra antocianina deriva del griego anthos (flor) y kyanos (azul oscuro). Las antocianinas son las responsables de los colores rojos, azulados o violetas de la mayoría de las frutas y flores.

Es el pigmento más importante, después de la clorofila, que es visible al ojo humano. Pertenecen a los compuestos fenólicos llamados flavonoides, que tiene un núcleo flaván basado en dos anillos aromáticos unidos por una unidad de tres carbonos (Figuras 2 y 3). En los anillos aromáticos A y B, los grupos

hidroxilo u otros grupos son sustituidos en ciertas posiciones determinadas por el origen biosintético de los dos anillos aromáticos.

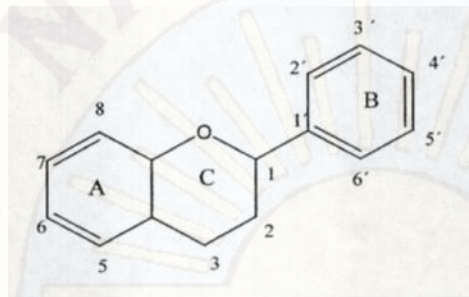


Figura 2. Estructura general de la antocianina, núcleo flaván ²⁹.

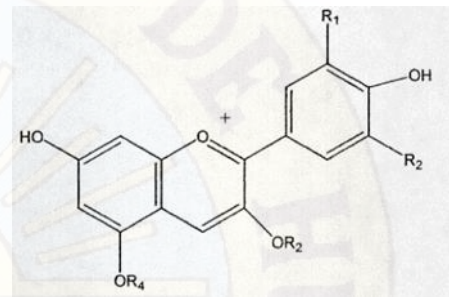


Figura 3. Estructura de antocianina, catión flavilio ³⁰.

La función más importante de las antocianinas es la percepción visible para la atracción de animales para propósitos de polinización y dispersión de semillas. Han sido identificadas en manzanas, cerezas, moras, col morada, uva, fresa, rábano, ciruela, rosas rojas y arándano, entre otros. Hasta ahora no hay reportes de la toxicidad de las antocianinas, por lo que se consideran inofensivas a la salud, siendo una alternativa potencial en la industria alimenticia como un aditivo seguro y efectivo. Además se ha reportado poder terapéutico de estos compuestos flavonoides, como los que se mencionan más adelante ³¹.

2.2.3.1. Estructura química y color de las antocianinas

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, pertenecientes a la familia de los flavonoides, compuestos por dos anillos aromáticos A y B unidos por una cadena de 3 C. Variaciones estructurales del anillo B resultan en seis antocianidinas conocidas (Fig. 4).

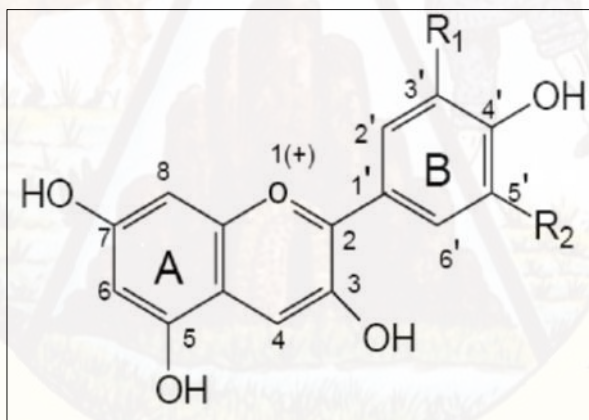


Figura 4. Estructura de las antocianinas ²⁸.

El color de las antocianinas depende del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula. Incrementos en la hidroxilación producen desplazamientos hacia tonalidades azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas ³².

En la naturaleza, las antocianinas siempre presentan sustituciones glicosídicas en las posiciones 3 y/o 5 con mono, di o trisacáridos que

incrementan su solubilidad. Dentro de los sacáridos glicosilantes se encuentran la glucosa, galactosa, xilosa, ramnosa, arabinosa, rutinosa, soforosa, sambubiosa y gentobiosa. Otra posible variación en la estructura es la acilación de los residuos de azúcares de la molécula con ácidos orgánicos. Los ácidos orgánicos pueden ser alifáticos, tales como: malónico, acético, málico, succínico u oxálico; o aromáticos: p-coumárico, caféico, ferúlico, sinápico, gálico, o p-hidroxibenzóico. Además demostraron que el tipo de sustitución glicosídica y de acilación producen efectos en el tono de las antocianinas; es así como sustituciones glicosídicas en la posición 5 al igual que acilaciones aromáticas, producen un desplazamiento hacia las tonalidades púrpura.

Tabla 1 Sustituyentes de las antocianinas

Aglicona	Substitucion		λ max (nm)
	R1	R2	Espectro visible
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH ₃	H	506 (naranja rojo)
Petunidina	OCH ₃	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃	510 (azul-rojo)

Fuente: Wrolstad, et al.²⁸

Debido a la poca solubilidad de las antocianinas en agua, éstas no se encuentran de manera libre en la naturaleza, sino en su forma glicosilada (antocianidinas). En esta estructura encontramos que el grupo hidroxilo de la posición 3 está siempre glicosilada, lo que le dará estabilidad y solubilidad al cromóforo. En cuanto a los residuos de glucosa, éstos siempre estarán acilados en su posición 6³⁰.

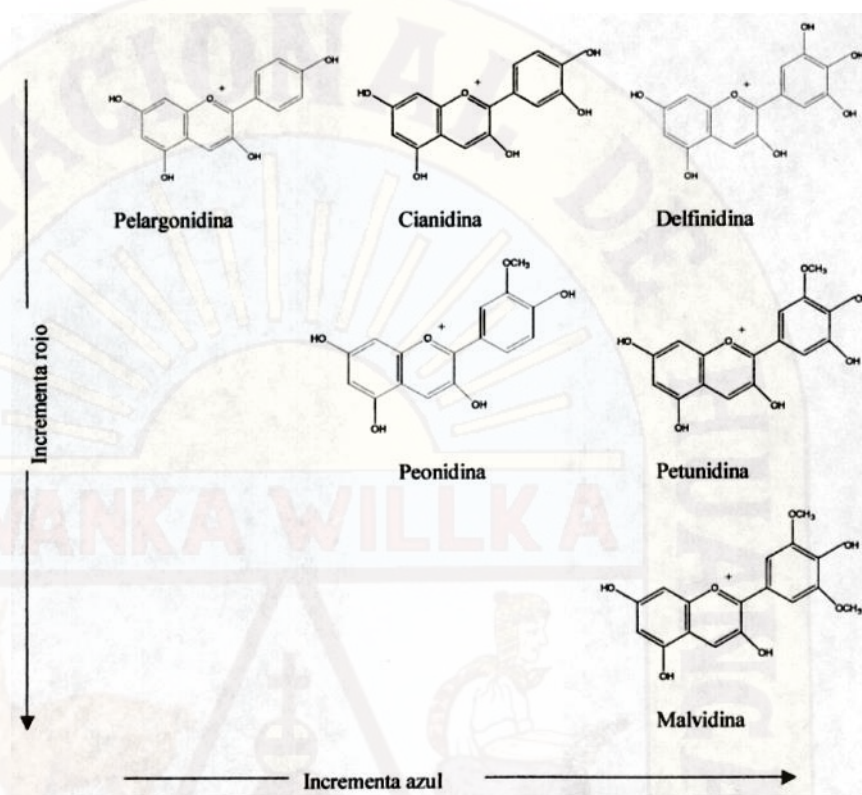


Figura 5. Estructura de las diferentes antocianidinas ³⁰.

2.2.3.2. Distribución

Las antocianinas son los colorantes universales de plantas y son las responsables de los colores naranja, rosa, rojo, violeta y azul de los pétalos de flores y frutas. También se encuentran en otras partes de la planta como raíces y hojas, en donde se acumulan en las vacuolas de las células epidermales o subepidermales ³³.

Las antocianinas aparecen transitoriamente en la ontogenia de la planta para la percepción o filtración de la luz o pueden acumularse como resultado de estrés. Dentro de las vacuolas, las antocianinas, pueden estar localizadas en organelos esféricos conocidos como antocianoplastos, que se forman mientras la síntesis de pigmentos está en operación.

Las flavonas aparecen junto con las antocianinas y también participan en el color de las plantas como copigmentos. El mecanismo de

copigmentación es exclusivo de la familia de las antocianinas e incluye asociaciones con flavonoides, polifenoles, alcaloides, ácidos orgánicos y otros compuestos de favilio. El papel que desempeñan estos copigmentos es el de proteger el catión flavilio de las antocianinas del ataque nucleofílico de las moléculas de agua y por lo tanto mantener el color intenso.

2.2.3.3. Biosíntesis

Los compuestos fenólicos son sintetizados por rutas diversas, entre las cuales dos son básicas: a ruta del ácido shikímico y la ruta del malonato. En la ruta del ácido shikímico se convierten carbohidratos simples derivados de la glicólisis, de la ruta de las pentosas fosfato y del ciclo de Calvin en diversos ácidos orgánicos como el cinámico, p-cumárico, cafeico, ferúlico, clorogénico y fenilalanina (Figura 6). Esta última es incorporada en la porción C6-C3 de la estructura básica de los flavonoides, que correspondería al anillo aromático B y a los carbonos correspondientes al anillo central de pirano. Por el otro lado, el anillo A y el oxígeno del anillo pirano son proporcionados por la acetil-CoA ³⁴.

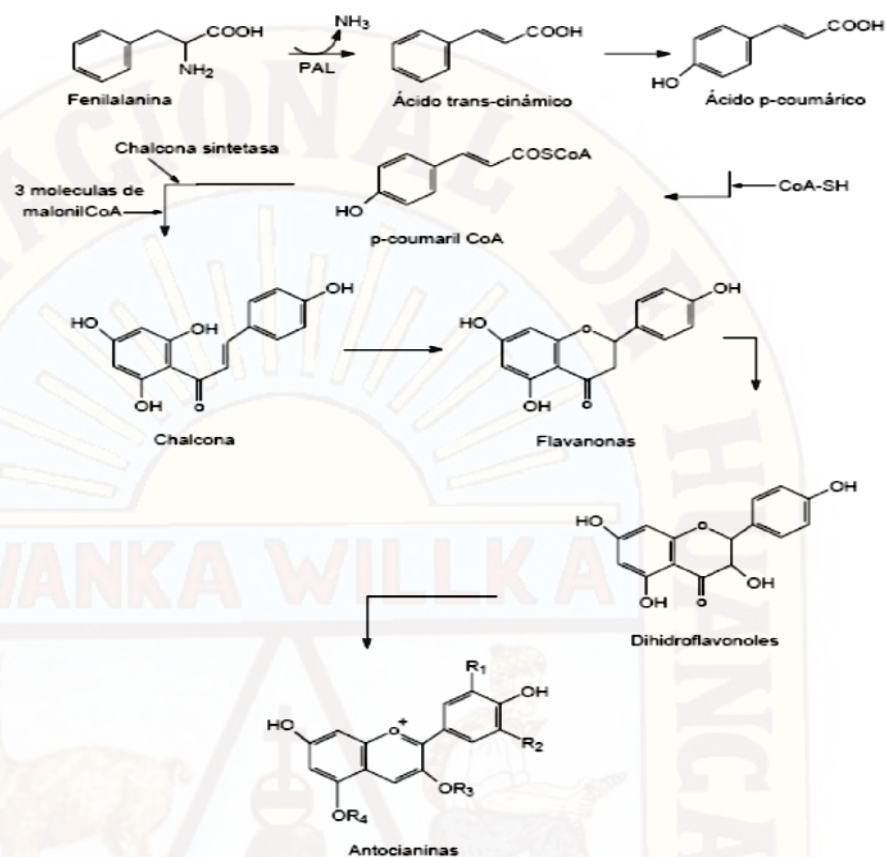


Figura 6. Ruta general de biosíntesis de las antocianinas ³⁵.

2.3. HIPÓTESIS.

Ho = No existen diferencias en el contenido de antocianinas y la capacidad antioxidante del fruto de Macha macha (*Vaccinium floribundum* Kunth) en sus estados de maduración.

Hi = Existen diferencias en el contenido de antocianinas y la capacidad antioxidante del fruto de Macha macha (*Vaccinium floribundum* Kunth) en sus estados de maduración.

2.4. VARIABLES DE ESTUDIO.

2.4.1. Variables independientes:

- Estado de madurez de la macha macha niveles: verde, pinton y maduro

2.4.2. Variables dependientes:

- Concentración de antocianinas y capacidad antioxidante de la macha macha.

CAPITULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO

La macha macha (*Vaccinium floribundum* Kunth.) se recolectó de Torohuichcana distrito de Acobamba, provincia de Acobamba Región Huancavelica, el análisis de la concentración de antocianinas y capacidad antioxidante del fruto de la macha macha se realizó en la ciudad de Lima, en el Laboratorio de Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería; y la redacción del informe final se desarrolló en la provincia de Acobamba departamento de Huancavelica.

3.1.1. Ubicación Política

Lugar	: Común Era
Distrito	: Acobamba
Provincia	: Acobamba
Región	: Huancavelica
País	: Perú

3.1.2. Ubicación Geográfica

Latitud sur	: 12° 50' 51" del meridiano de Greenwich.
Longitud oeste	: 74° 34' 03" de la línea ecuatorial.
Altitud	: 3417 m. s. n. m.

3.1.3. Factores Climáticos

Precipitación fluvial anual	: 70 mL
Humedad relativa	: 60%
Temperatura promedio anual:	12 °C

3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Aplicada

3.3. NIVEL DE INVESTIGACIÓN

Descriptivo.

3.4. MÉTODO DE INVESTIGACIÓN.

El método que se aplicará en el presente trabajo será el de Hipotetico – Deductivo, se analizó la concentración de antocianinas y la capacidad antioxidante. Estas particularidades se generalizarán si la concentración de antocianinas y la capacidad antioxidante varían según su estado de madurez del fruto de la macha macha.

3.5. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

En el trabajo de investigación se utilizó el diseño no experimental, diseño a emplear será el diseño transeccional correlacionales – causales, que pueden limitarse a establecer relaciones entre variables sin precisar sentido de causalidad ni pretender analizar relaciones de causalidad.

Los análisis se realizarán mediante el método recomendado por la Norma Técnica 203-010 INDECOPI, AOAC, pH diferencial y DPPH.

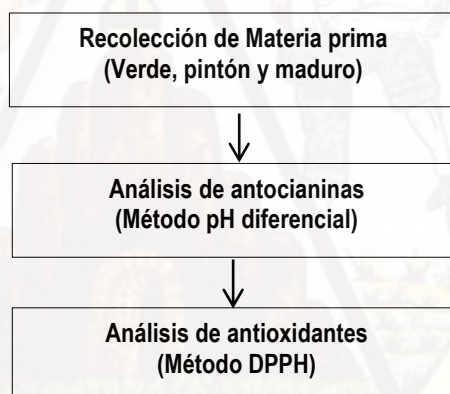


Figura 7. Pasos de diseño de investigación realizada

Descripción pasos de diseño de investigación realizada

- a. **Recolección de la Materia Prima:** La recolección de materia prima (macha macha), se ha realizado en lugar Torohuichccana de la provincia de Acobamba, Región Huancavelica.
- b. **Análisis de antocianinas:** el análisis de antocianinas totales presentes en el fruto de macha macha en sus diferentes estados de madurez (verde, pintón y maduro) fueron analizados con el método pH diferencial.
- c. **Análisis de capacidad antioxidante:** el análisis de la capacidad antioxidante presente en el fruto de macha macha en sus diferentes estados de madurez (verde, pintón y maduro) fueron analizados con el método DPPH.

3.6. POBLACIÓN, MUESTRA, MUESTREO.

3.6.1. Población.

En el presente trabajo de investigación la población será 500 g de fruto de macha macha verde, 500 gramos de fruto de macha macha pintón y 500 g de macha macha maduro recolectadas de Torohuichccana distrito de Acobamba, provincia de Acobamba – Huancavelica.

3.6.2. Muestra.

La muestra se realizó criterialmente y se caracterizarán por su color, del estado de maduración.

3.6.3. Muestreo.

El muestreo se realizará aleatoriamente y/o al azar de 500 g de macha macha

3.7. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

Se procede a evaluar el contenido de antocianinas y la capacidad de antioxidantes del fruto de macha macha (*Vaccinium floribundum Kunth*).

Tabla 2. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Técnicas	Instrumentos	Recolección de datos
Observación	 Ficha de observación  Guía de observación de campo.  Notas de campo	 Cantidad de macha macha  Lugar de producción macha macha  Épocas de cosecha de macha macha

Recolección de información	Libros, revistas científicas, boletín y formatos impresos	 Antocianinas.  Determinación de antocianinas  Determinación de la capacidad antioxidante
Análisis de antocianinas	Método de pH diferencial	 Concentración de antocianinas.
Análisis de la capacidad antioxidante	Método DPPH	 Capacidad antioxidante

3.8. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Tabla 3. Procedimiento de recolección de datos

Procedimiento	Recolección de datos
Análisis de concentración de antocianinas del fruto de macha macha (<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth).	Resultados de laboratorio
Análisis de capacidad antioxidante del fruto de macha macha (<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth)	Resultados de laboratorio

3.9. TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

3.9.1. Estudios a realizar

Los análisis que se realizó en el desarrollo del presente trabajo se describen a continuación:

A. Concentración de antocianinas: La concentración de antocianinas se determinó utilizando el método de pH diferencial (Anexo 4).

B. Capacidad antioxidante: La capacidad antioxidante se determinó utilizando el método de DPPH (Anexo 5)

C. Análisis fisicoquímicas. En el análisis fisicoquímico de la macha macha se analizó los siguientes análisis:

- pH: Se determinó por el método (AOAC 945.27)
- Humedad: Se determinó por el método (AOAC 934.06)
- Acidez (expresado como ácido cítrico): Se determinó por el método (AOAC 942.15)
- Grasa: Se determinó por el método (NTE INEN 523)
- Proteína:, Se determinó por el método (NTE INEN 523)
- Cenizas: Se determinó por el método (INEN 401)
- Carbohidratos totales, Calculado ³⁶ .

CAPITULO IV: RESULTADOS

4.1. PRESENTACIÓN DE RESULTADO

4.1.1. Análisis fisicoquímico del fruto de macha macha en estado maduro.

En la tabla 4, se muestra los resultados de análisis de características fisicoquímicos del fruto de macha macha en estado maduro la cual contiene: pH 4.67, humedad 84.760%, acidez (expresado como ácido cítrico) 0,028, grasa 0.536%, proteína 0.897%, Cenizas 0,478%, carbohidratos totales 13,329%

Tabla 4. Características fisicoquímicos del fruto de macha macha en estado maduro

ANÁLISIS	RESULTADO
pH	4.67
Humedad, %	84.760
Acidez, (expresado como ácido cítrico)	0,028
Grasa, %	0.536
Proteína, %	0.897
Cenizas, %	0.478
Carbohidratos totales, %	13.329

4.1.2. Determinación de antocianinas del fruto de macha macha por el método pH diferencial.

Tabla 5. Identificación de la muestra

MUESTRA	DESCRIPCIÓN
M1	Fruto de macha macha. Muestra verde
M2	Fruto de macha macha. Muestra pinton
M3	Fruto de macha macha. Muestra maduro

En tabla 6, se muestra el contenido de antocianinas determinados por el método pH diferencial, los resultado obtenidos del contenido de antocianinas totales presentes en el fruto de macha macha fueron los siguientes: 0.519 mg de Cianidina/g de muestra, 4.242 mg de Cianidina/g de muestra y 10.532 mg de Cianidina/g de muestra en estado verde, pintón y maduro respectivamente observándose que en estado maduro el fruto de macha macha presenta mayor contenido.

Tabla 6. Determinación de antocianinas del fruto de macha macha por el método pH diferencial.

Repetición	Contenido de antocianinas monómericas (mg de Cianidina/g de muestra seca)			Contenido de antocianinas totales (mg de Cianidina/g de muestra seca)		
	M1	M2	M3	M1	M2	M3
1	0.235	3.507	9.145	0.520	4.244	10.531
2	0.225	3.491	9.125	0.520	4.246	10.516
3	0.230	3.501	9.146	0.516	4.236	10.550
Promedio	0.230	3.499	9.139	0.519	4.242	10.532
D.S.	0.005	0.008	0.012	0.002	0.005	0.017
R.S.D.,%	2.037	0.225	0.131	0.450	0.129	0.164

4.1.3. Determinación de capacidad antioxidante por el método DPPH del fruto de macha macha.

La actividad antioxidante de la macha macha evaluada por el radical DPPH, presenta un valor de 569.3637 Umol TE/g muestra, 550.1427 Umol TE/g muestra y 323.9630 Umol TE/g muestra en estado verde, pintón y maduro respectivamente observándose que en estado verde el fruto de macha macha presenta una mayor capacidad antioxidante.

Tabla 7. Determinación de capacidad antioxidante del fruto de macha macha por el método DPPH.

Muestra	Umol TE/g muestra húmeda	Umol TE/g muestra seca
Fruto de macha macha verde (M1)	177.5850	569.3637
Fruto de macha macha pintón (M2)	129.0650	550.1427
Fruto de macha macha maduro (M3)	49.3709	323.9630

4.2. DISCUSIONES

4.2.1. Cuantificación de características fisicoquímicas en el fruto de macha macha.

Tabla 8. Comparación de características fisicoquímicas de macha macha con otras frutas.

FRUTAS	pH	Acidez
Macha macha	4.67	0.028
Ciruela criolla ³⁷	3.06	0.52
Melón criollo ³⁷	6.01	0.09
Mango de clase ³⁷	4.21	2.23
Cereza criolla ³⁷	2.94	3.91
Coco ³⁷	6.13	0.32
Chirimoya ³⁷	4.58	1.3
Ayrampu ³⁸	2.5	2.35
Grosella ³⁸	2.01	3.57

Fuente: Villalba et al.³⁷, Ccatamayo y Valderrama³⁸

Tabla 9. Comparación de características fisicoquímicas de macha macha con otras frutas.

Análisis	Macha macha	Ayrampu ³⁸	Aguaymanto ³⁹
Humedad	84.760	79.52	80.2
Ceniza	0.478	2.68	1.58
Proteína	0.897	1.11	0.58
Grasa	0.536	1.35	0.57
Carbohidratos	13.329	12.63	16.47

Fuente: Ccatamayo y Valderrama³⁸, Gallo³⁹

4.2.2. Comparación del contenido de antocianinas totales del fruto de macha macha con otras frutas del genero *vaccinium*.

El contenido de antocianinas totales expresados como (mg cianidina/ g muestra) (Tabla 12), encontradas en los frutos de macha macha (*Vaccinium floribundum Kunth*), es alto con un valor de (1053.2) comparado con los reportados para los frutos del genero *vaccinium* el contenido de antocianinas totales reportan valores de: 300-600 para el arándano americano (*Vaccinium myrtillus, L*)⁴⁰, 60 – 480 para el Mora azul (*Vaccinium different sub-genera*)⁴⁰, 20-360 para Arándano (*Vaccinium oxycoccus, L*)⁴⁰, 35-170 para arándano rojo (*Vaccinium vitis-idaea, L*)⁴⁰, 92-235 para el Northern Highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*)⁴¹, 60 – 187 para el Rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*)⁴², 290 – 300 para Lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*)⁴³ y 371 – 630 para el deerberry (*Vaccinium stamineum*)⁴⁴.

Tabla 10. Comparación del contenido de antocianinas del fruto de macha macha con otras frutas del genero *Vaccinium*.

Frutillas	Especie	Antocianinas (mg / 100g muestra)
Fruto de macha macha verde	<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth.	51.9
Fruto de macha macha pintón	<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth.	424.2
Fruto dema chamacha maduro	<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth.	1053.2
arándano americano	<i>Vaccinium myrtillus</i> , L	300-600 ⁴⁰
Mora azul	<i>Vaccinium</i> (different sub-genera)	60-480 ⁴⁰
Arándano	<i>Vaccinium oxycoccus</i> , L	20-360 ⁴⁰
Arándano rojo	<i>Vaccinium vitis-idaea</i> , L	35-170 ⁴⁰
Northern Highbush blueberry	<i>Vaccinium corymbosum</i>	92 – 235 ⁴¹
Rabbiteye blueberry	<i>Vaccinium ashei</i>	60 – 187 ⁴²
Lowbush blueberry	<i>Vaccinium angustifolium</i>	290 – 300 ⁴³
Deerberry	<i>Vaccinium stamineum</i>	371 – 630 ⁴⁴ .

Fuente: Rein, et al.⁴⁰, Prior, et al.⁴¹, Kalt y Dufour ⁴², Capocasa, et al.⁴³, Wang y Ballington⁴⁴.

4.2.3. Comparación de la capacidad antioxidante del fruto de macha macha con frutos de otras especies.

Los frutos del genero *Vaccinium*, se caracterizan por poseer una gran cantidad de diferentes compuestos con actividad antioxidante⁴⁵.

La capacidad antioxidante que presenta el fruto de macha macha es alta en comparación a otros frutos como la mora, uva, acai, guayaba y fresa que presentan una actividad antioxidante que varían de (4.3 a 7.0) $\mu\text{mol TE/g}$ muestra.

Tabla 11. Comparación de la capacidad antioxidante del fruto de macha macha con frutos de otras especies.

MUESTRAS	DPPH TEAC
Fruto de macha macha verde (M1)	177.5850
Fruto de macha macha pinton (M1)	129.0650
Fruto de macha macha maduro (M1)	49.3709
Mora ⁴⁶	4.3
Uva ⁴⁶	7.0
Açaí ⁴⁶	6.9
Guayaba ⁴⁶	5.9
Fresa ⁴⁶	9.2

Fuente: Kuskoski, et al.⁴⁶

aTEAC: actividad antioxidante equivalente al Trolox ($\mu\text{mol TE/g}$ peso muestra).

CONCLUSIONES

- El fruto de macha macha que presentó el mayor contenido de antocianinas totales fue la madura con 10.532 (mg de Cianidina/g de muestra)
- Se observó diferencia del contenido de antocianinas totales entre los diferentes estados de maduración de los frutos de macha macha. El contenido de antocianinas totales se incrementó de 0.519 hasta 10.532 (mg de Cianidina/g de muestra) al avanzar la maduración.
- Se observó diferencia en su actividad antioxidante entre los diferentes estados de maduración de los frutos de macha macha.
- La mayor actividad antioxidante lo presentó el extracto del fruto pintón, con 569.3637 Umol TE/g muestra frente al radical DPPH.
- EL análisis fisicoquímico del fruto de macha macha en estado maduro contiene: pH 4.67, humedad 84.760%, acidez (expresado como ácido cítrico) 0,028, grasa 0.536%, proteína 0.897%, Cenizas 0,478%, carbohidratos totales 13.329%.

RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de compuestos bioactivos en diferentes estados de madures de la fruta.
- Realizar un estudio de carotenoides, polifenoles totales en la pulpa fresca de la fruta.
- Implementar nuevas metodologías para la medición de la actividad antioxidante como son el ABTS y ORAC.
- Implementar otros métodos como HPLC para identificar los tipos de antocianinas que se encuentran en el fruto de macha macha.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fennema O. Color y estabilidad de antocianinas. En: Química de los alimentos. Segunda Edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. P. 807-820. 2000
2. Castañeda A, Pacheco M, Páez M, Rodríguez J, Galán C. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Journal Food Chemistry* 113: 859–871. 2009.
3. Luthria D. A simplified UV spectral scan method for the estimation of phenolic acids and antioxidant capacity in eggplant pulp extracts. *Journal of functional foods* 4: 238–242. 2012.
4. Garzón G. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta Biológica Colombiana* 13 (3): 27 – 36. 2008.
5. Longo L, Vasapollo G. Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries. *Food Chemistry* 94: 226–231. 2006.
6. Castañeda A, Pacheco M, Páez M, Rodríguez J, Galán C. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Journal Food Chemistry* 113: 859–871. 2009.
7. Olaya C, Castaño M, Garzón G. Stability of anthocyanins from *Rubus glaucus* Benth and *Solanum betaceum* Cav. dark-red strain as affected by temperature, storage time and water activity. *Acta Biológica Colombiana* 14 (3): 141-156. 2009.
8. Owusu A. Chemistry Postharvest. En: Introduction to Food Chemistry. Primera Edición. Editorial CRC Press. United States of America. P. 219. 2005.
9. Parr AJ, Bolwell GP. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *J Sci Food Agr* 80:985-1012. 2008.
10. Rojano B, Gaviria C, Gil M, Saez J, Schinella G, Tournier H. Actividad antioxidante del isoespintanol en diferentes medios. *Vitae* 15(1):173-181. 2008a.
11. Rojano B, Saez J, Schinella G, Quijano J, Vélez E, Gil A. Experimental and theoretical determination of the antioxidant properties of isoespintanol (2-Isopropyl-3,6-dimethoxy-5-methylphenol). *J Mol Struct* 877:1- 6. 2008b.
12. Cornelli U. 2009. Antioxidant use in nutraceuticals. *Clin Dermatol* 27:175-194.

