

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE INGENIERIA EN ALIMENTOS

Determinación del Potencial de Coloración en Alimentos de un
Concentrado de Jugo de Cranberry (*Vaccinium*
macrocarpon) Obtenido por Nanofiltración

Tesis presentada como parte de los
requisitos para optar al grado de
Licenciado en Ciencia de los Alimentos

Fernanda Patricia Rebolledo Osses

VALDIVIA – CHILE

2007

PROFESOR PATROCINANTE

Kong Shun Ah-Hen

Ingeniero en Alimentos, Dipl.-Ing., Dr.-Ing.
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

PROFESOR INFORMANTE

Marcia Costa Lobos

Ingeniero Civil Bioquímico, Dipl. Ingeniería Industrial
Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos

PROFESOR INFORMANTE

Maria Adela Martínez Sanguinetti

Bioquímica, Lic. Ciencias Biológicas, Lic. Bioquímica
Instituto de Farmacia

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mi pilar fundamental: mi familia, en especial a mi madre la cual me ha brindado todo su apoyo en todo lo que me he propuesto en esta vida; a mi abuela que la quiero mucho; tías (os) (vero, vivy, cecy, rigo, mauricio) los que me quieren como una hija más; a mis primas (os) (yany, macka, yerty, waldo, may, Belen, May, Cony) que son para mi hermanos y amigos.

A mi profesor patrocinante Dr. Kong Shun A-Hen, por su constante apoyo y sabiduría que me brindo para lograr que esto fuera realidad. A mis profesores colaboradores Marcia Costa y M. Adela Martínez, gracias por su tiempo y disponibilidad.

A toda la gente hermosa que conocí en esta etapa de mi vida, los que me ayudaron de diferentes formas, a crecer y ser mejor persona; a mi familia scout, a mis amigos: Vane, Marce, Brenda, Isa, Karin, Poly, Claudia S., Claudia O., Paty, Andrea, Rene, José, Cesar, Javier R, gracias a todos por compartir conmigo esta parte de mi vida. “los amigos son como las estrellas no siempre los vez pero saben que están allí”.

ÍNDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Colorantes	3
2.1.1	Colorantes artificiales	4
2.1.2	Colorantes azoicos	5
2.1.3	Colorantes naturales	5
2.1.3.1	Antocianos	6
2.1.3.2	Fuente de origen	8
2.1.3.3	Química de los antocianos	9
2.2.	Factores que afectan la estabilidad de las antocianos	11
2.2.1	Temperatura	12
2.2.2	pH	13
2.2.3	Enzimas	14
2.2.4	Oxigenación	14
2.2.5	Ácido ascórbico	15
2.2.6	Azúcar	16
2.2.7	Iones metálicos	16
2.2.8	Dióxido de sulfuro	16
2.3	Determinación de antocianos	17
2.3.1	Determinación de antocianos de forma total	17
2.3.2	Método diferencial de pH	17
2.4	Antocianos en cranberry	18
3.	MATERIAL Y MÉTODO	22
3.1	Materiales	22
3.1.1	Materia prima	22
3.1.2	Equipos y otros materiales	22
3.1.3	Reactivos	23
3.1.4	Diseño experimental	23
3.1.4.1	Caracterización de la concentración de antocianos bajo distintos tratamientos térmicos	23
3.1.4.2	Caracterización del color en muestras de alimentos	23
3.1.5	Implementación de los tratamientos térmicos	23
3.2.	Método de análisis	25

3.2.1	Condiciones de almacenamiento de las muestras tratadas	25
3.2.2	Determinación de concentración de antocianos por método de diferencial de pH	25
3.2.3	Determinación de concentración de las muestras tratadas térmicamente	25
3.2.4	Determinación de color con sistema CIE XYZ	27
3.2.5	Mediciones de color en las muestras	28
3.3	Análisis de datos	28
4	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	29
4.1	Obtención y caracterización de la materia prima	30
4.1.1	Elaboración del jugo concentrado de cranberry por nanofiltración	30
4.1.2	Caracterización del jugo de cranberry concentrado por nanofiltración	30
4.2	Tratamientos térmicos de jugo de cranberry concentrado por nanofiltración	31
4.2.1	Variación de temperatura en los tratamientos térmicos	33
4.2.2	Energía equivalente	33
4.3	Efecto de los tratamientos térmicos sobre los antocianos en el jugo de cranberry concentrado por nanofiltración	34
4.3.1	Parámetros para la determinación del contenido de antocianos	34
4.3.2	Variación del contenido de antocianos durante los tratamientos térmicos	39
4.3.3	Parámetros cinéticos en la degradación de los antocianos del jugo de cranberry durante los tratamientos térmicos	40
4.3.3.1	Valor D	41
4.3.3.2	Constante de velocidad de reacción	42
4.3.3.3	Valor z	43
4.3.3.4	Energía de activación	43
4.3.3.5	Valor Q_{10}	44
4.4	Degradación de los antocianos de jugo nanofiltrado de cranberry tratado térmicamente durante el almacenamiento	44
	Parámetros cinéticos de degradación durante el almacenamiento	45
4.5	Efecto de los tratamientos térmicos sobre el color de jugo concentrado de cranberry por nanofiltración	48
4.5.1	Resultado de mediciones de color instrumentales	48
4.5.2	Degradación del color	50

4.6	Coloración obtenida con el jugo concentrado de cranberry en distintos tipos de alimentos	53
5	CONCLUSIONES	56
6	RESUMEN SUMMARY	58 59
7	BIBLIOGRAFÍA	60
	ANEXOS	64

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Caracterización del jugo concentrado de cranberry por nanofiltración	31
2	Tabla de valores k , D , z , E_a y Q_{10} de los tratamientos térmicos	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Antocianidinas encontradas en los alimentos	9
2	Estructura básica de los antocianos	11
3	Degradación de antocianos del jugo de uva en función de la temperatura	13
4	Cambio estructural de antocianos en función de diferentes pH	14
5	HPLC de estándares de antocianos cianidina-3-galactosa, peonidina-3-galactosa, cianidina-3-arabinosa, peonidina-3-arabinosa; HPLC de jugo de cranberry	19
6	Montaje para elaboración de ensayos de tratamientos térmicos	24
7	Curvas de calentamiento-enfriamiento de los tratamientos térmicos	32
8	Espectro de absorción para el jugo de cranberry en los tratamientos térmicos	35
9	Degradación de los antocianos del jugo de uva durante el almacenamiento: a) control, b) calentado a 99°C por 1 hora, c) calentado a 99°C por 2 horas y d) jugo de uva comercial	36
10	Espectro de absorción del extracto de fruto con acetona y cloroformo	37
11	Espectro de absorbancia para el jugo de cranberry no tratado térmicamente a dos distintos valores de pH	37
12	Espectro de absorción de antocianos de la cereza	38
13	Espectro de absorción de antocianos del rábano	39
14	Concentración de antocianos antes y después de cada tratamiento térmico en función del equivalente energético	40
15	Valor D en función de los tratamientos térmicos	42
16	Concentración de antocianos de cada tratamiento en función del tiempo de almacenamiento	45
17	Reducción del contenido de antocianos en función del tiempo de almacenamiento	46
18	Degradación de extractos de antocianos de uva concord, ajuga, rábano rojo y tradescantia, durante 15 días	47

19	Medición de color de los 11 tratamientos térmicos durante el almacenamiento	49
20	Medición de color en el primer día de almacenamiento de los tratamientos térmicos	50
21	Medición de color al mes de almacenamiento	51
22	Medición de color a los dos meses de almacenamiento	53
23	Mediciones de color en gelatina	54
24	Mediciones de color en yogurt	55

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Cálculo de energía equivalente y parámetros cinéticos de degradación: valor D, z, k, E_a , Q_{10}	65
2	Análisis estadístico realizado en Statgraphics Plus 5.1 para evaluar dependencia entre los tratamientos térmicos en función de las concentraciones de antocianos totales	69
3	Análisis estadístico realizado en Statgraphics Plus 5.1 para evaluar variación de color en función de los filtros X, Y, Z durante el almacenamiento	71
4	Análisis estadístico realizado en Statgraphics Plus 5.1 para evaluar variación de color en función de los filtros X, Y, Z en la aplicación en alimentos	74

INTRODUCCIÓN

El uso de colorantes es muy común en la industria alimentaria. El color es fundamental, ya que se relaciona con un determinado sabor del alimento, así por ejemplo el rojo se asocia a menudo con frutilla, el amarillo con plátano, el verde con manzana y el naranja con naranja.

Los colorantes de origen vegetal, son extractos naturales obtenidos a partir de frutas, flores, hojas, y raíces. Especialmente los extractos de frutas, y verduras al ser comestibles, aseguran al consumidor de no presentar ningún riesgo para la salud, al contrario se confirman beneficios de este tipo de pigmentos, que tienen propiedades de antioxidantes, como por ejemplo el β -caroteno, la riboflavina y las antocianinas.

Innumerables estudios avalan a las antocianinas del cranberry efectos de prevención de enfermedades cardiovasculares, cancerígenas y enfermedades neurológicas. También se le conoce por el efecto que poseen sobre ciertas bacterias del tracto urinario.

Sin embargo, las antocianinas son muy susceptibles a la degradación. La estabilidad de estos pigmentos es afectada por el pH, la temperatura, la presencia de enzimas, la luz, el oxígeno, los minerales, la presencia de sulfitos, como también por el ácido ascórbico. En este trabajo se quiere conocer el potencial como colorante de un jugo de cranberry, concentrado a través de un proceso de nanofiltración, caracterizando la estabilidad térmica y el poder de tinción de los antocianos presentes en el producto.

Hipótesis:

El jugo de cranberry concentrado a través de la nanofiltración puede ser utilizado en la industria alimentaria como un colorante, por su fuerte potencial de tinción y estabilidad.

Objetivo general:

Determinar la estabilidad térmica de un jugo de cranberry concentrado por nanofiltración, y evaluar el potencial de tinción al usarlo como colorante en distintos tipos de alimentos.

Objetivos específicos:

- Determinar la cinética de degradación de los antocianos de un jugo de cranberry concentrado por nanofiltración en función de la temperatura
- Evaluar en función del tiempo de almacenamiento la estabilidad del colorante obtenido en el estudio.
- Determinar la coloración de diluciones acuosas del colorante y de productos alimenticios en función de la dosificación del colorante

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Colorantes

El uso de colorantes en alimentación se remonta a tiempos inmemoriales. Las razones de su uso continuado a lo largo de la historia obedecen, en buena medida, al potencial de tinción observado en productos naturales que se han venido añadiendo a los alimentos con el fin de hacer más apetecible su apariencia sin causar efectos adversos para la salud. Ambas características permiten a los colorantes naturales competir con éxito con los de origen químico (http://www.cacia.org/porta_principal.htm).

Los colores de los alimentos se deben a distintos compuestos, principalmente orgánicos, algunos que se producen durante su manejo y procesamiento, y otros que son pigmentos naturales o colorantes sintéticos añadidos. Cuando se someten a tratamientos térmicos, los alimentos desarrollan tonalidades que van desde un ligero amarillo hasta un intenso café, mediante las reacciones de Maillard y de caramelización; en otras ocasiones, los pigmentos que contienen se alteran y cambian de color (BADUI, 1999).

La mayoría de los alimentos vegetales y las carnes le deben su color a sus correspondientes pigmentos, que son sustancias que tienen una función biológica muy importante en el tejido; éste es el caso de la clorofila y la fotosíntesis, y la mioglobina y el almacenamiento muscular del oxígeno, entre otros. En este sentido cabe indicar que estos pigmentos se extraen de su estado natural y se emplean como colorantes en la elaboración de un gran número de alimentos (BADUI, 1999).

2.1.1 Colorantes artificiales. El color de los alimentos es definitivamente muy importante para el consumidor, ya que, siendo el primer contacto que tiene con ellos, es determinante para que un comestible sea aceptado o rechazado. La homogeneidad del color de los productos durante todo el año es fundamental. El público desea encontrar siempre el alimento con los mismos colores; de otro modo, se descontrola y desconfía. Por estas razones, existen en el mercado diversos agentes químicos que sirven para colorear (BADUI, 1999).

En este grupo se encuentran aquellos colorantes que son elaborados por el hombre a través de procesos de síntesis química y que no existen por sí mismos en la naturaleza (PARRA, 2004). Los colorantes artificiales son ampliamente usados debido a que su poder colorante es más intenso que el de los naturales, así, se requiere cantidades menores para lograr el mismo efecto de coloración. Además, estos colorantes son más estables, proveen mejor uniformidad de color y se mezclan más fácilmente, resultando en una amplia gama de tonalidades. Los colorantes artificiales, generalmente no imparten sabores extraños a los alimentos, a los cuales se agregan (PARRA, 2004).

Los colorantes artificiales están disponibles para su uso en alimentos tanto como tintes o lacas. Los tintes son hidrosolubles, manifiestan su poder colorante al ser disueltos en agua, pero no se disuelven en solventes orgánicos. Se presentan en polvo, gránulos, líquidos u otras formas para propósitos especiales. Pueden ser usados en bebidas, mezclas secas, productos horneados, lácteos, golosinas e incluso en alimentos para animales (PARRA, 2004).

Referente a las lacas, PARRA (2004) afirma que son la forma no hidrosoluble de los tintes y colorean por dispersión. Las lacas contienen el mismo pigmento que los tintes, el cual ha sido adsorbido en una base de hidróxido de aluminio. Son más estables que los tintes y son ideales para colorear productos que contienen grasas o carecen de suficiente humedad para disolver los tintes. Los

usos típicos de las lacas incluyen tabletas cubiertas, mezclas para coberturas, chicles, masticables y caramelos duros.

2.1.2 Colorantes azoicos. Estos colorantes forman parte de una familia de sustancias orgánicas caracterizadas por la presencia de un grupo peculiar que contiene nitrógeno unido a anillos aromáticos. Todos se obtienen por síntesis química, no existiendo ninguno de ellos en la naturaleza (PARRA 2004). El número de los colorantes de este grupo autorizados actualmente es pequeño en comparación con los existentes. Muchos de los cuales se utilizaron antiguamente y luego se prohibieron por su efecto potencialmente perjudicial para la salud. Pertenecen a este grupo de colorantes: Allura Red AC, Tartrazina, Amarillo Ocaso, Carmoisina, Ponceau 4R, Café HT, Negro Brillante, Amaranto y Rojo 2G, estos dos últimos no están autorizados por el Reglamento Sanitario de los Alimentos.

Se les ha atribuido de ser capaces de producir reacciones de sensibilidad en personas alérgicas a la aspirina, aunque esto sólo se ha demostrado, en algunos casos, siendo uno de ellos, la tartrazina. También se ha encontrado, aunque sin fundamento irrefutable, que provoquen alteraciones en el comportamiento y aprendizaje en los niños, especialmente la tartrazina. (<http://www.pasqualinonet.com.ar/Colorantes.htm>).

2.1.3 Colorantes naturales. El éxito de los colorantes naturales se remonta a varios miles de años en la historia. Las civilizaciones precolombinas, en América Latina, o los antiguos egipcios, por citar a algunas, sentaron las bases de unos usos que se extendían desde la tinción textil hasta los alimentos, pasando por aplicaciones meramente cosméticas. Las propiedades de estos productos se ampliaron, muchísimo tiempo después, a la tinción de productos farmacéuticos (http://www.cacia.org/porta_principal.htm).

La mayoría de los pigmentos vegetales se localizan en el protoplasma de las células, dentro de los organelos especializados llamados plásticos, que se pueden observar con el microscopio, ya que forman pequeñas placas o agujas de estructura cristalina; en algunos casos, cuando son solubles en agua, se ubican disueltos en las vacuolas de las células.

Algunos de ellos son hidrosolubles, y su separación y aislamiento se facilita considerablemente, pero existen otros que sólo se solubilizan en disolventes orgánicos como hexano, éter, y otros. Su identificación se basa en la propiedad que tiene cada pigmento de absorber una cierta longitud de onda del espectro visible; los carotenoides, por ejemplo, absorben una energía radiante de alrededor de 440 nm, mientras que las clorofilas, las antocianinas y la mioglobina lo hacen en longitudes de onda de 655, 510 y 555 nm, respectivamente (BADUI, 1999).

Referente a los colorantes naturales LINDEN y LORIENT (1996) señalan que la mayoría de este tipo de colorantes son de origen vegetal; pueden ser compuestos puros o productos de extracción. Estos últimos son obtenidos de materias primas alimentarias y pueden estar asociadas a otras moléculas. Los principales pigmentos naturales pertenecen a tres grandes categorías: los pigmentos porfirínicos, entre los cuales se encuentran las clorofilas y los pigmentos hemínicos (mioglobina, hemoglobina); los carotenoides, entre los cuales podemos citar el β -caroteno, el licopeno y las xantofilas; y por último los flavonoides y sus derivados.

2.1.3.1 Antocianos. Son un grupo amplio de sustancias naturales, bastante complejas, formadas por un azúcar unido a la estructura química directamente responsable del color llamada antocianidina. Son las sustancias responsables de los colores rojos, azulados o violetas de la mayoría de las frutas y flores. Usualmente cada vegetal tiene de 4 a 6 distintos, pero algunos tienen prácticamente uno solo (la zarzamora, por ejemplo) y otros hasta 15. Los

antocianos utilizados como colorante alimentario deben obtenerse de vegetales comestibles. Son responsables de un amplio abánico de colores de las plantas, que incluyen el azul, púrpura, violeta, magenta, rojo y naranja (FENEMA, 2000).

LA ORGANIZACIÓN PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION Y LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD DE LAS NACIONES UNIDAS (FAO y OMS) (1963) postulan que las antocianinas son materias colorantes, a que deben su color rojo, violeta y azul las flores, las hojas y las frutas. Por hidroxilación, metilación y formación de enlaces de glucósido se alteran las características del color. Todas las antocianinas son solubles en agua.

La fuente más importante a nivel industrial son los subproductos como por ejemplo el hollejo de la fabricación del vino. Los antocianos son los colorantes naturales del vino tinto, y en algunos casos permiten distinguir químicamente el tipo de uva utilizado. El material extraído de los subproductos de la industria vinícola, denominada a veces "enocianina", se comercializa desde 1879, y es relativamente barato. Los otros antocianos, en estado puro, son muy caros. (<http://www.pasqualinonet.com.ar/Colorantes.htm>).

Referente a los antocianos LINDEN y LORIENT (1996) señalan que son pigmentos solubles muy extendidos en la naturaleza y responsables de las coloraciones azules, violetas, rojas y a veces incluso naranjas de numerosas frutas y verduras. Se han identificado más de 200 antocianos. Los antocianos cuando son rojos se presenta en forma de un catión de flavilio, que se presenta generalmente como un ión oxonio que lleva una carga positiva en el átomo de oxígeno del heterociclo. Esta característica le confiere un carácter anfótero que conlleva cambios de color en función del pH. En la práctica, los antocianos utilizados como colorantes alimentarios aportan tintes que van desde el rojo violáceo hasta el rojo cereza, y son utilizables en una zona de pH que va de 3,5 a 5,5. El color de los antocianos y antocianidinas resulta de la excitación de la molécula por la luz visible. La facilidad con la que la molécula es excitada

depende de la movilidad relativa de los electrones de la estructura. Los dobles enlaces, que son abundantes en antocianos y antocianidinas, son excitadas más fácilmente y su presencia es esencial para el color. Las antocianos presentes en la naturaleza contienen diversas antocianidinas, pero en los vegetales las más conocidas son las que se muestra en la FIGURA 1 (FENNEMA, 2000).

2.1.3.2 Fuente de origen. Los antocianos se ubican principalmente en las primeras capas de piel en las frutas como manzana, peras, ciruelas, y otras. En las cerezas, la piel contiene mucho más pigmentos que en la pulpa. En contraste con las cerezas dulces, las amargas contienen más pigmentos en la pulpa (SHRIKHANDE, 1976).

De todas los antocianidinas que actualmente se conocen (aproximadamente 20), las más importantes son la pelargonidina, la delphinidina, la cianidina, la petunidina, la peonidina y la malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez. La combinación de éstas con los diferentes azúcares genera aproximadamente 150 antocianos que abundan en la naturaleza. FENNEMA (2000) señala en relación al origen de los antocianos que debido a su diversidad estructural, no es sorprendente que se hayan identificado más de 250 antocianos diferentes en el reino vegetal. Las plantas no sólo contienen mezclas de antocianos, sino que sus concentraciones relativas varían entre cultivares y con la madurez. El contenido total de antocianos varía entre plantas y oscila entre unos 20 hasta 600 mg/100 g de peso fresco.

Los antocianos utilizados en la alimentación no se pueden obtener más que a partir de frutas o verduras comestibles, tales como las fresas maduras, cerezas, ciruelas, frambuesas, grosellas negras, grosellas, coles rojas, cebollas rojas, arándanos, berenjenas, uvas, y otros (LINDEN y LORIENT, 1996). Es muy común que una misma antocianidina interaccione con más de un hidrato de

carbono para formar diferentes antocianos. Son responsables de los colores rojo, anaranjado, azul y púrpura de las uvas, manzanas, rosas, fresas y muchos otros productos de origen vegetal, principalmente frutas y flores. Generalmente se encuentran en la cáscara o piel, como en el caso de las peras y las manzanas, pero también se pueden localizar en la parte carnosa, como en las fresas y las ciruelas (BADUI, 1999).

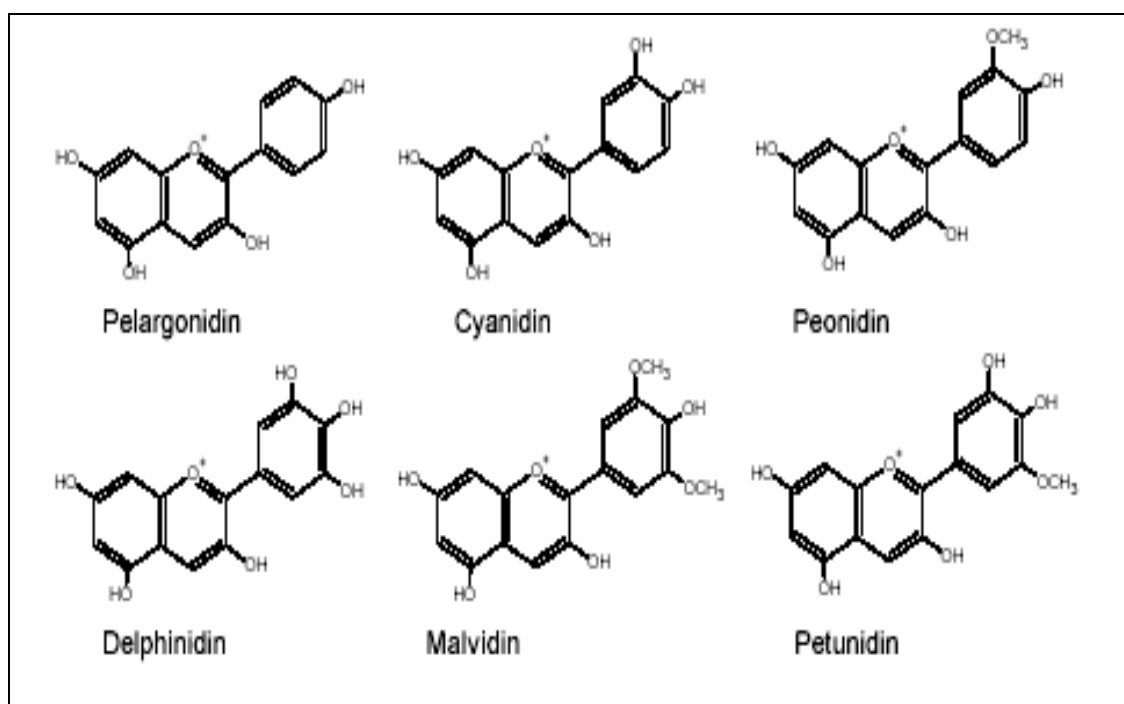


FIGURA 1. Antocianidinas encontradas en los vegetales.

FUENTE: REIN, 2005.

2.1.3.3 Química de los antocianos. Estos compuestos, al igual que los flavonoides y las betalainas, son pigmentos hidrosolubles con características de glucósidos; están constituidos por una molécula de antocianidina, que es la aglucona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace β -glucosídico. La estructura química básica de estos aglucones es el ión flavilio que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio y un anillo fenólico; por su posición trivalente del oxígeno, el flavilio normalmente funciona como un catión (BADUI,

1999). Los antocianos son glucósidos de sales de 2-fenil-benzopirilio, en su mayoría derivados hidroxilados. Los aglucones de los antocianos se denominan antocianidinas (FAO y OMS, 1963).

Generalmente, el aumento de la hidroxilación disminuye la estabilidad, en tanto que el aumento de metilación la incrementa. El color de los alimentos que contienen antocianos ricos en agluconas pelargonidina, cianidina o delphinidina es menos estable que el de los alimentos que contienen antocianos de agluconas petunidina y malvidina. La mayor estabilidad de este último grupo se debe a que los grupos hidróxilos inactivos están bloqueados. Se deduce, por tanto, que el aumento de la glucosilación, como en los monoglucósidos o diglucósidos, aumenta la estabilidad (FENNEMA, 2000).

En la naturaleza los antocianos se encuentran siempre como glucósidos, principalmente en la forma de 3-monoglucósidos, existiendo también como 3,5-diglucósidos (WONG, 1995). La estructura química de los antocianos se puede observar en la FIGURA 2. Los hidratos de carbono que comúnmente se encuentran son la glucosa y la ramnosa, seguidos de la galactosa, la xilosa y la rabinosa y, ocasionalmente, la gentiobiosa, la rutinosa y la soforosa; todos ellos se unen a la antocianidina principalmente por medio del hidroxilo de la posición 3, y en segundo término, de la 5 o de la 7. Cuando en una misma molécula se encuentran dos azúcares, éstos se localizan en los hidroxilos 3 y 5, produciendo una estructura que generalmente es más estable que cuando sólo contienen un solo monosacárido (BADUI, 1999).

Los antocianos también pueden ser “aciladas”, lo cual añade un tercer componente a la molécula; esterificadas con la molécula de azúcar se encuentran una o más moléculas de ácido p-cumárico, ferúlico, cafeíco, masónico, vinílico o acético (FENNEMA, 2000).

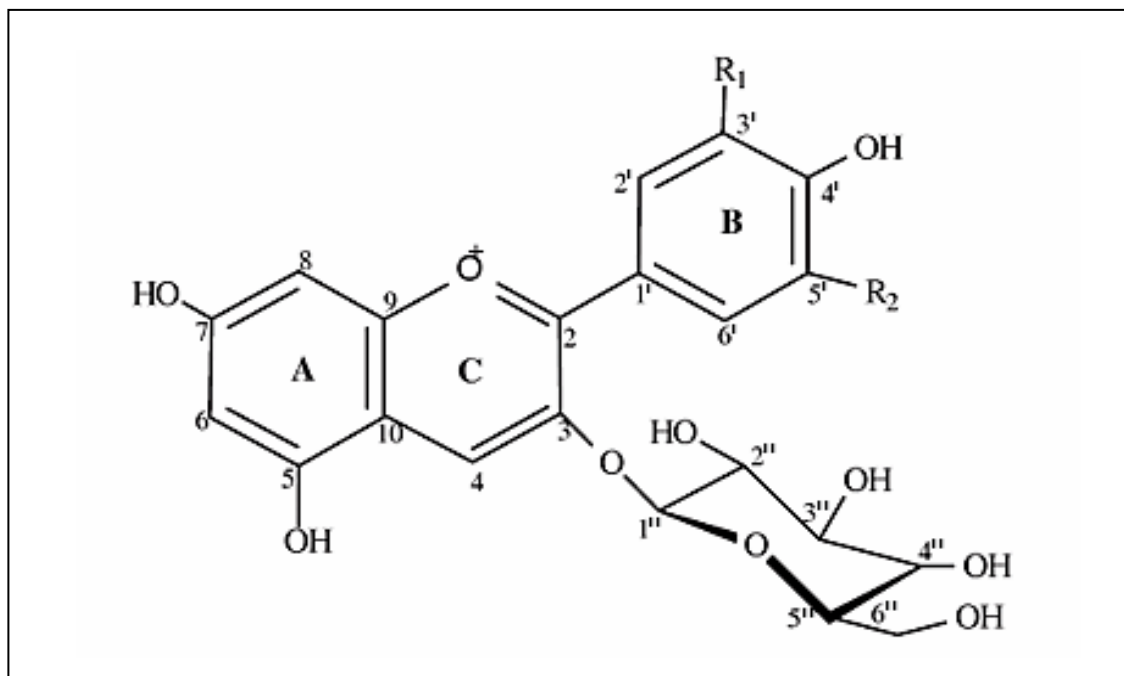


FIGURA 2. Estructura básica de los antocianos.

FUENTE: www.alcion.es/Download/ArticulosPDF/al/gratis/11articulo.pdf

2.2 Factores que afectan la estabilidad de las antocianos

PARRA (2004), señala referente a este tema que los antocianos son solubles en medio acuoso, inestables frente a la luz, se degradan durante el almacenamiento, cambiando el color cuanto más elevada sea la temperatura, en cambio, presentan buena estabilidad en medio ácido. Este tipo de pigmento es relativamente poco usado, teniendo uso en algunos lácteos, helados, caramelos, productos de pastelería y conservas vegetales. El conocimiento de la química de los antocianos se puede utilizar para minimizar su degradación mediante la adecuada selección de los procesos y por selección de los pigmentos antocianicos que sean más adecuadas para la aplicación que se

desea. Los principales factores que gobiernan la degradación de los antocianos son el pH, la temperatura y la concentración de oxígeno. Factores que tienen menos importancia son la presencia de enzimas degradativas, ácido ascórbico, dióxido de azufre, iones metálicos y azúcares. Además la copigmentación puede afectar a la velocidad de degradación (FENNEMA, 2000).

Siendo un electrón deficiente, el núcleo flavilio de los antocianos es más reactivo, por lo tanto, experimentan fácilmente estructuras indeseables y cambios de color por distintos procesos de almacenamiento de los alimentos. La evidencia se ha acumulado durante los últimos años: ésta indica que el índice de la destrucción de los pigmentos es acelerado por el alto pH, oxígeno, altas temperaturas, ácido ascórbico, azúcar, enzimas, etc. (SHRIKHANDE, 1976). El núcleo flavilio de los pigmentos de antocianicos es deficiente en electrones y, por lo tanto, muy reactivo. Las reacciones comprenden la decoloración de los pigmentos y son casi siempre no deseables en el procesado de frutas y hortalizas (FENNEMA, 2000).

2.2.1 Temperatura. Los tratamientos térmicos influyen significativamente en la destrucción de los antocianos en las fresas, se presenta una relación logarítmica entre la pérdida de color y la temperatura (BADUI, 1999). La estabilidad de los antocianos en los alimentos se ve notablemente afectada por la temperatura, como se observa en la FIGURA 3. En general, las características estructurales que conducen a un aumento de la estabilidad del pH también llevan a la estabilidad térmica. Las antocianidinas altamente hidrolizadas son menos estables que las metiladas, glucosiladas o acetiladas (FENNEMA, 2000).

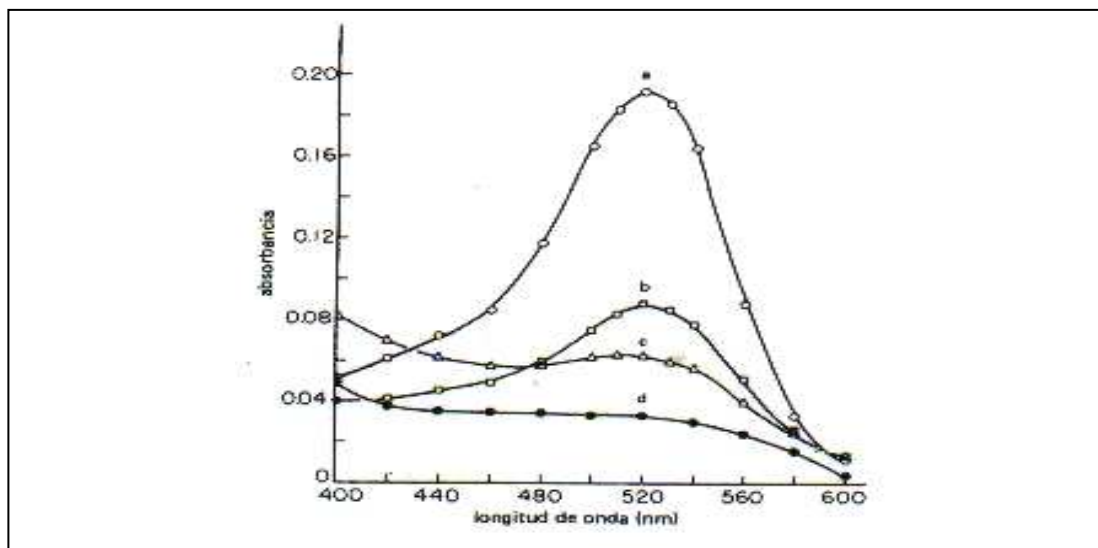


FIGURA 3. Degradación de antocianos del jugo de uva en función de la temperatura. (a: jugo no tratado; b: 99°C por 1 hr; c: 99°C por 2 hr, d: jugo comercial)

FUENTE: BADUI, 1999

2.2.2 pH. Los antocianos muestran su fuerza tintórea más intensa aproximadamente a pH 1,0, cuando las moléculas del pigmento están principalmente en la forma no ionizada. A pH 4,5 los antocianos de los zumos de frutas son casi incoloros (ligeramente azuladas) si no están presentes flavonoides amarillos. En el caso de que estén presentes, como es frecuente en las frutas, el zumo será verde.

Con respecto al pH en soluciones acuosas, inclusive los alimentos, los antocianos pueden existir en 4 formas estructurales como se puede observar en el FIGURA 4, dependiendo del pH: la base quinonoidal azul, el catión flavilio rojo, la base pseudocarbinol incolora, y la chalcona incolora (FENNEMA, 2000).