13. Cuellar F, Ariza E, Anzola C, Restrepo P. "Estudio de la capacidad antioxidante del arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) durante la maduración". Universidad Nacional de Colombia - Facultad de Ciencias. Bogotá - Colombia. 2012.
14. Del Carpio, et al. "Caracterización de las antocianinas de los frutos de *Berberis boliviana* Lechler." Rev Soc Quím Perú. 2009.
15. Figueroa R, et al. "Actividad antioxidante de antocianinas presentes en cáscara de pitahaya (*Hylocereus undatus*)" Instituto Tecnológico de Mérida, Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, vol. 12, núm. 1, junio, 2011, pp. 44-50, Mexico, 2011.
16. Leiva D, "Determinación de antocianinas, fenoles totales y Actividad Antioxidante en licores y fruto de mora" Universidad Tecnológica de la Mixteca, México, 2009.
17. Santacruz C, "Análisis químico de antocianinas en frutos silvestres colombianos" Bogotá 2011
18. MAG, "Mortño Blueberry *Vaccinium myrtillus* L. *V. angustifolium* Ait", Quito, Ecuador. 2001.
19. González L. "Propagación y productos del mortño (*Vaccinium floribundum* Kunth)", Proyecto Páramo Andino – ECOPAR. Riobamba, Ecuador. 2002.
20. Noboa V. Efecto de seis tipos de sustratos y tres dosis de ácido alfa naftalenacético en la propagación vegetativa de mortño (*Vaccinium Floribundum* Kunth). Tesis de Ingeniería Forestal. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 2010.
21. Aguilar Z, Ulloa C, Hidalgo P. "Plantas Útiles de los Páramos de Zuleta, Ecuador", Proyecto de Manejo y Aprovechamiento Sustentable de Alpacas en los Páramos de Zuleta, PPA-EcoCiencia, Quito, Ecuador. 2009.
22. Sanjinés A, Ollgaard B, Balslev H. Botánica Económica de los Andes Centrales. Tesis de Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia. 2006.
23. Fuentes V. Estudio del Mortño y propuesta gastronómica aplicada a un recetario. Tesis de gastronomía. Universidad Tecnológica Equinoccial. Quito, Pichincha, Ecuador. 2008.
24. Webb G. "Complementos nutricionales y alimentos funcionales", Editorial Acribia, Zaragoza, España. 2006.

25. Zamora J. "Antioxidantes: Micronutrientes en lucha por la salud", Revista Chilena de Nutrición, Bromatología y Toxicología. 2007.
26. Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M. "Antioxidantes de los alimentos", Editorial Acribia, Zaragoza, España 2001.
27. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M, Telser J. "Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease", Biochem Cell Biol, 2007.
28. Wrolstad RE. Anthocyanins. In: Lauro GJ, Francis FJ, editors. Natural Food Colorants. New York, N.Y.: Marcel Dekker, Inc.; 2000.
29. Gross J. Pigments in vegetables. Chlorophylls and carotenoids. Avi:Van Nostrand Reinhold Company Inc, New York. 1991.
30. Fennema O. Química de los Alimentos. Zaragoza. Editorial: ACRIBIA S.A. 2000.
31. Wrolstad RE. Anthocyanin Pigments-bioactivity and Coloring Properties. J Food Sci. 2004.
32. Stintzing FC, Stintzing AS, Carle R, Frei B, Wrolstad RE. Color and Antioxidant Properties of Cyanidin-based Anthocyanin Pigments. J Agric Food Chem. 2002.
33. John J, Carotenoids in 3 stages of ripening of mango. J Food. 2000.
34. Cisneros-Zeballos L. Stability of Anthocyaninbased Aqueous Extract of Andean Purple Corn and Red Fleshed Sweet Potato Compared to Synthetic and Natural Colorants. Food Chem. 2004.
35. Delgado-Vargas F, Jiménez AR, Paredes-López O. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains-Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. Crit Rev Food Sci Nutr.
36. <http://www.fao.org/docrep/006/y5022e/y5022e03.htm>.
37. Villalba M, Yepes I, y Arrázola G. (2005). Caracterización fisicoquímica de frutas de la zona del sinu para su agroindustrialización. Temas agrarios, 09.
38. Ccatamayo G, Valderrama V. Aprovechamiento agroindustrial del ayrampu (Berberis sp.) en el procesamiento de una bebida funcional para la seguridad alimentaria. Universidad Nacional de Huancavelica, 15. 2010.

39. Gallo E. Carotenoides, fenoles totales y actividad antioxidante en el aguaymanto (*Physalis peruviana* L.). Ayacucho: Tesis Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. 2006.
40. Rein M. Copigmentation Reactions and Color Stability of Berry Anthocyanins. University of Helsinki: Department of Applied Chemistry and Microbiology. Food Chemistry Division. Tesis. 2005.
41. Prior RL, Cao G, Martin A, Sofic E, McEwen J, O'Brien Ch, Lischner N, Ehlenfeldt M, Kalt W, Krewer G, Mainland CM. 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *J Agr Food Chem* 46(7):2686-2693.
42. Kalt W, Dufour D. Health functionality of blueberries. *Hortechology* 7:216-221. 1997
43. Capocasa F, Scalzo J, Mezzetti B, Battino M. Combining quality and antioxidant attributes in the strawberry: The role of genotype. *Food Chem* 111:872-878. 2008.
44. Wang SY, Ballington JR. Free radical scavenging capacity and antioxidant enzyme activity in deerberry (*Vaccinium stamineum* L.). *Food Sci Technol Today* Shanta NC, Decker EA. 1994. Rapid, sensitive, iron-based 73:1352-1361. 2007.
45. Beccaro G, Mellano MG, Botta R, Chiabrando V, Bounous G. Phenolic and anthocyanin content and antioxidant activity in fruits of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and of highbush blueberry (*V. corymbosum* L.) cultivars in North Western Italy. *Acta Horticult* 715:553-558. 2006.
46. Kuskoski, et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 25(4): 726-732, out.-dez. 2005.
47. Brand-Williams W, Cuvelier M.E, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 22, 25-30, 1995.
48. Martínez-Cruz NS et.al. Antocianinas y actividad anti radicales libres de *RubusadenotrichusSchltdl* (zarzamora). *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*. Volumen 42, número 4, 2011.

**“ESTUDIO DEL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL
FRUTO DE MACHA MACHA (*Vaccinium floribundum Kunth*) DURANTE LA MADURACION”**

Peter LLIMPE PÉREZ

Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial - Facultad de Ciencias Agrarias

Universidad Nacional de Huancavelica

Ciudad Universitaria de Común Era - Acobamba

Email: Pither_TM@hotmail.com

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el contenido de antocianinas y la capacidad antioxidante del fruto de Macha macha (*Vaccinium floribundum Kunth*) en tres estados de maduración, una especie silvestre del Perú, cuyas potencialidades hasta ahora se desconocían. Se analizó el contenido de antocianinas totales por el método pH diferencial, y se halló: 0.519, 4.242 y 10.532 mg de Cianidina/g de muestra en estado verde, pintón y maduro, respectivamente. En estado maduro se presentó mayor contenido.

La actividad antioxidante fue evaluada por el método radical DPPH, y se obtuvo valores de 569.3637, 550.1427 y 323.9630 Umol TE/g muestra en estado verde, pintón y maduro, respectivamente. El verde presentó una mayor capacidad antioxidante.

El análisis de características fisicoquímicas del fruto de macha macha en estado maduro presento: pH 4.67, humedad 84.760%, acidez (expresado como ácido cítrico) 0,028, grasa 0.536%, proteína 0.897%, cenizas 0.478%, carbohidratos totales 13.329%.

Estos resultados revelan al fruto de macha macha como promisorio, para su aprovechamiento agroindustrial como fuente importante de antocianinas y antioxidantes.

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the anthocyanin content and the antioxidant capacity of Macha macha fruit (*Vaccinium floribundum Kunth*) in three stages of maturation, a wild species from Peru, whose potentialities were unknown until now. The content of total anthocyanins was analyzed by the differential pH method, and it was found:

0.519, 4.242 and 10.532 mg of Cyanidin / g of sample in green, pinton and mature state, respectively. In mature state there was more content.

The antioxidant activity was evaluated by the DPPH radical method, and values of 569.3637, 550.1427 and 323.9630 Umol TE / g were obtained in the green, pinton and mature state, respectively. The green presented a greater antioxidant capacity.

The analysis of physicochemical characteristics of the macha fruit in mature state presented: pH 4.67, humidity 84.760%, acidity (expressed as citric acid) 0.028, fat 0.536%, protein 0.897%, ash 0.478%, total carbohydrates 13.329%.

These results reveal the fruit of macha macha as promising, for its agroindustrial use as an important source of anthocyanins

INTRODUCCION

Las antocianinas son compuestos fenólicos flavonoides que poseen algunos efectos terapéuticos positivos, principalmente asociados con su capacidad antioxidante. El interés por los pigmentos antocianos en investigaciones científicas se han incrementado en los últimos años, debido no sólo al color que confieren a los productos que las contienen sino a su probable papel en la reducción de las enfermedades coronarias, cáncer, diabetes, efectos antiinflamatorios, mejoramiento de la agudeza visual y comportamiento cognitivo; estos efectos terapéuticos positivos, están principalmente asociados con sus propiedades antioxidantes.

Teniendo en cuenta el creciente interés en las propiedades nutraceuticas de los frutos del genero *Vaccinium* y la gran demanda de aditivos naturales en los mercados internacionales; en este trabajo, se estudian las propiedades antioxidantes de la macha macha (*Vaccinium floribundum Kunth*), y se determina el contenido de antocianinas. Todo esto, para señalar el uso potencial de la macha macha, como alimento nutraceutico y aditivo conservante de la peroxidación.

MATERIALES Y METODOS

AMBITO DE ESTUDIO

La macha macha (*Vaccinium floribundum Kunth.*) se recolecto de Torohuichccana distrito de Acobamba, provincia de Acobamba Región Huancavelica, el análisis de la concentración de antocianinas y capacidad antioxidante del fruto de la macha macha se realizó en la ciudad de Lima, en el Laboratorio de Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería; y la redacción del informe final se desarrolló en la provincia de Acobamba departamento de Huancavelica.

CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS POR pH DIFERENCIAL

1. PROCEDIMIENTO

La cuantificación de antocianinas se realizó por el método de pH diferencial, el cual es un método espectrofotométrico que se basa en la transformación estructural de las antocianinas con el cambio de pH (pH 1 coloreadas pH 4.5 incoloras). Se prepararon diluciones del extracto metanólico con solución buffer pH 1.0 de cloruro de potasio y con solución buffer pH 4.5 de acetato de sodio. Se midió la absorbancia de cada muestra a la longitud de onda de máxima absorbancia y a 700 nm.

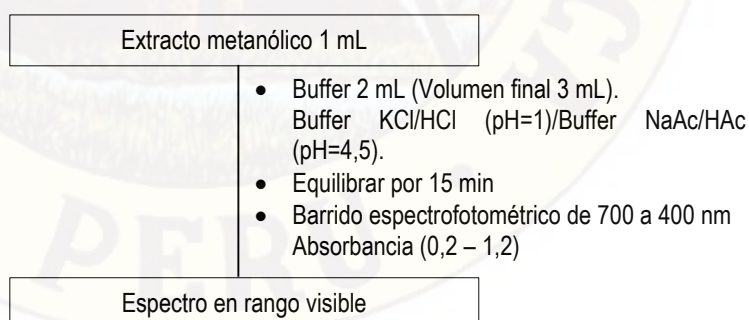


Figura 8. Diagrama de procesos para la cuantificación de antocianinas

2. CÁLCULOS

Para el cálculo del contenido de antocianinas se utiliza la masa y la absorbancia molar del pigmento antociano presente en mayor proporción, en este caso es la cianidina (M 449.2 y ϵ 26900).

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

$$\text{Antocianinas monoméricas (mg cianidina/ g muestra)} = \{(A)(M)(FD)(V)(1000)\} / \{\epsilon(L)(W)\} \dots (\text{Ec. 01})$$

Dónde:

A: Absorbancia de cada muestra a la longitud de onda de máxima absorbancia

M: Masa molar

FD: Factor de dilución

V: Volumen de la fiola (25 mL)

ϵ : Absorbancia molar o coeficiente de extintor molar

L: Longitud de corrido en cm (L=1 cm)

W: Masa de la muestra seca

Para la ecuación 01 se utiliza:

A) La ecuación de Lambert-Beer:

$$C = A/\epsilon L \dots (\text{Ec. 02})$$

Dónde:

C: Concentración molar

A: Absorbancia

ϵ : Absorbancia molar o coeficiente de extintor molar

L: Longitud de corrido en cm

W: Masa de la muestra seca

B) La absorbancia (A):

$$A = (A_{\lambda_{\max}} - A_{700})_{\text{pH}=1.0} - (A_{\lambda_{\max}} - A_{700})_{\text{pH}=4.5} \dots (\text{Ec. 03})$$

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

$$\text{Antocianinas totales (mg cianidina/ g muestra)} = \{(A')(M)(FD)(V)(1000)\} / \{\epsilon(L)(W)\} \dots (\text{Ec. 04})$$

Donde la absorbancia (A') se calculó con la ecuación 05:

$$A' = (A_{\lambda_{\max}} - A_{700})_{\text{pH}=1.0} \dots (\text{Ec. 05})$$

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR DPPH

1. PROCEDIMIENTO

Este método, desarrollado por ¹, se basa en la reducción de la absorbancia medida a 517 nm del radical DPPH•, por antioxidantes. Con modificaciones en el método descrito por ², se basa en la medida de la absorbancia del radical DPPH• a 200 µM disuelto en metanol al 80%, a la longitud de onda de 517 nm. Se añade la muestra o estándar trolox, la mezcla se homogeniza cuidadosamente, y se mantiene en la oscuridad durante 30 minutos. El antioxidante sintético de referencia Trolox, a una concentración final de 0-24 µM (Tabla 12) en disolución de metanol al 80%, se ensaya en las mismas, expresándose los resultados en TEAC. La concentración de las muestras en el medio de reacción se calcula a partir de la curva de calibración obtenida por regresión lineal. Los resultados se expresan en TEAC, o sea, actividad antioxidante equivalente a trolox (µmol TE/g de muestra peso seco).

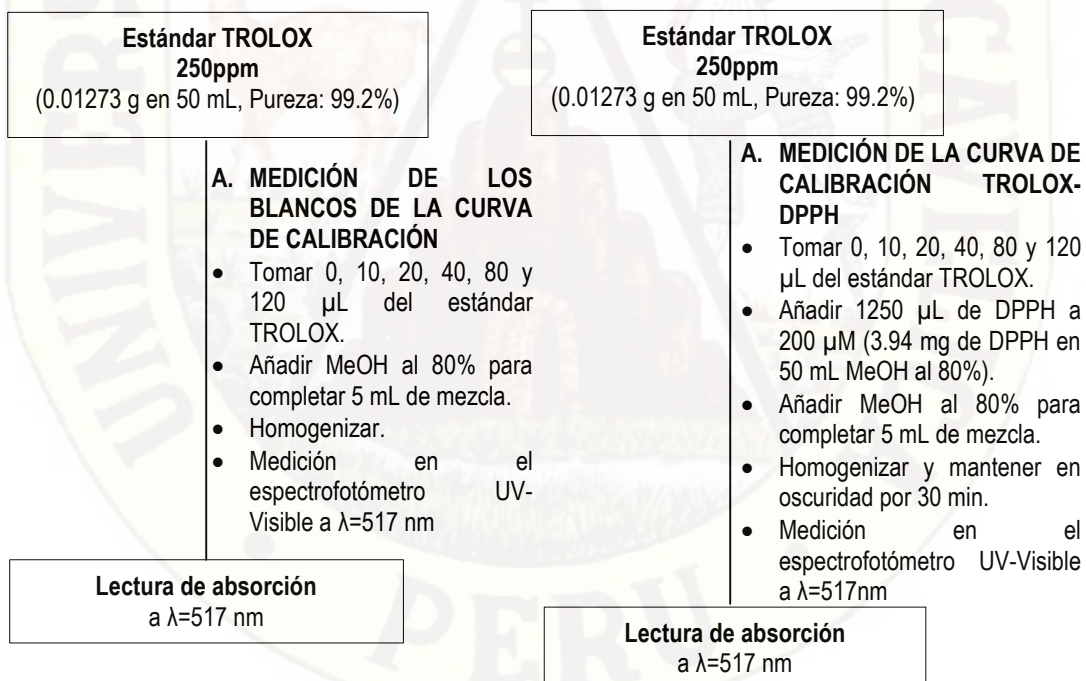


Figura 9. Diagramas de procesos para la preparación de la curva de calibración de TROLOX.

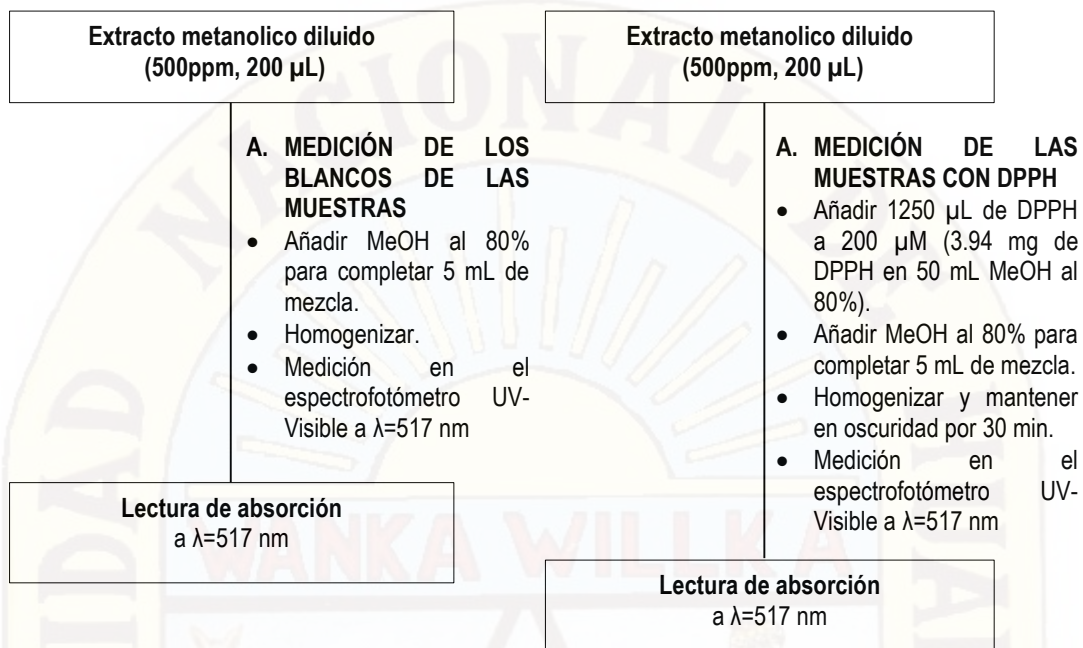


Figura 10. Diagramas de procesos para la preparación de la curva de calibración de TROLOX

Tabla 12. Mezcla de reacción para la Curva de Calibración TROLOX

µL Trolox 250ppm	µL DPPH 200 µM	µL MeOH al 80%	µL Total Mezcla de reacción	Concentración final, µM
0	1250	3750	5000	0.0
10	1250	3740	5000	2.0
20	1250	3730	5000	4.0
40	1250	3710	5000	8.0
80	1250	3670	5000	16.0
120	1250	3630	5000	24.0

Tabla 13. Mezcla de reacción para las muestras

Muestra	μL Muestra 500ppm	μL DPPH 200 μM	μL MeOH al 80%	μL Total Mezcla de reacción
M1	200	1250	3550	5000
M2	200	1250	3550	5000
M3	200	1250	3550	5000

Tabla 14. Concentración del Trolox y sus respectivas Absorbancias

Concentración Trolox, Um	Absorbancia $\lambda=517$ nm
0.0	0.567
2.0	0.528
4.0	0.484
8.0	0.378
16.0	0.187
24.0	0.022

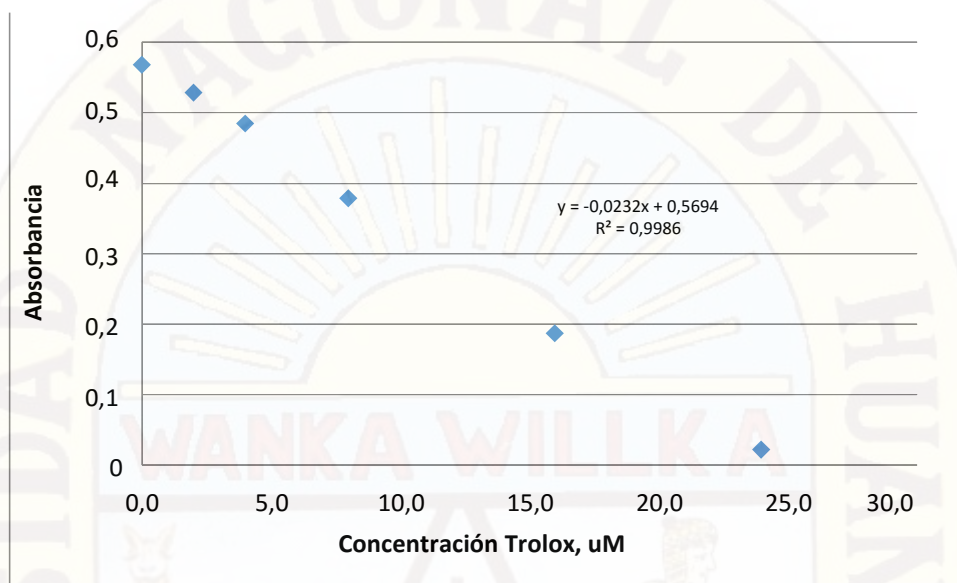


Figura 11. Curva de Calibración de Trolox-DPPH

Tabla 15. Resultados de las Absorbancias de las muestras

Muestra	Absorbancia del Blanco de la muestra $\lambda=517$ nm	Absorbancia del Reacción de la muestra con DPPH $\lambda=517$ nm
M1	0.001	0.361
M2	0.001	0.368
M3	0.001	0.451

Tabla 16. Resultados de Humedad de las muestras (Secado a 40°C, 2 semanas)

Muestra	Humedad %
M1	68.81
M2	76.54
M3	84.76

RESULTADOS

Análisis fisicoquímico del fruto de macha macha en estado maduro.

En la tabla 4, se muestra los resultados de análisis de características fisicoquímicos del fruto de macha macha en estado maduro la cual contiene: pH 4.67, humedad 84.760%, acidez (expresado como ácido cítrico) 0,028, grasa 0.536%, proteína 0.897%, Cenizas 0,478%, carbohidratos totales 13,329%

Tabla 17. Características fisicoquímicos del fruto de macha macha en estado maduro

ANÁLISIS	RESULTADO
Ph	4.67
Humedad, %	84.760
Acidez, (expresado como ácido cítrico)	0,028
Grasa, %	0.536
Proteína, %	0.897
Cenizas, %	0.478
Carbohidratos totales, %	13.329

Determinación de antocianinas del fruto de macha macha por el método pH diferencial.

Tabla 18. Identificación de la muestra

MUESTRA	DESCRIPCIÓN
M1	Fruto de macha macha. Muestra verde
M2	Fruto de macha macha. Muestra pinton
M3	Fruto de macha macha. Muestra maduro

En tabla 6, se muestra el contenido de antocianinas determinados por el método pH diferencial, los resultado obtenidos del contenido de antocianinas totales presentes en el fruto de macha macha fueron los siguientes: 0.519 mg de Cianidina/g de muestra, 4.242 mg de Cianidina/g de muestra y 10.532 mg de Cianidina/g de muestra en estado verde, pintón y maduro respectivamente observándose que en estado maduro el fruto de macha macha presenta mayor contenido.

Tabla 19. Determinación de antocianinas del fruto de macha macha por el método pH diferencial.

Repetición	Contenido de antocianinas monómericas (mg de Cianidina/g de muestra seca)			Contenido de antocianinas totales (mg de Cianidina/g de muestra seca)		
	M1	M2	M3	M1	M2	M3
1	0.235	3.507	9.145	0.520	4.244	10.531
2	0.225	3.491	9.125	0.520	4.246	10.516
3	0.230	3.501	9.146	0.516	4.236	10.550
Promedio	0.230	3.499	9.139	0.519	4.242	10.532
D.S.	0.005	0.008	0.012	0.002	0.005	0.017
R.S.D.,%	2.037	0.225	0.131	0.450	0.129	0.164

Determinación de capacidad antioxidante por el método DPPH del fruto de macha macha.

La actividad antioxidante de la macha macha evaluada por el radical DPPH, presenta un valor de 569.3637 Umol TE/g muestra, 550.1427 Umol TE/g muestra y 323.9630 Umol TE/g muestra en estado verde, pintón y maduro respectivamente observándose que en estado verde el fruto de macha macha presenta una mayor capacidad antioxidante.

Tabla 20. Determinación de capacidad antioxidante del fruto de macha macha por el método DPPH.

Muestra	Umol TE/g muestra humeda	Umol TE/g muestra seca
Fruto de macha macha verde (M1)	177.5850	569.3637
Fruto de macha macha verde (M2)	129.0650	550.1427
Fruto de macha macha verde (M3)	49.3709	323.9630

Cuantificación de características fisicoquímicas en el fruto de macha macha.

Tabla 21. Comparación de características fisicoquímicas de macha macha con otras frutas.

FRUTAS	pH	Acidez
Macha macha	4.67	0.028
Ciruela criolla ³	3.06	0.52
Melón criollo ³	6.01	0.09
Mango de clase ³	4.21	2.23
Cereza criolla ³	2.94	3.91
Coco ³	6.13	0.32
Chirimoya ³	4.58	1.3
Ayrampu ⁴	2.5	2.35
Grosella ⁴	2.01	3.57

Fuente: Villalba et al.³, Ccatamayo y Valderrama⁴

Tabla 22. Comparación de características fisicoquímicas de macha macha con otras frutas.

Análisis	Macha macha	Ayrampu ⁴	Aguaymanto ⁵
Humedad	84.760	79.52	80.2
Ceniza	0.478	2.68	1.58
Proteína	0.897	1.11	0.58
Grasa	0.536	1.35	0.57
Carbohidratos	13.329	12.63	16.47

Fuente: Ccatamayo y Valderrama⁴, Gallo⁵

Comparación del contenido de antocianinas totales del fruto de macha macha con otras frutas del genero vaccinium.

El contenido de antocianinas totales expresados como (mg cianidina/ g muestra) (Tabla 12), encontradas en los frutos de macha macha (*Vaccinium floribundum Kunth*), es alto con un valor de (1053.2) comparado con los reportados para los frutos del genero vaccinium el contenido de antocianinas totales reportan valores de: 300-600 para el arándano americano (*Vaccinium myrtillus, L*)⁶, 60 – 480 para el Mora azul (*Vaccinium different sub-genera*)⁶, 20-360 para Arándano (*Vaccinium oxycoccus, L*)⁶, 35-170 para arándano rojo (*Vaccinium vitis-idaea, L*)⁶, 92-235 para el Northern Highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*)⁷, 60 – 187 para el Rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*)⁸, 290 – 300 para Lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*)⁹ y 371 – 630 para el deerberry (*Vaccinium stamineum*)¹⁰.

Tabla 23. Comparación del contenido de antocianinas del fruto de macha macha con otras frutas del genero *Vaccinium*.

Frutillas	Especie	Antocianinas (mg / 100g muestra)
Fruto de macha macha verde	<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth.	51.9
Fruto de macha macha pintón	<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth.	424.2
Fruto dema chamacha maduro	<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth.	1053.2
arándano americano	<i>Vaccinium myrtillus</i> , L	300-600 ⁶
Mora azul	<i>Vaccinium</i> (different sub-genera)	60-480 ⁶
Arándano	<i>Vaccinium oxycoccus</i> , L	20-360 ⁶
Arándano rojo	<i>Vaccinium vitis-idaea</i> , L	35-170 ⁶
Northern Highbush blueberry	<i>Vaccinium corymbosum</i>	92 – 235 ⁷
Rabbiteye blueberry	<i>Vaccinium ashei</i>	60 – 187 ⁸
Lowbush blueberry	<i>Vaccinium angustifolium</i>	290 – 300 ⁹
Deerberry	<i>Vaccinium stamineum</i>	371 – 630 ¹⁰

Fuente: Rein, et al.⁶, Prior, et al.⁷, Kalt y Dufour ⁸, Capocasa, et al.⁹, Wang y Ballington¹⁰.

Comparación de la capacidad antioxidante del fruto de macha macha con frutos de otras especies.

Los frutos del genero *Vaccinium*, se caracterizan por poseer una gran cantidad de diferentes compuestos con actividad antioxidante¹¹.

La capacidad antioxidante que presenta el fruto de macha macha es alta en comparación a otros frutos como la mora, uva, acai, guayaba y fresa que presentan una actividad antioxidante que varían de (4.3 a 7.0) $\mu\text{mol TE/g}$ muestra.

Tabla 24. Comparación de la capacidad antioxidante del fruto de macha macha con frutos de otras especies.

MUESTRAS	DPPH TEAC
Fruto de macha macha verde (M1)	177.5850
Fruto de macha macha pinton (M1)	129.0650
Fruto de macha macha maduro (M1)	49.3709
Mora ¹²	4.3
Uva ¹²	7.0
Açaí ¹²	6.9
Guayaba ¹²	5.9
Fresa ¹²	9.2

Fuente: Kuskoski, et al.¹²

aTEAC: actividad antioxidante equivalente al Trolox ($\mu\text{mol TE/g}$ peso muestra).