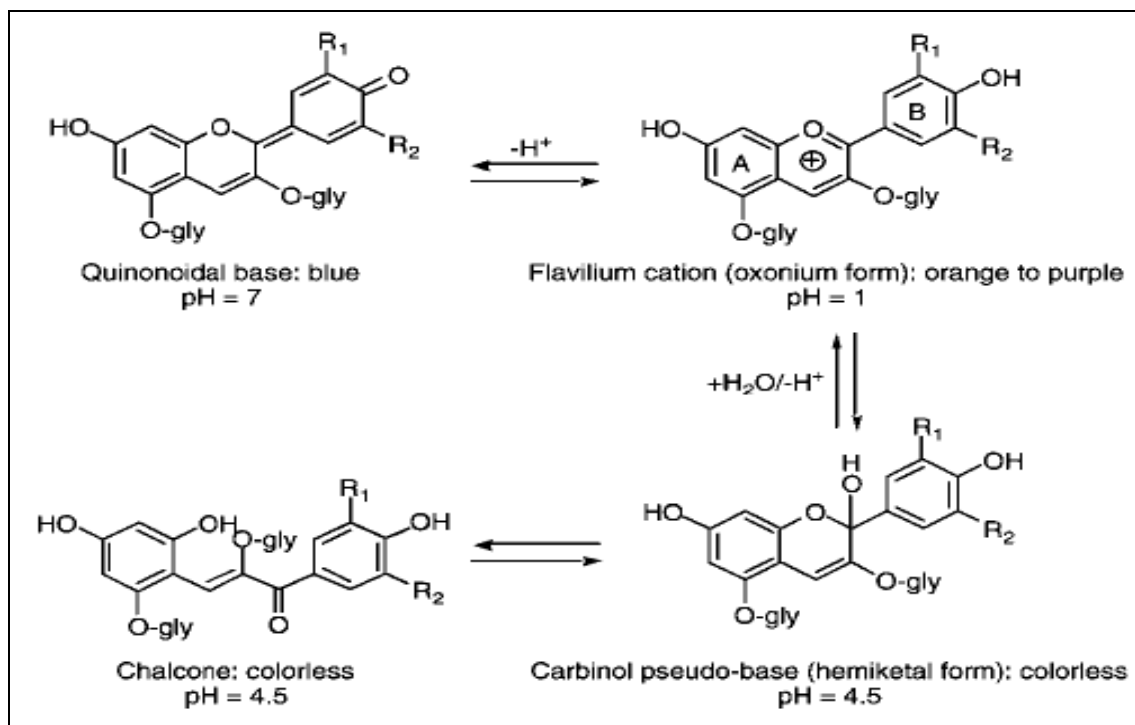


FIGURA 4. Cambio estructural de antocianos en función de diferentes pH

FUENTE: WROLSTAD, 2004.

2.2.3 Enzimas. Las enzimas se han implicado en la decoloración de los antocianos. Se han identificado dos grupos: glucosidasas y polifenoloxidasas. En conjunto, se las conoce como antocianasas. Las glucosidasas, como su nombre lo indica, hidrolizan los enlaces glucosílicos dando el azúcar o azúcares y la aglucona. Las polifenoloxidasas actúan en presencia de *o*-difenoles y oxígeno, oxidando los antocianos (FENNEMA, 2000).

2.2.4 Oxigenación. El oxígeno disuelto tiene un efecto negativo en la estabilidad de los antocianos, principalmente en productos como el vino, y para eliminarlo se llega incluso a utilizar glucosa oxidasa, que lo consume durante la transformación de la glucosa en ácido glucurónico (BADUI, 1999).

La naturaleza insaturada de las estructuras de antocianos los convierte en susceptibles al oxígeno molecular. Se sabe desde hace muchos años que cuando el mosto de uva se embotella en caliente, el llenado completo de las botellas retrasa la degradación del color de púrpura a pardo mate. El efecto positivo de la eliminación de oxígeno para retener el color de los antocianos se ha demostrado, además, procesando zumos de fruta que contienen antocianos en nitrógeno o al vacío (FENNEMA, 2000).

2.2.5 Ácido ascórbico. Es sabido que el ácido ascórbico y los antocianos desaparecen simultáneamente de los zumos de frutas, lo cual sugiere cierta interacción directa entre las dos moléculas. Sin embargo, esta idea se ha desechado, pues se cree que la degradación inducida por ácido ascórbico de los antocianos resulta indirectamente de la formación de peróxido de hidrógeno durante la oxidación del ácido ascórbico (FENNEMA, 2000). Referente al ácido ascórbico STARR y FRANCIS (1973), señalan que es difícil especular porqué se producen los cambios en contenido del pigmento en el cóctel del jugo del cranberry. Las mayores pérdidas se esperan con la adición del ácido ascórbico. Las pérdidas reducidas debido al ácido ascórbico en los valores de pH más bajos son obviamente deseables y pueden ser debido al hecho que, el pH más bajo es más de los máximos del pH para esta serie de reacciones. Retención de antocianos y vitamina C durante la producción de néctar depende de los procesos así como de la materia prima. Cuando se usa una producción continua finalizando con pasteurización, el néctar se produce en 4 horas. Bajo esas condiciones de proceso la pérdida de antocianos y vitamina C es limitada. Después de embotellar el néctar, una considerable pérdida de antocianos ocurre durante el almacenamiento. Solamente la mitad del contenido original de antocianos monoméricos se mantiene después de 6 meses (IVERSEN, 1999).

2.2.6 Azúcar. Lo azúcares a altas concentraciones, como ocurre en las conservas de frutas, estabilizan los antocianos. Este efecto se cree que es debido a la disminución de la actividad de agua. Cuando los azúcares están presentes en concentraciones lo suficientemente bajas como para tener poco efecto sobre la actividad de agua, ellos o sus productos de degradación pueden a veces acelerar la degradación de los antocianos (FENNEMA, 2000).

2.2.7 Iones metálicos. Los antocianos cambian de color cuando forman complejos, quelatos o sales de iones de sodio, potasio, calcio, magnesio, estaño, hierro o aluminio; por esta razón, se recomienda que las latas que se empleen para los alimentos que contengan antocianos, sean recubiertas por una laca protectora que evite el desprendimiento de los metales indeseables (BADUI, 1999).

2.2.8 Dióxido de sulfuro. Una fase de la producción de guindas y cerezas confitadas es la decoloración de antocianos con SO_2 a elevadas concentraciones (0,8 – 1,5 %). La decoloración que ocurre durante la producción de marrasquino y cerezas confitadas es irreversible. Se desconoce por qué razón. Durante el almacenamiento, la fruta pierde su color, pero éste se puede restablecer por desulfuración (lavado intenso) antes del procesado posterior. En la reacción reversible se forma primero un complejo incoloro. Esta reacción ha sido ampliamente estudiada y se cree que comprende la fijación de SO_2 en la posición C-4, es que el SO_2 en esta posición produce la pérdida de color (FENNEMA, 2000).

2.3 Determinación de antocianos

Existen distintas formas para determinar antocianos ya sea en forma total o en forma separada cada antocianina. Si se quiere establecer las antocianos en forma general muchos autores de diversos estudios utilizan el método de diferencial de pH. Pero si se desea determinar las antocianinas en forma separada se recomienda utilizar cromatografía.

2.3.1 Determinación de antocianos de forma total. La forma más utilizada para determinar antocianinas en forma total es la basada en diferencial de pH. Algunos autores utilizan extracción con metanol y SO₂ para obtener antocianos en forma total.

El contenido total de antocianos en extractos crudos contiene otros materiales fenólicos que son determinados por mediciones de absorción de la solución a una longitud de onda. Esto es posible porque los antocianos tienen una típica banda de absorción entre 490 y 550 nm de región de espectro visible. Esta banda está lejos de la banda de absorción de otros fenoles, lo cual tiene un máximo espectro en el rango UV. En muchas instancias, sin embargo, este simple método es inapropiado porque la interferencia de productos de degradación de antocianos o melanoidinas de reacciones de pardeamiento. En ambos casos, el acercamiento debe ser usado para diferenciar y/o métodos sustractivos para cuantificar antocianos y su producto de degradación. (WROLSTAD, 2004).

2.3.2 Método diferencial de pH. Debería enfatizarse que el método basado en el diferencial de pH es una medida de las antocianos monoméricos y los resultados pueden parecer no relacionados con la intensidad de color de las muestras de jugo o vino, juzgado visualmente. Esto se debe a que las

antocianinas poliméricas y los pigmentos pardos que surgen del pardeamiento enzimático, reacción de Maillard y degradación de antocianinas también contribuyen a la intensidad del color.

WOLSTRAD (1976) ha reportado contenido de antocianos donde la absorbancia fue medida sólo a pH 1,0, y no hubo sustracción de la absorbancia a pH 4,5. Los resultados determinados de esta manera deben ser similares a aquellos con el método de diferencial de pH para productos frescos donde la presencia de pigmentos poliméricos pardos fuera insignificante. En productos donde ha ocurrido pardeamiento y degradación de antocianos, se obtiene una mejor correlación con la intensidad del color, pero no una medición precisa del contenido de antocianos.

Los pigmentos que se pierden en el procesamiento del rábano rojo pueden ser minimizados agregando agentes protectores para retardar la degradación de ácido ascórbico, el cual ayuda a la estabilidad de los antocianos. Los polvos de pigmentos extraídos con metanol pueden proporcionar un reemplazo para el colorante rojo nº 2 ofreciendo un color de superior calidad en relación con el rojo nº 40 para colorear rojo mezclas secas de jugos. Este estudio presentado por SHEWFELT y AHMED (1977) fue para determinar la viabilidad de productos que son convertidos en polvo puedan considerarse colorantes comerciales.

2.4 Antocianos en cranberry

Los antocianos son responsables de las coloraciones rojas, púrpuras y azules de muchas frutas, vegetales y flores. La concentración de antocianos en berries es muy alta, existen más de 500 tipos de antocianos que han sido identificados con su estructura desde la naturaleza (TIAN et al, 2005).

Los pigmentos rojos del cranberry son extraídos, separados y purificados; el primer antociano en aparecer es cianidina-3-galactosida, la siguiente es peonidina-3-galactosida, los últimos en aparecer son los glucósidos de cianidina y peonidina (SAKAMURA y FRANCIS, 1961). Los antocianos encontrados en el cranberry según SHRIKHANDE y FRANCIS (1974) son cianidina-3-galactosida, peonidina-3-galactosida, cianidina-3-arabinosida y peonidina-3-arabinosida. La cromatografía HPLC del jugo de cranberry al compararla con el HPLC de los estándares de antocianos de cianidina-3-galactosida, peonidina-3-galactosida, cianidina-3-arabinosida y peonidina-3-arabinosida como lo muestra la FIGURA 5 se puede observar que existe la presencia de dos peaks más que en la cromatografía de los estándares, estos representarían al menos el 1% de los antocianos totales del jugo de cranberry, se presume que serían cianidina-3-monoglucósido y peonidina-3-monoglucósido (CAMIRE y CLYDESDALE, 1979).

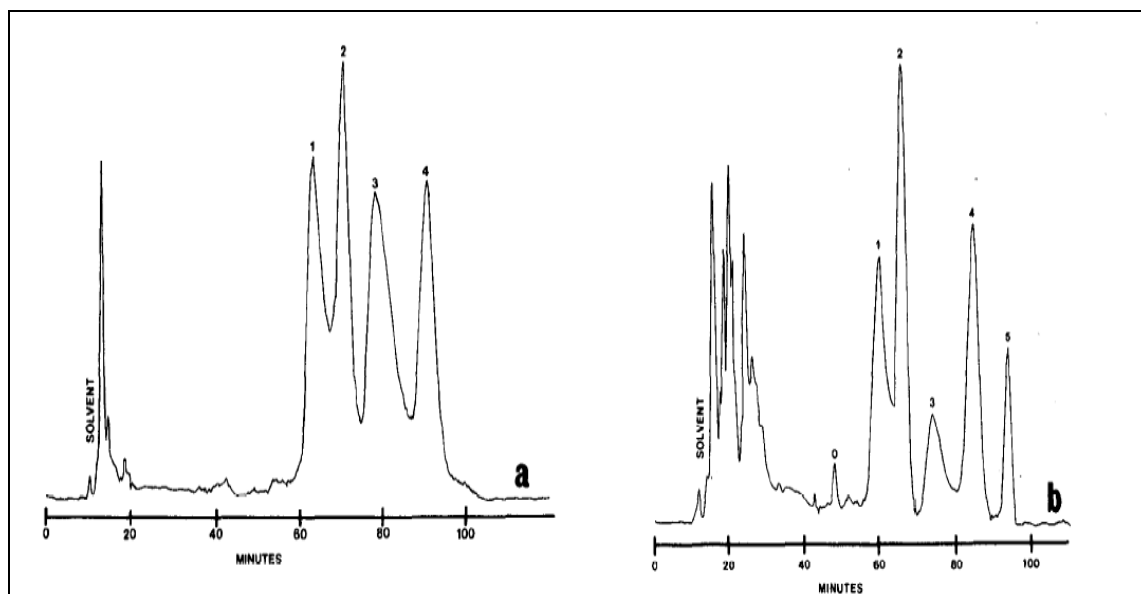


FIGURA 5. a) HPLC de estándares de antocianos Cianidina-3-galactosida, peonidina-3-galactosida, cianidina-3-arabinosida y peonidina-3-arabinosida; b) HPLC de jugo de cranberry

FUENTE: CAMIRE y CLYDESDALE, 1979.

El color rojo del fruto cranberry es producto de la presencia de antocianos. A partir del análisis de HPLC reportado por ZHOU y SING (2004) indica la presencia de cianidina-3-galactosida, cianidina-3-glucosida, cianidina-3-arabinosida, peonidina-3-galactosida, peonidina-3-glucosida y peonidina-3-arabinosida; la proporción en forma individual de los antocianos del cranberry afecta la estabilidad del color de los productos derivados del cranberry como las salsas y jugos. La cromatografía HPLC del jugo del cranberry con peak de absorbancia de 515 nm indica los siguientes porcentajes un 33% de cianidina-3-galactosida, 2% de cianidina-3-glucosida, 14% de cianidina-3-arabinosida, 38% de peonidina-3-galactosida, 4% de peonidina-3-glucosida y 9% de peonidina-3-arabinosida (HONG y WROLSTAD, 1990). Relacionado con el mismo tema WIGHTMAN y WROLSTAD (1995) indica que el jugo de cranberry contiene un porcentaje mayor de antocianos derivados de glucósidos de galactosa y arabinosa como son el cianidina-3-galactosida, peonidina-3-galactosida, cianidina-3-arabinosida y peonidina-3-arabinosida y un porcentaje mas bajo de antocianos derivados de glucósidos tales como la cianidina-3-glucosida y peonidina-3-glucosida. Referente a los antocianos presentes en el jugo de cranberry SHRIKHANDE (1973) menciona que alrededor del 40% de los pigmentos antocianicos del cranberry queda remanente en la torta de prensa, indica que existe presencia de cianidina-3-galactosida, cianidina-3-glucosida, cianidina-3-arabinosida, peonidina-3-galactosida, peonidina-3-glucosida, peonidina-3-arabinosida. A partir de la torta de prensa se puede obtener un colorante en polvo por medio del secado spray; su primera etapa es la extracción con etanol al 95% posterior se procede a un enfriado, se le agrega un portador de carbohidratos para obtener un 30% de sólidos totales en la mezcla para así poder secar. La condición óptima de secado para obtener una mínima degradación de los antocianos en el concentrado es un aire de salida de 90°C (MAIN et al., 1978).

El grado de degradación de antocianos en el jugo de cranberry aumenta con los sólidos; la azúcar y la degradación de la azúcar es efectiva para acelerar la degradación de los antocianos (CEMEROGLU et al., 1994). La presencia de los flavonoides reduce la oxidación del ácido ascórbico y también reducen la pérdida de antocianos; ésta es una relación de forma indirecta entre el ácido ascórbico y la degradación de antocianos; ya que a pH 2,8 los antocianos del cranberry aceleran la oxidación del ácido ascórbico (SHRIKHANDE y FRANCIS, 1974). Altas temperaturas y tiempos prolongados a determinadas temperaturas promueven la degradación de los antocianos. La relación del logaritmo del porcentaje de antocianos remanente en función del tiempo cedido se presenta con una línea recta; lo que indica una reacción de primer orden. Estos resultados confirman que la reacción de degradación de antocianos es un modelo cinético de primer orden (CEMEROGLU et al., 1994).

Los antocianos son recobrados de los desechos de la pulpa de la elaboración del jugo de cranberry por medio de una extracción y después una filtración; después que el solvente es removido, el extracto crudo de antocianos es purificado por ultrafiltración, concentrado por osmosis inversa y secado al vacío. El concentrado final contiene 0,11% de antocianos en peso seco; este proceso puede ser aplicado para producir colorantes a partir de distintas plantas, frutas o verduras (WOO et al., 1980).

3. MATERIAL Y MÉTODO

Los análisis del presente estudio, fueron realizados en los laboratorios del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICYTAL), dependencia de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile.

3.1 Materiales

3.1.1 Materia prima. Se utilizó como materia prima jugo de cranberry concentrado por el proceso de nanofiltración, utilizando un equipo de membranas planas DDS Lab (module20-0, 36 Lab), que cuenta con 20 membranas planas HC-50P DDS Filtration para nanofiltración, en el ICYTAL, Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. El jugo concentrado de cranberry fue almacenado en una cámara frigorífica, a una temperatura alrededor de los $-30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el uso para análisis y los tratamientos térmicos.

3.1.2 Equipos y otros materiales. Se utilizaron los siguientes equipos y materiales, todos ellos proporcionados por el Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos: espectrofotómetro Spectronic UV modelo Genesys 5, colorímetro para líquidos y sólidos LANGE, olla a presión, termocuplas tipo T, registrador de datos de temperatura y tiempo, Datalogger DIGISENSE 91090.00 de dos canales, pipetas totales y parciales, matraces aforados de 10 ml y 50 ml, tubos de ensayo, probetas, cubetas de plástico para espectrofotómetro, y otros materiales de laboratorio.