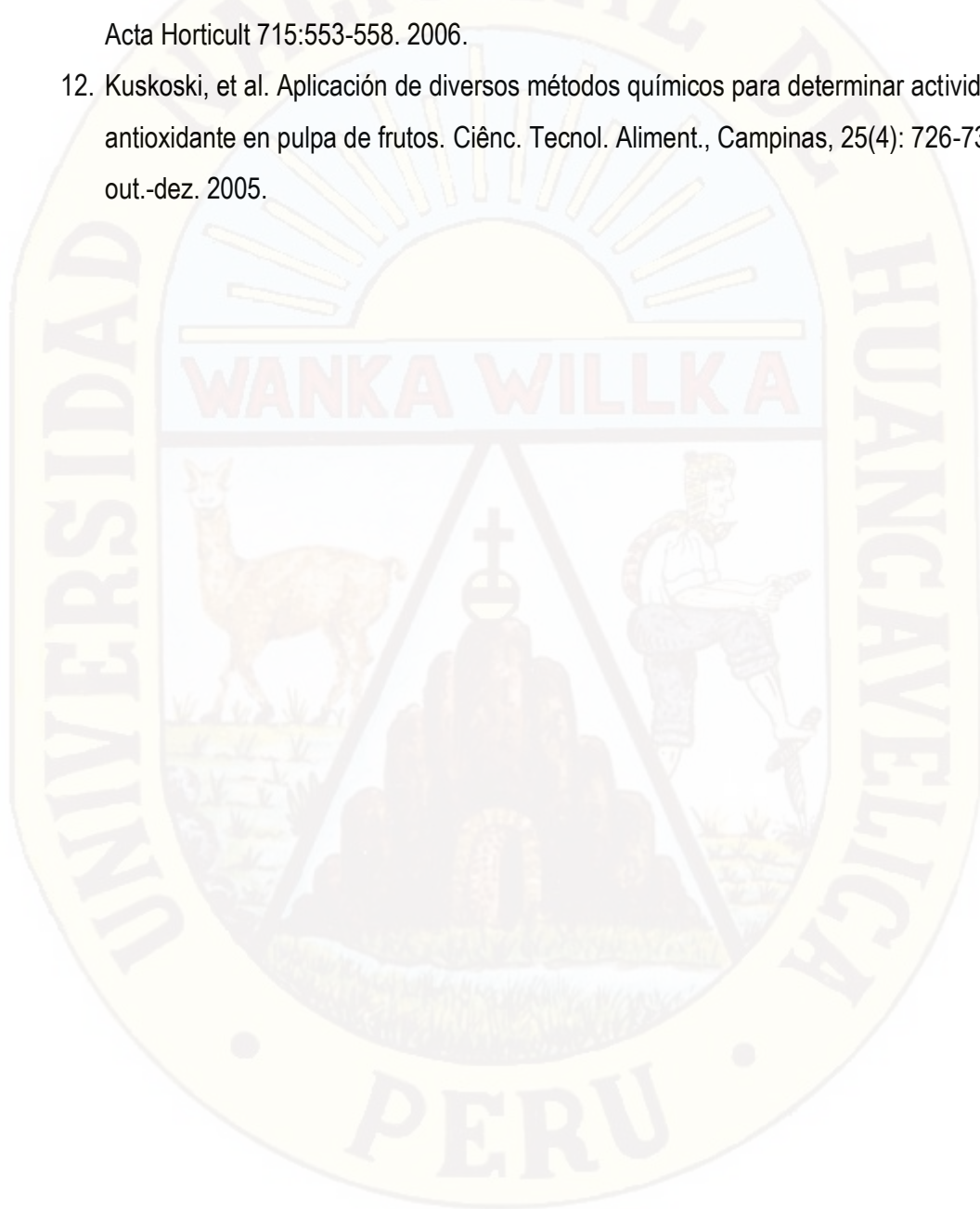
CONCLUSIONES

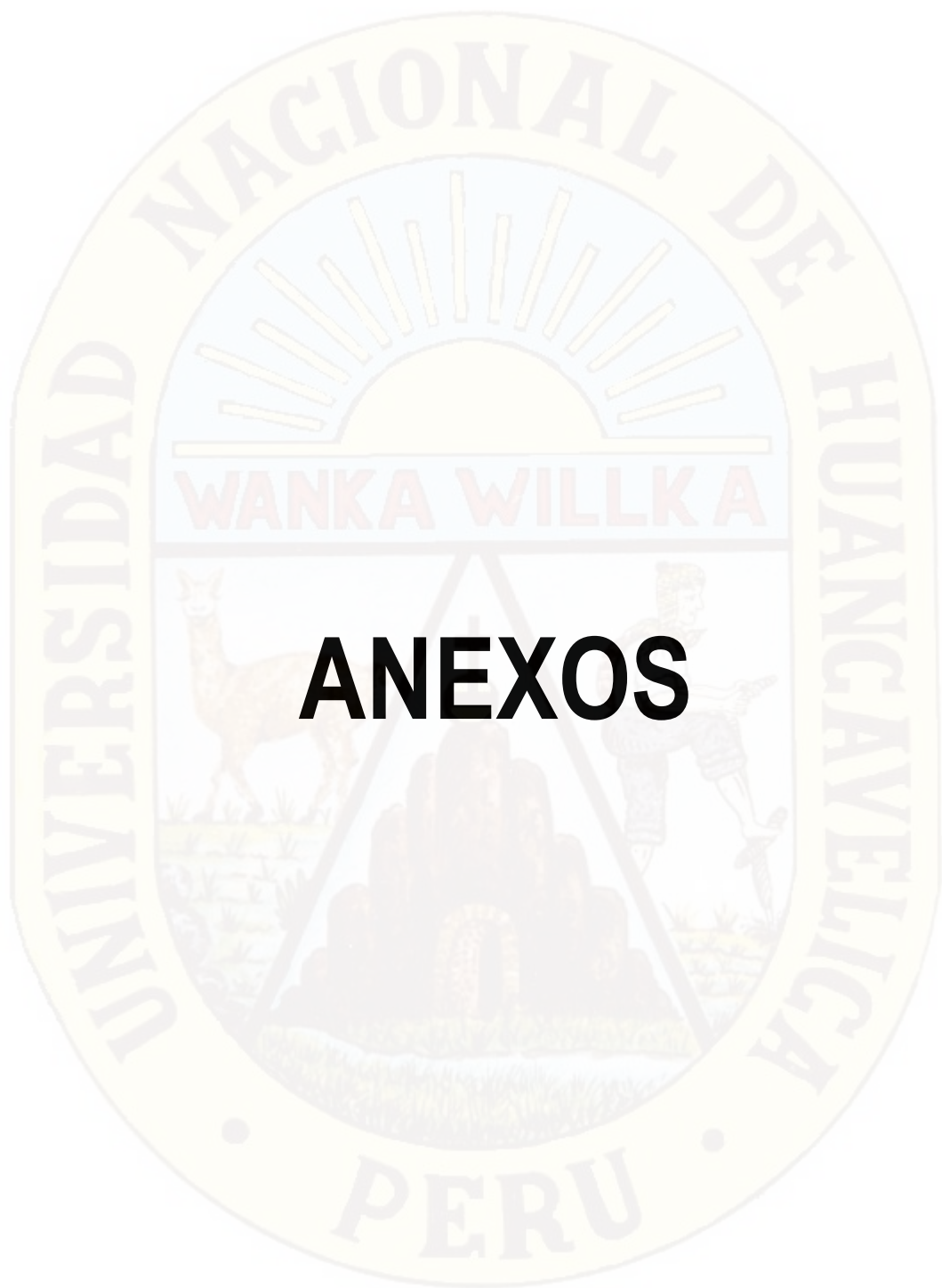
- El fruto de macha macha que presentó el mayor contenido de antocianinas totales fue la madura con 10.532 (mg de Cianidina/g de muestra)
- Se observó diferencia del contenido de antocianinas totales entre los diferentes estados de maduración de los frutos de macha macha. El contenido de antocianinas totales se incrementó de 0.519 hasta 10.532 (mg de Cianidina/g de muestra) al avanzar la maduración.
- Se observó diferencia en su actividad antioxidante entre los diferentes estados de maduración de los frutos de macha macha.
- La mayor actividad antioxidante lo presentó el extracto del fruto pinton, con 569.3637 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra frente al radical DPPH.
- EL análisis fisicoquímico del fruto de macha macha en estado maduro contiene: pH 4.67, humedad 84.760%, acidez (expresado como ácido cítrico) 0,028, grasa 0.536%, proteína 0.897%, Cenizas 0,478%, carbohidratos totales 13.329%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brand-Willliams W, Cuvelier M.E, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm. Wiss. Technol., 22, 25-30, 1995.
2. Martínez-Cruz NS et.al. Antocianinas y actividad anti radicales libres de *Rubus adenotrichus* Schltdl (zarzamora). Revista mexicana de ciencias farmacéuticas. Volumen 42, número 4, 2011.
3. Villalba M, Yepes I, y Arrázola G. (2005). Caracterización fisicoquímica de frutas de la zona del sinu para su agroindustrialización. Temas agrarios, 09.
4. Ccatamayo G, Valderrama V. Aprovechamiento agroindustrial del ayrampu (*Berberis* sp.) en el procesamiento de una bebida funcional para la seguridad alimentaria. Universidad Nacional de Huancavelica, 15. 2010.
5. Gallo E. Carotenoides, fenoles totales y actividad antioxidante en el aguaymanto (*Physalis peruviana* L.). Ayacucho: Tesis Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. 2006.
6. Rein M. Copigmentation Reactions and Color Stability of Berry Anthocyanins. University of Helsinki: Department of Applied Chemistry and Microbiology. Food Chemistry Division. Tesis. 2005.
7. Prior RL, Cao G, Martin A, Sofic E, McEwen J, O'Brien Ch, Lischner N, Ehlenfeldt M, Kalt W, Krewer G, Mainland CM. 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. J Agr Food Chem 46(7):2686-2693.
8. Kalt W, Dufour D. Health functionality of blueberries. Hortechonology 7:216-221. 1997
9. Capocasa F, Scalzo J, Mezzetti B, Battino M. Combining quality and antioxidant attributes in the strawberry: The role of genotype. Food Chem 111:872-878. 2008.
10. Wang SY, Ballington JR. Free radical scavenging capacity and antioxidant enzyme activity in deerberry (*Vaccinium stamineum* L.). Food Sci Technol Today Shanta NC, Decker EA. 1994. Rapid, sensitive, iron-based 73:1352-1361. 2007.

11. Beccaro G, Mellano MG, Botta R, Chiabrando V, Bounous G. Phenolic and anthocyanin content and antioxidant activity in fruits of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and of highbush blueberry (*V. corymbosum* L.) cultivars in North Western Italy. Acta Horticult 715:553-558. 2006.
12. Kuskoski, et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 25(4): 726-732, out.-dez. 2005.





ANEXOS

ANEXO 1



UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
FACULTAD DE CIENCIAS
LABICER (Laboratorio N° 12)
ANÁLISIS QUÍMICO, CONSULTORÍA E INVESTIGACIÓN

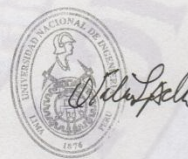


INFORME TÉCNICO N° 1020 – 16 – LAB. 12

1. DATOS DEL SOLICITANTE
 - 1.1 NOMBRE DEL SOLICITANTE : PETER LLIMPE PEREZ
 - 1.2 D.N.I. : 44393870
2. FECHA DE EMISIÓN : 06 / 07 / 2016
3. ANÁLISIS SOLICITADO : ANÁLISIS EN FRUTO DE PLANTA "Macha macha"
4. DATOS REFERENCIALES DE LA MUESTRA SEGÚN EL SOLICITANTE
 - 4.1 IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA : 03 MUESTRAS DE FRUTOS DE LA PLANTA "Macha macha"

MUESTRA	DESCRIPCIÓN
M1	Fruto de planta "Macha macha". Muestra verde.
M2	Fruto de planta "Macha macha". Muestra pintón.
M3	Fruto de planta "Macha macha". Muestra madura.

5. DATOS DEL ESTÁNDAR DE TROLOX
 - 5.1 NOMBRE DEL PRODUCTO : 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico
 - 5.2 CODIFICACIÓN DEL PRODUCTO : 238813
 - 5.3 NÚMERO DE LOTE : BCB7575V
 - 5.4 MARCA : ALDRICH
 - 5.5 CAS : 53188-07-1
 - 5.6 GRADO DE PUREZA : 98.2%
6. LUGAR DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA : LABORATORIO N°12 - FACULTAD DE CIENCIAS
7. CONDICIONES AMBIENTALES : Temperatura: 23.1°C; Humedad relativa: 61 %
8. MÉTODO UTILIZADO : CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTO RENDIMIENTO.
9. DOCUMENTOS DE REFERENCIA
 - [9.1] Antocianinas y actividad anti radicales libres de *Rubus adenotrichus Schtdl* (zarzamora). Nieves del Socorro Martínez-Cruz, *et.al.* Revista mexicana de ciencias farmacéuticas. Volumen 42, número 4, 2011.
 - [9.2] Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. E. Marta Kuskoski, *et.al.* Ciénc. Tecnol. Aliment., Campinas, 25(4): 726-732, out.-dez. 2005.
10. EQUIPOS UTILIZADOS
ESPECTROFOTÓMETRO UV-VISIBLE. SHIMADZU, UV-1800.
CÁMARA DE TEMPERATURA Y HUMEDAD CONTROLADAS. ESPEC.
EQUIPO ULTRASONIDO, WISD Laboratory Instruments.
ROTAVAPOR, BUCHI.
MOLINO CRIOGÉNICO, Freezer/Mill. SPEX SamplePrep 6870D.
HORNO ELÉCTRICO, POL-EKO. SLN 32-ECO.
EQUIPO DE AGUA DESIONIZADA. HIDROMAQ.
BALANZA ANALÍTICA DIGITAL. SARTORIUS, CPA225D.
11. REACTIVOS UTILIZADOS
 - Estándar Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico), 98.2%, adquirido de SIGMA ALDRICH.
 - Reactivo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil), adquirido de SIGMA ALDRICH.
 - Metanol P.A., adquirido de MERCK PERUANA.
 - Ácido clorhídrico P.A., adquirido de MERCK PERUANA.
 - Agua desionizada, Tipo II, obtenida del equipo desionizador HIDROMAQ.



12. RESULTADOS EXPERIMENTALES

12.1 DETERMINACIÓN DE ANTOCIANINAS POR EL MÉTODO DE PH DIFERENCIAL [9.1]

Repetición	Contenido de antocianinas monoméricas (mg de Cianidina/g de muestra seca)			Contenido de antocianinas totales (mg de Cianidina/g de muestra seca)		
	M1	M2	M3	M1	M2	M3
1	0.235	3.507	9.145	0.520	4.244	10.531
2	0.225	3.491	9.125	0.520	4.246	10.516
3	0.230	3.501	9.146	0.516	4.236	10.550
Promedio	0.230	3.499	9.139	0.519	4.242	10.532
D.S.	0.005	0.008	0.012	0.002	0.005	0.017
R.S.D., %	2.037	0.225	0.131	0.450	0.129	0.164

*Ver Anexos (ítem 14.1.2).

12.2 DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DPPH [9.2]

Muestra	umol TE/ g muestra húmeda	umol TE/ g muestra seca
M1	177.5850	569.3637
M2	129.0650	550.1427
M3	49.3709	323.9630

Ver Anexos (ítem 14.1.3).

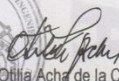
TEAC: Actividad antioxidante equivalente al Trolox (umol TE/g muestra), TE: Trolox Equivalent

13. VALIDEZ DEL INFORME TÉCNICO

El Informe técnico es válido solo para la muestra y las condiciones indicadas en los ítems del uno (1) al cuatro (4) del presente informe técnico.


Bach. Nadia Rodríguez
Analista Químico
LABICER - UNI


Quim. Yemerson M. Bartolo Ch.
Analista Químico
LABICER - UNI


M.Sc. Otilia Acha de la Cruz
Jefa de Laboratorio
Responsable de Análisis
CQP 202

El Laboratorio no se responsabiliza del muestreo ni de la procedencia de la muestra.

ANEXO 2



UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
FACULTAD DE CIENCIAS
LABICER (Laboratorio N° 12)
ANÁLISIS QUÍMICO, CONSULTORÍA E INVESTIGACIÓN



01 INFORME TÉCNICO N° 1020 – A – 16 – LAB. 12

1. DATOS DEL SOLICITANTE
 - 1.1 NOMBRE DEL SOLICITANTE : PETER LLIMPE PEREZ
 - 1.2 D.N.I. : 44393870
2. FECHA DE EMISIÓN : 06 / 07 / 2016
3. ANÁLISIS SOLICITADO : ANÁLISIS EN FRUTO DE PLANTA "Macha macha"
4. DATOS REFERENCIALES DE LA MUESTRA SEGÚN EL SOLICITANTE
 - 4.1 IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA : 01 MUESTRA DE FRUTO DE LA PLANTA "Macha macha"
MUESTRA MADURA
5. LUGAR DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA : LABORATORIO N°12 - FACULTAD DE CIENCIAS
6. CONDICIONES AMBIENTALES : Temperatura: 23.1°C; Humedad relativa: 61 %
7. EQUIPOS UTILIZADOS
 - POTENCIÓMETRO ORION VERSA STAR
 - ELECTRODO TRIODE REFILLABLE PH ORIÓN 9157BNMD
 - ROTAVAPOR, BUCHI.
 - EQUIPO DE AGUA DESIONIZADA. HIDROMAQ.
 - BALANZA ANALÍTICA DIGITAL. SARTORIUS, CPA225D.
 - MANTA DE CALENTAMIENTO WISD
8. RESULTADOS EXPERIMENTALES

ANÁLISIS	RESULTADO	METODO DE REFERENCIA
pH	4.67	AOAC 945.27
Humedad, %	84.760	AOAC 934.06
Acidez, (expresado como ácido cítrico)	0.028	AOAC 942.15
Grasa, %	0.536	NTE INEN 523
Proteína, %	0.897	NTE INEN 16
Cenizas, %	0.478	INEN 401
Carbohidratos totales, %	13.329	Calculado*

* Método de referencia para el cálculo de carbohidratos totales: <http://www.fao.org/docrep/006/y5022e/y5022e03.htm>

9. VALIDEZ DEL INFORME TÉCNICO
El Informe técnico es válido solo para la muestra y las condiciones indicadas en los ítems del uno (1) al cuatro (4) del presente informe técnico.


Quim. Yemerson M. Bartolo Ch.
Analista Químico
LABICER - UNI


Ing. María del Carmen de la Cruz
Jefa de Laboratorio
Responsable de Análisis
CQP 202

El Laboratorio no se responsabiliza del muestreo ni de la procedencia de la muestra.

ANEXO 3

Procedimientos de determinación del contenido de antocianinas en el fruto de macha macha (*Vaccinium floribundum* Kunth).

1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

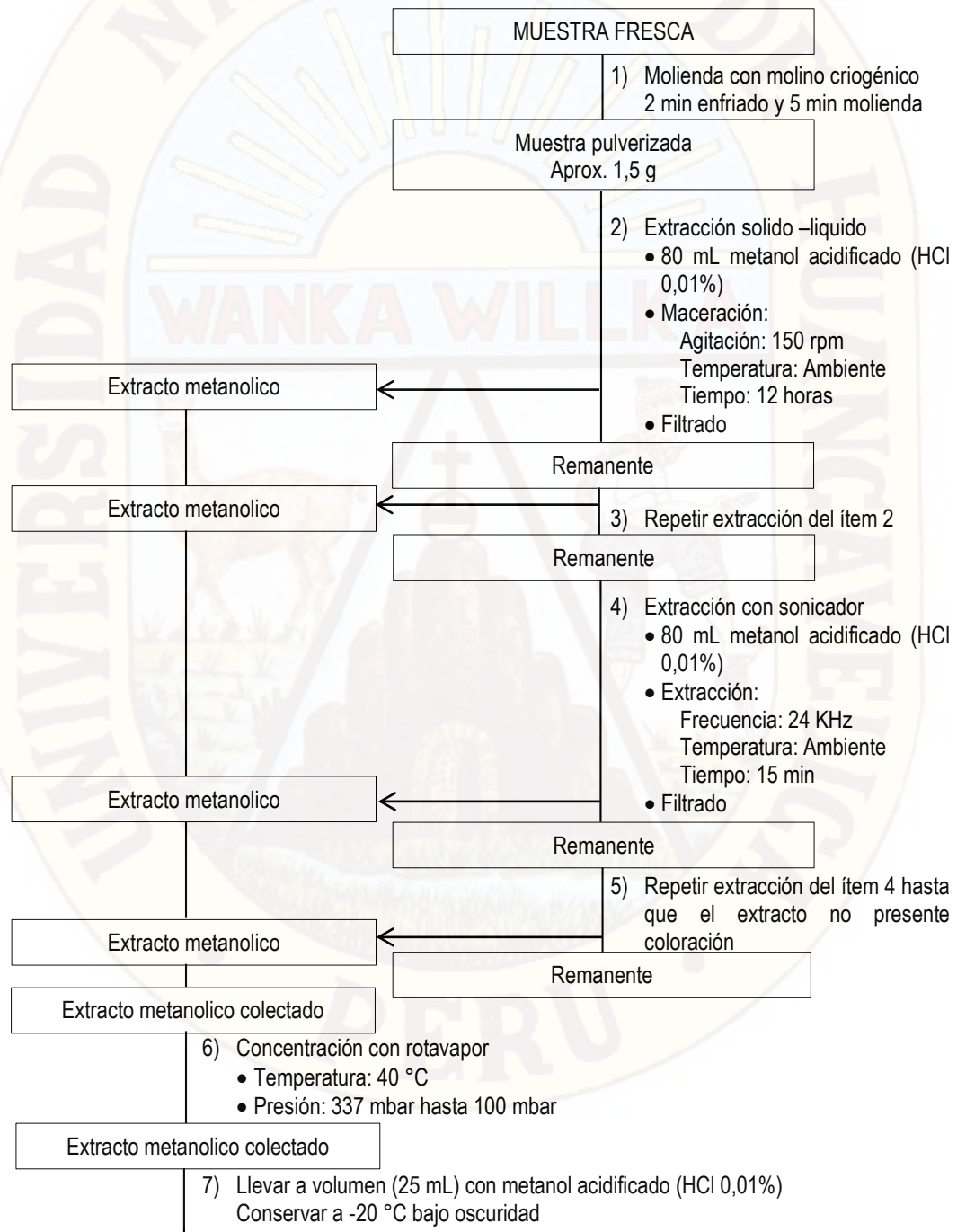


Figura 1. Diagrama de procesos para la preparación de muestra

ANEXO 4

CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS POR pH DIFERENCIAL

1. PROCEDIMIENTO

La cuantificación de antocianinas se realizó por el método de pH diferencial, el cual es un método espectrofotométrico que se basa en la transformación estructural de las antocianinas con el cambio de pH (pH 1 coloreadas pH 4.5 incoloras). Se prepararon diluciones del extracto metanólico con solución buffer pH 1.0 de cloruro de potasio y con solución buffer pH 4.5 de acetato de sodio. Se midió la absorbancia de cada muestra a la longitud de onda de máxima absorbancia y a 700 nm.

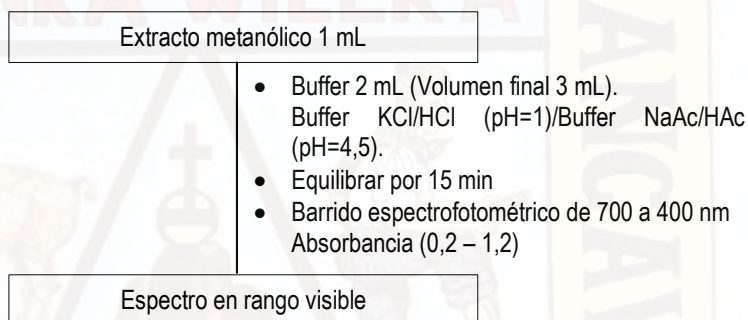


Figura 2. Diagrama de procesos para la cuantificación de antocianinas

2. CÁLCULOS

Para el cálculo del contenido de antocianinas se utiliza la masa y la absorbancia molar del pigmento antociano presente en mayor proporción, en este caso es la cianidina (M 449.2 y ϵ 26900).

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

$$\text{Antocianinas monoméricas (mg cianidina/ g muestra)} = \{(A)(M)(FD)(V)(1000)\} / \{\epsilon(L)(W)\} \dots (\text{Ec. 01})$$

Dónde:

A: Absorbancia de cada muestra a la longitud de onda de máxima absorbancia

M: Masa molar

FD: Factor de dilución

V: Volumen de la fiola (25 mL)

ϵ : Absorbancia molar o coeficiente de extintor molar

L: Longitud de corrido en cm (L=1 cm)

W: Masa de la muestra seca

Para la ecuación 01 se utiliza:

A) La ecuación de Lambert-Beer:

$$C = A/\epsilon L \dots (\text{Ec. 02})$$

Dónde:

C: Concentración molar

A: Absorbancia

ϵ : Absorbancia molar o coeficiente de extintor molar

L: Longitud de corrido en cm

W: Masa de la muestra seca

B) La absorbancia (A):

$$A = (A_{\lambda_{\max}} - A_{700})_{\text{pH}=1.0} - (A_{\lambda_{\max}} - A_{700})_{\text{pH}=4.5} \dots (\text{Ec. 03})$$

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

$$\text{Antocianinas totales (mg cianidina/ g muestra)} = \{(A')(M)(FD)(V)(1000)\} / \{\epsilon(L)(W)\} \dots (\text{Ec. 04})$$

Donde la absorbancia (A') se calculó con la ecuación 05:

$$A' = (A_{\lambda_{\max}} - A_{700})_{\text{pH}=1.0} \dots (\text{Ec. 05})$$

ANEXO 5

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR DPPH

1. PROCEDIMIENTO

Este método, desarrollado por ⁴⁷, se basa en la reducción de la absorbancia medida a 517 nm del radical DPPH•, por antioxidantes. Con modificaciones en el método descrito por ⁴⁸, se basa en la medida de la absorbancia del radical DPPH• a 200 µM disuelto en metanol al 80%, a la longitud de onda de 517 nm. Se añade la muestra o estándar trolox, la mezcla se homogeniza cuidadosamente, y se mantiene en la oscuridad durante 30 minutos. El antioxidante sintético de referencia Trolox, a una concentración final de 0-24 µM (Tabla 12) en disolución de metanol al 80%, se ensaya en las mismas, expresándose los resultados en TEAC. La concentración de las muestras en el medio de reacción se calcula a partir de la curva de calibración obtenida por regresión lineal. Los resultados se expresan en TEAC, o sea, actividad antioxidante equivalente a trolox (µmol TE/g de muestra peso seco).

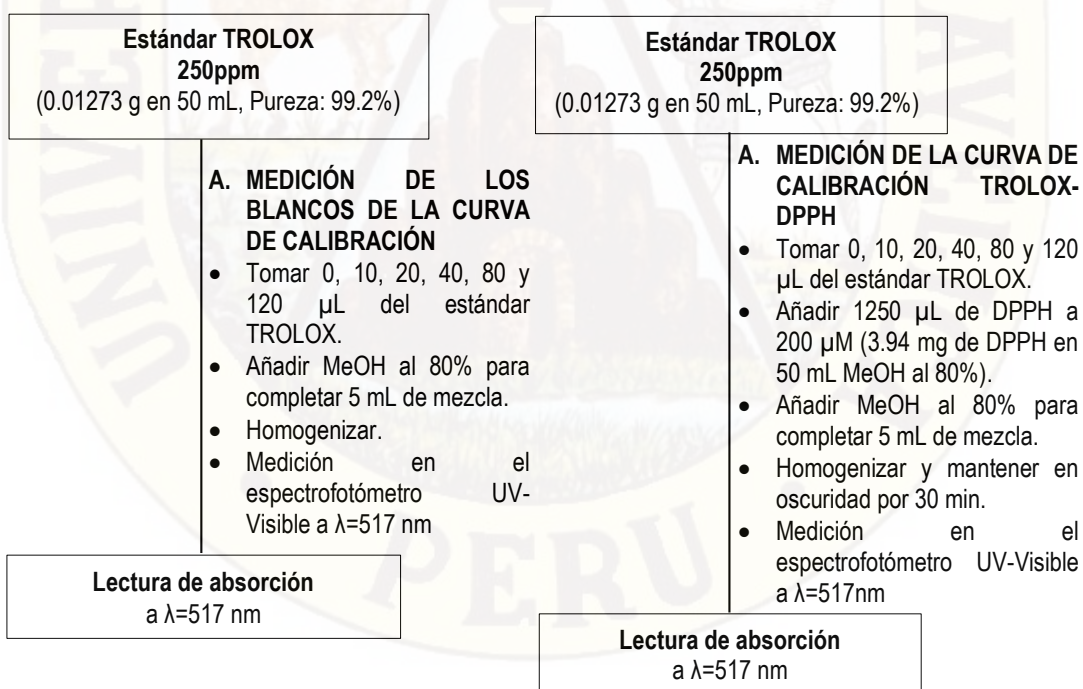


Figura 3. Diagramas de procesos para la preparación de la curva de calibración de TROLOX.

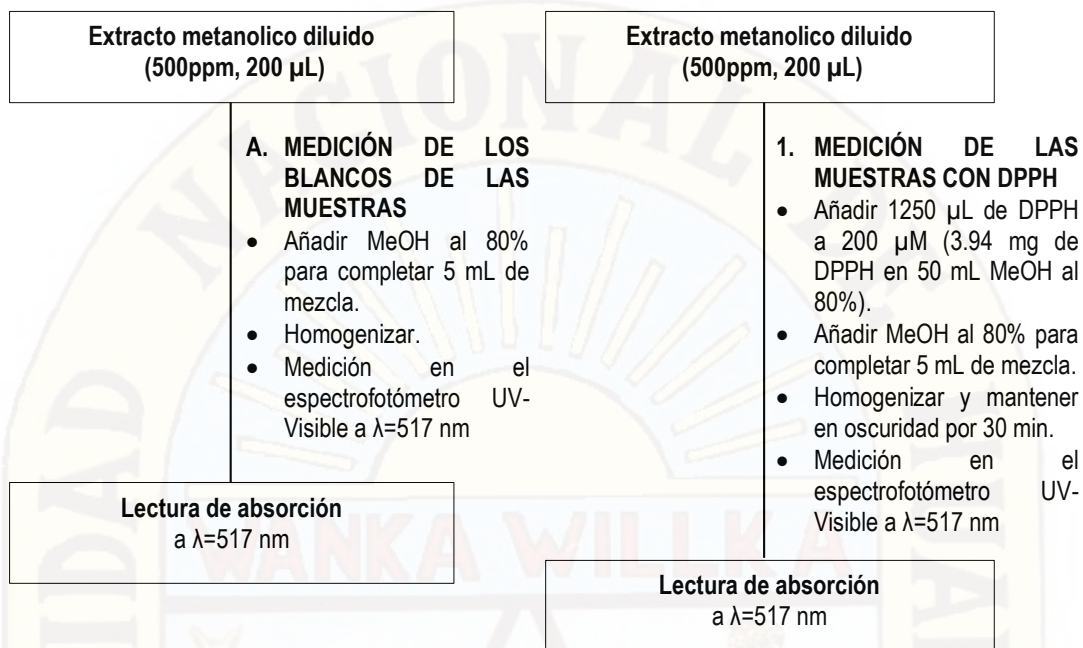


Figura 4. Diagramas de procesos para la preparación de la curva de calibración de TROLOX

Tabla 1. Mezcla de reacción para la Curva de Calibración TROLOX

µL Trolox 250ppm	µL DPPH 200 µM	µL MeOH al 80%	µL Total Mezcla de reacción	Concentración final, µM
0	1250	3750	5000	0.0
10	1250	3740	5000	2.0
20	1250	3730	5000	4.0
40	1250	3710	5000	8.0
80	1250	3670	5000	16.0
120	1250	3630	5000	24.0

Tabla 2. Mezcla de reacción para las muestras

Muestra	μL Muestra 500ppm	μL DPPH 200 μM	μL MeOH al 80%	μL Total Mezcla de reacción
M1	200	1250	3550	5000
M2	200	1250	3550	5000
M3	200	1250	3550	5000

Tabla 3. Concentración del Trolox y sus respectivas Absorbancias

Concentración Trolox, Um	Absorbancia $\lambda=517$ nm
0.0	0.567
2.0	0.528
4.0	0.484
8.0	0.378
16.0	0.187
24.0	0.022

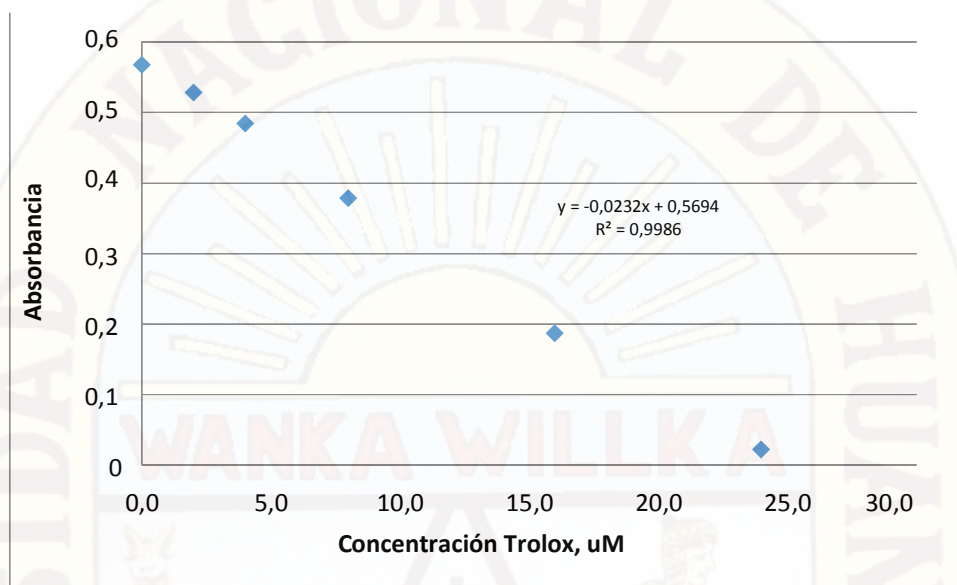


Figura 5. Curva de Calibración de Trolox-DPPH

Tabla 4. Resultados de las Absorbancias de las muestras

Muestra	Absorbancia del Blanco de la muestra $\lambda=517$ nm	Absorbancia del Reacción de la muestra con DPPH $\lambda=517$ nm
M1	0.001	0.361
M2	0.001	0.368
M3	0.001	0.451

Tabla 5. Resultados de Humedad de las muestras (Secado a 40°C, 2 semanas)

Muestra	Humedad %
M1	68.81
M2	76.54
M3	84.76

ANEXO 6

Tabla 6. Resultados de las curvas espectrofotometricas de las muestras M1, M2 y M3 en el rango de 400 a 700 nm

Long de onda	Absorbancias																	
(nm)	M1.1 pH1	M1.1 pH4.5	M1.2 pH1	M1.2 pH4.5	M1.3 pH1	M1.3 pH4.5	M2.1 pH1	M2.1 pH4.5	M2.2 pH1	M2.2 pH4.5	M2.3 pH1	M2.3 pH4.5	M3.1 pH1	M3.1 pH4.5	M3.2 pH1	M3.2 pH4.5	M3.3 pH1	M3.3 pH4.5
400	0,316	0,329	0,318	0,339	0,318	0,333	0,418	0,369	0,418	0,378	0,418	0,375	0,43	0,315	0,447	0,314	0,446	0,33
400,5	0,31	0,323	0,312	0,332	0,312	0,326	0,413	0,363	0,413	0,372	0,413	0,369	0,427	0,31	0,444	0,309	0,443	0,325
401	0,304	0,317	0,306	0,326	0,307	0,32	0,409	0,357	0,408	0,366	0,408	0,363	0,424	0,306	0,441	0,305	0,44	0,321
401,5	0,299	0,31	0,3	0,319	0,301	0,313	0,404	0,351	0,404	0,36	0,404	0,357	0,421	0,301	0,438	0,3	0,437	0,316
402	0,293	0,304	0,295	0,313	0,295	0,307	0,399	0,345	0,399	0,354	0,399	0,351	0,419	0,297	0,436	0,296	0,434	0,312
402,5	0,288	0,299	0,289	0,307	0,29	0,302	0,395	0,34	0,395	0,348	0,395	0,345	0,416	0,293	0,433	0,292	0,432	0,307
403	0,283	0,294	0,285	0,302	0,285	0,297	0,391	0,335	0,391	0,343	0,391	0,34	0,414	0,289	0,431	0,288	0,43	0,304
403,5	0,278	0,288	0,28	0,297	0,28	0,292	0,387	0,33	0,387	0,338	0,387	0,335	0,412	0,285	0,428	0,284	0,427	0,3
404	0,273	0,283	0,275	0,292	0,276	0,287	0,384	0,325	0,383	0,333	0,383	0,33	0,41	0,281	0,426	0,281	0,425	0,296
404,5	0,269	0,278	0,27	0,286	0,271	0,281	0,38	0,32	0,38	0,328	0,38	0,325	0,408	0,277	0,424	0,277	0,423	0,292
405	0,264	0,273	0,266	0,281	0,266	0,276	0,376	0,315	0,376	0,323	0,376	0,32	0,406	0,274	0,422	0,273	0,421	0,289
405,5	0,26	0,268	0,261	0,276	0,262	0,272	0,373	0,31	0,372	0,318	0,372	0,315	0,405	0,27	0,42	0,269	0,419	0,285
406	0,255	0,264	0,257	0,271	0,258	0,267	0,369	0,305	0,369	0,313	0,369	0,31	0,403	0,267	0,419	0,266	0,418	0,281
406,5	0,251	0,259	0,253	0,267	0,253	0,262	0,366	0,301	0,366	0,309	0,366	0,306	0,401	0,263	0,417	0,263	0,416	0,278
407	0,247	0,255	0,249	0,262	0,25	0,258	0,363	0,297	0,363	0,305	0,363	0,302	0,4	0,26	0,415	0,26	0,414	0,275
407,5	0,243	0,25	0,245	0,258	0,246	0,254	0,36	0,293	0,36	0,3	0,36	0,298	0,399	0,257	0,414	0,257	0,413	0,272
408	0,24	0,247	0,241	0,254	0,242	0,25	0,358	0,289	0,358	0,297	0,358	0,294	0,398	0,254	0,413	0,254	0,412	0,269
408,5	0,237	0,243	0,238	0,25	0,239	0,246	0,355	0,286	0,355	0,293	0,355	0,29	0,397	0,251	0,412	0,251	0,41	0,266
409	0,233	0,239	0,235	0,246	0,235	0,243	0,353	0,282	0,353	0,289	0,353	0,286	0,396	0,249	0,411	0,248	0,409	0,263
409,5	0,23	0,235	0,231	0,243	0,232	0,239	0,351	0,278	0,351	0,286	0,351	0,283	0,395	0,246	0,409	0,245	0,408	0,261
410	0,227	0,232	0,228	0,239	0,229	0,236	0,349	0,275	0,348	0,282	0,348	0,279	0,394	0,243	0,409	0,243	0,407	0,258
410,5	0,224	0,228	0,225	0,236	0,226	0,232	0,346	0,272	0,346	0,279	0,346	0,276	0,393	0,241	0,408	0,241	0,406	0,256
411	0,221	0,225	0,222	0,232	0,223	0,229	0,344	0,268	0,344	0,275	0,344	0,273	0,392	0,238	0,407	0,238	0,406	0,253
411,5	0,217	0,222	0,219	0,228	0,22	0,226	0,343	0,265	0,342	0,272	0,342	0,269	0,392	0,236	0,406	0,236	0,405	0,251
412	0,215	0,218	0,216	0,225	0,217	0,223	0,341	0,262	0,341	0,269	0,341	0,266	0,391	0,234	0,406	0,233	0,404	0,248
412,5	0,212	0,216	0,214	0,223	0,214	0,22	0,339	0,26	0,339	0,266	0,339	0,264	0,391	0,232	0,405	0,231	0,404	0,246
413	0,21	0,213	0,212	0,22	0,212	0,217	0,338	0,257	0,338	0,264	0,338	0,261	0,39	0,23	0,405	0,23	0,403	0,244
413,5	0,208	0,21	0,209	0,217	0,21	0,214	0,336	0,254	0,336	0,261	0,336	0,258	0,39	0,228	0,404	0,227	0,403	0,242
414	0,205	0,207	0,206	0,214	0,207	0,211	0,335	0,251	0,335	0,258	0,335	0,255	0,39	0,226	0,404	0,225	0,402	0,24

414,5	0,202	0,204	0,204	0,211	0,205	0,208	0,333	0,249	0,333	0,255	0,333	0,252	0,389	0,224	0,404	0,223	0,402	0,238
415	0,2	0,202	0,202	0,208	0,202	0,206	0,332	0,246	0,332	0,252	0,332	0,25	0,389	0,222	0,403	0,221	0,402	0,236
415,5	0,198	0,199	0,199	0,205	0,2	0,203	0,331	0,244	0,331	0,25	0,331	0,248	0,389	0,22	0,403	0,22	0,402	0,234
416	0,196	0,197	0,198	0,203	0,198	0,201	0,33	0,242	0,33	0,248	0,33	0,245	0,389	0,218	0,403	0,218	0,401	0,233
416,5	0,194	0,194	0,195	0,201	0,196	0,199	0,329	0,239	0,329	0,245	0,329	0,243	0,389	0,217	0,403	0,216	0,401	0,231
417	0,192	0,192	0,193	0,198	0,194	0,196	0,328	0,237	0,328	0,243	0,327	0,24	0,389	0,215	0,403	0,214	0,401	0,229
417,5	0,19	0,189	0,191	0,195	0,192	0,194	0,327	0,235	0,327	0,241	0,327	0,238	0,389	0,213	0,403	0,213	0,401	0,227
418	0,188	0,187	0,19	0,193	0,19	0,192	0,326	0,233	0,326	0,239	0,326	0,236	0,389	0,212	0,403	0,211	0,401	0,226
418,5	0,186	0,185	0,188	0,191	0,188	0,19	0,325	0,231	0,325	0,237	0,325	0,234	0,389	0,21	0,403	0,21	0,401	0,225
419	0,184	0,183	0,186	0,189	0,186	0,187	0,324	0,229	0,324	0,235	0,324	0,232	0,39	0,209	0,403	0,208	0,401	0,223
419,5	0,182	0,181	0,184	0,187	0,185	0,186	0,324	0,227	0,324	0,233	0,323	0,23	0,39	0,207	0,403	0,207	0,401	0,222
420	0,181	0,179	0,182	0,185	0,183	0,184	0,323	0,225	0,323	0,231	0,323	0,228	0,39	0,206	0,404	0,206	0,402	0,221
420,5	0,179	0,177	0,18	0,183	0,181	0,182	0,322	0,223	0,322	0,229	0,322	0,227	0,39	0,205	0,404	0,204	0,402	0,219
421	0,177	0,175	0,179	0,181	0,179	0,18	0,322	0,222	0,322	0,227	0,322	0,225	0,391	0,204	0,404	0,203	0,402	0,218
421,5	0,176	0,173	0,177	0,179	0,178	0,178	0,321	0,22	0,321	0,225	0,321	0,223	0,391	0,202	0,404	0,202	0,402	0,217
422	0,174	0,171	0,176	0,177	0,176	0,176	0,321	0,218	0,321	0,224	0,32	0,221	0,391	0,201	0,405	0,201	0,403	0,215
422,5	0,173	0,17	0,174	0,175	0,175	0,174	0,32	0,216	0,32	0,222	0,32	0,22	0,392	0,2	0,405	0,2	0,403	0,214
423	0,171	0,168	0,173	0,174	0,173	0,173	0,32	0,215	0,32	0,221	0,32	0,218	0,392	0,199	0,406	0,198	0,403	0,213
423,5	0,17	0,166	0,171	0,172	0,172	0,171	0,319	0,214	0,319	0,219	0,319	0,217	0,393	0,198	0,406	0,197	0,404	0,212
424	0,168	0,165	0,17	0,171	0,171	0,169	0,319	0,212	0,319	0,218	0,319	0,215	0,393	0,196	0,406	0,196	0,404	0,211
424,5	0,167	0,163	0,168	0,169	0,169	0,168	0,319	0,211	0,319	0,216	0,319	0,214	0,394	0,195	0,407	0,195	0,405	0,21
425	0,165	0,162	0,167	0,167	0,168	0,166	0,318	0,209	0,318	0,215	0,318	0,212	0,394	0,194	0,407	0,194	0,405	0,209
425,5	0,164	0,16	0,166	0,166	0,166	0,165	0,318	0,208	0,318	0,213	0,318	0,211	0,395	0,193	0,408	0,193	0,406	0,208
426	0,163	0,158	0,164	0,164	0,165	0,163	0,318	0,206	0,318	0,212	0,318	0,209	0,395	0,192	0,408	0,192	0,406	0,207
426,5	0,162	0,157	0,163	0,163	0,164	0,162	0,318	0,205	0,318	0,21	0,318	0,208	0,396	0,191	0,409	0,191	0,407	0,206
427	0,16	0,156	0,162	0,161	0,163	0,161	0,317	0,204	0,318	0,209	0,318	0,207	0,397	0,19	0,41	0,19	0,407	0,205
427,5	0,159	0,154	0,161	0,16	0,161	0,159	0,317	0,202	0,317	0,208	0,317	0,205	0,397	0,189	0,41	0,189	0,408	0,204
428	0,158	0,153	0,159	0,158	0,16	0,158	0,317	0,201	0,317	0,206	0,317	0,204	0,398	0,188	0,411	0,188	0,408	0,203
428,5	0,157	0,151	0,158	0,157	0,159	0,156	0,317	0,2	0,317	0,205	0,317	0,203	0,399	0,187	0,411	0,187	0,409	0,202
429	0,155	0,15	0,157	0,156	0,158	0,155	0,317	0,199	0,317	0,204	0,317	0,202	0,399	0,186	0,412	0,186	0,41	0,201
429,5	0,154	0,149	0,156	0,154	0,156	0,154	0,317	0,197	0,317	0,203	0,317	0,2	0,4	0,186	0,413	0,186	0,41	0,2
430	0,153	0,148	0,155	0,153	0,155	0,153	0,317	0,196	0,317	0,201	0,317	0,199	0,401	0,185	0,413	0,185	0,411	0,2
430,5	0,152	0,147	0,154	0,152	0,154	0,151	0,317	0,195	0,317	0,2	0,317	0,198	0,401	0,184	0,414	0,184	0,412	0,199
431	0,151	0,145	0,153	0,151	0,153	0,15	0,317	0,194	0,317	0,199	0,317	0,197	0,402	0,183	0,415	0,183	0,412	0,198
431,5	0,15	0,144	0,152	0,15	0,152	0,149	0,317	0,193	0,317	0,198	0,317	0,196	0,403	0,182	0,416	0,182	0,413	0,197
432	0,149	0,143	0,151	0,148	0,151	0,148	0,317	0,192	0,317	0,197	0,317	0,195	0,404	0,182	0,416	0,182	0,414	0,197
432,5	0,149	0,142	0,15	0,147	0,15	0,147	0,317	0,191	0,317	0,196	0,317	0,194	0,405	0,181	0,417	0,181	0,414	0,196
433	0,148	0,141	0,149	0,146	0,15	0,146	0,317	0,19	0,317	0,195	0,317	0,193	0,405	0,18	0,418	0,18	0,415	0,195
433,5	0,147	0,14	0,148	0,145	0,149	0,145	0,317	0,189	0,317	0,194	0,317	0,192	0,406	0,179	0,418	0,179	0,416	0,194
434	0,146	0,139	0,148	0,144	0,148	0,144	0,317	0,188	0,317	0,193	0,317	0,191	0,407	0,179	0,419	0,179	0,416	0,194
434,5	0,145	0,138	0,147	0,143	0,147	0,143	0,317	0,187	0,317	0,192	0,317	0,19	0,408	0,178	0,42	0,178	0,417	0,193
435	0,144	0,137	0,146	0,142	0,146	0,142	0,318	0,186	0,317	0,191	0,317	0,189	0,408	0,177	0,421	0,177	0,418	0,192
435,5	0,144	0,136	0,145	0,141	0,146	0,141	0,318	0,186	0,318	0,19	0,318	0,188	0,409	0,177	0,421	0,177	0,419	0,192
436	0,143	0,135	0,145	0,14	0,145	0,14	0,318	0,185	0,318	0,189	0,318	0,187	0,41	0,176	0,422	0,176	0,42	0,191

436,5	0,142	0,135	0,144	0,139	0,144	0,14	0,318	0,184	0,318	0,189	0,318	0,187	0,411	0,175	0,423	0,176	0,42	0,191
437	0,142	0,134	0,143	0,139	0,144	0,139	0,318	0,183	0,318	0,188	0,318	0,186	0,412	0,175	0,424	0,175	0,421	0,19
437,5	0,141	0,133	0,142	0,138	0,143	0,138	0,319	0,182	0,318	0,187	0,318	0,185	0,412	0,174	0,425	0,174	0,422	0,19
438	0,14	0,132	0,142	0,137	0,142	0,137	0,319	0,181	0,319	0,186	0,319	0,184	0,413	0,174	0,426	0,174	0,423	0,189
438,5	0,14	0,131	0,141	0,136	0,142	0,136	0,319	0,181	0,319	0,185	0,319	0,183	0,414	0,173	0,426	0,173	0,423	0,188
439	0,139	0,13	0,14	0,135	0,141	0,135	0,319	0,18	0,319	0,185	0,319	0,182	0,415	0,172	0,427	0,173	0,424	0,188
439,5	0,138	0,13	0,14	0,134	0,14	0,134	0,319	0,179	0,319	0,184	0,319	0,182	0,416	0,172	0,428	0,172	0,425	0,187
440	0,138	0,129	0,139	0,133	0,14	0,134	0,319	0,178	0,319	0,183	0,319	0,181	0,416	0,171	0,428	0,171	0,426	0,187
440,5	0,137	0,128	0,139	0,133	0,139	0,133	0,32	0,178	0,32	0,182	0,32	0,18	0,417	0,171	0,429	0,171	0,426	0,186
441	0,137	0,127	0,138	0,132	0,139	0,132	0,32	0,177	0,32	0,182	0,32	0,18	0,418	0,17	0,43	0,17	0,427	0,186
441,5	0,136	0,127	0,138	0,131	0,138	0,132	0,32	0,176	0,32	0,181	0,32	0,179	0,419	0,17	0,431	0,17	0,428	0,185
442	0,135	0,126	0,137	0,13	0,137	0,131	0,321	0,176	0,321	0,18	0,321	0,178	0,42	0,169	0,432	0,169	0,429	0,185
442,5	0,135	0,125	0,137	0,13	0,137	0,13	0,321	0,175	0,321	0,179	0,321	0,177	0,421	0,168	0,432	0,169	0,43	0,184
443	0,134	0,124	0,136	0,129	0,136	0,13	0,321	0,174	0,321	0,179	0,321	0,177	0,421	0,168	0,433	0,168	0,43	0,184
443,5	0,134	0,124	0,135	0,128	0,136	0,129	0,322	0,174	0,322	0,178	0,322	0,176	0,422	0,167	0,434	0,168	0,431	0,184
444	0,133	0,123	0,135	0,128	0,135	0,128	0,322	0,173	0,322	0,177	0,322	0,175	0,423	0,167	0,435	0,167	0,432	0,183
444,5	0,133	0,122	0,134	0,127	0,135	0,128	0,322	0,172	0,322	0,177	0,322	0,175	0,424	0,167	0,436	0,167	0,433	0,183
445	0,132	0,122	0,134	0,126	0,134	0,127	0,323	0,172	0,323	0,176	0,323	0,174	0,425	0,166	0,437	0,166	0,434	0,182
445,5	0,132	0,121	0,133	0,126	0,134	0,126	0,323	0,171	0,323	0,176	0,323	0,173	0,426	0,166	0,438	0,166	0,435	0,182
446	0,131	0,121	0,133	0,125	0,133	0,126	0,323	0,171	0,323	0,175	0,323	0,173	0,427	0,165	0,439	0,165	0,436	0,181
446,5	0,131	0,12	0,132	0,124	0,133	0,125	0,324	0,17	0,324	0,174	0,324	0,172	0,428	0,165	0,44	0,165	0,437	0,181
447	0,13	0,119	0,132	0,123	0,132	0,124	0,324	0,169	0,324	0,174	0,324	0,171	0,429	0,164	0,441	0,164	0,438	0,18
447,5	0,13	0,119	0,132	0,123	0,132	0,124	0,325	0,169	0,325	0,173	0,325	0,171	0,43	0,163	0,442	0,164	0,439	0,18
448	0,13	0,118	0,131	0,122	0,132	0,123	0,325	0,168	0,325	0,172	0,325	0,17	0,431	0,163	0,443	0,163	0,44	0,179
448,5	0,129	0,117	0,131	0,121	0,131	0,122	0,326	0,167	0,326	0,171	0,326	0,169	0,432	0,163	0,444	0,163	0,441	0,179
449	0,129	0,117	0,13	0,121	0,131	0,122	0,326	0,167	0,326	0,171	0,326	0,169	0,434	0,162	0,445	0,162	0,442	0,178
449,5	0,128	0,116	0,13	0,12	0,13	0,121	0,327	0,166	0,327	0,17	0,327	0,168	0,435	0,162	0,446	0,162	0,443	0,178
450	0,128	0,115	0,13	0,12	0,13	0,121	0,328	0,166	0,327	0,17	0,328	0,168	0,436	0,161	0,448	0,161	0,444	0,178
450,5	0,128	0,115	0,129	0,119	0,129	0,12	0,328	0,165	0,328	0,169	0,328	0,167	0,437	0,161	0,449	0,161	0,446	0,177
451	0,127	0,114	0,129	0,118	0,129	0,119	0,329	0,164	0,329	0,169	0,329	0,167	0,439	0,16	0,45	0,161	0,447	0,177
451,5	0,127	0,114	0,128	0,118	0,129	0,119	0,329	0,164	0,329	0,168	0,329	0,166	0,44	0,16	0,452	0,16	0,448	0,176
452	0,126	0,113	0,128	0,117	0,128	0,118	0,33	0,163	0,33	0,167	0,33	0,166	0,441	0,159	0,453	0,16	0,45	0,176
452,5	0,126	0,113	0,128	0,117	0,128	0,118	0,331	0,163	0,331	0,167	0,331	0,165	0,443	0,159	0,454	0,159	0,451	0,176
453	0,126	0,112	0,127	0,116	0,128	0,117	0,332	0,162	0,331	0,166	0,331	0,165	0,444	0,159	0,456	0,159	0,452	0,175
453,5	0,125	0,111	0,127	0,115	0,127	0,117	0,332	0,162	0,332	0,166	0,332	0,164	0,446	0,158	0,457	0,159	0,454	0,175
454	0,125	0,111	0,126	0,115	0,127	0,116	0,333	0,161	0,333	0,165	0,333	0,163	0,447	0,158	0,459	0,158	0,455	0,174
454,5	0,125	0,11	0,126	0,114	0,126	0,115	0,334	0,161	0,334	0,165	0,334	0,163	0,449	0,157	0,461	0,158	0,457	0,174
455	0,124	0,11	0,126	0,113	0,126	0,115	0,335	0,16	0,335	0,164	0,335	0,162	0,451	0,157	0,462	0,157	0,459	0,174
455,5	0,124	0,109	0,125	0,113	0,126	0,114	0,336	0,159	0,336	0,163	0,336	0,162	0,452	0,156	0,464	0,157	0,46	0,173
456	0,124	0,108	0,125	0,112	0,125	0,114	0,337	0,159	0,337	0,163	0,337	0,161	0,454	0,156	0,466	0,156	0,462	0,173
456,5	0,123	0,108	0,125	0,112	0,125	0,113	0,338	0,158	0,338	0,162	0,338	0,161	0,456	0,156	0,468	0,156	0,464	0,173
457	0,123	0,107	0,124	0,111	0,125	0,112	0,339	0,158	0,339	0,162	0,339	0,16	0,458	0,155	0,47	0,156	0,466	0,172