3.1.3 Reactivos. Los reactivos requeridos en este estudio fueron: ácido clorhídrico (1M y 0,2 M), acetato de sodio (1 M), cloruro de potasio (0,2 M), agua destilada.

3.1.4 Diseño experimental. Esta investigación se basó en lograr la caracterización del jugo de cranberry concentrado por nanofiltración principalmente para ser utilizado como colorante de origen vegetal. Se determinó el efecto térmico sobre el jugo, y se analizó la variación del color en distintos medios con diferentes pH y concentraciones del colorante.

3.1.4.1 Caracterización de la concentración de antocianos bajo distintos tratamientos térmicos. Se sometió el jugo a 5 tratamientos térmicos entre 70 °C y 120 °C. Se utilizaron un total de 6 muestras, incluyendo 1 muestra como testigo sin tratamiento térmico. Se realizó cada ensayo en triplicado. Se determinó la concentración de antocianinas presentes a las muestras con sus repeticiones a través del método de diferencial de pH, para luego evaluar la variación de la concentración de antocianos en función del tratamiento térmico.

3.1.4.2 Caracterización del color en muestras de alimentos. Para analizar la variación de color del colorante después de un tratamiento térmico, se procedió a medir la coloración de diferentes muestras de alimentos coloreados con el mismo colorante. Se midió en 3 diferentes productos, agua (A), yoghurt (Y), y una preparación de gelatina (G), la coloración a 5 diferentes concentraciones del colorante.

3.1.5 Implementación de los tratamientos térmicos. Para realizar los tratamientos térmicos se utilizó el jugo de cranberry descongelado el cual había alcanzado la temperatura del ambiente. El jugo se distribuyó en frascos de vidrios resistentes a altas temperaturas, cada ensayo de un tratamiento térmico se conformó por 3 muestras de 20 ml aproximadamente.

Las termocuplas previo a los tratamientos térmicos, se calibraron con agua destilada a temperatura de ebullición a presión atmosférica del día y 0 °C con hielo. Ya calibradas las termocuplas, una se introduce en uno de los frascos para monitorear que la muestra llegue a la temperatura deseada y la otra termocupla queda dentro de la olla a presión para monitorear la temperatura del medio de calentamiento. Luego de llegar a la temperatura requerida para cada tratamiento se deja un lapso mínimo de tiempo, entre 5 a 10 segundos, y se cortó el suministro de calor y se enfrió hasta que llegara a la temperatura ambiente existente.

Este procedimiento se realizó para cada uno de los tratamientos requeridos en este estudio, para este procedimiento se utilizó: olla a presión, termocuplas tipo T, *Datalogger* modelo DigiSense® de 2 canales uno para el medio y el otro para monitorear la temperatura dentro del frasco con la muestra de jugo, como se muestra en la FIGURA 6.



FIGURA 6. Montaje para elaboración de ensayos de tratamientos térmicos.

3.2. Métodos de análisis

3.2.1 Condiciones de almacenamiento de las muestras tratadas. Para este experimento se fijó como condición de almacenamiento las siguientes características: luego de realizar el tratamiento térmico a cada muestra de jugo determinada para cada temperatura se almacenaron a una temperatura de refrigeración de 4 ± 1 °C durante el tiempo que duraron los mediciones de color, como también para la determinación de concentración de antocianos.

3.2.2 Determinación de concentración de antocianos por método de diferencial de pH. A pH 1,0 las antocianinas existen en la forma altamente coloreada y a pH 4,5 están predominantemente en forma incolora. Una alícuota de una solución acuosa de antocianinas es ajustada a pH 1,0 y otra a pH 4,5. La diferencia en la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción es proporcional al contenido de antocianinas (WROLSTAD, 1976).

3.2.3 Determinación de concentración de antocianos en las muestras tratadas térmicamente. Se determinó el contenido de antocianinas en las muestras de colorante tratadas térmicamente a través de la medición de la absorbancia a dos distintos pH, por lo que el colorante fue diluido con buffer. La dilución debe ser tal que la muestra a pH 1,0 tenga una absorbancia menor a 1,0 y preferentemente en el rango de 0,4 a 0,6. El factor de dilución fue el mismo para ambas muestras (pH 1,0 y 4,5). Las muestras diluidas al no estar claras se procedió a centrifugarlas, para así eliminar cualquier sedimento existente. Una vez diluidas las muestras se midió la absorbancia (pH 4,5 y pH 1,0) a la longitud de onda de máxima absorción $\lambda_{m\acute{a}x}$ situada generalmente entre 510 y 540 nm, la cual se determinó haciendo un rastreo en un intervalo de longitud de onda desde 400 a 600 nm.

La determinación del contenido de antocianinas se basó en la Ley de Lambert-Beer:

$$A = \varepsilon \cdot C \cdot L$$

siendo ε la absorbancia molar, una constante física para especies moleculares en un solvente a una determinada longitud de onda. Se pueden utilizar los valores de absorbancia molar para pigmentos purificados tomados de la literatura, haciendo innecesario determinarlos. La absorbancia molar también se conoce como coeficiente de extinción molar. C es la concentración molar, A corresponde a la absorbancia de la muestra, y al reestructurar la ecuación de Lambert-Beer se tiene

$$C = \frac{A}{\varepsilon \cdot L}$$

L es la longitud de recorrido en cm equivalente al ancho de las cubetas para espectrofotómetro. La concentración en mg/l puede ser determinada multiplicando por el peso molecular (MW) del pigmento.

$$C_{(mg/l)} = \frac{A}{\varepsilon \cdot L} \cdot MW \cdot 10^3$$

Los pesos moleculares y la absorbancia molar de gran parte de las antocianinas puras se presentan en la literatura, en este caso se utilizan aquellos correspondientes al pigmento antociánico presente en mayor proporción en el jugo de cranberry que corresponde a cianidina-3-galactosida de peso molecular (MW) 449,2 y coeficiente de extinción molar (ε) de 46230 (WROLSTAD y GUISTI 2001).

La concentración de antocianos se determinó a partir de la diferencia de los valores de absorbancia medidos a pH 1,0 y 4,5 luego de una corrección de la absorbancia básica a 700 nm, según la siguiente ecuación:

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

Debería enfatizarse que el método basado en el diferencial de pH es una medida de las antocianinas monoméricas y los resultados pueden parecer no relacionados con la intensidad de color de las muestras de jugo de cranberry juzgado visualmente. Esto se debe a que las antocianinas poliméricas y los pigmentos pardos que surgen del pardeamiento enzimático, como del no enzimático (caramelización de azúcares) y de la degradación de las mismas antocianinas también contribuyen a la intensidad del color. En productos donde ha ocurrido pardeamiento y degradación de antocianinas, debería obtenerse una mejor correlación con la intensidad del color, pero no sería una medición precisa del contenido de antocianinas, *per se*.

3.2.4 Determinación de color con sistema CIE XYZ. Al utilizar el colorímetro triestímulo LANGE se obtuvieron datos de los tres filtros X, Y, Z los cuales al graficarlos entregan como resultado una plano tridimensional. Sin embargo, se puede hacer también una representación bidimensional al utilizar las siguientes ecuaciones para así graficar en X e Y.

$$\hat{X} = \frac{X}{(\bar{X} + \bar{Y} + \bar{Z})} \qquad \hat{Y} = \frac{Y}{(\bar{X} + \bar{Y} + \bar{Z})}$$

siendo el numerador el valor obtenido por la medición en el colorímetro con el filtro correspondiente (X, Y), y el denominador la suma del promedio de los tres filtros del colorímetro.

3.2.5 Mediciones de color en las muestras. Se utilizó el colorímetro LANGE para determinar el color en las muestras de soluciones acuosas del colorante como también de alimentos coloreados con el concentrado de jugo de cranberry ya sometido al tratamiento térmico. Con el colorímetro para líquidos se analizaron 5 concentraciones de colorante en solución con agua destilada; estas concentraciones fluctuaban entre 1,25 % y 20 % de colorante en la solución. Cada muestra se midió 3 veces para así obtener un promedio de lecturas, esto se repitió para cada filtro del colorímetro. Con el colorímetro para sólidos se analizaron las mismas concentraciones del colorante en yoghurt, de manera similar al procedimiento descrito en el párrafo anterior con el colorímetro para líquidos. El análisis de color que el colorante imparte a la gelatina fue realizado en forma visual, por un método comparativo, tomando como base la escala de las mediciones con el colorímetro para líquidos de las soluciones acuosas del jugo concentrado usado como colorante.

3.3 Análisis de datos. El efecto de los tratamientos térmicos sobre el jugo concentrado de cranberry se analizó mediante el Software Statgraphics 5.1. para determinar si existe diferencia significativa entre los tratamientos térmicos, y ver la correlación entre los tratamientos térmicos y su degradación, en función de su contenido de antocianos como también en función del color.

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En una primera etapa de los experimentos realizados con un colorante antociánico obtenido a partir de un proceso de nanofiltración de un jugo de cranberry, se sometió el colorante a distintos tratamientos térmicos para conocer la cinética de degradación de los antocianos presentes, como también para averiguar el efecto de estos tratamientos sobre la estabilidad en el tiempo del mismo colorante. En una segunda etapa se utilizó el colorante tratado térmicamente para colorear algunos productos alimenticios, y luego observar y evaluar el potencial de tinción.

En la primera etapa se realizaron 11 tratamientos en un rango de temperatura entre 70 °C y 120 °C, y en los tratamientos térmicos superiores a 95 °C se observó la aparición de partículas sólidas, que sedimentan, por lo cual se procedió a realizar un centrifugado de las muestras antes de los análisis de antocianos y la medición de color.

En la segunda etapa se utilizaron las muestras tratadas del colorante en agua y alimentos con diferentes pH para ensayos de tinción; en el yoghurt como un alimento de pH ácido y en la gelatina era posible observar el efecto de la coloración, pero en leche con un pH alrededor de 6,8 ocurrió una coagulación de la caseína con concentraciones del colorante a 20 %, 10 % y 5 %, lo que indica la naturaleza ácida del mismo colorante, en consecuencia se debe descartar el uso del colorante en productos con características similares a las de la leche.

4.1 Obtención y caracterización de la materia prima

4.1.1 Elaboración del jugo concentrado de cranberry por nanofiltración.

Para obtener las muestras de este estudio se tomó como base el producto de una nanofiltración del jugo de cranberry con el equipo de membranas planas *DDS Lab* (module 20-0, 36 Lab), montado con 20 membranas planas HC-50P *DDS Filtration* para nanofiltración. A través de este proceso, fue posible recuperar en el concentrado una cantidad mayor que 93 % de los pigmentos antociánicos presentes en el jugo de cranberry utilizado como alimentación (POO, 2005).

Las condiciones de proceso, tales como fueron determinadas por POO (2005), para obtener flujos de permeado relativamente altos son presiones de filtración entre 30 y 40 bar y flujos volumétricos de alimentación del jugo de cranberry entre 6 y 12 L/min. Sin embargo, se ha encontrado también que el proceso de filtración es limitado por la excesiva formación de espuma que se produce bajo condiciones de operación de 40 bar y 12 L/min, por lo que se recomienda operar una presión de filtración y flujo de alimentación < 40 bar y < 12 L/min respectivamente.

4.1.2 Caracterización del jugo de cranberry concentrado por nanofiltración.

El jugo que se utilizó en este estudio era jugo concentrado por medio de nanofiltración hasta recuperar un 93% de las antocianinas totales; en este concentrado la cantidad de antocianos varía entre 230 a 290 mg/L. En el CUADRO 1 se muestran la caracterización del jugo concentrado obtenido a través del proceso de nanofiltración realizado por POO (2005), el cual fue utilizado para los ensayos de este estudio.

CUADRO 1. Caracterización del jugo concentrado de cranberry por nanofiltración.

pH	2,6
Sólidos Solubles	29,0 ± 0,3 °Brix
Acidez titulable (% ácido cítrico)	4,9 ± 0,3 %
Densidad	1,06 ± 0,03 (g/ml)
Contenido de antocianos totales	263 ± 16 (mg/L)

El problema que se presentó con el jugo de cranberry concentrado fue la manipulación a nivel de laboratorio por el alto contenido de pigmentos como también de sólidos solubles, específicamente los azúcares. También al someter el jugo concentrado a los tratamientos térmicos, la alta concentración de azúcares interfiere en el color propio del jugo de cranberry, debido a la formación de productos de caramelización, por lo tanto, se sometió el jugo concentrado a una dilución con agua destilada hasta 12 °Brix aproximadamente previa a los tratamientos térmicos, para reducir el efecto de los productos pardos de la caramelización de azúcares.

4.2 Tratamientos térmicos de jugo de cranberry concentrado por nanofiltración

BADUI (1999) reafirma que los tratamientos térmicos influyen de manera significativa en la destrucción de los antocianos, es así como se ha visto que en las fresas se presenta una relación logarítmica entre la pérdida de color y la temperatura. También en este estudio, se observó un cambio de coloración de las muestras por la destrucción de los colorantes antociánicos, la cual se ha intentado cuantificar.

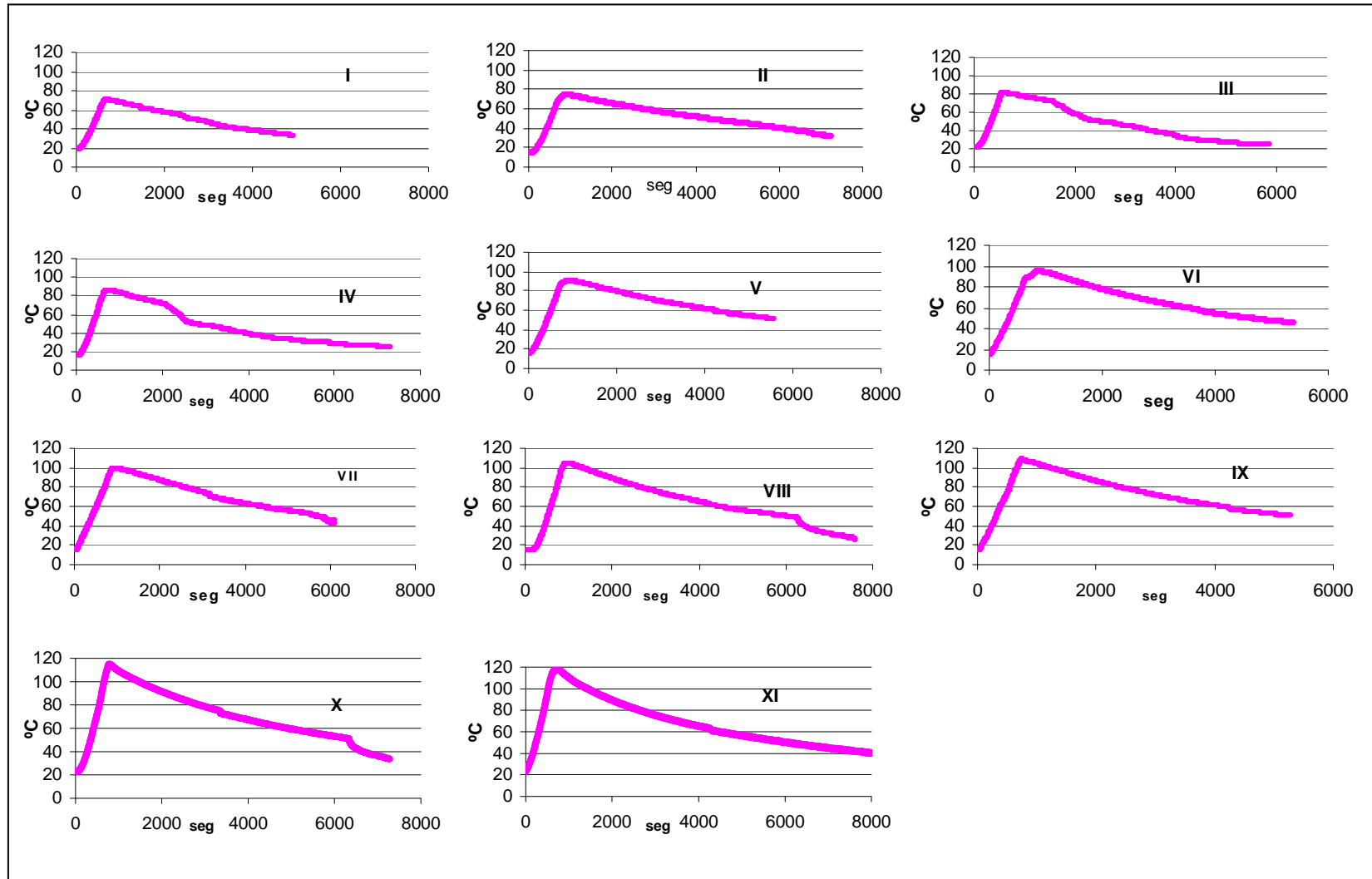


FIGURA 7. Curvas de calentamiento-enfriamiento de los tratamientos térmicos.