457,5	0,123	0,107	0,124	0,111	0,124	0,112	0,34	0,157	0,34	0,161	0,34	0,16	0,46	0,155	0,472	0,155	0,468	0,172
458	0,122	0,106	0,124	0,11	0,124	0,111	0,341	0,157	0,341	0,161	0,341	0,159	0,462	0,155	0,474	0,155	0,47	0,172
458,5	0,122	0,106	0,124	0,11	0,124	0,111	0,342	0,156	0,342	0,16	0,342	0,159	0,465	0,154	0,477	0,155	0,473	0,171
459	0,122	0,105	0,123	0,109	0,124	0,11	0,344	0,156	0,344	0,16	0,344	0,158	0,467	0,154	0,479	0,154	0,475	0,171
459,5	0,122	0,105	0,123	0,109	0,124	0,11	0,345	0,156	0,345	0,159	0,345	0,158	0,469	0,154	0,481	0,154	0,477	0,171
460	0,121	0,104	0,123	0,108	0,123	0,109	0,346	0,155	0,346	0,159	0,346	0,157	0,471	0,153	0,483	0,154	0,479	0,171
460,5	0,121	0,104	0,123	0,107	0,123	0,109	0,347	0,155	0,348	0,158	0,348	0,157	0,474	0,153	0,486	0,153	0,482	0,17
461	0,121	0,103	0,122	0,107	0,123	0,108	0,349	0,154	0,349	0,158	0,349	0,156	0,476	0,152	0,489	0,153	0,484	0,17
461,5	0,12	0,103	0,122	0,106	0,122	0,108	0,351	0,154	0,351	0,157	0,351	0,156	0,479	0,152	0,491	0,153	0,487	0,17
462	0,12	0,102	0,122	0,106	0,122	0,107	0,352	0,153	0,352	0,157	0,352	0,155	0,482	0,152	0,494	0,152	0,49	0,169
462,5	0,12	0,102	0,121	0,105	0,122	0,107	0,354	0,153	0,354	0,157	0,354	0,155	0,485	0,152	0,497	0,152	0,493	0,169
463	0,12	0,101	0,121	0,105	0,122	0,106	0,355	0,152	0,355	0,156	0,355	0,154	0,488	0,151	0,5	0,152	0,496	0,169
463,5	0,119	0,101	0,121	0,104	0,121	0,106	0,357	0,152	0,357	0,156	0,357	0,154	0,491	0,151	0,503	0,151	0,499	0,169
464	0,119	0,1	0,121	0,104	0,121	0,105	0,359	0,151	0,359	0,155	0,359	0,153	0,494	0,151	0,506	0,151	0,502	0,168
464,5	0,119	0,1	0,121	0,103	0,121	0,105	0,36	0,151	0,361	0,155	0,361	0,153	0,497	0,151	0,509	0,151	0,505	0,168
465	0,119	0,099	0,12	0,103	0,121	0,105	0,362	0,151	0,362	0,154	0,362	0,153	0,501	0,15	0,513	0,151	0,508	0,168
465,5	0,119	0,099	0,12	0,102	0,12	0,104	0,364	0,15	0,364	0,154	0,364	0,152	0,504	0,15	0,516	0,15	0,512	0,168
466	0,119	0,098	0,12	0,102	0,12	0,104	0,366	0,15	0,366	0,153	0,366	0,152	0,507	0,15	0,52	0,15	0,515	0,168
466,5	0,118	0,098	0,12	0,102	0,12	0,103	0,368	0,149	0,368	0,153	0,368	0,151	0,511	0,149	0,523	0,15	0,519	0,167
467	0,118	0,098	0,12	0,101	0,12	0,103	0,37	0,149	0,37	0,153	0,37	0,151	0,514	0,149	0,527	0,149	0,522	0,167
467,5	0,118	0,097	0,119	0,101	0,12	0,102	0,372	0,149	0,372	0,152	0,372	0,15	0,518	0,149	0,53	0,149	0,526	0,167
468	0,118	0,097	0,119	0,1	0,12	0,102	0,374	0,148	0,375	0,152	0,375	0,15	0,522	0,149	0,534	0,149	0,53	0,167
468,5	0,118	0,096	0,119	0,1	0,119	0,101	0,377	0,148	0,377	0,152	0,377	0,15	0,526	0,148	0,538	0,149	0,534	0,167
469	0,118	0,096	0,119	0,099	0,119	0,101	0,379	0,147	0,379	0,151	0,379	0,149	0,53	0,148	0,542	0,149	0,538	0,166
469,5	0,117	0,095	0,119	0,099	0,119	0,101	0,381	0,147	0,381	0,151	0,381	0,149	0,534	0,148	0,546	0,148	0,542	0,166
470	0,117	0,095	0,119	0,098	0,119	0,1	0,384	0,147	0,384	0,15	0,384	0,149	0,538	0,148	0,551	0,148	0,546	0,166
470,5	0,117	0,094	0,118	0,098	0,119	0,1	0,386	0,146	0,386	0,15	0,386	0,148	0,542	0,148	0,555	0,148	0,55	0,166
471	0,117	0,094	0,118	0,097	0,119	0,099	0,389	0,146	0,389	0,15	0,389	0,148	0,547	0,147	0,56	0,148	0,555	0,166
471,5	0,117	0,094	0,118	0,097	0,119	0,099	0,391	0,146	0,391	0,15	0,392	0,148	0,551	0,147	0,564	0,148	0,56	0,166
472	0,117	0,093	0,118	0,097	0,119	0,099	0,394	0,146	0,394	0,149	0,394	0,147	0,556	0,147	0,569	0,148	0,564	0,166
472,5	0,117	0,093	0,118	0,096	0,118	0,098	0,397	0,145	0,397	0,149	0,397	0,147	0,56	0,147	0,574	0,147	0,569	0,165
473	0,117	0,092	0,118	0,096	0,118	0,098	0,399	0,145	0,399	0,148	0,399	0,147	0,565	0,147	0,578	0,147	0,573	0,165
473,5	0,116	0,092	0,118	0,095	0,118	0,097	0,402	0,145	0,402	0,148	0,402	0,146	0,57	0,147	0,583	0,147	0,578	0,165
474	0,116	0,091	0,118	0,095	0,118	0,097	0,405	0,144	0,405	0,148	0,405	0,146	0,575	0,146	0,588	0,147	0,583	0,165
474,5	0,116	0,091	0,118	0,094	0,118	0,096	0,408	0,144	0,408	0,147	0,408	0,146	0,58	0,146	0,594	0,147	0,589	0,165
475	0,116	0,09	0,118	0,094	0,118	0,096	0,411	0,144	0,411	0,147	0,411	0,146	0,586	0,146	0,599	0,147	0,594	0,165
475,5	0,116	0,09	0,118	0,093	0,118	0,096	0,414	0,143	0,414	0,147	0,414	0,145	0,591	0,146	0,604	0,146	0,599	0,165
476	0,116	0,089	0,118	0,093	0,118	0,095	0,417	0,143	0,417	0,146	0,417	0,145	0,596	0,146	0,61	0,146	0,605	0,165
476,5	0,116	0,089	0,117	0,092	0,118	0,095	0,42	0,143	0,42	0,146	0,42	0,144	0,601	0,146	0,615	0,146	0,61	0,165
477	0,116	0,089	0,117	0,092	0,118	0,094	0,423	0,142	0,423	0,146	0,423	0,144	0,607	0,146	0,621	0,146	0,616	0,165
477,5	0,116	0,088	0,117	0,091	0,118	0,094	0,427	0,142	0,427	0,146	0,427	0,144	0,613	0,146	0,627	0,146	0,622	0,165
478	0,116	0,088	0,117	0,091	0,118	0,094	0,43	0,142	0,43	0,145	0,43	0,144	0,618	0,146	0,633	0,146	0,628	0,165
478,5	0,116	0,087	0,117	0,09	0,117	0,093	0,433	0,142	0,433	0,145	0,434	0,143	0,625	0,146	0,639	0,146	0,634	0,165
479	0,116	0,087	0,117	0,09	0,117	0,093	0,437	0,141	0,437	0,145	0,437	0,143	0,631	0,146	0,645	0,146	0,64	0,165

479,5	0,116	0,086	0,117	0,09	0,117	0,092	0,44	0,141	0,44	0,144	0,44	0,143	0,636	0,146	0,651	0,146	0,646	0,165
480	0,116	0,086	0,117	0,089	0,117	0,092	0,444	0,141	0,444	0,144	0,444	0,143	0,643	0,146	0,658	0,146	0,652	0,165
480,5	0,116	0,086	0,117	0,089	0,117	0,091	0,448	0,141	0,448	0,144	0,448	0,142	0,649	0,146	0,664	0,146	0,659	0,165
481	0,116	0,085	0,117	0,088	0,117	0,091	0,451	0,14	0,451	0,144	0,451	0,142	0,655	0,145	0,671	0,146	0,665	0,165
481,5	0,116	0,085	0,117	0,088	0,117	0,091	0,455	0,14	0,455	0,143	0,455	0,142	0,662	0,145	0,677	0,146	0,672	0,165
482	0,116	0,084	0,117	0,087	0,117	0,09	0,459	0,14	0,459	0,143	0,459	0,142	0,668	0,145	0,684	0,146	0,678	0,165
482,5	0,116	0,084	0,117	0,087	0,117	0,09	0,462	0,14	0,462	0,143	0,462	0,141	0,675	0,145	0,69	0,146	0,684	0,165
483	0,116	0,083	0,117	0,086	0,117	0,089	0,465	0,139	0,466	0,143	0,466	0,141	0,681	0,145	0,696	0,146	0,691	0,165
483,5	0,116	0,083	0,117	0,086	0,117	0,089	0,469	0,139	0,469	0,142	0,469	0,141	0,687	0,146	0,702	0,146	0,697	0,165
484	0,116	0,082	0,117	0,086	0,117	0,089	0,473	0,139	0,473	0,142	0,473	0,141	0,693	0,146	0,709	0,146	0,704	0,165
484,5	0,116	0,082	0,117	0,085	0,117	0,088	0,477	0,139	0,477	0,142	0,477	0,141	0,7	0,146	0,716	0,146	0,711	0,165
485	0,116	0,082	0,117	0,085	0,117	0,088	0,48	0,138	0,48	0,142	0,48	0,14	0,707	0,146	0,723	0,146	0,717	0,165
485,5	0,116	0,081	0,117	0,084	0,117	0,087	0,484	0,138	0,484	0,142	0,484	0,14	0,713	0,146	0,729	0,146	0,723	0,166
486	0,116	0,081	0,117	0,084	0,117	0,087	0,488	0,138	0,488	0,141	0,488	0,14	0,719	0,146	0,736	0,146	0,73	0,166
486,5	0,116	0,08	0,117	0,083	0,117	0,086	0,491	0,138	0,491	0,141	0,491	0,14	0,726	0,146	0,742	0,146	0,737	0,166
487	0,116	0,08	0,117	0,083	0,117	0,086	0,496	0,138	0,496	0,141	0,496	0,139	0,733	0,146	0,75	0,146	0,744	0,166
487,5	0,116	0,08	0,117	0,083	0,117	0,086	0,5	0,138	0,499	0,141	0,5	0,139	0,74	0,146	0,757	0,146	0,751	0,166
488	0,116	0,079	0,117	0,082	0,117	0,085	0,503	0,137	0,503	0,141	0,503	0,139	0,747	0,146	0,764	0,146	0,758	0,166
488,5	0,116	0,079	0,117	0,082	0,117	0,085	0,507	0,137	0,507	0,14	0,507	0,139	0,753	0,146	0,77	0,146	0,765	0,166
489	0,116	0,078	0,117	0,081	0,117	0,084	0,511	0,137	0,511	0,14	0,511	0,139	0,761	0,146	0,777	0,146	0,772	0,166
489,5	0,116	0,078	0,117	0,081	0,118	0,084	0,515	0,137	0,515	0,14	0,515	0,138	0,768	0,146	0,785	0,147	0,779	0,166
490	0,116	0,077	0,117	0,08	0,118	0,083	0,519	0,137	0,519	0,14	0,519	0,138	0,774	0,146	0,791	0,147	0,786	0,166
490,5	0,116	0,077	0,117	0,08	0,118	0,083	0,523	0,136	0,523	0,14	0,523	0,138	0,781	0,146	0,798	0,147	0,793	0,166
491	0,116	0,077	0,117	0,08	0,118	0,083	0,526	0,136	0,527	0,139	0,526	0,138	0,788	0,147	0,805	0,147	0,799	0,166
491,5	0,116	0,076	0,117	0,079	0,118	0,082	0,53	0,136	0,531	0,139	0,53	0,138	0,795	0,147	0,812	0,147	0,806	0,167
492	0,116	0,076	0,117	0,079	0,118	0,082	0,534	0,136	0,534	0,139	0,534	0,138	0,802	0,147	0,819	0,147	0,813	0,167
492,5	0,116	0,075	0,117	0,078	0,118	0,082	0,538	0,136	0,538	0,139	0,538	0,138	0,808	0,147	0,826	0,147	0,82	0,167
493	0,116	0,075	0,118	0,078	0,118	0,081	0,542	0,136	0,542	0,139	0,542	0,137	0,815	0,147	0,833	0,147	0,827	0,167
493,5	0,116	0,075	0,118	0,078	0,118	0,081	0,545	0,135	0,546	0,138	0,546	0,137	0,822	0,147	0,84	0,147	0,834	0,167
494	0,116	0,074	0,118	0,077	0,118	0,08	0,549	0,135	0,55	0,138	0,55	0,137	0,829	0,147	0,847	0,147	0,841	0,167
494,5	0,116	0,074	0,118	0,077	0,118	0,08	0,553	0,135	0,554	0,138	0,554	0,137	0,837	0,147	0,854	0,147	0,848	0,168
495	0,116	0,073	0,118	0,076	0,118	0,079	0,557	0,135	0,557	0,138	0,557	0,137	0,843	0,147	0,861	0,148	0,856	0,168
495,5	0,116	0,073	0,118	0,076	0,118	0,079	0,561	0,135	0,561	0,138	0,561	0,137	0,85	0,148	0,868	0,148	0,862	0,168
496	0,116	0,073	0,118	0,075	0,118	0,079	0,565	0,135	0,565	0,138	0,565	0,136	0,856	0,148	0,875	0,148	0,869	0,168
496,5	0,116	0,072	0,118	0,075	0,118	0,078	0,569	0,134	0,569	0,138	0,569	0,136	0,863	0,148	0,882	0,148	0,876	0,169
497	0,116	0,072	0,118	0,075	0,118	0,078	0,573	0,134	0,573	0,137	0,573	0,136	0,87	0,148	0,89	0,148	0,884	0,169
497,5	0,116	0,071	0,118	0,074	0,118	0,077	0,577	0,134	0,577	0,137	0,577	0,136	0,878	0,148	0,897	0,148	0,891	0,169
498	0,116	0,071	0,118	0,074	0,118	0,077	0,581	0,134	0,581	0,137	0,581	0,136	0,885	0,148	0,904	0,148	0,898	0,169
498,5	0,116	0,07	0,118	0,073	0,118	0,076	0,585	0,134	0,585	0,137	0,584	0,136	0,891	0,148	0,911	0,148	0,905	0,169
499	0,116	0,07	0,118	0,073	0,118	0,076	0,588	0,134	0,588	0,136	0,588	0,135	0,898	0,148	0,918	0,148	0,912	0,169
499,5	0,117	0,07	0,118	0,072	0,118	0,076	0,592	0,133	0,592	0,136	0,592	0,135	0,905	0,148	0,925	0,149	0,919	0,17
500	0,117	0,069	0,118	0,072	0,118	0,075	0,596	0,133	0,596	0,136	0,596	0,135	0,912	0,149	0,932	0,149	0,926	0,17

500,5	0,117	0,069	0,118	0,072	0,118	0,075	0,599	0,133	0,6	0,136	0,6	0,135	0,919	0,149	0,939	0,149	0,933	0,17
501	0,117	0,068	0,118	0,071	0,118	0,074	0,603	0,133	0,603	0,136	0,603	0,135	0,926	0,149	0,946	0,149	0,94	0,17
501,5	0,117	0,068	0,118	0,071	0,118	0,074	0,607	0,133	0,607	0,136	0,607	0,135	0,932	0,149	0,953	0,149	0,946	0,171
502	0,117	0,068	0,118	0,071	0,118	0,074	0,61	0,133	0,611	0,136	0,61	0,135	0,938	0,149	0,96	0,149	0,953	0,171
502,5	0,117	0,067	0,118	0,07	0,118	0,073	0,614	0,133	0,614	0,136	0,614	0,135	0,944	0,149	0,966	0,15	0,959	0,171
503	0,117	0,067	0,118	0,07	0,118	0,073	0,617	0,133	0,617	0,136	0,617	0,134	0,951	0,15	0,972	0,15	0,965	0,171
503,5	0,117	0,066	0,118	0,069	0,118	0,072	0,62	0,132	0,621	0,135	0,62	0,134	0,957	0,15	0,979	0,15	0,972	0,171
504	0,117	0,066	0,118	0,069	0,118	0,072	0,624	0,132	0,624	0,135	0,624	0,134	0,963	0,15	0,985	0,15	0,978	0,172
504,5	0,117	0,066	0,118	0,069	0,118	0,072	0,627	0,132	0,627	0,135	0,627	0,134	0,969	0,15	0,991	0,15	0,984	0,172
505	0,117	0,065	0,118	0,068	0,118	0,071	0,631	0,132	0,631	0,135	0,631	0,134	0,975	0,15	0,998	0,15	0,991	0,172
505,5	0,117	0,065	0,118	0,068	0,118	0,071	0,634	0,132	0,634	0,135	0,634	0,134	0,982	0,15	1,004	0,15	0,997	0,173
506	0,117	0,064	0,118	0,068	0,118	0,071	0,637	0,132	0,638	0,135	0,637	0,134	0,988	0,151	1,011	0,151	1,004	0,173
506,5	0,117	0,064	0,118	0,067	0,118	0,07	0,641	0,132	0,641	0,135	0,641	0,134	0,994	0,151	1,017	0,151	1,01	0,173
507	0,117	0,064	0,118	0,067	0,118	0,07	0,644	0,132	0,644	0,134	0,644	0,133	1	0,151	1,023	0,151	1,016	0,173
507,5	0,117	0,063	0,118	0,066	0,118	0,069	0,647	0,132	0,647	0,134	0,647	0,133	1,006	0,151	1,029	0,151	1,022	0,173
508	0,117	0,063	0,118	0,066	0,118	0,069	0,65	0,131	0,65	0,134	0,65	0,133	1,011	0,151	1,034	0,151	1,027	0,174
508,5	0,116	0,063	0,118	0,066	0,118	0,069	0,653	0,131	0,653	0,134	0,653	0,133	1,016	0,151	1,04	0,151	1,032	0,174
509	0,117	0,062	0,118	0,065	0,118	0,068	0,655	0,131	0,656	0,134	0,655	0,133	1,022	0,151	1,045	0,151	1,038	0,174
509,5	0,116	0,062	0,118	0,065	0,118	0,068	0,658	0,131	0,658	0,134	0,658	0,133	1,027	0,152	1,051	0,152	1,043	0,175
510	0,116	0,062	0,118	0,065	0,118	0,068	0,661	0,131	0,661	0,134	0,661	0,133	1,032	0,152	1,056	0,152	1,049	0,175
510,5	0,116	0,061	0,118	0,064	0,118	0,067	0,664	0,131	0,664	0,134	0,664	0,133	1,037	0,152	1,061	0,152	1,054	0,175
511	0,116	0,061	0,118	0,064	0,118	0,067	0,666	0,131	0,666	0,134	0,666	0,133	1,042	0,152	1,067	0,152	1,059	0,175
511,5	0,116	0,061	0,118	0,064	0,118	0,067	0,669	0,131	0,669	0,133	0,669	0,132	1,047	0,152	1,072	0,152	1,064	0,176
512	0,116	0,06	0,117	0,063	0,118	0,066	0,671	0,13	0,671	0,133	0,671	0,132	1,052	0,152	1,076	0,152	1,069	0,176
512,5	0,116	0,06	0,117	0,063	0,117	0,066	0,673	0,13	0,673	0,133	0,673	0,132	1,056	0,153	1,081	0,153	1,073	0,176
513	0,116	0,059	0,117	0,063	0,117	0,066	0,676	0,13	0,676	0,133	0,676	0,132	1,061	0,153	1,086	0,153	1,078	0,176
513,5	0,116	0,059	0,117	0,062	0,117	0,065	0,678	0,13	0,678	0,133	0,678	0,132	1,066	0,153	1,09	0,153	1,083	0,177
514	0,116	0,059	0,117	0,062	0,117	0,065	0,68	0,13	0,68	0,133	0,68	0,132	1,07	0,153	1,095	0,153	1,087	0,177
514,5	0,115	0,058	0,117	0,062	0,117	0,065	0,682	0,13	0,682	0,133	0,682	0,132	1,074	0,153	1,099	0,153	1,091	0,177
515	0,115	0,058	0,117	0,061	0,117	0,064	0,684	0,13	0,684	0,133	0,684	0,132	1,078	0,153	1,103	0,153	1,095	0,177
515,5	0,115	0,058	0,117	0,061	0,117	0,064	0,686	0,13	0,686	0,133	0,686	0,131	1,081	0,154	1,106	0,154	1,099	0,178
516	0,115	0,057	0,116	0,061	0,116	0,064	0,687	0,13	0,688	0,132	0,687	0,131	1,085	0,154	1,11	0,154	1,102	0,178
516,5	0,115	0,057	0,116	0,06	0,116	0,063	0,689	0,129	0,689	0,132	0,689	0,131	1,088	0,154	1,114	0,154	1,106	0,178
517	0,115	0,057	0,116	0,06	0,116	0,063	0,691	0,129	0,691	0,132	0,69	0,131	1,091	0,154	1,117	0,154	1,109	0,178
517,5	0,114	0,056	0,116	0,06	0,116	0,063	0,692	0,129	0,692	0,132	0,692	0,131	1,094	0,154	1,12	0,154	1,112	0,179
518	0,114	0,056	0,116	0,059	0,116	0,062	0,693	0,129	0,693	0,132	0,693	0,131	1,097	0,154	1,124	0,154	1,116	0,179
518,5	0,114	0,056	0,115	0,059	0,115	0,062	0,694	0,129	0,695	0,132	0,694	0,131	1,1	0,154	1,126	0,154	1,118	0,179
519	0,114	0,055	0,115	0,059	0,115	0,062	0,696	0,129	0,696	0,132	0,695	0,131	1,103	0,155	1,129	0,154	1,121	0,179
519,5	0,114	0,055	0,115	0,058	0,115	0,062	0,697	0,129	0,697	0,131	0,696	0,13	1,105	0,155	1,132	0,155	1,123	0,18
520	0,113	0,055	0,115	0,058	0,115	0,061	0,698	0,129	0,698	0,131	0,697	0,13	1,107	0,155	1,134	0,155	1,126	0,18
520,5	0,113	0,055	0,115	0,058	0,114	0,061	0,698	0,129	0,698	0,131	0,698	0,13	1,109	0,155	1,136	0,155	1,128	0,18
521	0,113	0,054	0,114	0,057	0,114	0,061	0,699	0,128	0,699	0,131	0,699	0,13	1,111	0,155	1,138	0,155	1,13	0,18
521,5	0,113	0,054	0,114	0,057	0,114	0,06	0,699	0,128	0,699	0,131	0,699	0,13	1,113	0,155	1,14	0,155	1,132	0,18
522	0,112	0,054	0,114	0,057	0,113	0,06	0,7	0,128	0,7	0,131	0,7	0,13	1,114	0,155	1,141	0,155	1,133	0,181

522,5	0,112	0,053	0,113	0,057	0,113	0,06	0,7	0,128	0,7	0,131	0,7	0,13	1,115	0,155	1,143	0,155	1,134	0,181
523	0,112	0,053	0,113	0,056	0,113	0,06	0,7	0,128	0,7	0,131	0,7	0,13	1,116	0,156	1,144	0,155	1,135	0,181
523,5	0,111	0,053	0,113	0,056	0,112	0,059	0,7	0,128	0,7	0,13	0,7	0,129	1,117	0,156	1,145	0,156	1,136	0,181
524	0,111	0,053	0,112	0,056	0,112	0,059	0,7	0,128	0,7	0,13	0,7	0,129	1,117	0,156	1,146	0,156	1,137	0,181
524,5	0,111	0,052	0,112	0,055	0,112	0,059	0,7	0,127	0,7	0,13	0,7	0,129	1,118	0,156	1,146	0,156	1,137	0,181
525	0,11	0,052	0,112	0,055	0,111	0,059	0,699	0,127	0,699	0,13	0,699	0,129	1,118	0,156	1,147	0,156	1,137	0,181
525,5	0,11	0,052	0,111	0,055	0,111	0,058	0,699	0,127	0,699	0,13	0,698	0,129	1,118	0,156	1,147	0,156	1,137	0,182
526	0,109	0,051	0,111	0,054	0,111	0,058	0,698	0,127	0,698	0,13	0,697	0,129	1,117	0,156	1,146	0,156	1,137	0,182
526,5	0,109	0,051	0,11	0,054	0,11	0,058	0,697	0,127	0,697	0,129	0,697	0,128	1,116	0,156	1,146	0,156	1,136	0,182
527	0,108	0,051	0,11	0,054	0,11	0,057	0,696	0,127	0,696	0,129	0,695	0,128	1,116	0,156	1,145	0,156	1,135	0,182
527,5	0,108	0,05	0,109	0,054	0,109	0,057	0,694	0,127	0,694	0,129	0,694	0,128	1,114	0,156	1,144	0,156	1,134	0,182
528	0,108	0,05	0,109	0,053	0,109	0,057	0,693	0,126	0,693	0,129	0,693	0,128	1,113	0,156	1,142	0,156	1,132	0,182
528,5	0,107	0,05	0,108	0,053	0,108	0,057	0,691	0,126	0,691	0,129	0,691	0,128	1,111	0,156	1,14	0,156	1,13	0,182
529	0,106	0,05	0,108	0,053	0,108	0,056	0,689	0,126	0,69	0,128	0,689	0,128	1,109	0,156	1,139	0,156	1,128	0,182
529,5	0,106	0,049	0,107	0,053	0,107	0,056	0,688	0,126	0,688	0,128	0,687	0,127	1,107	0,156	1,136	0,156	1,126	0,182
530	0,105	0,049	0,107	0,052	0,107	0,056	0,685	0,126	0,685	0,128	0,685	0,127	1,104	0,156	1,134	0,156	1,123	0,182
530,5	0,105	0,049	0,106	0,052	0,106	0,056	0,683	0,125	0,683	0,128	0,683	0,127	1,101	0,156	1,131	0,156	1,12	0,182
531	0,104	0,049	0,106	0,052	0,105	0,055	0,681	0,125	0,681	0,128	0,681	0,127	1,098	0,156	1,128	0,156	1,117	0,182
531,5	0,104	0,048	0,105	0,051	0,105	0,055	0,678	0,125	0,678	0,127	0,678	0,127	1,094	0,156	1,125	0,155	1,114	0,182
532	0,103	0,048	0,104	0,051	0,104	0,055	0,676	0,125	0,676	0,127	0,675	0,126	1,09	0,156	1,121	0,155	1,11	0,182
532,5	0,102	0,048	0,104	0,051	0,104	0,055	0,673	0,125	0,673	0,127	0,673	0,126	1,087	0,156	1,117	0,155	1,106	0,182
533	0,102	0,048	0,103	0,051	0,103	0,054	0,67	0,124	0,67	0,127	0,669	0,126	1,083	0,155	1,113	0,155	1,102	0,182
533,5	0,101	0,047	0,103	0,051	0,102	0,054	0,666	0,124	0,666	0,126	0,666	0,126	1,078	0,155	1,109	0,155	1,097	0,182
534	0,101	0,047	0,102	0,05	0,102	0,054	0,663	0,124	0,663	0,126	0,663	0,125	1,073	0,155	1,104	0,155	1,093	0,181
534,5	0,1	0,047	0,101	0,05	0,101	0,054	0,66	0,124	0,66	0,126	0,66	0,125	1,068	0,155	1,099	0,155	1,088	0,181
535	0,099	0,047	0,101	0,05	0,1	0,054	0,656	0,123	0,656	0,126	0,656	0,125	1,063	0,155	1,094	0,155	1,082	0,181
535,5	0,099	0,046	0,1	0,05	0,1	0,053	0,652	0,123	0,652	0,125	0,652	0,125	1,057	0,155	1,088	0,154	1,077	0,181
536	0,098	0,046	0,099	0,049	0,099	0,053	0,648	0,123	0,648	0,125	0,647	0,124	1,05	0,154	1,081	0,154	1,069	0,181
536,5	0,097	0,046	0,098	0,049	0,098	0,053	0,642	0,122	0,642	0,125	0,642	0,124	1,041	0,154	1,072	0,154	1,06	0,181
537	0,096	0,046	0,098	0,049	0,097	0,053	0,638	0,122	0,638	0,125	0,638	0,124	1,035	0,154	1,066	0,154	1,053	0,18
537,5	0,096	0,045	0,097	0,049	0,096	0,052	0,633	0,122	0,633	0,124	0,633	0,123	1,028	0,154	1,059	0,153	1,047	0,18
538	0,095	0,045	0,096	0,048	0,096	0,052	0,629	0,122	0,629	0,124	0,629	0,123	1,021	0,154	1,052	0,153	1,04	0,18
538,5	0,094	0,045	0,095	0,048	0,095	0,052	0,624	0,121	0,624	0,124	0,624	0,123	1,014	0,153	1,046	0,153	1,033	0,18
539	0,093	0,045	0,095	0,048	0,094	0,052	0,619	0,121	0,619	0,124	0,619	0,122	1,006	0,153	1,038	0,153	1,025	0,18
539,5	0,093	0,045	0,094	0,048	0,093	0,052	0,614	0,121	0,614	0,123	0,614	0,122	0,998	0,153	1,03	0,152	1,017	0,18
540	0,092	0,044	0,093	0,048	0,093	0,051	0,609	0,121	0,609	0,123	0,609	0,122	0,991	0,152	1,023	0,152	1,009	0,179
540,5	0,091	0,044	0,092	0,047	0,092	0,051	0,604	0,12	0,604	0,123	0,604	0,121	0,983	0,152	1,015	0,152	1,001	0,179
541	0,09	0,044	0,091	0,047	0,091	0,051	0,599	0,12	0,599	0,122	0,598	0,121	0,974	0,152	1,007	0,152	0,993	0,179
541,5	0,089	0,044	0,091	0,047	0,09	0,051	0,593	0,12	0,593	0,122	0,593	0,121	0,966	0,152	0,998	0,151	0,984	0,179
542	0,089	0,044	0,09	0,047	0,089	0,051	0,588	0,119	0,588	0,122	0,587	0,121	0,958	0,151	0,989	0,151	0,975	0,179
542,5	0,088	0,043	0,089	0,047	0,089	0,05	0,581	0,119	0,581	0,121	0,581	0,12	0,948	0,151	0,98	0,151	0,965	0,178
543	0,087	0,043	0,088	0,046	0,088	0,05	0,575	0,118	0,575	0,121	0,575	0,12	0,939	0,151	0,97	0,15	0,956	0,178

543,5	0,086	0,043	0,087	0,046	0,087	0,05	0,569	0,118	0,569	0,12	0,569	0,119	0,929	0,15	0,961	0,15	0,946	0,177
544	0,085	0,043	0,086	0,046	0,086	0,05	0,563	0,118	0,563	0,12	0,563	0,119	0,919	0,15	0,95	0,15	0,936	0,177
544,5	0,084	0,042	0,085	0,046	0,085	0,05	0,557	0,117	0,557	0,12	0,557	0,119	0,909	0,15	0,941	0,149	0,926	0,177
545	0,083	0,042	0,085	0,046	0,084	0,049	0,551	0,117	0,55	0,119	0,55	0,118	0,899	0,149	0,931	0,149	0,916	0,176
545,5	0,082	0,042	0,084	0,045	0,083	0,049	0,544	0,117	0,544	0,119	0,543	0,118	0,888	0,149	0,919	0,148	0,905	0,176
546	0,081	0,042	0,083	0,045	0,082	0,049	0,537	0,116	0,537	0,119	0,537	0,117	0,877	0,148	0,908	0,148	0,894	0,176
546,5	0,081	0,042	0,082	0,045	0,081	0,049	0,53	0,116	0,53	0,118	0,53	0,117	0,866	0,148	0,898	0,148	0,883	0,175
547	0,08	0,041	0,081	0,045	0,08	0,049	0,523	0,116	0,523	0,118	0,523	0,117	0,855	0,148	0,886	0,147	0,871	0,175
547,5	0,079	0,041	0,08	0,045	0,079	0,048	0,516	0,115	0,516	0,117	0,516	0,116	0,843	0,147	0,874	0,147	0,859	0,174
548	0,078	0,041	0,079	0,044	0,079	0,048	0,509	0,115	0,509	0,117	0,509	0,116	0,832	0,147	0,863	0,146	0,848	0,174
548,5	0,077	0,041	0,078	0,044	0,078	0,048	0,502	0,115	0,502	0,117	0,502	0,115	0,821	0,146	0,852	0,146	0,837	0,173
549	0,076	0,041	0,077	0,044	0,077	0,048	0,495	0,114	0,495	0,116	0,495	0,115	0,809	0,146	0,84	0,145	0,824	0,173
549,5	0,075	0,041	0,076	0,044	0,076	0,048	0,487	0,114	0,487	0,116	0,487	0,115	0,797	0,145	0,827	0,145	0,812	0,173
550	0,074	0,04	0,075	0,044	0,075	0,047	0,48	0,113	0,48	0,115	0,48	0,114	0,785	0,145	0,816	0,144	0,8	0,172
550,5	0,073	0,04	0,075	0,043	0,074	0,047	0,474	0,113	0,473	0,115	0,473	0,114	0,774	0,144	0,804	0,144	0,788	0,172
551	0,072	0,04	0,074	0,043	0,073	0,047	0,466	0,112	0,466	0,115	0,466	0,113	0,762	0,144	0,792	0,144	0,777	0,171
551,5	0,071	0,04	0,073	0,043	0,072	0,047	0,459	0,112	0,459	0,114	0,458	0,113	0,75	0,143	0,779	0,143	0,763	0,171
552	0,07	0,04	0,072	0,043	0,071	0,047	0,451	0,111	0,451	0,114	0,451	0,112	0,737	0,143	0,767	0,142	0,751	0,17
552,5	0,07	0,039	0,071	0,043	0,07	0,046	0,444	0,111	0,444	0,113	0,444	0,112	0,725	0,143	0,755	0,142	0,739	0,17
553	0,069	0,039	0,07	0,042	0,07	0,046	0,437	0,111	0,437	0,113	0,436	0,112	0,713	0,142	0,742	0,142	0,726	0,169
553,5	0,068	0,039	0,069	0,042	0,069	0,046	0,429	0,11	0,429	0,112	0,429	0,111	0,7	0,141	0,729	0,141	0,713	0,169
554	0,067	0,039	0,068	0,042	0,068	0,046	0,421	0,11	0,421	0,112	0,421	0,111	0,688	0,141	0,716	0,14	0,7	0,168
554,5	0,066	0,039	0,067	0,042	0,067	0,046	0,414	0,109	0,414	0,112	0,414	0,11	0,676	0,14	0,704	0,14	0,688	0,168
555	0,065	0,039	0,066	0,042	0,066	0,046	0,407	0,109	0,407	0,111	0,406	0,11	0,663	0,14	0,691	0,139	0,675	0,167
555,5	0,064	0,038	0,065	0,041	0,065	0,045	0,399	0,108	0,399	0,111	0,399	0,109	0,651	0,139	0,678	0,139	0,662	0,167
556	0,063	0,038	0,065	0,041	0,064	0,045	0,392	0,108	0,391	0,11	0,391	0,109	0,637	0,139	0,665	0,138	0,649	0,166
556,5	0,062	0,038	0,064	0,041	0,063	0,045	0,384	0,107	0,384	0,11	0,383	0,108	0,624	0,138	0,652	0,138	0,636	0,166
557	0,062	0,038	0,063	0,041	0,062	0,045	0,377	0,107	0,377	0,109	0,377	0,108	0,612	0,138	0,64	0,137	0,624	0,165
557,5	0,061	0,038	0,062	0,041	0,062	0,045	0,37	0,107	0,37	0,109	0,37	0,108	0,601	0,137	0,628	0,137	0,612	0,165
558	0,06	0,038	0,061	0,041	0,061	0,045	0,363	0,106	0,363	0,108	0,363	0,107	0,589	0,137	0,616	0,136	0,6	0,164
558,5	0,059	0,037	0,06	0,041	0,06	0,044	0,356	0,106	0,356	0,108	0,356	0,107	0,577	0,136	0,604	0,136	0,587	0,164
559	0,058	0,037	0,06	0,04	0,059	0,044	0,348	0,105	0,348	0,108	0,348	0,106	0,564	0,136	0,59	0,135	0,574	0,163
559,5	0,058	0,037	0,059	0,04	0,058	0,044	0,341	0,105	0,34	0,107	0,34	0,106	0,551	0,135	0,577	0,135	0,561	0,163
560	0,057	0,037	0,058	0,04	0,057	0,044	0,334	0,104	0,334	0,107	0,333	0,105	0,539	0,135	0,565	0,134	0,549	0,162
560,5	0,056	0,037	0,057	0,04	0,057	0,044	0,327	0,104	0,327	0,106	0,327	0,105	0,528	0,134	0,554	0,134	0,537	0,161
561	0,055	0,037	0,056	0,04	0,056	0,044	0,321	0,104	0,32	0,106	0,32	0,104	0,516	0,134	0,542	0,133	0,526	0,161
561,5	0,054	0,037	0,056	0,04	0,055	0,043	0,314	0,103	0,314	0,105	0,313	0,104	0,505	0,133	0,53	0,132	0,514	0,16
562	0,053	0,036	0,055	0,04	0,054	0,043	0,306	0,103	0,306	0,105	0,306	0,103	0,492	0,132	0,518	0,132	0,501	0,16
562,5	0,053	0,036	0,054	0,039	0,053	0,043	0,299	0,102	0,3	0,104	0,299	0,103	0,481	0,132	0,506	0,131	0,489	0,159
563	0,052	0,036	0,053	0,039	0,053	0,043	0,293	0,102	0,293	0,104	0,293	0,102	0,47	0,131	0,495	0,131	0,478	0,159
563,5	0,051	0,036	0,053	0,039	0,052	0,043	0,287	0,101	0,287	0,104	0,287	0,102	0,459	0,131	0,484	0,13	0,467	0,158
564	0,051	0,036	0,052	0,039	0,051	0,043	0,281	0,101	0,281	0,103	0,28	0,101	0,449	0,13	0,473	0,13	0,456	0,157
564,5	0,05	0,036	0,051	0,039	0,05	0,043	0,274	0,1	0,274	0,102	0,273	0,101	0,437	0,13	0,461	0,129	0,444	0,157
565	0,049	0,036	0,05	0,039	0,05	0,043	0,268	0,1	0,267	0,102	0,267	0,1	0,426	0,129	0,45	0,128	0,433	0,156

565,5	0,048	0,035	0,05	0,039	0,049	0,042	0,262	0,099	0,261	0,101	0,261	0,1	0,415	0,128	0,44	0,128	0,422	0,155
566	0,048	0,035	0,049	0,038	0,048	0,042	0,256	0,099	0,255	0,101	0,255	0,099	0,405	0,128	0,429	0,127	0,412	0,155
566,5	0,047	0,035	0,048	0,038	0,048	0,042	0,25	0,099	0,25	0,1	0,25	0,099	0,395	0,127	0,419	0,126	0,401	0,154
567	0,046	0,035	0,048	0,038	0,047	0,042	0,244	0,098	0,244	0,1	0,243	0,098	0,385	0,126	0,408	0,126	0,391	0,154
567,5	0,046	0,035	0,047	0,038	0,046	0,042	0,238	0,098	0,238	0,1	0,238	0,098	0,375	0,126	0,398	0,125	0,38	0,153
568	0,045	0,035	0,046	0,038	0,046	0,042	0,232	0,097	0,232	0,099	0,232	0,097	0,365	0,125	0,388	0,125	0,37	0,153
568,5	0,044	0,035	0,046	0,038	0,045	0,042	0,227	0,097	0,227	0,098	0,226	0,097	0,356	0,125	0,379	0,124	0,361	0,152
569	0,044	0,034	0,045	0,038	0,045	0,042	0,221	0,096	0,221	0,098	0,221	0,096	0,346	0,124	0,369	0,123	0,35	0,151
569,5	0,043	0,034	0,044	0,037	0,044	0,041	0,216	0,096	0,216	0,097	0,215	0,096	0,337	0,123	0,359	0,122	0,341	0,151
570	0,043	0,034	0,044	0,037	0,043	0,041	0,211	0,095	0,211	0,097	0,21	0,095	0,328	0,122	0,351	0,122	0,332	0,15
570,5	0,042	0,034	0,043	0,037	0,043	0,041	0,205	0,095	0,205	0,096	0,205	0,095	0,319	0,122	0,341	0,121	0,323	0,149
571	0,041	0,034	0,043	0,037	0,042	0,041	0,2	0,094	0,2	0,096	0,2	0,094	0,31	0,121	0,332	0,121	0,314	0,149
571,5	0,041	0,034	0,042	0,037	0,041	0,041	0,195	0,094	0,195	0,095	0,195	0,094	0,301	0,12	0,323	0,12	0,305	0,148
572	0,04	0,034	0,041	0,037	0,041	0,041	0,19	0,093	0,19	0,095	0,19	0,093	0,293	0,12	0,315	0,119	0,296	0,147
572,5	0,04	0,033	0,041	0,037	0,04	0,04	0,185	0,092	0,185	0,094	0,185	0,093	0,284	0,119	0,306	0,118	0,287	0,146
573	0,039	0,033	0,04	0,036	0,04	0,04	0,181	0,092	0,181	0,094	0,18	0,092	0,276	0,118	0,298	0,118	0,279	0,146
573,5	0,039	0,033	0,04	0,036	0,039	0,04	0,176	0,091	0,176	0,093	0,176	0,092	0,268	0,117	0,29	0,117	0,271	0,145
574	0,038	0,033	0,039	0,036	0,039	0,04	0,172	0,091	0,171	0,092	0,171	0,091	0,26	0,117	0,282	0,116	0,263	0,144
574,5	0,038	0,033	0,039	0,036	0,038	0,04	0,167	0,09	0,167	0,092	0,167	0,09	0,252	0,116	0,274	0,115	0,255	0,143
575	0,037	0,033	0,038	0,036	0,038	0,04	0,163	0,09	0,163	0,091	0,163	0,09	0,245	0,115	0,266	0,115	0,247	0,143
575,5	0,036	0,033	0,038	0,036	0,037	0,04	0,158	0,089	0,158	0,091	0,158	0,089	0,237	0,114	0,258	0,114	0,24	0,142
576	0,036	0,032	0,037	0,035	0,037	0,039	0,154	0,088	0,154	0,09	0,154	0,089	0,23	0,113	0,251	0,113	0,232	0,141
576,5	0,035	0,032	0,037	0,035	0,036	0,039	0,15	0,088	0,15	0,089	0,15	0,088	0,224	0,113	0,244	0,112	0,225	0,14
577	0,035	0,032	0,036	0,035	0,036	0,039	0,146	0,087	0,146	0,089	0,146	0,087	0,217	0,112	0,237	0,111	0,218	0,139
577,5	0,034	0,032	0,036	0,035	0,035	0,039	0,142	0,087	0,142	0,088	0,142	0,087	0,21	0,111	0,23	0,11	0,211	0,139
578	0,034	0,032	0,035	0,035	0,035	0,039	0,138	0,086	0,138	0,088	0,138	0,086	0,204	0,11	0,224	0,11	0,205	0,138
578,5	0,034	0,032	0,035	0,035	0,034	0,039	0,134	0,085	0,134	0,087	0,134	0,085	0,197	0,109	0,217	0,109	0,198	0,137
579	0,033	0,032	0,034	0,035	0,034	0,039	0,131	0,085	0,131	0,086	0,131	0,085	0,192	0,108	0,211	0,108	0,192	0,136
579,5	0,033	0,031	0,034	0,034	0,033	0,039	0,128	0,084	0,127	0,086	0,127	0,084	0,186	0,108	0,205	0,107	0,186	0,135
580	0,032	0,031	0,033	0,034	0,033	0,038	0,124	0,084	0,124	0,085	0,124	0,084	0,18	0,107	0,2	0,107	0,18	0,135
580,5	0,032	0,031	0,033	0,034	0,032	0,038	0,121	0,083	0,121	0,084	0,121	0,083	0,175	0,106	0,194	0,106	0,175	0,134
581	0,031	0,031	0,033	0,034	0,032	0,038	0,118	0,082	0,118	0,084	0,118	0,082	0,169	0,105	0,189	0,105	0,169	0,133
581,5	0,031	0,031	0,032	0,034	0,032	0,038	0,115	0,082	0,115	0,083	0,115	0,082	0,165	0,104	0,184	0,104	0,164	0,132
582	0,031	0,031	0,032	0,033	0,031	0,038	0,112	0,081	0,112	0,083	0,112	0,081	0,16	0,103	0,179	0,103	0,159	0,132
582,5	0,03	0,03	0,032	0,033	0,031	0,038	0,109	0,081	0,109	0,082	0,109	0,08	0,155	0,102	0,174	0,102	0,155	0,131
583	0,03	0,03	0,031	0,033	0,03	0,037	0,106	0,08	0,106	0,081	0,106	0,08	0,15	0,101	0,17	0,101	0,15	0,13
583,5	0,029	0,03	0,031	0,033	0,03	0,037	0,104	0,079	0,103	0,081	0,103	0,079	0,146	0,1	0,165	0,101	0,145	0,129
584	0,029	0,03	0,03	0,033	0,03	0,037	0,101	0,079	0,101	0,08	0,101	0,078	0,141	0,1	0,161	0,1	0,141	0,128
584,5	0,029	0,03	0,03	0,033	0,03	0,037	0,098	0,078	0,098	0,079	0,098	0,078	0,137	0,099	0,156	0,099	0,136	0,127
585	0,028	0,029	0,03	0,032	0,029	0,037	0,096	0,077	0,096	0,079	0,096	0,077	0,133	0,098	0,152	0,098	0,132	0,127
585,5	0,028	0,029	0,029	0,032	0,029	0,036	0,093	0,077	0,093	0,078	0,093	0,076	0,129	0,097	0,148	0,097	0,128	0,126
586	0,028	0,029	0,029	0,032	0,028	0,036	0,091	0,076	0,091	0,077	0,091	0,076	0,125	0,096	0,145	0,096	0,124	0,125

586,5	0,027	0,029	0,029	0,032	0,028	0,036	0,089	0,075	0,089	0,076	0,089	0,075	0,121	0,095	0,141	0,095	0,12	0,124
587	0,027	0,029	0,028	0,032	0,028	0,036	0,086	0,075	0,086	0,076	0,086	0,074	0,118	0,094	0,137	0,094	0,117	0,123
587,5	0,027	0,029	0,028	0,031	0,027	0,036	0,084	0,074	0,084	0,075	0,084	0,074	0,114	0,093	0,134	0,094	0,113	0,122
588	0,027	0,028	0,028	0,031	0,027	0,036	0,082	0,073	0,082	0,075	0,082	0,073	0,111	0,092	0,13	0,093	0,109	0,122
588,5	0,026	0,028	0,027	0,031	0,027	0,035	0,08	0,073	0,08	0,074	0,08	0,072	0,108	0,092	0,127	0,092	0,106	0,121
589	0,026	0,028	0,027	0,031	0,027	0,035	0,078	0,072	0,078	0,073	0,078	0,072	0,105	0,091	0,124	0,091	0,103	0,12
589,5	0,026	0,028	0,027	0,031	0,026	0,035	0,076	0,071	0,076	0,073	0,076	0,071	0,102	0,09	0,121	0,09	0,1	0,119
590	0,025	0,028	0,027	0,031	0,026	0,035	0,075	0,071	0,074	0,072	0,074	0,07	0,099	0,089	0,119	0,089	0,097	0,118
590,5	0,025	0,027	0,026	0,03	0,026	0,035	0,073	0,07	0,073	0,071	0,073	0,07	0,096	0,088	0,116	0,089	0,094	0,117
591	0,025	0,027	0,026	0,03	0,025	0,035	0,071	0,07	0,071	0,071	0,071	0,069	0,093	0,087	0,113	0,088	0,091	0,116
591,5	0,025	0,027	0,026	0,03	0,025	0,034	0,069	0,069	0,069	0,07	0,069	0,068	0,09	0,087	0,11	0,087	0,088	0,115
592	0,024	0,027	0,025	0,03	0,025	0,034	0,067	0,068	0,067	0,069	0,067	0,068	0,088	0,086	0,108	0,086	0,086	0,114
592,5	0,024	0,026	0,025	0,029	0,024	0,034	0,066	0,067	0,066	0,069	0,066	0,067	0,085	0,085	0,105	0,085	0,083	0,113
593	0,024	0,026	0,025	0,029	0,024	0,034	0,064	0,067	0,064	0,068	0,064	0,066	0,083	0,084	0,103	0,084	0,081	0,113
593,5	0,023	0,026	0,024	0,029	0,024	0,033	0,063	0,066	0,063	0,067	0,063	0,066	0,081	0,083	0,1	0,083	0,078	0,112
594	0,023	0,026	0,024	0,029	0,024	0,033	0,061	0,065	0,061	0,066	0,061	0,065	0,078	0,082	0,098	0,082	0,076	0,111
594,5	0,023	0,026	0,024	0,029	0,023	0,033	0,06	0,065	0,06	0,066	0,06	0,064	0,076	0,081	0,096	0,082	0,074	0,11
595	0,023	0,025	0,024	0,028	0,023	0,033	0,058	0,064	0,058	0,065	0,058	0,064	0,074	0,08	0,094	0,081	0,071	0,109
595,5	0,022	0,025	0,023	0,028	0,023	0,033	0,057	0,063	0,057	0,064	0,057	0,063	0,072	0,079	0,092	0,08	0,069	0,108
596	0,022	0,025	0,023	0,028	0,022	0,032	0,056	0,063	0,055	0,064	0,055	0,062	0,07	0,078	0,089	0,079	0,067	0,107
596,5	0,022	0,025	0,023	0,028	0,022	0,032	0,054	0,062	0,054	0,063	0,054	0,062	0,068	0,078	0,087	0,078	0,065	0,106
597	0,022	0,024	0,022	0,027	0,022	0,032	0,053	0,061	0,053	0,063	0,053	0,061	0,066	0,077	0,085	0,077	0,063	0,105
597,5	0,021	0,024	0,022	0,027	0,022	0,032	0,052	0,061	0,052	0,062	0,052	0,06	0,064	0,076	0,084	0,077	0,061	0,105
598	0,021	0,024	0,022	0,027	0,021	0,032	0,05	0,06	0,05	0,061	0,05	0,06	0,062	0,075	0,082	0,076	0,06	0,104
598,5	0,021	0,024	0,022	0,027	0,021	0,031	0,049	0,059	0,049	0,061	0,049	0,059	0,061	0,074	0,08	0,075	0,058	0,103
599	0,021	0,024	0,022	0,026	0,021	0,031	0,048	0,059	0,048	0,06	0,048	0,058	0,059	0,074	0,079	0,074	0,056	0,102
599,5	0,021	0,023	0,021	0,026	0,021	0,031	0,047	0,058	0,047	0,059	0,047	0,058	0,057	0,073	0,077	0,073	0,055	0,101
600	0,02	0,023	0,021	0,026	0,02	0,031	0,046	0,057	0,046	0,059	0,046	0,057	0,056	0,072	0,076	0,073	0,053	0,1
600,5	0,02	0,023	0,021	0,026	0,02	0,031	0,045	0,057	0,045	0,058	0,045	0,056	0,054	0,071	0,074	0,072	0,052	0,1
601	0,02	0,023	0,02	0,025	0,02	0,03	0,044	0,056	0,044	0,057	0,044	0,056	0,053	0,071	0,073	0,071	0,05	0,099
601,5	0,02	0,022	0,02	0,025	0,02	0,03	0,043	0,056	0,043	0,057	0,043	0,055	0,052	0,07	0,071	0,07	0,049	0,098
602	0,019	0,022	0,02	0,025	0,019	0,03	0,042	0,055	0,042	0,056	0,042	0,054	0,05	0,069	0,07	0,07	0,047	0,097
602,5	0,019	0,022	0,02	0,025	0,019	0,03	0,041	0,054	0,041	0,055	0,041	0,054	0,049	0,068	0,069	0,069	0,046	0,096
603	0,019	0,022	0,02	0,024	0,019	0,029	0,04	0,054	0,04	0,055	0,04	0,053	0,048	0,067	0,068	0,068	0,045	0,096
603,5	0,019	0,022	0,019	0,024	0,019	0,029	0,039	0,053	0,039	0,054	0,039	0,053	0,047	0,067	0,067	0,067	0,044	0,095
604	0,018	0,021	0,019	0,024	0,019	0,029	0,038	0,052	0,038	0,053	0,038	0,052	0,045	0,066	0,065	0,066	0,042	0,094
604,5	0,018	0,021	0,019	0,024	0,018	0,029	0,037	0,052	0,037	0,053	0,037	0,051	0,044	0,065	0,064	0,066	0,041	0,093
605	0,018	0,021	0,019	0,024	0,018	0,029	0,037	0,051	0,037	0,052	0,037	0,051	0,043	0,064	0,063	0,065	0,04	0,093
605,5	0,018	0,021	0,018	0,023	0,018	0,028	0,036	0,051	0,036	0,052	0,036	0,05	0,042	0,064	0,062	0,064	0,039	0,092
606	0,018	0,02	0,018	0,023	0,018	0,028	0,035	0,05	0,035	0,051	0,035	0,05	0,041	0,063	0,062	0,063	0,038	0,091
606,5	0,017	0,02	0,018	0,023	0,018	0,028	0,035	0,05	0,034	0,05	0,035	0,049	0,04	0,062	0,061	0,063	0,037	0,09
607	0,017	0,02	0,018	0,023	0,017	0,028	0,034	0,049	0,034	0,05	0,034	0,048	0,039	0,062	0,06	0,062	0,036	0,09
607,5	0,017	0,02	0,018	0,022	0,017	0,027	0,033	0,048	0,033	0,049	0,033	0,048	0,038	0,061	0,059	0,062	0,035	0,089
608	0,017	0,019	0,017	0,022	0,017	0,027	0,032	0,048	0,032	0,049	0,032	0,047	0,037	0,06	0,058	0,061	0,034	0,088

608,5	0,017	0,019	0,017	0,022	0,017	0,027	0,032	0,047	0,032	0,048	0,032	0,047	0,037	0,06	0,057	0,06	0,033	0,088
609	0,016	0,019	0,017	0,022	0,017	0,027	0,031	0,047	0,031	0,048	0,031	0,046	0,036	0,059	0,057	0,06	0,033	0,087
609,5	0,016	0,019	0,017	0,022	0,016	0,027	0,03	0,046	0,03	0,047	0,03	0,046	0,035	0,059	0,056	0,059	0,032	0,087
610	0,016	0,019	0,017	0,021	0,016	0,027	0,03	0,046	0,03	0,047	0,03	0,045	0,034	0,058	0,055	0,059	0,031	0,086
610,5	0,016	0,019	0,016	0,021	0,016	0,026	0,029	0,045	0,029	0,046	0,029	0,045	0,033	0,057	0,055	0,058	0,03	0,085
611	0,016	0,018	0,016	0,021	0,016	0,026	0,029	0,045	0,029	0,045	0,029	0,044	0,033	0,057	0,054	0,057	0,029	0,085
611,5	0,016	0,018	0,016	0,021	0,016	0,026	0,028	0,044	0,028	0,045	0,028	0,044	0,032	0,056	0,053	0,057	0,029	0,084
612	0,015	0,018	0,016	0,021	0,016	0,026	0,028	0,044	0,027	0,044	0,027	0,043	0,031	0,056	0,053	0,056	0,028	0,083
612,5	0,015	0,018	0,016	0,02	0,015	0,026	0,027	0,043	0,027	0,044	0,027	0,043	0,031	0,055	0,052	0,055	0,028	0,083
613	0,015	0,018	0,016	0,02	0,015	0,026	0,027	0,043	0,026	0,043	0,026	0,042	0,03	0,054	0,051	0,055	0,027	0,082
613,5	0,015	0,018	0,016	0,02	0,015	0,025	0,026	0,042	0,026	0,043	0,026	0,042	0,03	0,054	0,051	0,054	0,026	0,082
614	0,015	0,017	0,015	0,02	0,015	0,025	0,025	0,042	0,025	0,042	0,025	0,041	0,029	0,053	0,05	0,054	0,026	0,081
614,5	0,015	0,017	0,015	0,02	0,015	0,025	0,025	0,041	0,025	0,042	0,025	0,041	0,028	0,053	0,05	0,053	0,025	0,08
615	0,015	0,017	0,015	0,019	0,015	0,025	0,025	0,041	0,025	0,041	0,025	0,04	0,028	0,052	0,05	0,053	0,025	0,08
615,5	0,014	0,017	0,015	0,019	0,014	0,025	0,024	0,04	0,024	0,041	0,024	0,04	0,027	0,052	0,049	0,052	0,024	0,079
616	0,014	0,017	0,015	0,019	0,014	0,025	0,024	0,04	0,024	0,04	0,024	0,039	0,027	0,051	0,049	0,052	0,024	0,079
616,5	0,014	0,016	0,015	0,019	0,014	0,024	0,023	0,039	0,023	0,04	0,023	0,039	0,026	0,05	0,048	0,051	0,023	0,078
617	0,014	0,016	0,014	0,019	0,014	0,024	0,023	0,039	0,023	0,039	0,023	0,038	0,026	0,05	0,048	0,05	0,022	0,078
617,5	0,014	0,016	0,014	0,019	0,014	0,024	0,022	0,038	0,022	0,039	0,022	0,038	0,025	0,049	0,048	0,05	0,022	0,077
618	0,014	0,016	0,014	0,018	0,014	0,024	0,022	0,038	0,022	0,038	0,022	0,037	0,025	0,049	0,047	0,049	0,021	0,076
618,5	0,014	0,016	0,014	0,018	0,014	0,024	0,022	0,037	0,022	0,038	0,021	0,037	0,024	0,048	0,047	0,049	0,021	0,076
619	0,013	0,016	0,014	0,018	0,013	0,024	0,021	0,037	0,021	0,037	0,021	0,037	0,024	0,048	0,047	0,048	0,021	0,076
619,5	0,013	0,015	0,014	0,018	0,013	0,023	0,021	0,037	0,021	0,037	0,021	0,036	0,024	0,047	0,046	0,048	0,02	0,075
620	0,013	0,015	0,013	0,018	0,013	0,023	0,02	0,036	0,02	0,037	0,02	0,036	0,023	0,047	0,046	0,047	0,02	0,075
620,5	0,013	0,015	0,013	0,018	0,013	0,023	0,02	0,036	0,02	0,036	0,02	0,035	0,023	0,046	0,046	0,047	0,019	0,074
621	0,013	0,015	0,013	0,018	0,013	0,023	0,02	0,035	0,02	0,036	0,02	0,035	0,022	0,046	0,046	0,046	0,019	0,074
621,5	0,013	0,015	0,013	0,017	0,013	0,023	0,019	0,035	0,019	0,035	0,019	0,034	0,022	0,045	0,045	0,046	0,019	0,073
622	0,013	0,015	0,013	0,017	0,012	0,023	0,019	0,034	0,019	0,035	0,019	0,034	0,022	0,045	0,045	0,045	0,018	0,073
622,5	0,012	0,014	0,013	0,017	0,012	0,022	0,019	0,034	0,019	0,034	0,019	0,034	0,021	0,044	0,045	0,045	0,018	0,072
623	0,012	0,014	0,013	0,017	0,012	0,022	0,018	0,034	0,018	0,034	0,018	0,033	0,021	0,044	0,044	0,044	0,017	0,072
623,5	0,012	0,014	0,013	0,017	0,012	0,022	0,018	0,033	0,018	0,034	0,018	0,033	0,02	0,043	0,044	0,044	0,017	0,071
624	0,012	0,014	0,012	0,017	0,012	0,022	0,018	0,033	0,018	0,033	0,018	0,032	0,02	0,043	0,044	0,043	0,017	0,071
624,5	0,012	0,014	0,012	0,016	0,012	0,022	0,017	0,032	0,017	0,033	0,017	0,032	0,02	0,042	0,043	0,043	0,016	0,07
625	0,012	0,014	0,012	0,016	0,012	0,022	0,017	0,032	0,017	0,032	0,017	0,032	0,019	0,042	0,043	0,042	0,016	0,069
625,5	0,012	0,013	0,012	0,016	0,012	0,021	0,017	0,032	0,017	0,032	0,017	0,031	0,019	0,041	0,043	0,042	0,016	0,069
626	0,012	0,013	0,012	0,016	0,012	0,021	0,017	0,031	0,016	0,031	0,017	0,031	0,019	0,041	0,043	0,041	0,015	0,068
626,5	0,012	0,013	0,012	0,016	0,011	0,021	0,016	0,031	0,016	0,031	0,016	0,03	0,019	0,04	0,043	0,041	0,015	0,068
627	0,012	0,013	0,012	0,016	0,011	0,021	0,016	0,031	0,016	0,031	0,016	0,03	0,018	0,04	0,043	0,04	0,015	0,067
627,5	0,011	0,013	0,012	0,016	0,011	0,021	0,016	0,03	0,016	0,03	0,016	0,03	0,018	0,039	0,042	0,04	0,015	0,067
628	0,011	0,013	0,012	0,016	0,011	0,021	0,016	0,03	0,016	0,03	0,016	0,029	0,018	0,039	0,042	0,039	0,014	0,067
628,5	0,011	0,013	0,012	0,015	0,011	0,021	0,015	0,03	0,015	0,03	0,015	0,029	0,018	0,038	0,042	0,039	0,014	0,066
629	0,011	0,013	0,011	0,015	0,011	0,02	0,015	0,029	0,015	0,029	0,015	0,029	0,017	0,038	0,042	0,038	0,014	0,066