4.2.1 Variación de temperatura en los tratamientos térmicos. En la FIGURA 7 se muestran los 11 tratamientos térmicos, a los cuales fueron sometidas las muestras del jugo de cranberry. Las muestras se calentaron hasta llegar a una temperatura máxima correspondiente a un valor entre 70 °C y 120 °C para cada tratamiento térmico, para luego suspender el calentamiento y dar paso al enfriamiento de los frascos de las muestras bajo condiciones de convección natural. Se obtuvieron las curvas de calentamiento-enfriamiento para cada tratamiento térmico al registrar con un *Datalogger* la temperatura del medio de calentamiento y de las muestras en función del tiempo.

4.2.2 Energía equivalente. Para averiguar el efecto de la energía térmica sobre la estabilidad y calidad del colorante del jugo de cranberry, se consideró apropiado utilizar un parámetro, que cuantifica el efecto térmico en su conjunto; este parámetro fue denominado “energía equivalente” y se calcula como la cantidad de energía absorbida durante el tratamiento térmico por las muestras, las cuales poseen un volumen constante de 20 mL. Por ello se utilizaron las variaciones de temperatura dentro de los frascos en función del tiempo, ya que se acercan más a las condiciones térmicas a las que se sometieron las muestras de jugo. Para el cálculo de la energía equivalente se consideran constantes el calor específico y la masa del jugo de cranberry, lo que permite utilizar el producto de temperatura y tiempo para cuantificar el valor de energía absorbida por las muestras en cada tratamiento térmico. Se utiliza como temperatura de referencia 60 °C, ya que a esta temperatura el jugo de cranberry no presenta cambios o daños estructurales relevantes, por lo cual la curva de calentamiento-enfriamiento se inicia y termina con 60 °C alcanzando en el proceso la temperatura máxima de cada tratamiento.

Se considera que en cada segundo que transcurre del tratamiento térmico la masa del colorante absorbe una cantidad específica de energía (ΔE) que es igual al producto de la masa (m) por el calor específico (C_p) y por el tiempo que demora el efecto térmico (Δt), siendo ΔT el cambio de temperatura por segundo

durante el tratamiento térmico. Luego de tener una curva de calentamiento-enfriamiento se suman todos los ΔE para determinar la cantidad de energía absorbida durante el ensayo. Para obtener la energía en Joules se multiplica la masa por el C_p por el área bajo la curva y después dividir por el tiempo. El área bajo la curva de calentamiento-enfriamiento es igual al producto de temperatura y tiempo, lo que es también proporcional a la energía absorbida durante el proceso, por tanto es utilizado para representar la energía equivalente.

En la FIGURA 7 se puede apreciar también que en cada ensayo térmico la energía absorbida por las muestras es de distintas magnitudes, lo que permite evaluar el efecto térmico sobre el colorante en función de grado de calentamiento. Se determinó así, que al realizar el tratamiento térmico hasta una temperatura máxima alrededor de 70 °C, se necesita de un valor del producto de temperatura y tiempo de 5304 K s para representar la energía equivalente, mientras que para realizar un tratamiento térmico de 120 °C en las mismas condiciones se necesita aproximadamente 103368 K s.

4.3 Efecto de los tratamientos térmicos sobre los antocianos en el jugo de cranberry concentrado por nanofiltración

Para la cuantificación del efecto de los tratamientos térmicos sobre los antocianos en el jugo de cranberry concentrado por nanofiltración se determinó primero el espectro de absorbancia en un rango de longitud de onda entre 350 nm y 700 nm, lo que permite definir posteriormente la condición de análisis para determinar el contenido de antocianos, el cual fue luego utilizado para obtener los parámetros cinéticos de degradación de dichos pigmentos.

4.3.1 Parámetros para la determinación del contenido de antocianos. En los ensayos experimentales se determinó en un barrido en función de la longitud de onda el espectro de absorbancia que presentan las muestras. Las mediciones arrojaron como resultado un máximo de absorbancia en 520 nm en

todos los casos, incluyendo el jugo concentrado no tratado térmicamente, como se muestra en la FIGURA 8. Esta absorción corresponde a la cianidina-3-galactosida, una de los seis antocianos presentes en el cranberry ocupando un porcentaje de 46 % (WIGHTMAN y WROLSTAD, 1995). Por lo tanto, se calculó la concentración de antocianos como cianidina-3-galactosida de peso molecular 449,2 g/mol y coeficiente de extinción molar, ϵ , de 46230 (WROLSTAD y GUISTI, 2001). Por otra parte, los análisis de HONG Y WROLSTAD (1990) con el HPLC demostraron que en el jugo de cranberry la cianidina-3-galactosida ocupa sólo el 33% del total de los antocianos, y tiene una máxima de absorbancia en 520 nm.

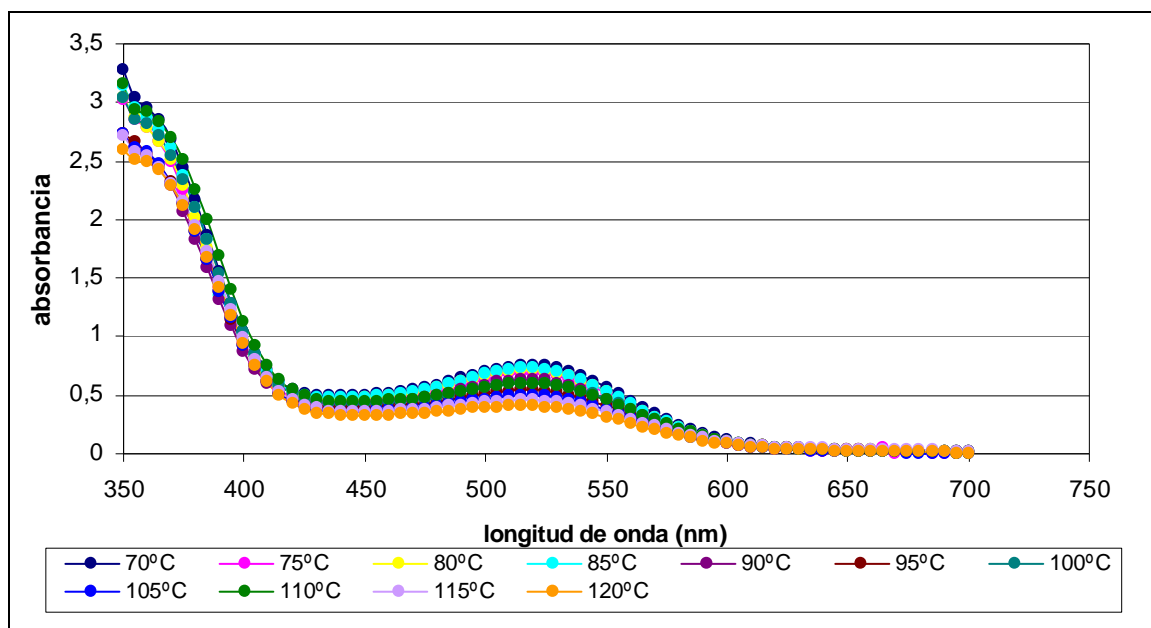


FIGURA 8. Espectro de absorción para el jugo de cranberry en los tratamientos térmicos.

Al comparar la absorbancia máxima que se obtiene en este experimento con la mostrada por BADUI (1999) en el jugo de uva sometido a diferentes temperaturas, se obtiene la misma como se puede apreciar en la FIGURA 9; esto indica que la uva tiene las mismas antocianidinas que el cranberry, ya

que para el género *vitis* que corresponde a las bayas de uvas tintas para elaboración de vinos las antocianidinas presentes son la cianidina, la peonidina, la petunidina, la delphinidina y la malvidina (VALLS et al., 2000) y en el cranberry están presentes la cianidina y peonidina (WROLSTAD, 2004).

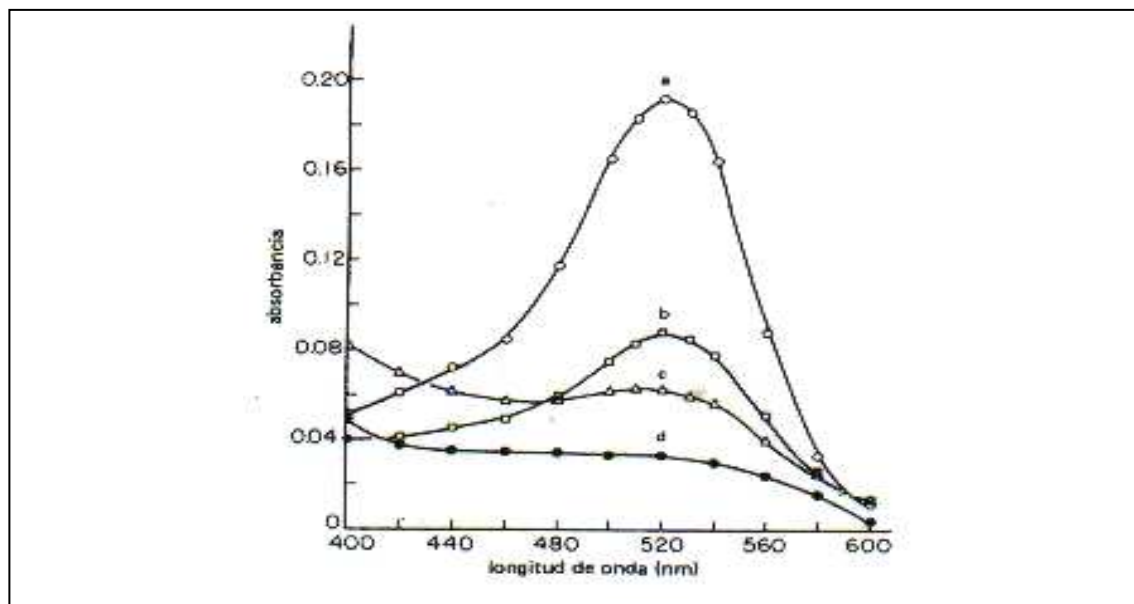


FIGURA 9. Degradación de los antocianos del jugo de uva durante almacenamiento: (a) control; (b) calentado a 99 °C por 1 hora; (c) calentado a 99°C por 2 horas, y (d) jugo de uva comercial.

FUENTE: BADUI (1999)

Se puede observar en la FIGURA 10 que está presente el espectro de absorción de los antocianos de cerezas extraídos por medio de la mezcla de acetona y cloroformo, dando como absorbancia máxima un valor de 511 nm, destacándose la cianidina como la antocianidina presente en este tipo de cereza (CEDILLO- LOPEZ et al., 2005); para realizar los cálculos de la cantidad de antocianos totales presentes en la cereza, utilizaron el peso molecular y el coeficiente de extinción molar de la cianidina-3-glucósido.

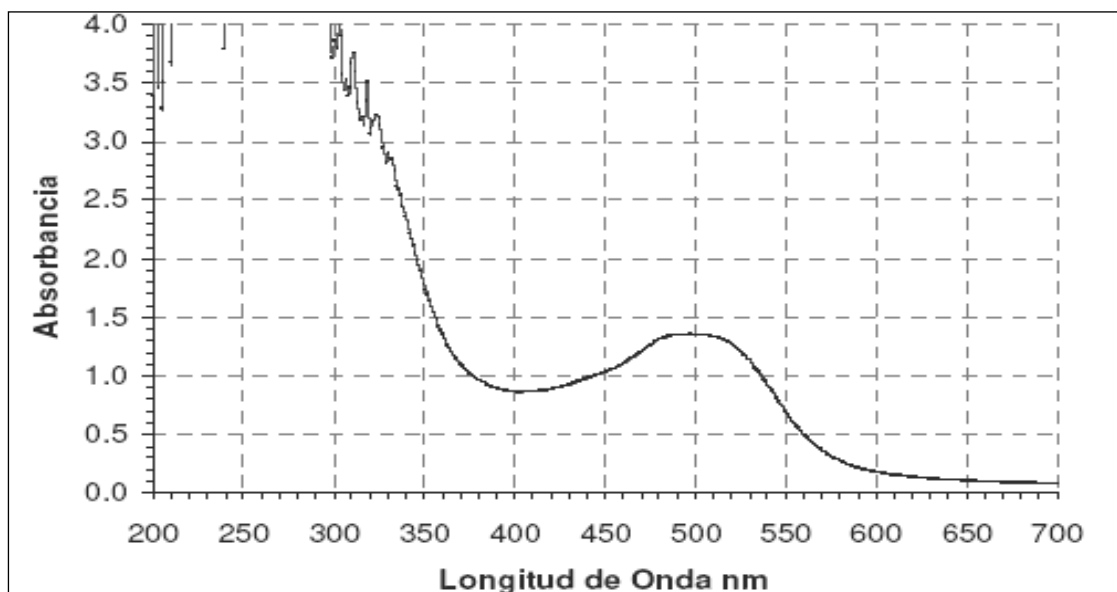


FIGURA 10. Espectro de absorción del extracto de fruto con acetona y cloroformo.

FUENTE: CEDILLO-LOPEZ et al., 2005

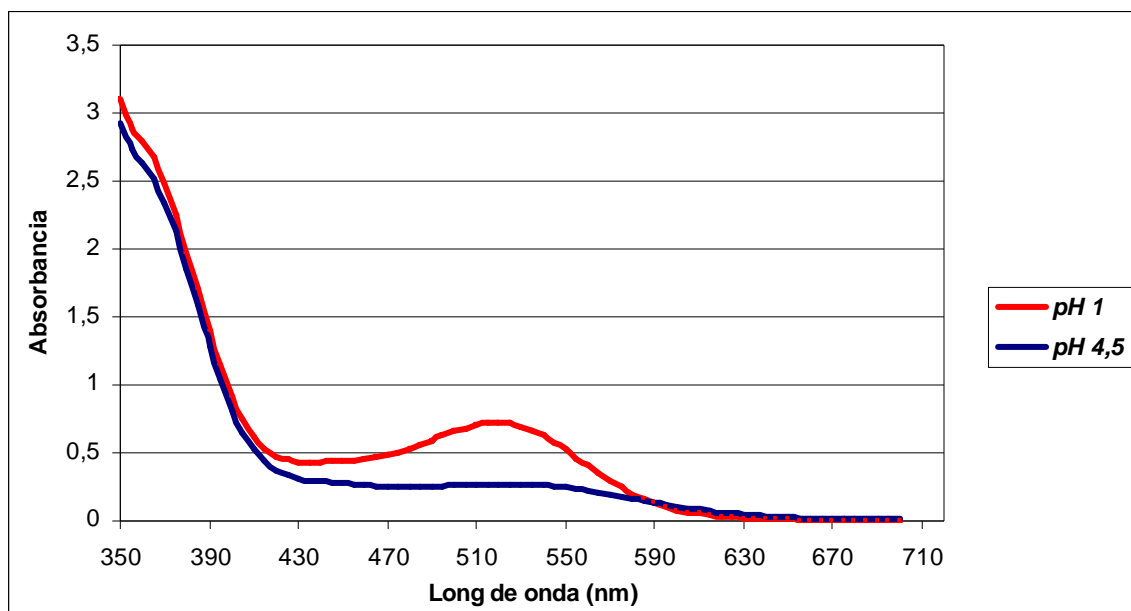


FIGURA 11. Espectro de absorbancia para el jugo de cranberry no tratado térmicamente a dos distintos valores de pH.

En la FIGURA 11 se ilustra las mediciones de absorbancia de una muestra del jugo nanofiltrado de cranberry no tratado térmicamente a dos distintos valores de pH. Se observa un cambio en el espectro de absorción de los antocianos con el pH, el cual además es proporcional al contenido de antocianos, lo que permite determinar según WROLSTAD (1976) de forma rápida el contenido de estos pigmentos en una muestra.

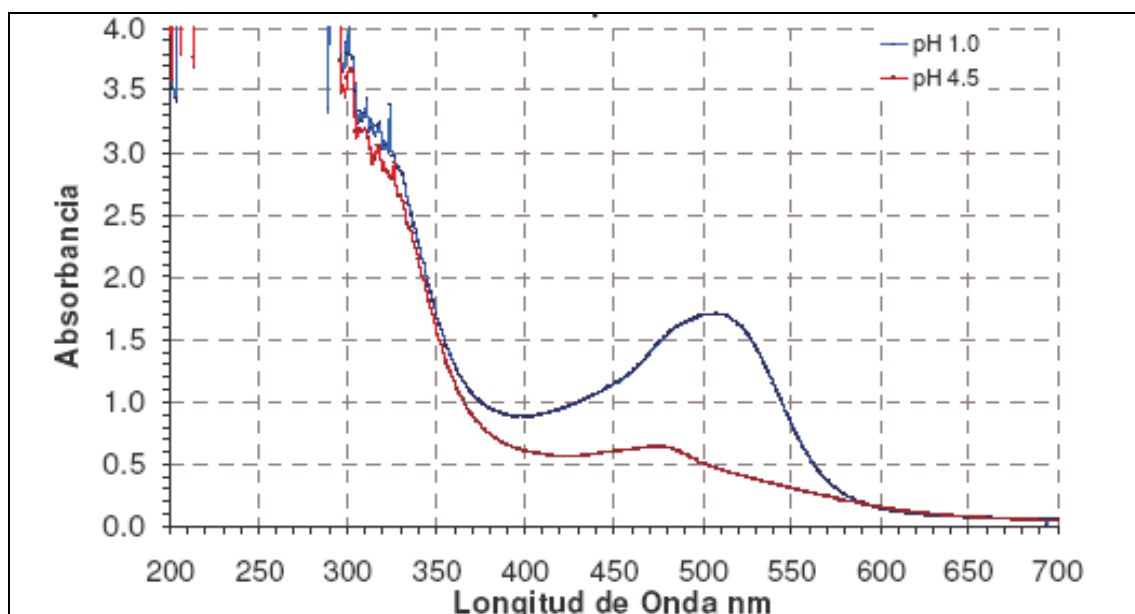


FIGURA 12. Espectro de absorción de antocianos de la cereza.