629,5	0,011	0,012	0,011	0,015	0,011	0,02	0,015	0,029	0,015	0,029	0,015	0,028	0,017	0,038	0,041	0,038	0,014	0,065
630	0,011	0,012	0,011	0,015	0,011	0,02	0,015	0,028	0,015	0,029	0,015	0,028	0,017	0,037	0,041	0,037	0,013	0,064
630,5	0,011	0,012	0,011	0,015	0,011	0,02	0,014	0,028	0,014	0,028	0,014	0,028	0,017	0,037	0,041	0,037	0,013	0,064
631	0,011	0,012	0,011	0,015	0,011	0,02	0,014	0,028	0,014	0,028	0,014	0,027	0,016	0,036	0,041	0,037	0,013	0,064
631,5	0,011	0,012	0,011	0,015	0,01	0,02	0,014	0,028	0,014	0,028	0,014	0,027	0,016	0,036	0,041	0,036	0,013	0,063
632	0,01	0,012	0,011	0,015	0,01	0,02	0,014	0,027	0,014	0,027	0,014	0,027	0,016	0,036	0,041	0,036	0,013	0,063
632,5	0,01	0,012	0,011	0,015	0,01	0,02	0,014	0,027	0,014	0,027	0,013	0,026	0,016	0,035	0,04	0,035	0,012	0,062
633	0,01	0,012	0,011	0,015	0,01	0,02	0,013	0,027	0,013	0,027	0,013	0,026	0,016	0,035	0,04	0,035	0,012	0,062
633,5	0,01	0,012	0,011	0,014	0,01	0,02	0,013	0,026	0,013	0,027	0,013	0,026	0,015	0,034	0,04	0,035	0,012	0,062
634	0,01	0,012	0,011	0,014	0,01	0,02	0,013	0,026	0,013	0,026	0,013	0,026	0,015	0,034	0,04	0,034	0,012	0,061
634,5	0,01	0,011	0,01	0,014	0,01	0,019	0,013	0,026	0,013	0,026	0,013	0,025	0,015	0,034	0,04	0,034	0,012	0,061
635	0,01	0,011	0,01	0,014	0,01	0,019	0,013	0,026	0,013	0,026	0,013	0,025	0,015	0,033	0,04	0,033	0,011	0,06
635,5	0,01	0,011	0,01	0,014	0,01	0,019	0,013	0,025	0,013	0,025	0,013	0,025	0,015	0,033	0,04	0,033	0,011	0,06
636	0,01	0,011	0,01	0,014	0,01	0,019	0,012	0,025	0,012	0,025	0,012	0,024	0,015	0,032	0,04	0,033	0,011	0,06
636,5	0,01	0,011	0,01	0,014	0,01	0,019	0,012	0,025	0,012	0,025	0,012	0,024	0,014	0,032	0,04	0,032	0,011	0,059
637	0,01	0,011	0,01	0,014	0,01	0,019	0,012	0,024	0,012	0,025	0,012	0,024	0,014	0,032	0,04	0,032	0,011	0,059
637,5	0,01	0,011	0,01	0,014	0,01	0,019	0,012	0,024	0,012	0,024	0,012	0,024	0,014	0,031	0,039	0,031	0,011	0,059
638	0,01	0,011	0,01	0,013	0,01	0,019	0,012	0,024	0,012	0,024	0,012	0,023	0,014	0,031	0,039	0,031	0,011	0,058
638,5	0,01	0,011	0,01	0,013	0,009	0,019	0,012	0,023	0,011	0,024	0,012	0,023	0,014	0,03	0,039	0,031	0,01	0,058
639	0,01	0,01	0,01	0,013	0,009	0,019	0,011	0,023	0,011	0,023	0,011	0,023	0,014	0,03	0,039	0,03	0,01	0,057
639,5	0,009	0,01	0,01	0,013	0,009	0,019	0,011	0,023	0,011	0,023	0,011	0,023	0,014	0,03	0,039	0,03	0,01	0,057
640	0,009	0,01	0,01	0,013	0,009	0,018	0,011	0,023	0,011	0,023	0,011	0,022	0,013	0,029	0,039	0,029	0,01	0,056
640,5	0,009	0,01	0,009	0,013	0,009	0,018	0,011	0,022	0,011	0,023	0,011	0,022	0,013	0,029	0,039	0,029	0,01	0,056
641	0,009	0,01	0,009	0,013	0,009	0,018	0,011	0,022	0,011	0,022	0,011	0,022	0,013	0,028	0,039	0,029	0,01	0,055
641,5	0,009	0,01	0,009	0,013	0,009	0,018	0,011	0,022	0,011	0,022	0,011	0,022	0,013	0,028	0,039	0,028	0,01	0,055
642	0,009	0,01	0,009	0,013	0,009	0,018	0,011	0,022	0,011	0,022	0,011	0,021	0,013	0,028	0,039	0,028	0,009	0,055
642,5	0,009	0,01	0,009	0,012	0,009	0,018	0,011	0,021	0,01	0,022	0,011	0,021	0,013	0,027	0,039	0,028	0,009	0,054
643	0,009	0,01	0,009	0,012	0,009	0,018	0,01	0,021	0,01	0,021	0,01	0,021	0,013	0,027	0,039	0,027	0,009	0,054
643,5	0,009	0,009	0,009	0,012	0,009	0,018	0,01	0,021	0,01	0,021	0,01	0,021	0,013	0,027	0,038	0,027	0,009	0,053
644	0,009	0,009	0,009	0,012	0,009	0,018	0,01	0,021	0,01	0,021	0,01	0,02	0,012	0,026	0,038	0,027	0,009	0,053
644,5	0,009	0,009	0,009	0,012	0,009	0,018	0,01	0,02	0,01	0,021	0,01	0,02	0,012	0,026	0,038	0,026	0,009	0,053
645	0,009	0,009	0,009	0,012	0,009	0,018	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,02	0,012	0,026	0,039	0,026	0,009	0,052
645,5	0,008	0,009	0,009	0,012	0,009	0,018	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,02	0,012	0,026	0,038	0,026	0,009	0,052
646	0,008	0,009	0,009	0,012	0,009	0,017	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,019	0,012	0,025	0,038	0,025	0,008	0,051
646,5	0,008	0,009	0,009	0,012	0,008	0,017	0,01	0,019	0,01	0,02	0,01	0,019	0,012	0,025	0,038	0,025	0,008	0,051
647	0,008	0,009	0,009	0,012	0,009	0,017	0,01	0,019	0,009	0,019	0,009	0,019	0,012	0,025	0,038	0,025	0,008	0,05
647,5	0,008	0,009	0,009	0,012	0,009	0,017	0,01	0,019	0,009	0,019	0,009	0,019	0,012	0,024	0,038	0,025	0,008	0,05
648	0,008	0,009	0,009	0,011	0,008	0,017	0,01	0,019	0,009	0,019	0,009	0,019	0,012	0,024	0,038	0,024	0,008	0,049
648,5	0,008	0,009	0,009	0,011	0,008	0,017	0,009	0,019	0,009	0,019	0,009	0,018	0,012	0,024	0,038	0,024	0,008	0,049
649	0,008	0,009	0,009	0,011	0,008	0,017	0,009	0,018	0,009	0,018	0,009	0,018	0,012	0,023	0,038	0,024	0,008	0,049
649,5	0,008	0,008	0,009	0,011	0,008	0,017	0,009	0,018	0,009	0,018	0,009	0,018	0,012	0,023	0,038	0,023	0,008	0,048
650	0,008	0,008	0,009	0,011	0,008	0,017	0,009	0,018	0,009	0,018	0,009	0,018	0,011	0,023	0,038	0,023	0,008	0,048
650,5	0,008	0,008	0,009	0,011	0,008	0,017	0,009	0,018	0,009	0,018	0,009	0,018	0,011	0,022	0,038	0,023	0,008	0,047
651	0,008	0,008	0,009	0,011	0,008	0,017	0,009	0,018	0,009	0,018	0,009	0,017	0,011	0,022	0,037	0,022	0,007	0,047

551	008	008	009	011	008	017	009	017	009	017	009	017	011	022	037	022	007	047
652	008	008	009	011	008	016	009	017	009	017	009	017	011	022	037	022	007	046
652,5	008	008	009	011	008	016	009	017	008	017	008	017	011	021	037	022	007	046
653	008	008	009	011	008	016	009	017	008	017	008	017	011	021	037	021	007	045
653,5	008	008	009	011	008	016	009	017	008	017	008	017	011	021	037	021	007	045
654	008	008	009	011	008	016	008	016	008	017	008	016	011	021	037	021	007	045
654,5	007	008	008	011	008	016	008	016	008	016	008	016	011	02	037	021	007	045
655	007	008	008	01	008	016	008	016	008	016	008	016	011	02	037	02	007	044
655,5	007	008	008	01	008	016	008	016	008	016	008	016	011	02	037	02	007	044
656	007	008	008	01	008	016	008	016	008	016	008	016	011	02	037	02	007	044
656,5	007	007	008	01	008	016	008	015	008	016	008	016	011	019	037	02	007	043
657	007	007	008	01	008	016	008	015	008	015	008	016	011	019	036	019	007	043
657,5	007	007	008	01	008	016	008	015	008	015	008	016	011	019	037	019	006	043
658	007	007	008	01	008	016	008	015	008	015	008	016	01	019	037	019	006	043
658,5	007	007	008	01	008	016	008	015	008	015	008	015	01	019	037	019	006	042
659	007	007	008	01	008	016	008	015	008	015	008	015	01	018	036	019	006	042
659,5	007	007	008	01	008	016	008	015	008	015	008	015	01	018	036	018	006	042
660	007	007	008	01	008	016	007	014	007	015	007	015	01	018	036	018	006	041
660,5	007	007	008	01	008	016	007	014	007	014	007	015	01	018	036	018	006	041
661	007	007	008	01	008	016	007	014	007	014	007	015	01	018	036	018	006	041
661,5	007	007	008	01	008	016	007	014	007	014	007	015	01	017	036	018	006	04
662	007	007	008	01	007	016	007	014	007	014	007	015	01	017	036	018	006	04
662,5	007	007	008	009	007	016	007	014	007	014	007	014	01	017	036	017	006	04
663	007	007	008	009	007	016	007	014	007	014	007	014	01	017	036	017	006	04
663,5	006	007	008	009	007	016	007	013	007	014	007	014	01	017	036	017	006	04
664	006	007	008	009	007	016	007	013	007	014	007	014	01	016	036	017	006	04
664,5	006	007	008	009	007	016	007	013	007	013	007	014	01	016	036	017	006	039
665	006	007	008	009	007	016	007	013	007	013	007	014	01	016	036	016	006	039
665,5	006	006	007	009	007	016	007	013	007	013	007	014	01	016	036	016	005	039
666	006	007	007	009	007	016	007	013	007	013	007	014	01	016	036	016	005	039
666,5	006	006	007	009	007	016	007	013	006	013	007	014	01	016	036	016	005	038
667	006	006	007	009	007	015	007	013	006	013	006	013	01	016	036	016	005	038
667,5	006	006	007	009	007	015	006	013	006	013	006	013	01	016	036	016	005	038
668	006	006	007	009	007	015	006	012	006	013	006	013	009	015	036	016	005	038
668,5	006	006	007	009	007	015	006	012	006	012	006	013	009	015	036	015	005	038
669	006	006	007	009	007	015	006	012	006	012	006	013	009	015	036	015	005	038
669,5	006	006	007	009	007	015	006	012	006	012	006	013	009	015	036	015	005	037
670	006	006	007	009	007	015	006	012	006	012	006	013	009	015	036	015	005	037
670,5	006	006	007	009	007	015	006	012	006	012	006	013	009	015	036	015	005	037
671	006	006	007	008	007	015	006	012	006	012	006	013	009	015	036	015	005	037
671,5	006	006	007	008	007	015	006	012	006	012	006	012	009	014	036	015	005	037
672	006	006	007	008	007	015	006	012	006	012	006	012	009	014	036	014	005	036

[illegible]

694	0,004	0,004	0,005	0,007	0,006	0,012	0,004	0,008	0,004	0,008	0,004	0,009	0,008	0,01	0,036	0,01	0,003	0,032
694,5	0,004	0,004	0,005	0,007	0,006	0,012	0,004	0,007	0,004	0,007	0,004	0,009	0,008	0,01	0,036	0,01	0,003	0,032
695	0,004	0,004	0,005	0,007	0,006	0,012	0,004	0,007	0,004	0,007	0,004	0,009	0,008	0,01	0,036	0,01	0,003	0,032
695,5	0,004	0,004	0,005	0,007	0,006	0,012	0,004	0,007	0,004	0,007	0,004	0,009	0,008	0,01	0,036	0,01	0,003	0,031
696	0,004	0,004	0,005	0,007	0,006	0,012	0,004	0,007	0,004	0,007	0,004	0,009	0,008	0,01	0,036	0,01	0,003	0,031
696,5	0,004	0,004	0,005	0,007	0,006	0,012	0,004	0,007	0,004	0,007	0,004	0,009	0,008	0,01	0,036	0,01	0,003	0,031
697	0,004	0,004	0,005	0,007	0,006	0,012	0,004	0,007	0,004	0,007	0,004	0,009	0,008	0,01	0,036	0,01	0,003	0,031
697,5	0,004	0,004	0,005	0,007	0,006	0,012	0,004	0,007	0,004	0,007	0,004	0,009	0,008	0,01	0,036	0,01	0,003	0,031
698	0,004	0,004	0,005	0,007	0,006	0,012	0,004	0,007	0,003	0,007	0,003	0,009	0,008	0,01	0,036	0,01	0,003	0,031
698,5	0,004	0,004	0,005	0,007	0,006	0,012	0,004	0,007	0,003	0,007	0,004	0,009	0,008	0,01	0,036	0,01	0,003	0,031
699	0,004	0,004	0,005	0,007	0,006	0,012	0,004	0,007	0,003	0,007	0,004	0,009	0,008	0,01	0,036	0,01	0,003	0,031
699,5	0,004	0,004	0,005	0,007	0,006	0,012	0,004	0,007	0,003	0,007	0,003	0,009	0,008	0,01	0,036	0,01	0,003	0,031
700	0,004	0,004	0,005	0,007	0,006	0,012	0,004	0,007	0,003	0,007	0,003	0,009	0,008	0,01	0,036	0,009	0,003	0,03

ANEXO 7

ESPECTROS UV-VISIBLE DE 400 A 700 nm

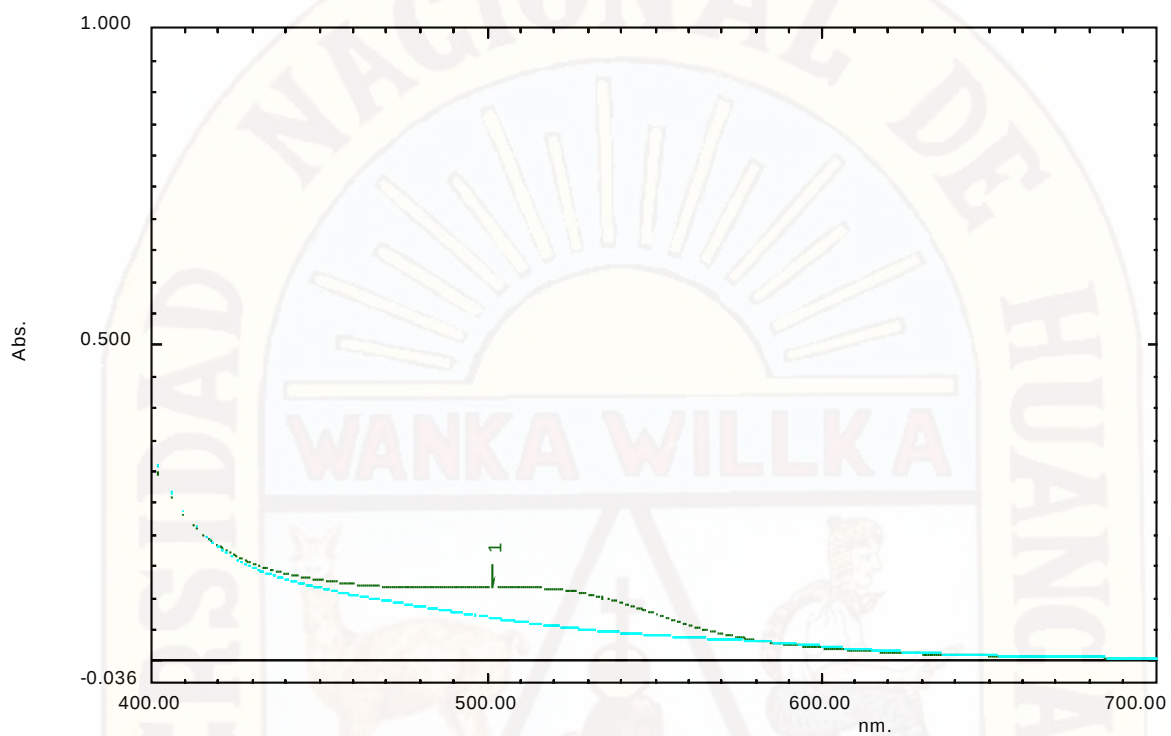


Figura 6. Barrido espectral Muestra M1-Repetición 1 (M1.1) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5)

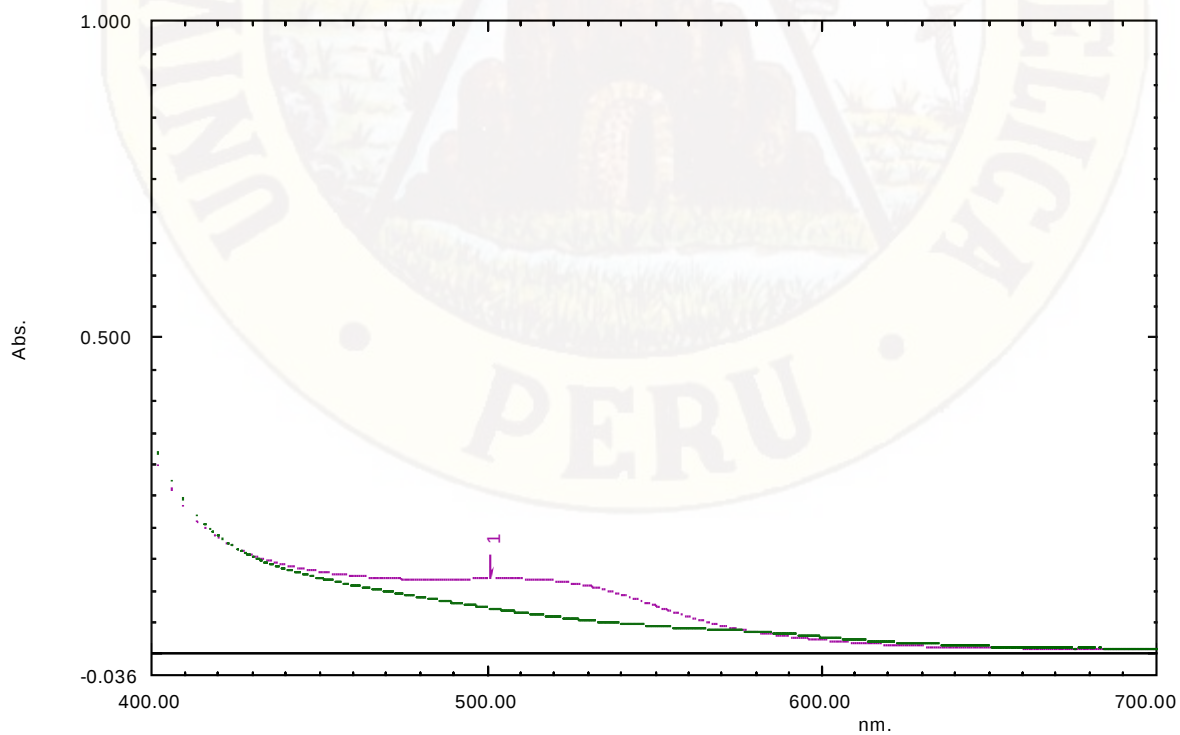


Figura 7. Barrido espectral Muestra M1-Repetición 2 (M1.2) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5)

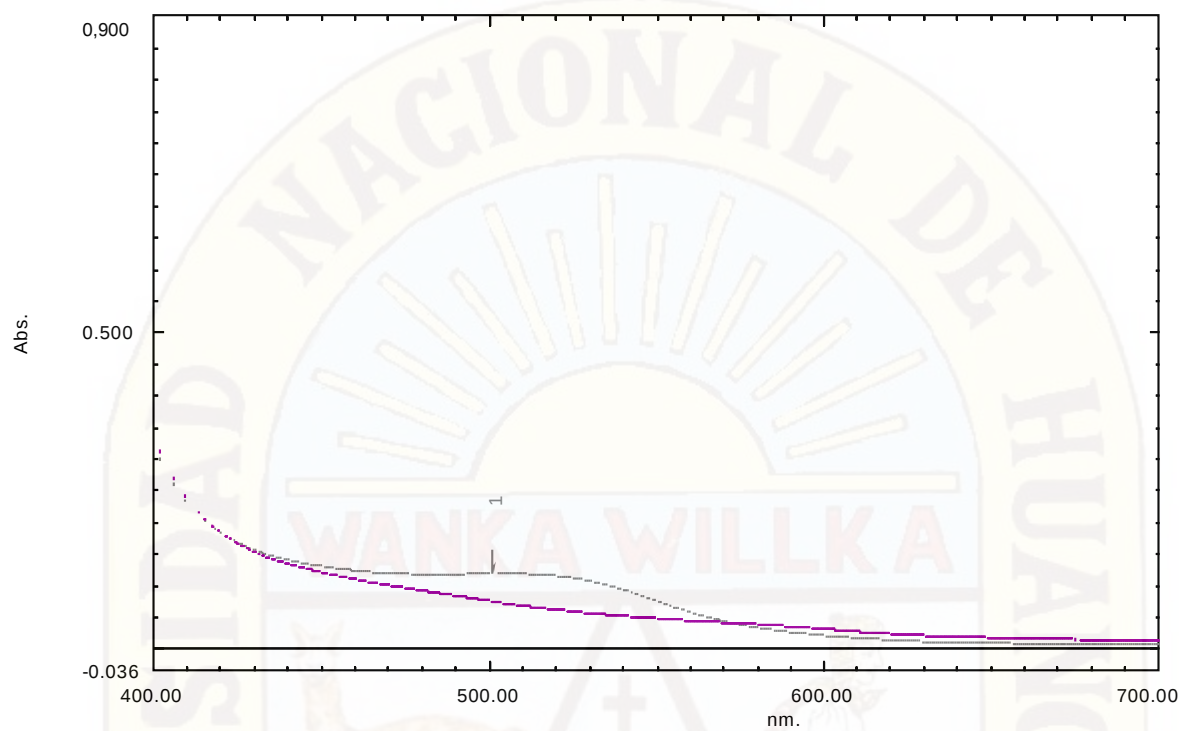


Figura 8. Barrido espectral Muestra M1-Repetición 3 (M1.3) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5)

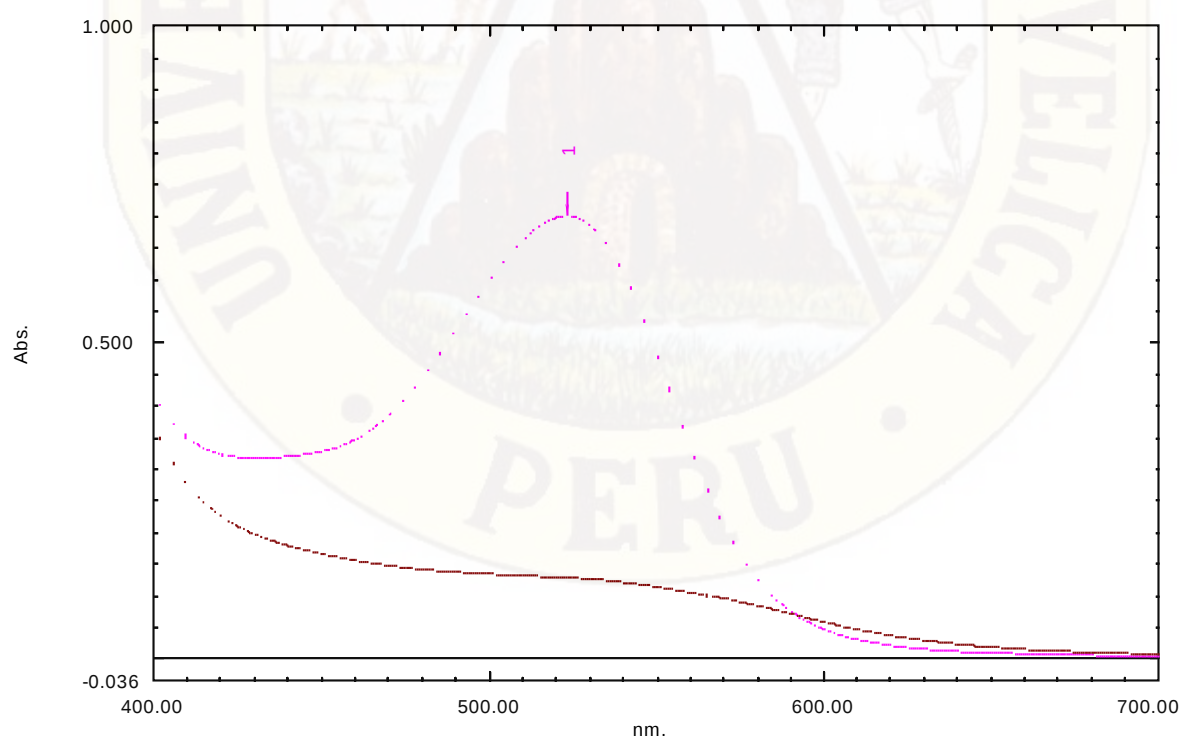


Figura 9. Barrido espectral Muestra M2-Repetición 1 (M2.1) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5)

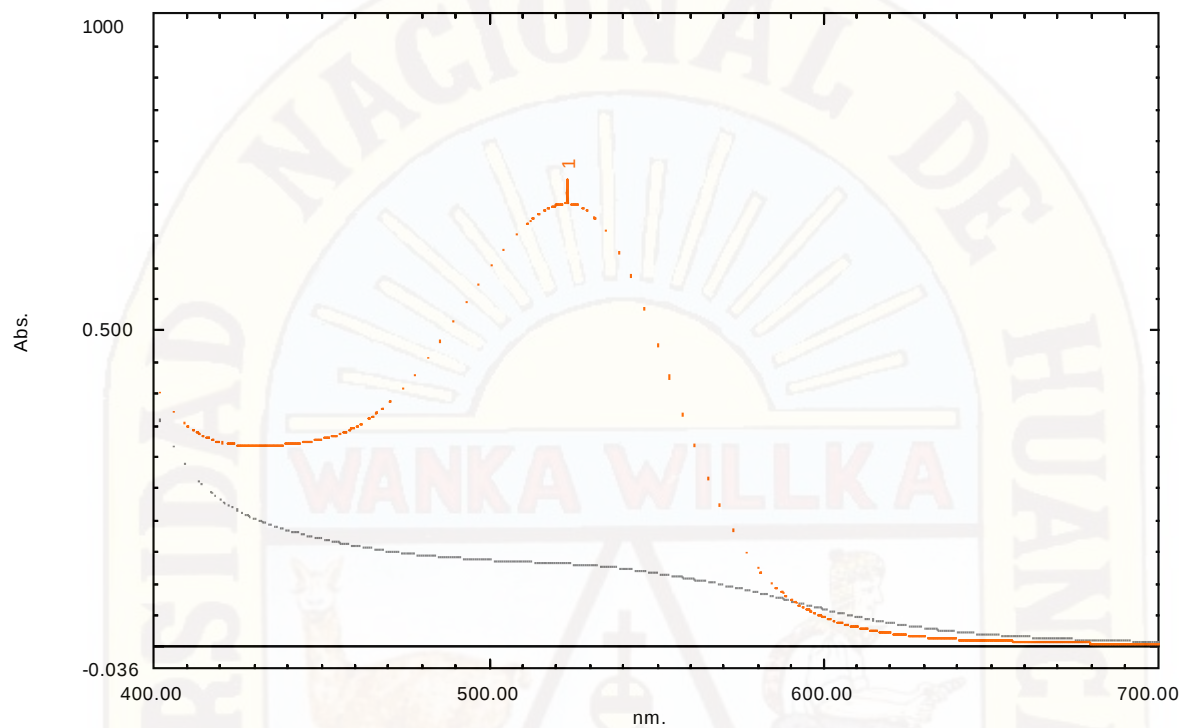


Figura 10. Barrido espectral Muestra M2-Repetición 2 (M2.2) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5)