FUENTE: CEDILLO-LÓPEZ et al. (2005)

Al comparar el comportamiento de los antocianos frente a los diferentes pH de las muestras de jugo de cranberry de este estudio con lo que indica CEDILLO-LOPEZ et al. (2005) referente a las cerezas chilenas, *Prunus avium*, var. Sweetheart, los antocianos se comportan similar a los del jugo de cranberry, tal como se puede observar también en la FIGURA 12. En cambio el comportamiento de los antocianos del rábano como muestra la FIGURA 13, en el cual prevalece la pelargonidina, es distinto, ya que la pelargonidina es una antocianidina que no está presente en el cranberry.

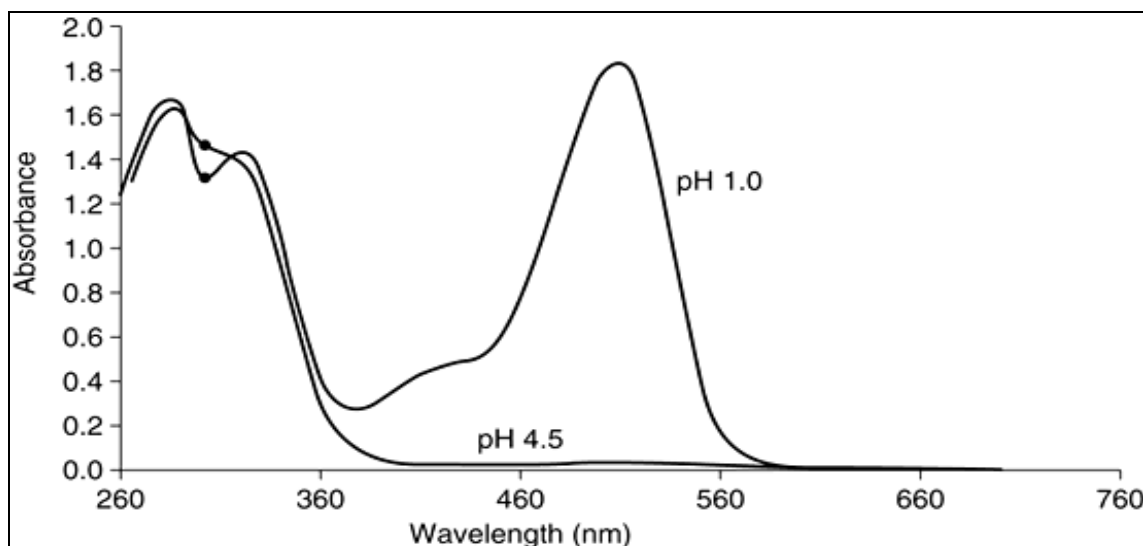


FIGURA 13. Espectro de absorción de antocianos del rábano.

FUENTE: WROLSTAD Y GUISTI (2001)

4.3.2 Variación del contenido de antocianos durante los tratamientos térmicos. En la FIGURA 14 al igual que en la FIGURA 8 se observa la disminución del contenido de antocianos totales después de cada tratamiento térmico. A partir de 90 °C se nota una pérdida de antocianos más acentuada, lo que indica que la estabilidad de los pigmentos es afectada por las temperaturas altas. En el rango de temperatura entre 70 y 85 °C la variación en la cantidad de antocianos no es significativa; existe un porcentaje que pigmentos de alrededor de 98 % que se mantiene estables después de someterlos al calentamiento en este rango de temperatura. Esto indica que los pigmentos que posee el jugo de cranberry concentrado por nanofiltración son estables en presencia de temperaturas no superiores a 85 °C.

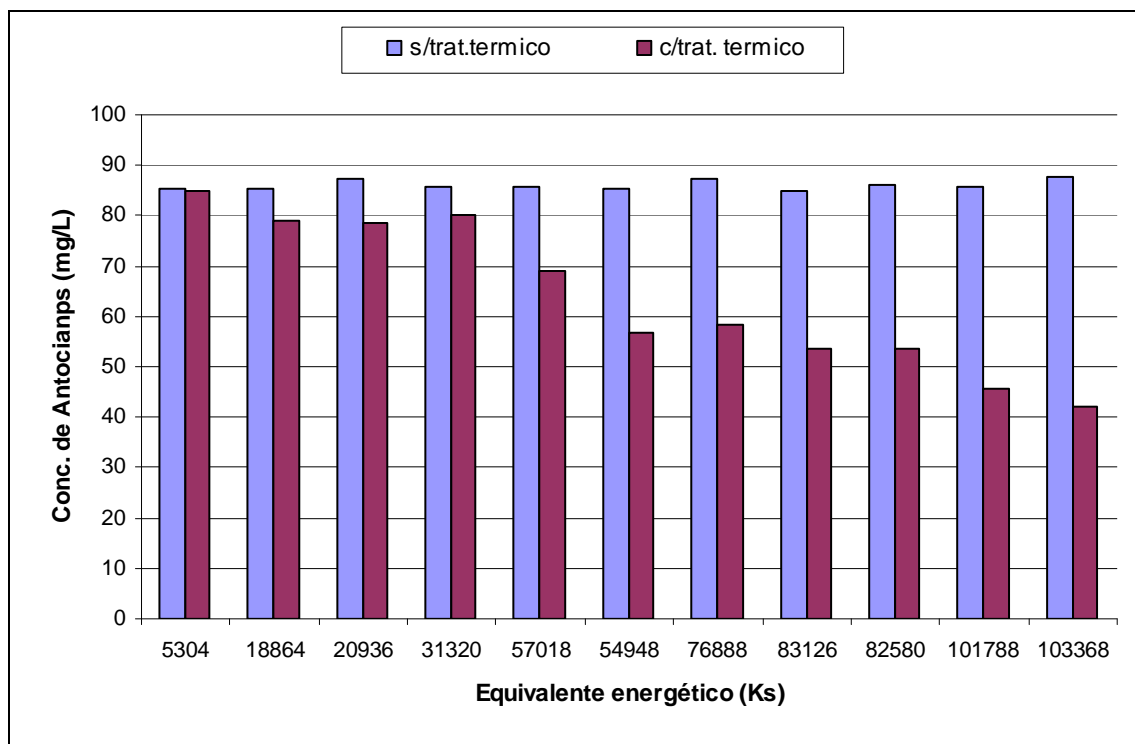


FIGURA 14. Concentración de antocianos antes y después de cada tratamiento térmico en función del equivalente energético.

4.3.3 Parámetros cinéticos en la degradación de los antocianos del jugo de cranberry durante los tratamientos térmicos. La mayoría de las reacciones de degradación, en que se ven involucrados los alimentos en la industria, son de primer orden, lo que significa que la velocidad de reacción depende de la concentración del reactante. En los ensayos realizados en este estudio se determinó la cinética de degradación de los antocianos presentes en el jugo de cranberry concentrado por nanofiltración, para conocer el comportamiento durante el tratamiento y el almacenamiento. En el siguiente CUADRO 2 se presentan los valores de estos parámetros calculados en ANEXO 1 para la degradación térmica del jugo de cranberry concentrado por nanofiltración.

CUADRO 2. Tabla de valores k , D , z , E_a y Q_{10} de los tratamientos térmicos.

Tratamiento térmico	D min	k s^{-1}	z K	E_a J/kmol K	Q_{10}
(I) 70°C	7265	$3,1698 \cdot 10^{-4}$	28,390	51,216	1,012
(II) 75°C	4843	$4,7551 \cdot 10^{-4}$	40,029	41,513	1,008
(III) 80°C	3633	$6,3396 \cdot 10^{-4}$	51,585	36,508	1,006
(IV) 85°C	2906	$7,9249 \cdot 10^{-4}$	63,160	33,545	1,005
(V) 90°C	2422	$9,5095 \cdot 10^{-4}$	89,338	26,506	1,004
(VI) 95°C	765	$3,0114 \cdot 10^{-3}$	224,411	11,724	1,001
(VII) 100 °C	727	$3,1699 \cdot 10^{-3}$	236,019	12,321	1,001
(VIII) 105°C	692	$3,3284 \cdot 10^{-3}$	247,437	12,928	1,001
(IX) 110°C	660	$3,4869 \cdot 10^{-3}$	259,054	13,524	1,001
(X) 115°C	632	$3,6453 \cdot 10^{-3}$	270,462	14,131	1,001
(XI) 120°C	605	$3,8039 \cdot 10^{-3}$	286,522	14,499	1,001

4.3.3.1 Valor D . Es un parámetro cinético, que corresponde al tiempo que se necesita para una reducción decimal de una concentración inicial de una sustancia o un reactante a una temperatura constante. En este trabajo, este valor fue calculado por medio de los datos de mediciones de concentración de antocianos en función del tiempo equivalente para cada temperatura de tratamiento. El tiempo equivalente se obtuvo a partir del equivalente energético. Para poder comparar los valores de concentraciones de cada tratamiento se determinó la degradación relativa de los antocianos, calculando la diferencia de concentración al final de cada tratamiento con respecto a la diferencia de concentración inicial. El gráfico de la degradación relativa de antocianos en

función del tiempo equivalente permite obtener el valor D , presentados en el CUADRO 2. En el rango de los tratamientos de 70 °C hasta 90 °C se calculó valores D altos, pero que van descendiendo a medida que aumenta la temperatura, lo que significa que existe una lenta degradación de los antocianos. Llegando a los 95 °C el valor D ha disminuido considerablemente, pero se mantiene la misma tendencia hasta los 120 °C, lo que nos indica que la degradación de los antocianos es más rápida que en el rango anterior de temperatura. Este comportamiento puede observarse en la FIGURA 15.

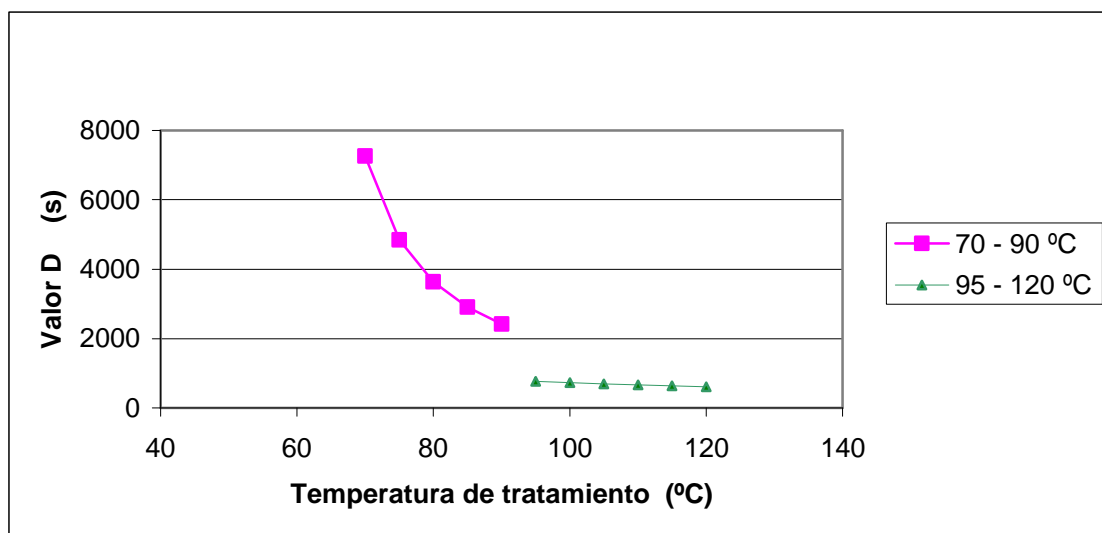


FIGURA 15. Valor D en función de los tratamientos térmicos.

4.3.3.2 Constante de velocidad de reacción. Esta constante, denominada k , representa la proporcionalidad entre la velocidad de reacción y la concentración del reactante, la cual en este estudio es la concentración de antocianos totales en el colorante de jugo de cranberry. Por medio de la energía equivalente de los tratamientos térmicos se obtuvo la velocidad de degradación durante el tratamiento térmico del jugo de cranberry, que se utilizó como colorante en el presente estudio. Los datos obtenidos se presentan en el CUADRO 2. De forma general la velocidad de degradación de los antocianos presentes en el jugo varía en función de la temperatura. En el rango de temperatura entre 70 y 90 °C

el aumento de la velocidad de degradación es prácticamente igual que en el rango de temperatura entre 95 y 120 °C, tal como se ilustra en el ANEXO 1, pero en el rango de mayor temperatura la velocidad de reacción es casi diez veces más rápida, lo que indica que los antocianos presentes en el jugo de cranberry son más sensibles a temperaturas sobre 90 °C.

4.3.3.3 Valor z. Este valor representa la dependencia de las reacciones degradativas con la temperatura que ocurren en los alimentos durante el almacenamiento. En este estudio se determinó el valor z para la degradación de los antocianos. Es el intervalo de temperatura, en el cual el valor D varía un ciclo logarítmico. Se calcula en función de la constante de velocidad de reacción y la temperatura correspondiente a esa constante, como se muestra en el ANEXO 1. El valor z se relaciona directamente con la degradación de color en función de la temperatura; sobre los 90 °C se presenta un cambio en el comportamiento de la degradación que lo prosigue una tendencia constante hasta llegar a los 120 °C. Esto confirma, que la reacción de degradación que presentan los antocianos presentes en el jugo de cranberry concentrado por nanofiltración, es significativa en temperaturas superiores a los 90 °C.

El aumento abrupto del valor z sobre los 90 °C confirmó que el comportamiento de degradación cambia a esa temperatura de tratamiento térmico. Desde 95 °C hasta los 120 °C el cambio del valor z es menos pronunciado que entre el rango de temperatura entre 70 y 90 °C, lo que significa que la variación en el valor D también es menos sensible al cambio de temperatura en la zona sobre 90 °C, por lo tanto, la degradación de los antocianos es casi de la misma magnitud.

4.3.3.4 Energía de activación. Este parámetro se calculó con la ecuación de Arrhenius, la cual indica un aumento de la constante de velocidad de reacción con el incremento de la temperatura. La energía de activación, E_a , indica la

variación de la velocidad de las reacciones en el alimento, mientras más grande más rápido es el cambio en la estructura del alimento.

Los datos calculados que se muestran en el CUADRO 2 indican que entre 70 °C y 95 °C la energía de activación disminuye a medida que se aumenta la temperatura del tratamiento térmico; sobre los 95 °C se presenta un quiebre en el comportamiento, ya que a partir de esta temperatura hasta 120 °C se distingue un leve aumento de la E_a . Por lo tanto, se observa que sobre 90 °C la reacción de degradación es más rápida, necesitando de una menor cantidad de energía para iniciarse.

4.3.3.5 Valor Q_{10} . Se define como el número de veces que la velocidad de una reacción cambia con una variación de la temperatura de 10 °C. El resultado que arrojó este estudio indica que es bajo en comparación con los resultados frecuentes de estas degradaciones en alimentos, el cual se encuentra con un valor del Q_{10} alrededor de 2. El promedio de los ensayos en este estudio muestra un valor Q_{10} de 1,007; esto indica que la degradación de los antocianos del jugo de cranberry es levemente afectada al aumentar la temperatura en 10 °C. Se requiere un mayor aumento de temperatura por elevar notablemente la velocidad de degradación de los pigmentos antociánicos del jugo nanofiltrado de cranberry, tal como se puede constatar con los valores calculados de z .

4.4 Degradación de los antocianos de jugo de cranberry concentrado por nanofiltración tratado térmicamente durante el almacenamiento

Los resultados obtenidos de la concentración de antocianos en función del tiempo de almacenamiento se pueden observar en la FIGURA 16. Se presenta una pérdida del contenido de antocianos en el tiempo de almacenamiento determinado (aproximadamente 60 días). Al analizar estadísticamente los datos, previo a verificar que estos estuvieran normalizados, da como resultado que el tiempo en condiciones de almacenamiento afecta al contenido de

antocianos en el jugo sometido a los 11 diferentes tratamientos térmicos. Para saber que tratamientos eran similares se sometió a un análisis de contraste entre los 11 tratamientos, dando como resultado lo que se presenta en la ANEXO 2.

Parámetros cinéticos de degradación durante el almacenamiento. La degradación de antocianos está presente durante el almacenamiento del jugo de cranberry. El valor D obtenido a partir de las mediciones de concentración relativa de antocianos en función del tiempo de almacenamiento a una temperatura constante de 4 ± 1 °C es similar para todos los tratamientos térmicos; al analizar estadísticamente se comprueba que la diferencia entre los tratamientos no es significativa. La misma situación ocurre con el valor k, no existe diferencia significativa para los tratamientos térmicos. Existe degradación de pigmentos, pero el poder de tinción del jugo de cranberry no es afectado.