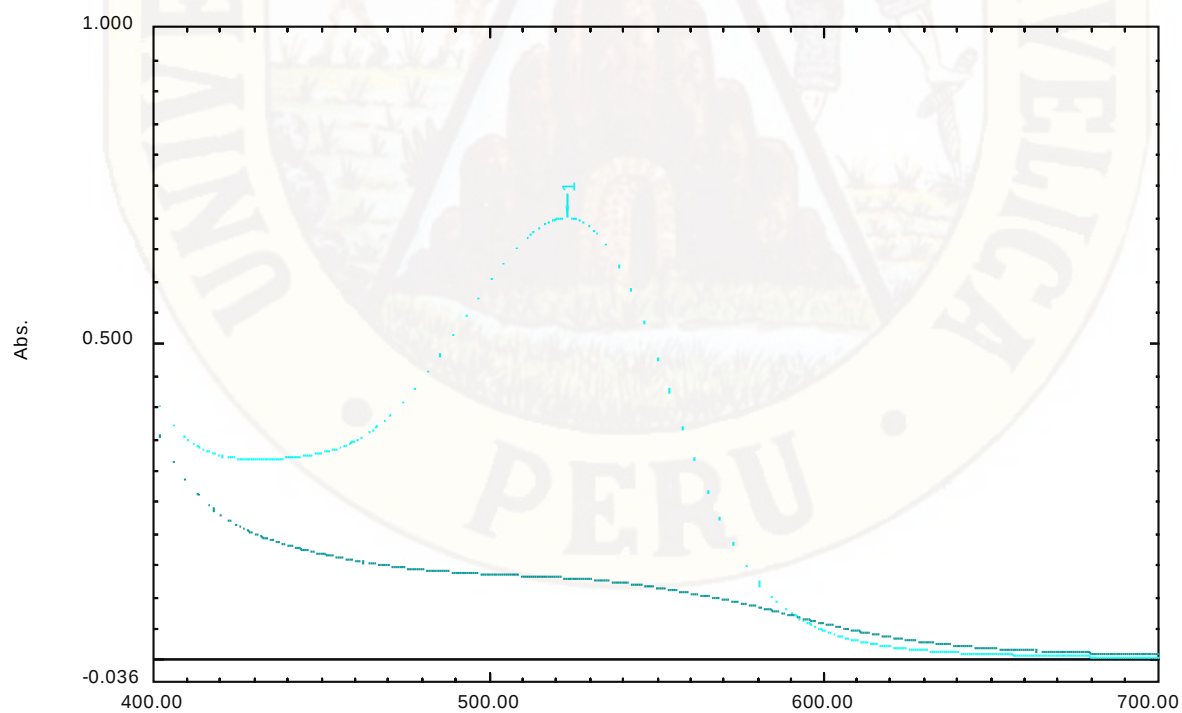


Figura 11. Barrido espectral Muestra M2-Repetición 3 (M2.3) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5)

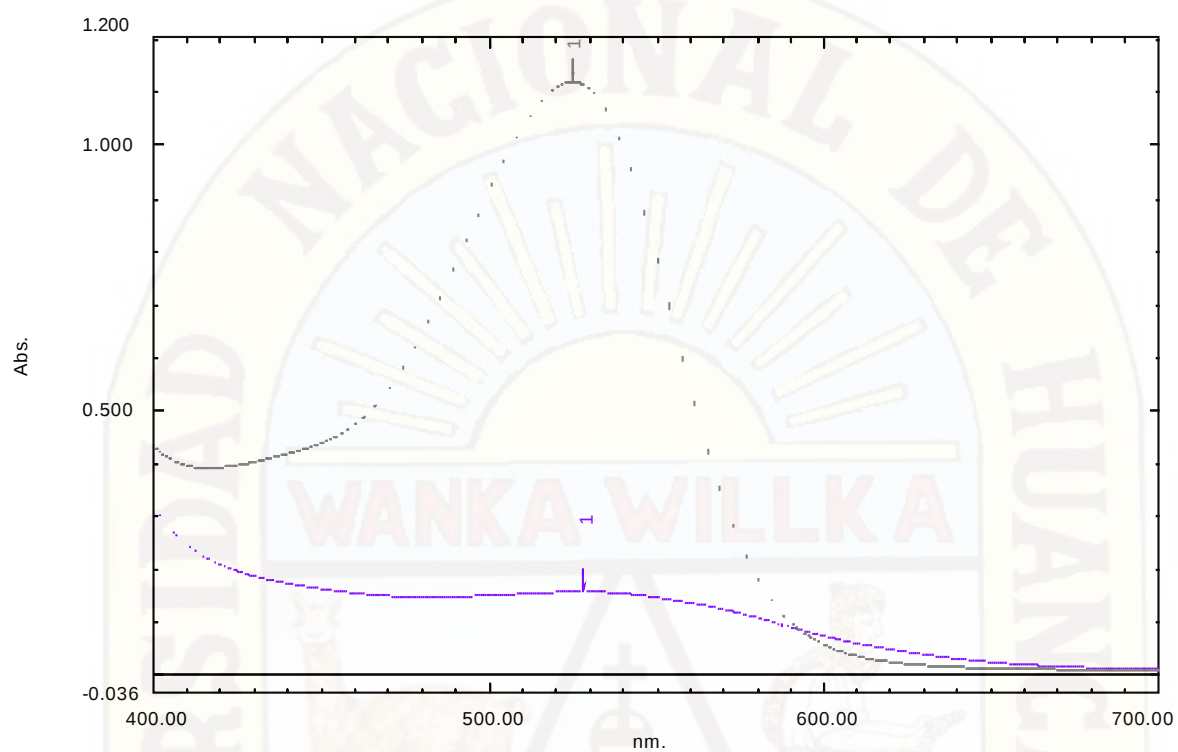


Figura 12. Barrido espectral Muestra M3-Repetición 1 (M3.1) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5)

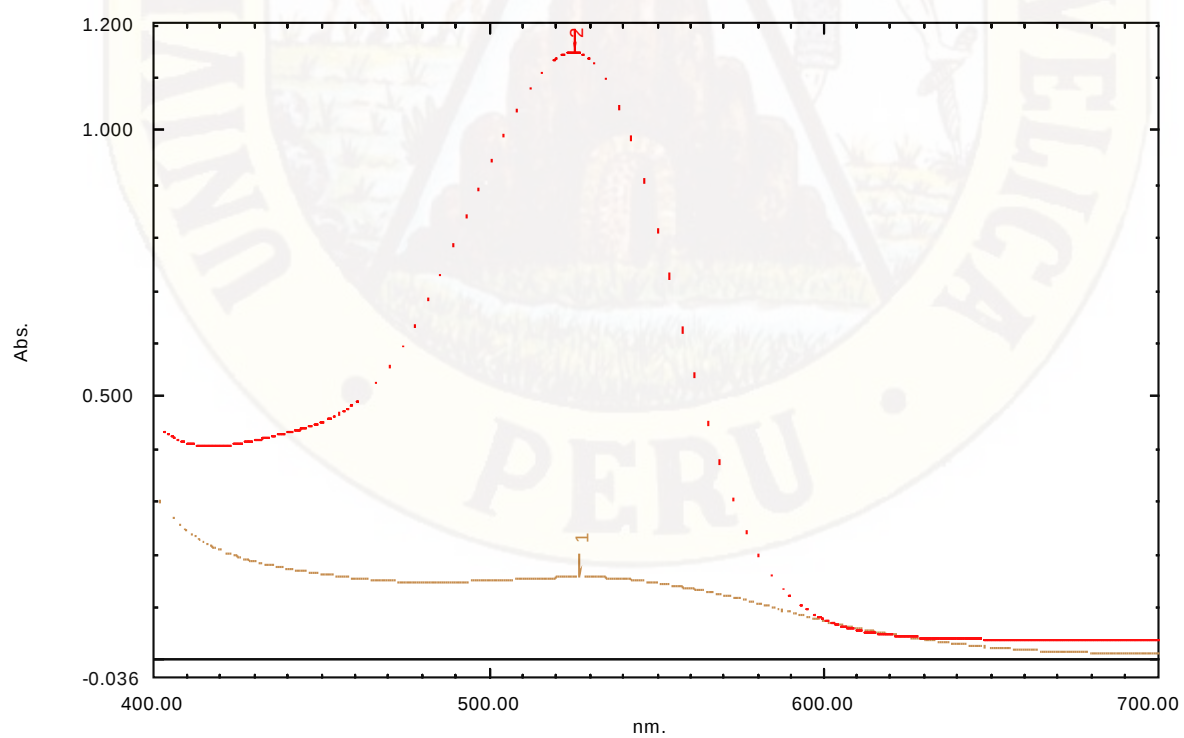


Figura 13. Barrido espectral Muestra M3-Repetición 2 (M3.2) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5)

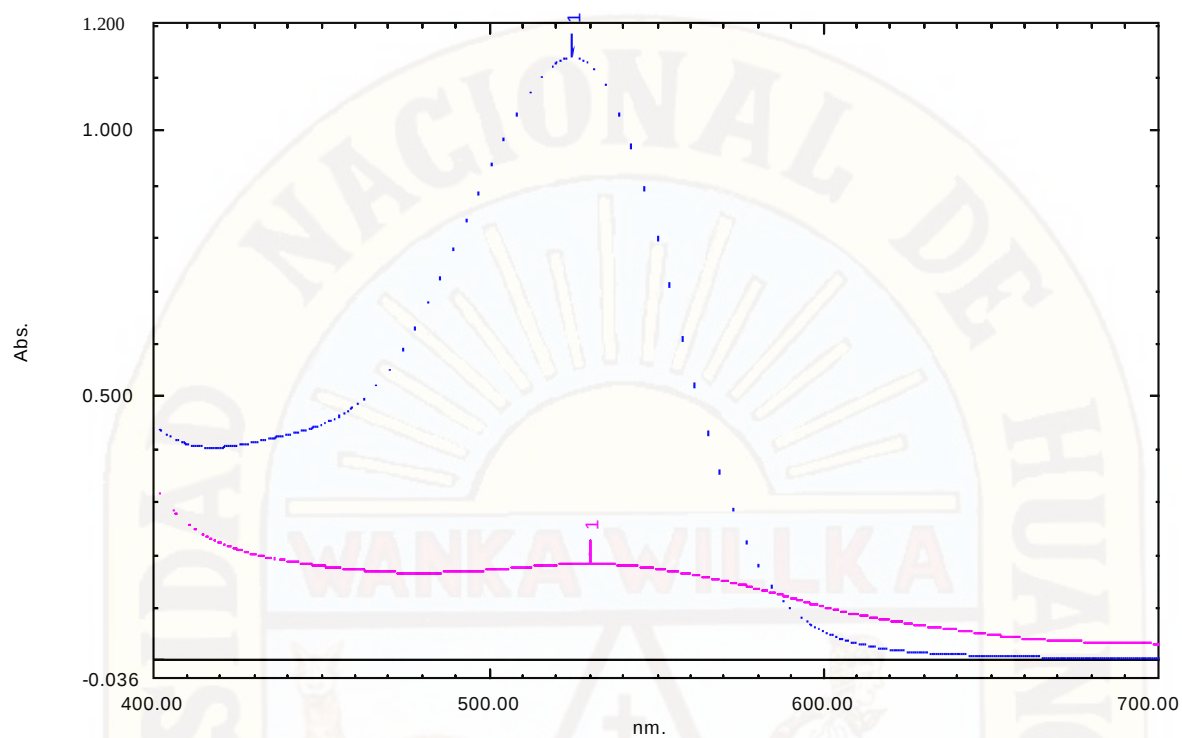


Figura 14. Barrido espectral Muestra M3-Repetición 3 (M3.3) (Curva superior: pH 1, Curva inferior: pH 4.5)

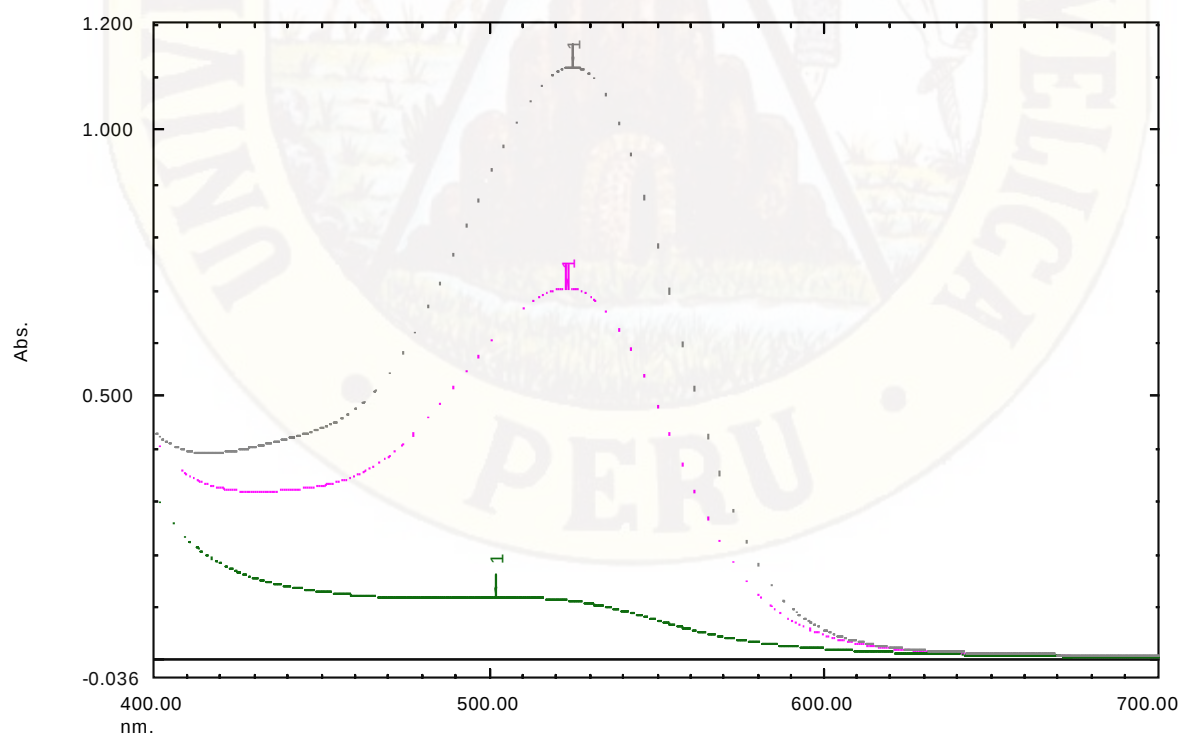


Figura 15. Barrido espectral comparativo de las muestras M1, M2 y M3 a pH 1 (Curva superior: M3, Curva intermedia: M2, Curva inferior: M1)

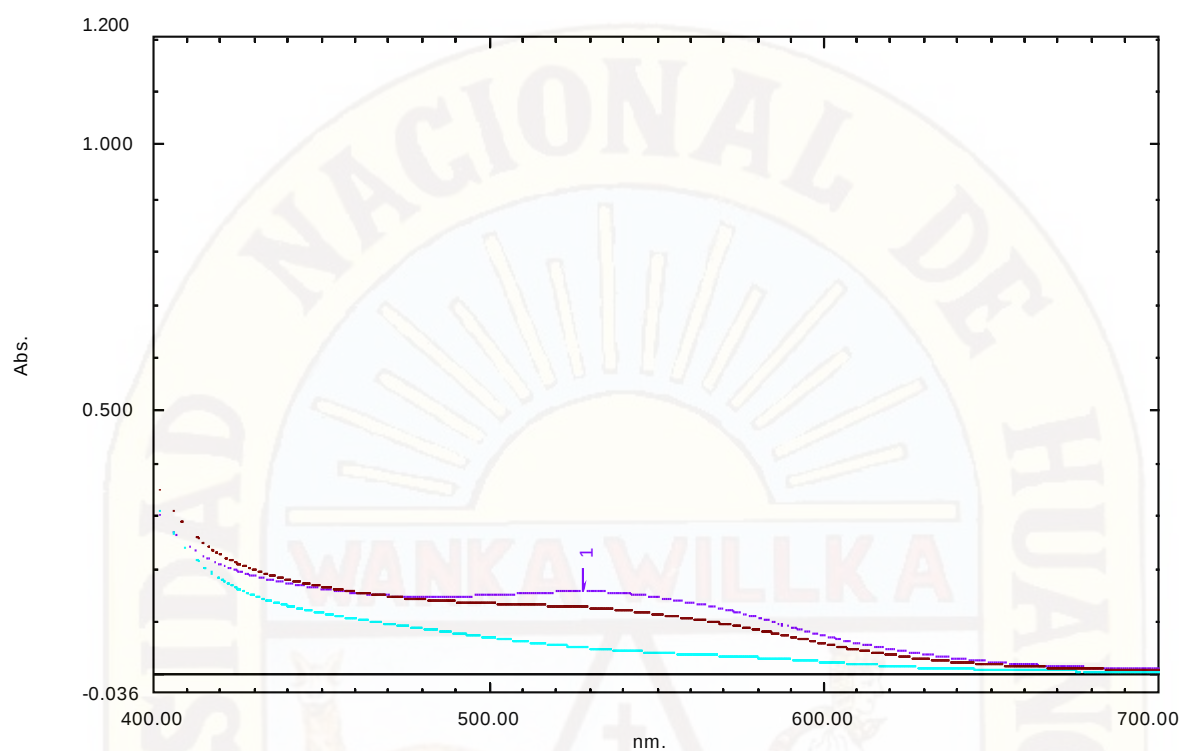


Figura 16. Barrido espectral comparativo de las muestras M1, M2 y M3 a pH 4.5 (Curva superior: M3, Curva intermedia: M2, Curva inferior: M1)

ANEXO 8

DETERMINACIÓN DE HUMEDAD (MÉTODO DE LA AOAC)

Consiste en secar la muestra en la estufa a una temperatura de 100 – 105 °C hasta un peso constante, el secado tiene una duración de 3 – 4 horas.

Procedimiento:

- ✓ Regula la temperatura de la estufa (100 °C – 105 °C.)
- ✓ Pesar el crisol y anotar el peso.
- ✓ Pesar 1 – 10 g de muestra directamente en el crisol de porcelana previamente tarado (anotar el peso del crisol y la muestra), repartir uniformemente en su base.
- ✓ Colocar el crisol en la estufa a 103 °C por un lapso de 3 - 4 horas.
- ✓ Saque el crisol de la estufa y colocar en el desecador, para enfriar a temperatura ambiente.
- ✓ Pesar el crisol con todo el contenido.

Cálculos.

$$\%H = \frac{P2 - P3}{P2 - P1} * 100$$

Donde:

- %H = Porcentaje de humedad
- P1 = Peso del crisol (g)
- P2 = Peso del crisol + muestra (g)
- P3 = Peso del crisol + muestra incinerada (g)

ANEXO 9

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA (MÉTODO DE LA AOAC)

Sometiendo a un calentamiento y digestión una muestra problema con ácido sulfúrico concentrado, los hidratos de carbono y las grasas se destruyen hasta formar CO_2 y agua, la proteína se descompone con la formación de amoníaco, el cual interviene en la reacción con el ácido sulfúrico y forma el sulfato de amonio este sulfato en medio ácido es resistente y su destrucción con desprendimiento de amoníaco sucede solamente en medio básico; luego de la formación de la sal de amonio actúa una base fuerte al 50% y se desprende el nitrógeno en forma de amoníaco, este amoníaco es retenido en una solución de ácido bórico al 2.5% y titulado con HCl al 0,1 N.

Procedimiento:

- ✓ Pesar exactamente alrededor de 40 mg de muestra e introducirla en el balón de digestión Kjeldhal.
- ✓ Anadir: 1,5 g de Sulfato de Potasio o Sulfato de Sodio, 40 mg de HgO y 3 mL de Acido Sulfúrico concentrado procurando no manchar las paredes del mismo.
- ✓ Colocar el balón en el digestor y calentar hasta obtener un liquido transparente
- ✓ Enfriar el balón y a su contenido, adicionar 4 mL de agua destilada para disolver el contenido que al enfriarse se solidifica.
- ✓ Verter lo anterior en el balón de destilación del equipo, adicionando otros 4 mL de agua destilada para enjuagar el balón.
- ✓ Cerrar la llave y añadir 8 mL de Hidróxido de Sodio al 40% y 2 mL de Tiosulfato de Sodio al 5% dejando pasar lentamente al balón de destilación.
- ✓ Recibir el destilado en un vaso conteniendo 6 mL de Acido Borico 4%, al que se le añade una o dos gotas de indicador mixto rojo de metilo y Bromocresol (400 mg de rojo de metilo mas 250 mg de verde de Bromocresol, disuelto en 250 mL de Etanol al 95%)
- ✓ El tubo de salida del destilador debe estar sumergido en el vaso que contiene los reactivos.
- ✓ Destilar hasta obtener unos 15 mL de destilado.
- ✓ Titular el destilado con HCl N/10
- ✓ La determinación debe hacerse por duplicado
- ✓

Cálculos:

$$\%P = (1,40)(F)[(V1 \times N1)/m]$$

Donde:

%P = Contenido de proteína en porcentaje de masa

F = Factor para transformar el % N₂ en proteína, que es específico para cada alimento

V1 = Volumen de HCl N/10 empleado para titular la muestra en mL

N1 = Normalidad del HCl

Proteína en Base Seca:

$$\%PBS = \frac{100 \times \%PB}{\%MS}$$

Donde:

%PBS = Porcentaje de Proteína en Base Seca.

%PB = Porcentaje de Proteína Bruta

%MS = Porcentaje de Materia Seca

ANEXO 10

DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Se lleva a cabo por medio de incineración seca y consiste en quemar la sustancia orgánica de la muestra problema en la mufla a una temperatura de $550\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, con esto la sustancia orgánica se combustiona y se forma el CO_2 , agua y la sustancia inorgánica (sales minerales) se queda en forma de residuos, la incineración se lleva a cabo hasta obtener una ceniza color gris o gris claro.

Procedimiento:

- ✓ Colocar la cápsula en la mufla y calentarla durante $550\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$; transferirle al desecador para enfriamiento y pesarla con aproximación al 0,1 mg.
- ✓ Pesar en la cápsula, 10 g de muestra con aproximación al 0,1 mg y colocar sobre la fuente calórica a $150\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ para evaporación.
- ✓ Adicionar gotas de aceite de oliva y continuar el calentamiento hasta que cese el borboteo.
- ✓ Colocar la capsula con su contenido en la mufla a $550\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta obtener cenizas blancas las cuales deben humedecerse con gotas de agua destilada.
- ✓ Evaporar sobre la fuente calórica y proceder a calcinar nuevamente en la mufla a $550\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ por un tiempo de 4 horas como mínimo, hasta obtener cenizas blancas. Después de este tiempo se saca al desecador por 30 minutos.

Cálculos

$$\%C = \frac{m2 - m}{m1 - m} * 100$$

Donde:

%C = Porcentaje de ceniza

m = Peso de la cápsula vacía (g).

m1 = Peso de la cápsula con la muestra antes de la incineración (g).

m2 = Peso de la cápsula con las cenizas después de la incineración (g).

ANEXO 11

DETERMINACIÓN DE LA FIBRA TOTAL

Se basa en la sucesiva separación de la ceniza, proteína, grasa y sustancia extraída libre de nitrógeno; la separación de estas sustancias se logra mediante el tratamiento con una solución débil de ácido sulfúrico y álcalis, agua caliente y acetona. El ácido sulfúrico hidroliza a los carbohidratos insolubles (almidón y parte de hemicelulosa), los álcalis transforman en estado soluble a las sustancias albuminosas, separan la grasa, disuelven parte de la hemicelulosa y lignina, el éter o acetona extraen las resinas, colorantes, residuos de grasa y eliminan el agua. Después de todo este tratamiento el residuo que queda es la fibra bruta.

Procedimiento:

- ✓ Se pesa 1 g de la muestra problema por adición en un papel aluminio y se registra este peso. (W1)
- ✓ Se coloca la muestra en el vaso y se pesa el papel con el sobrante y se anota este peso. (W2). A cada vaso con la muestra se coloca 200 mL de H_2SO_4 al 7% mas 2 mL de alcohol n-amílico; estos vasos colocamos en las hornillas del digestor levantando lentamente haciendo coincidir los vasos con los bulbos refrigerantes.
- ✓ Se deja por el tiempo de 25 minutos regulando la T° de la perilla en 7, también controlando que el reflujo de agua) entre funcionando adecuadamente (etapa de digestión ácida).
- ✓ A los 25 minutos se baja la temperatura de la posición 7 a 2,5 y se añade 20 mL de NaOH al 22% manejando los vasos con sumo cuidado y se deja por unos 30 minutos exactos. Los tiempos se toman desde que empieza la ebullición.
- ✓ Una vez terminada la digestión alcalina se arma el equipo de bomba de vacío, preparando además los crisoles de Gooch con su respectiva lana de vidrio para proceder a la filtración, colocar los crisoles en la bomba, filtrando de esta manera el contenido de los vasos realizando su lavado con agua destilada caliente.
- ✓ En las paredes del vaso se raspa con el policía los residuos que están adheridos para enjuagar posteriormente. El lavado se realiza con 200 mL de agua, se debe tratar con cuidado la filtración para evitar que se derrame por las paredes del crisol.

- ✓ Luego se coloca los crisoles en una caja petri y sobre la sustancia retenida en la lana de vidrio se añade acetona hasta cubrir el contenido en el crisol para eliminar agua, pigmentos y materia orgánica. Posteriormente se pasa los crisoles con toda la caja petri a la estufa por el lapso de 8 horas para secar a una temperatura de 105 °C.
- ✓ Se saca al desecador y se realiza el primer peso registrando en primera instancia. (W3).
- ✓ Una vez pesados son llevados hasta la mufla a una temperatura de 600 °C por un tiempo de 4 horas como mínimo una vez que la mufla ha alcanzado la temperatura indicada.
- ✓ Terminado este tiempo los crisoles son sacados de la mufla al desecador por un tiempo de 30 minutos para finalmente realizar el segundo peso del crisol más las cenizas. (W4)
- ✓ Finalmente por diferencia de pesos se realiza el cálculo de la fibra bruta.

Cálculos:

$$\%FT = \frac{W3 - W4}{W2 - W1} \times 100$$

Donde:

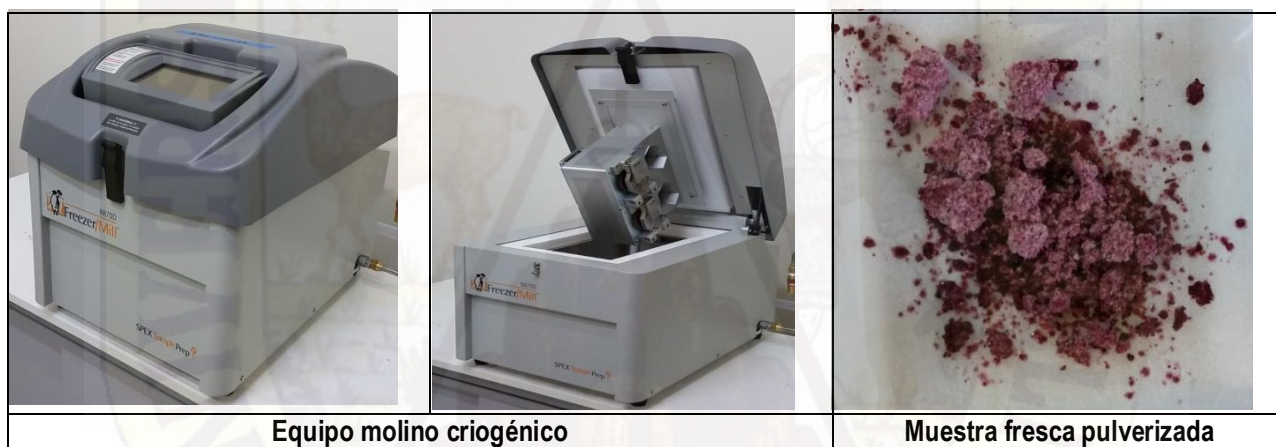
- F = Fibra
W1 = Peso del papel solo
W2 = Peso del papel más muestra húmeda
W3 = Peso del crisol más muestra seca
W4 = Peso del crisol más cenizas

ANEXO 12

REGISTRO FOTOGRÁFICO



Fotografía 1. Fruto de planta “Macha macha”.



Fotografía 2. Muestra fresca pulverizada con el molino criogénico.



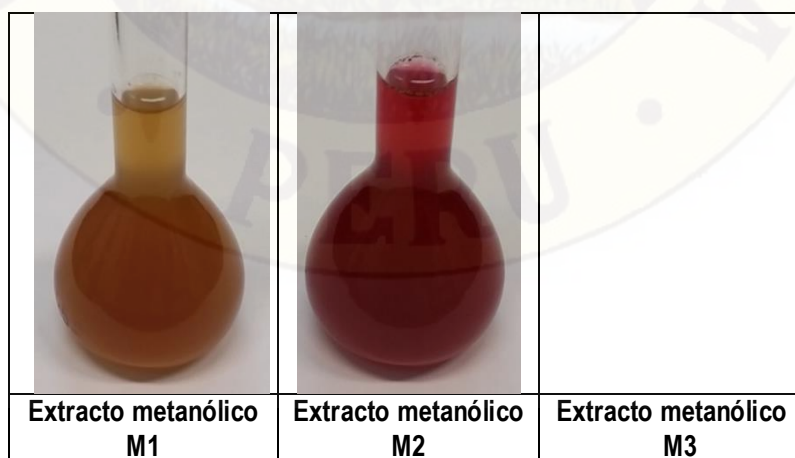
Fotografía 3. Secado de muestras en horno eléctrico para cálculo de la humedad. (Secado a 40°C, 2 semanas)



Fotografía 4. Obtención del extracto metanólico con ultrasonido.



Fotografía 5. Concentración del extracto metanólico con rotavapor.



Fotografía 6. Extractos metanólicos de las muestras.



Fotografía 7. Equipo uv-visible para la determinación de antocianinas por el método de pH diferencial y capacidad antioxidante por el método DPPH