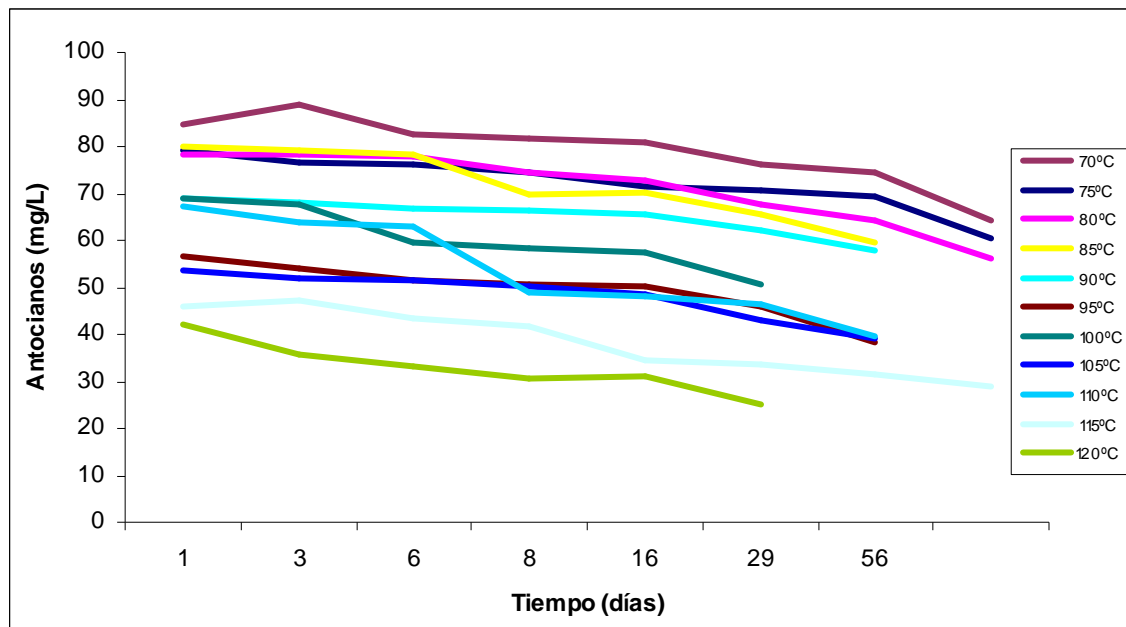


FIGURA 16. Concentración de antocianos de cada tratamiento en función del tiempo de almacenamiento refrigerado.

En la FIGURA 16 se puede observar que dependiendo de la temperatura del tratamiento térmico, al que se sometió el jugo de cranberry concentrado por nanofiltración, el porcentaje de antocianos disminuye en función del tiempo de almacenamiento, es decir, mientras más alta la temperatura mayor es la degradación que presentan los antocianos. Esto se debe a que la temperatura es un factor de inestabilidad de los antocianos.

En el FIGURA 17 se puede ver el porcentaje de reducción en el contenido de antocianos que representa cada tratamiento térmico en el jugo de cranberry durante el almacenamiento de 60 días a temperatura de 4 ± 1 °C. La reducción se comporta de forma lineal en la mayoría de los tratamientos térmicos, si hay variación significativa durante el almacenamiento, esto se puede deber a la temperatura de almacenamiento que es de refrigeración (4 °C aprox.), esto confirma que los antocianos se degradan durante el almacenamiento, aunque sea lentamente.

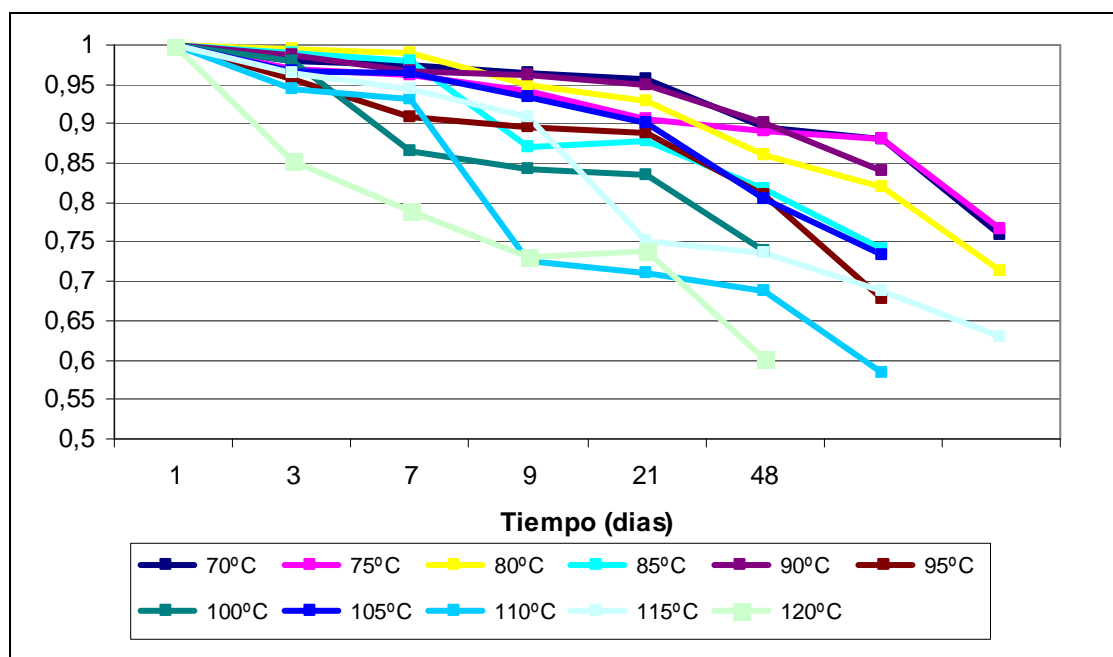


FIGURA 17. Reducción del contenido de antocianos en función del tiempo de almacenamiento.

La estabilidad de antocianos extraídos de diferentes frutas y flores como son la uva concord, rábano rojo, *tradescantia* y *ajuga* como se observa en la FIGURA 18 son estudiados por BAUBLIS et al. (1994); este estudio muestra la estabilidad de los extractos que son expuestos a la luz de lámparas fluorescentes a una temperatura de $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ presentando una mayor estabilidad el extracto de *tradescantia* en comparación con los demás extractos. La degradación del extracto de *tradescantia* es lineal similar a los resultados de este estudio, en cambio, la degradación de los otros extractos tiene tendencia exponencial. La tendencia lineal se puede deber a la presencia de copigmentos que ayudan la estabilidad de los antocianos. Al realizar un análisis de copigmentos se establece que la relación copigmento/pigmento es muy baja, lo que indica que la copigmentación intermolecular no ayuda a la estabilidad de los antocianos del extracto de *tradescantia* (BAUBLIS et al., 1994)

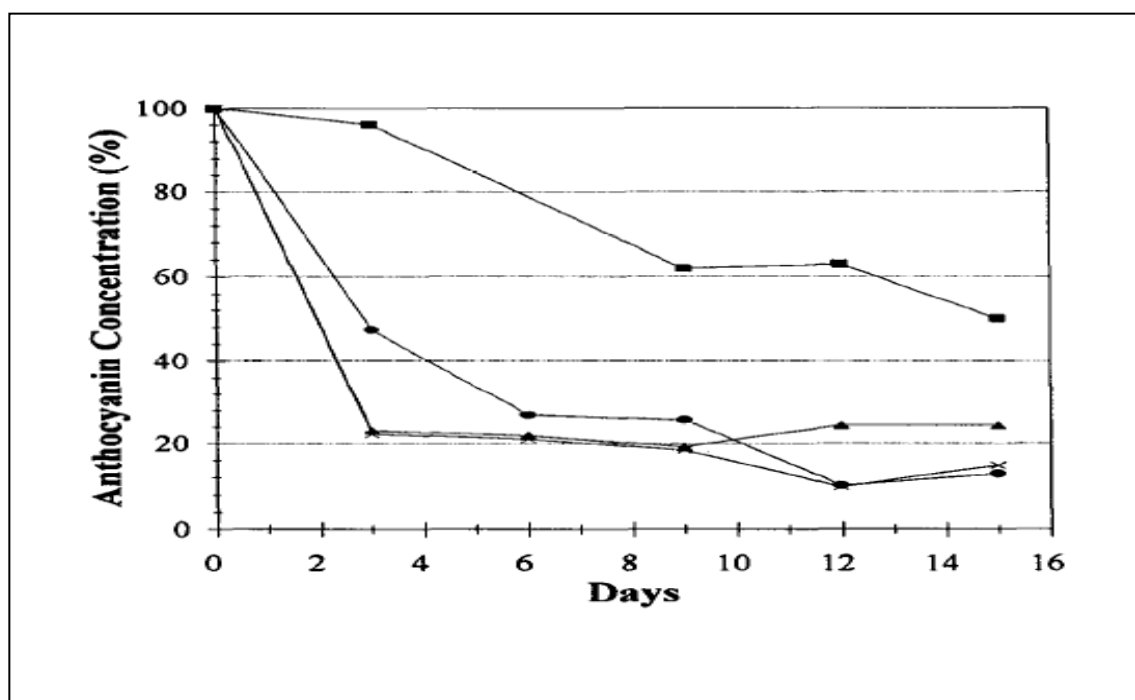


FIGURA 18. Degradación de extractos de antocianos de uva concord, ajuga, rábano rojo y tradescantia, durante 15 días.

FUENTE: BAUBLIS et al. (1994)

4.5 Efecto de los tratamientos térmicos sobre el color de jugo concentrado de cranberry por nanofiltración

Las mediciones del color se realizaron en 3 etapas distintas de almacenamiento; al momento de realizar el tratamiento térmico, a primer mes de almacenamiento y al segundo mes de almacenamiento. Este seguimiento se hizo para ver el efecto del tiempo de almacenamiento sobre el poder de tinción del jugo y su variación en el tiempo.

4.5.1 Resultado de mediciones de color instrumentales. En la FIGURA 19 se observan los datos del seguimiento de los 11 tratamientos térmicos durante el almacenamiento, cómo este afectó el color y la estabilidad en las diferentes concentraciones. La mayoría de los tratamientos térmicos siguieron el mismo comportamiento de degradación de la coloración durante el tiempo de almacenamiento.

El análisis estadístico de cada tratamiento térmico por separado comprobó que el tiempo de almacenamiento no afecta el poder de tinción del jugo de cranberry; el color obtenido se mantiene en el tiempo de almacenamiento, la calidad de tinción de los antocianos es buena. En el ANEXO 3 está el análisis estadístico realizado a cada tratamiento térmico en función del color.

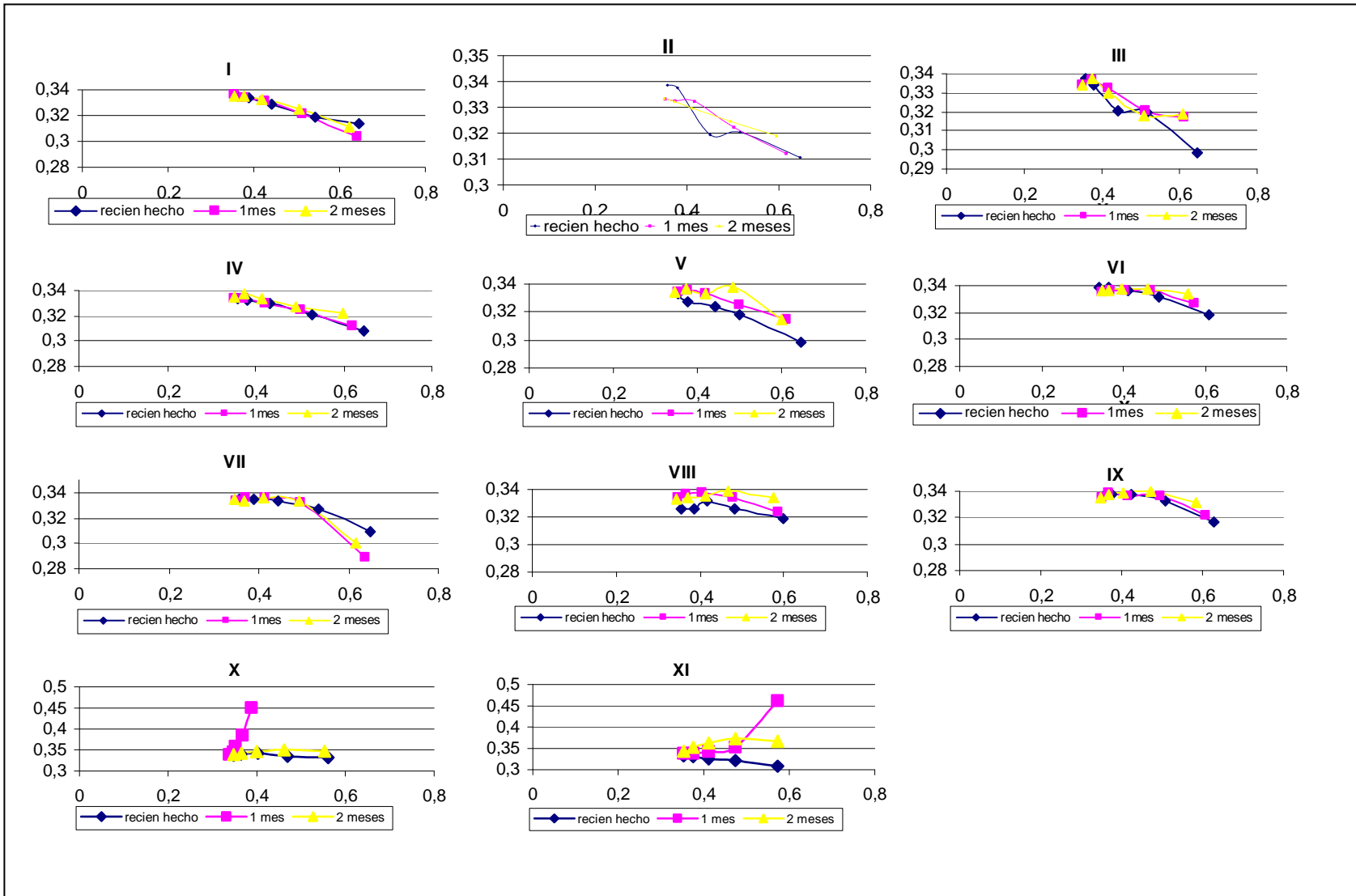


FIGURA 19. Medición de color de los 11 tratamientos térmicos durante el almacenamiento.

4.5.2 Degradación del color. En esta parte del estudio se determinó la degradación de color en función del tiempo de almacenamiento para cada tratamiento térmico a sus diferentes concentraciones. Se realizó un análisis estadístico de dependencia para ver la relación del tratamiento térmico con el color obtenido en las mediciones con el colorímetro LANGE con un intervalo de 95 % de confianza dando como resultado que no hay dependencia entre el tratamiento térmico y el color obtenido (ver ANEXO 3). El color no es afectado por el tiempo, se mantiene constante, si existe una variación no es significativa.

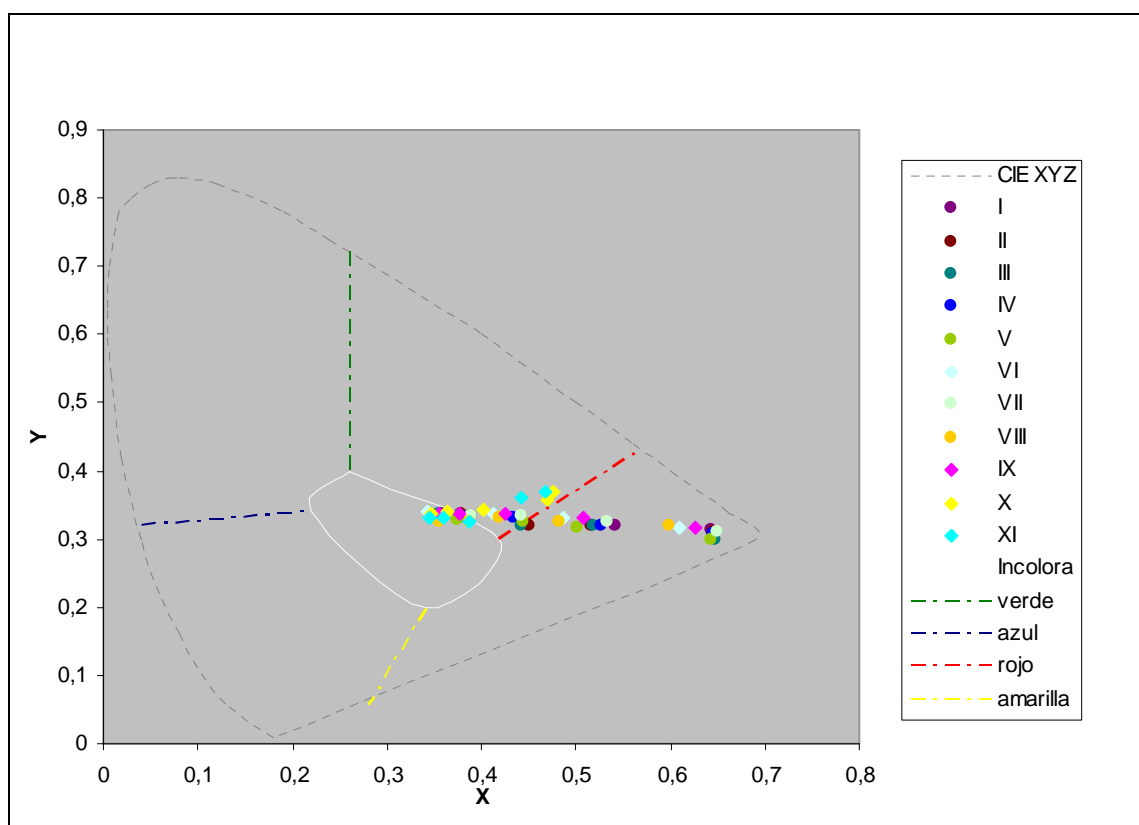


FIGURA 20. Medición de color en el primer día de almacenamiento de los tratamientos térmicos.(I:70°C, II:75°C, III:80°C, IV:85°C, V:90°C, VI:95°C, VII:100°C, VIII: 105°C, IX:110°C, X:115°C, XI:120°C).

Se puede observar en la FIGURA 20 que los datos obtenidos de las mediciones de color a las 5 diferentes concentraciones se encuentran en el área del rojo-anaranjado; esto confirma que presenta la misma tonalidad y brillo o saturación en la mayoría de los tratamientos térmicos. Los tratamientos X y XI tienden hacia el área anaranjado-amarillo ya que representan las temperaturas máximas que abarcan el rango de 115 °C a 120 °C; alrededor de estas temperaturas existe un mayor grado de degradación de antocianos que afectan al color, obteniendo tonalidades más cercanas al color café que al rojo característico del resto de los tratamientos. Acercándose al área incolora se encuentran los datos de la concentración de 1,25 % de jugo de cranberry, esta representa la concentración más baja medida en este experimento.

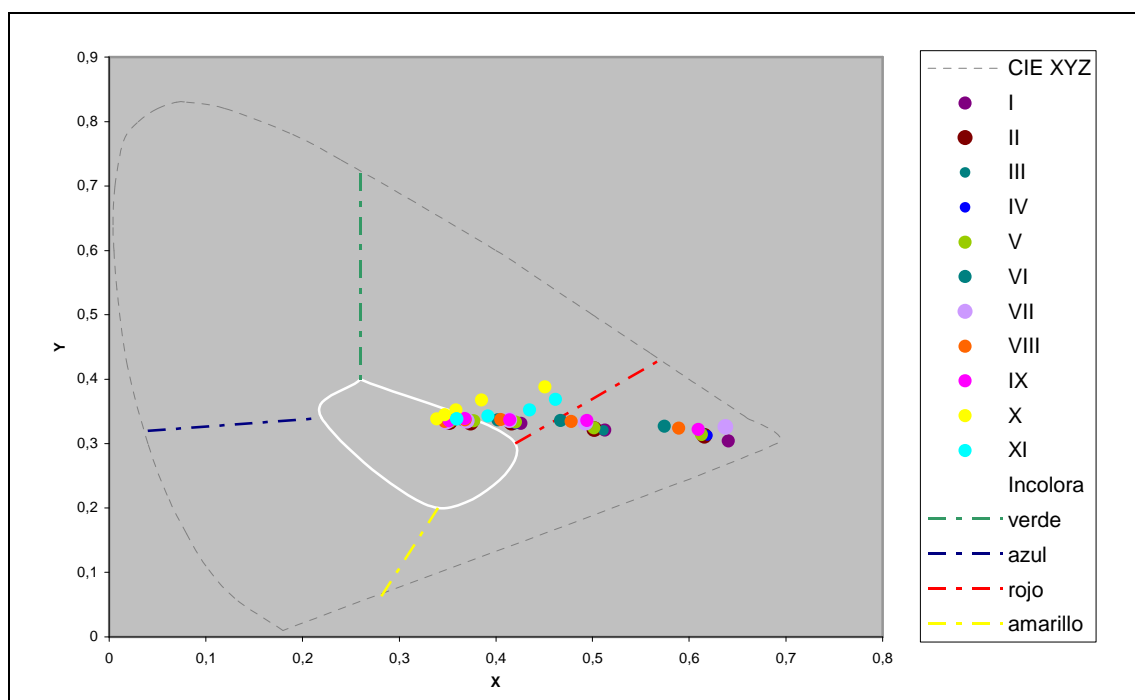


FIGURA 21. Medición de color al mes de almacenamiento. (I:70°C, II:75°C, III:80°C, IV:85°C, V:90°C, VI:95°C, VII:100°C, VIII: 105°C, IX:110°C, X:115°C, XI:120°C).

En la FIGURA 21 el jugo de cranberry mantiene la misma área de la carta de color CIE XYZ que al momento de realizar recién los tratamientos térmicos. Este comportamiento se repite en la medición a los 60 días de almacenamiento como se muestra en la FIGURA 22, esto quiere decir que el jugo de cranberry presenta una variación mínima en el color en relación al tiempo. El análisis estadístico nos indica que la variación de coloración del jugo de cranberry a distintas concentraciones no se ve afectada por los 60 días de almacenamiento a $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Ver ANEXO 3).

Durante los 2 meses de almacenamiento los datos de los 11 tratamientos térmicos presentan la misma línea de tendencia se mantienen en el mismo nivel de saturación a excepción de los tratamientos térmicos que abarcan el rango de temperatura entre $115\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $120\text{ }^{\circ}\text{C}$, los cuales presentan una variación mínima hacia el área de anaranjado-amarillo acentuándose más a los 60 días de almacenamiento. Este comportamiento al mantenerse durante todo el tiempo de almacenamiento no presenta diferencia significativa (Ver ANEXO 3).

Durante los 60 días de almacenamiento el jugo de cranberry sometido a los 11 tratamientos térmicos se mantiene estable en función del color, esto nos indica que su poder de tinción no se pierde en el tiempo, solo varía levemente el color de los tratamientos que abarcan entre los $115\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ que representan las temperaturas extremas a las que se sometió el jugo de cranberry. Esto reafirma el poder y calidad de tinción que posee los antocianos presentes en el cranberry. Las muestras tratadas hasta $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ mantienen su calidad de tinción, la cual depende solamente de la concentración de los antocianos presentes en las muestras.

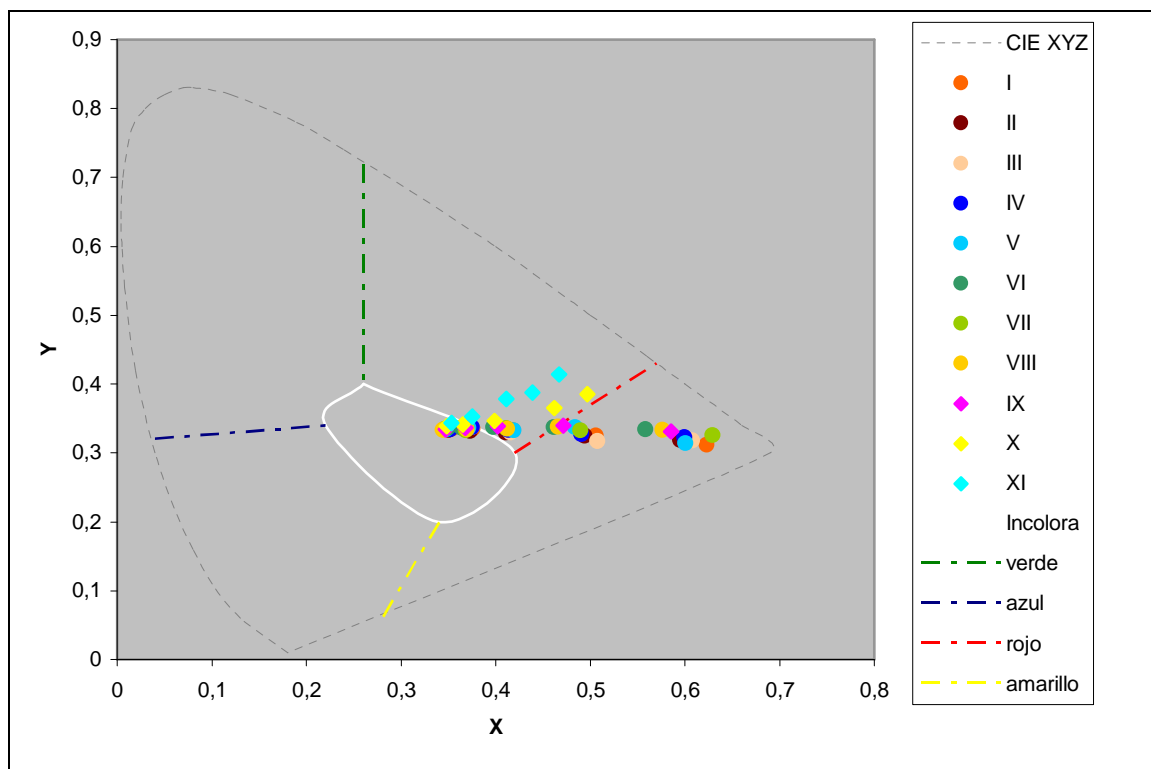


FIGURA 22. Medición de color a los dos meses de almacenamiento. (I:70°C, II:75°C, III:80°C, IV:85°C, V:90°C, VI:95°C, VII:100°C, VIII: 105°C, IX:110°C, X:115°C, XI:120°C).

4.6 Coloración obtenida con el jugo concentrado de cranberry en distintos tipos de alimentos

En esta parte del estudio se describe los resultados de ensayos de coloración con las muestras del jugo de cranberry concentrado por nanofiltración en tres distintos alimentos, los cuales se diferenciaron por su pH, el yoghurt con pH 4,3, la leche con un pH 6,8 y la gelatina con un pH neutro. El yoghurt es natural sin azúcar, la leche natural, la gelatina es básica sin sabor, incolora; preparada en laboratorio.

Al comenzar los ensayos con la leche se presentó el problema de coagulación de la leche en presencia de concentraciones altas del jugo de cranberry. Debido al pH ácido del colorante de jugo concentrado de cranberry hubo una reacción

con las proteínas de la leche causando la precipitación; por este motivo se realizaron en adelante sólo ensayos con gelatina y yoghurt.

Como colorante para la gelatina y el yoghurt se utilizó las muestras de jugo de cranberry sometidas a los 11 tratamientos térmicos en 5 concentraciones; se midió el color de la misma manera que para el seguimiento de la degradación de color durante almacenamiento.

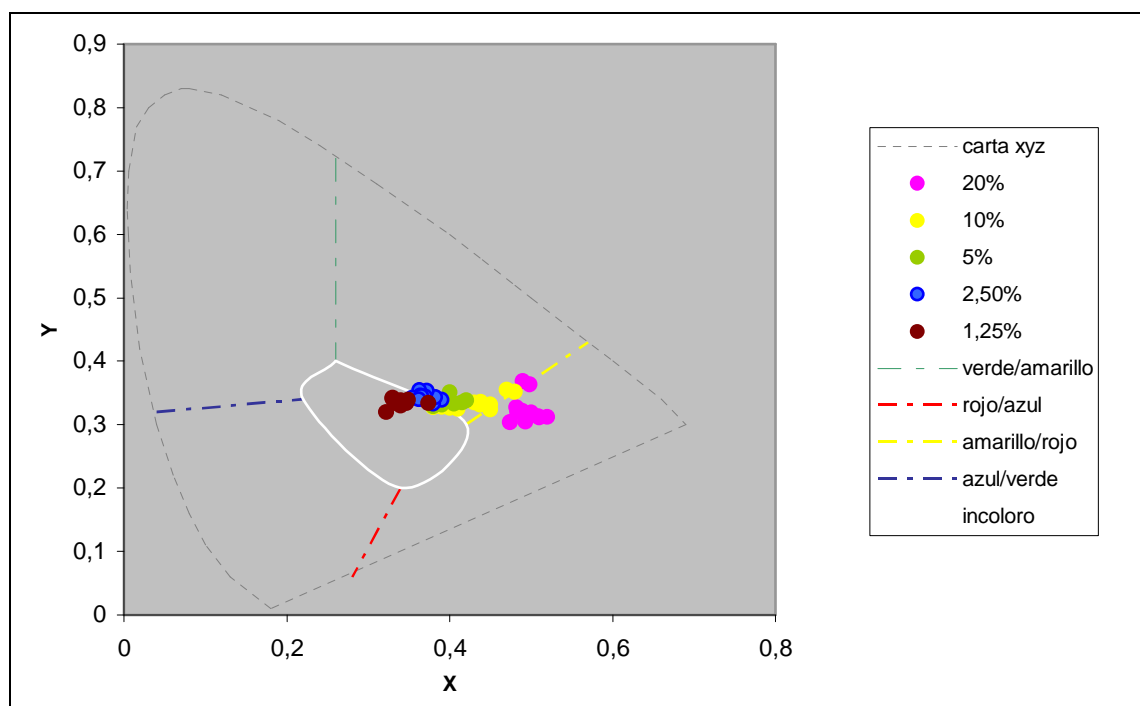


FIGURA 23. Mediciones de color en gelatina.

Se observa en la FIGURA 23 los datos obtenidos de las mediciones de color a la gelatina a las 5 diferentes concentraciones; se encuentran en el área de los matices rojos-amarillos de la carta de color CIE XYZ, acercándose al área incolora los datos de concentración 2,5 % y 1,25 % de jugo de cranberry, cada concentración presenta una tendencia a excepción de las muestras de jugo al 20 % y 10 % de los tratamientos X y XI que representan el rango de temperatura entre 115 °C y 120 °C que se ubican en el área anaranjada-amarilla. Esta tendencia que presentan los 11 tratamientos térmicos muestra la

calidad del jugo de cranberry como colorante, ya que presenta el mismo color o similar a la misma concentración que en las mediciones en soluciones acuosas.

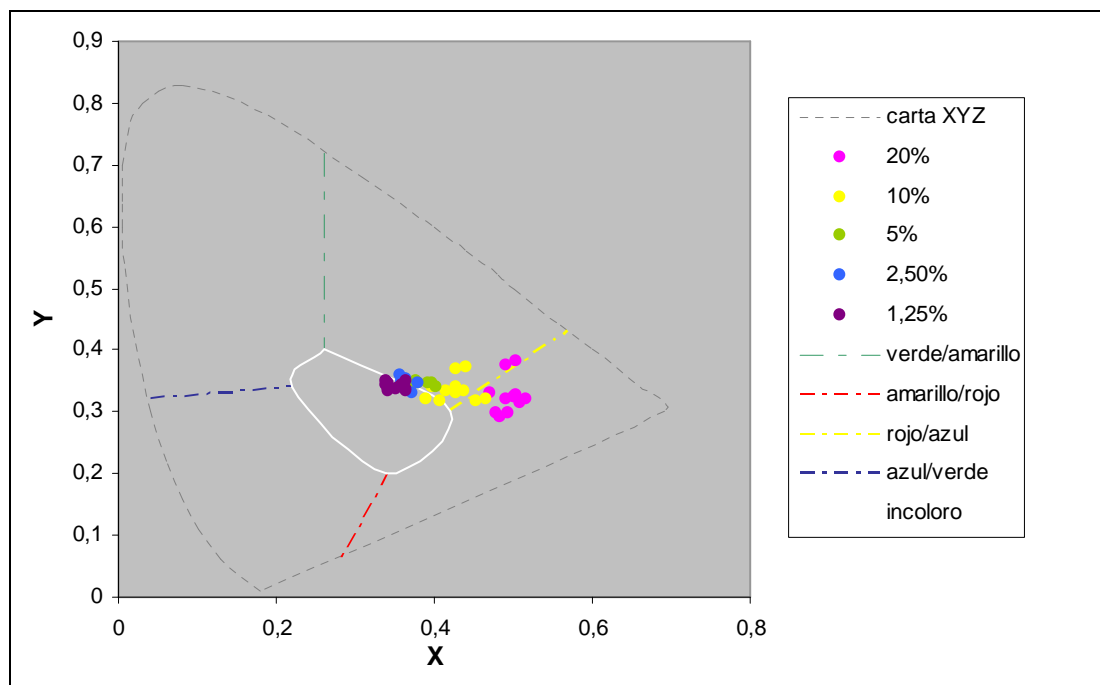


FIGURA 24. Mediciones de color en yoghurt.

En la FIGURA 24 se aprecian los datos de las mediciones de color en yoghurt, los datos se desplazan hacia los matices rojo-anaranjados, las concentraciones de 2,5 % y 1,25 % hacia el área incolora de la carta de color CIE XYZ, presentando una desviación de su línea de tendencia los datos de la concentración de 20 %; estos puntos se encuentran ubicados en la zona del rojo que corresponden a los tratamientos térmicos que abarcan el rango de 95 °C al 110 °C; estos presentan un color más oscuro en comparación con los restantes a la misma concentración. El resto de las concentraciones presentan una tendencia constante en relación a los diferentes tratamientos térmicos.

5. CONCLUSIONES

Los antocianos presentes en el jugo de cranberry concentrado por nanofiltración tienen una absorbancia máxima en 520 nm, la cual no varía en los tratamientos térmicos entre 70 °C y 120 °C, lo que permite expresar la concentración de los antocianos como cianidina-3-galactosida con peso molecular de 449,2 g/mol y coeficiente de extinción molar de 46230.

Se observa que la concentración de los antocianos presentes en el jugo de cranberry concentrado por nanofiltración disminuye en los tratamientos térmicos en función de la temperatura; mientras más alta la temperatura del tratamiento térmico, mayor es la degradación de estos pigmentos.

La evaluación de los ensayos arrojó una función casi lineal de la degradación de los antocianos en función de la temperatura de los tratamientos térmicos, lo que permitió la determinación de parámetros cinéticos, tales como el valor D y el valor z.

Se observa que la velocidad de degradación de los antocianos presentes en el jugo de cranberry concentrado por nanofiltración es similar en el rango de temperatura entre 70 °C y 90 °C; mientras que demuestra un rápido aumento en el rango de temperatura entre 90 °C y 120 °C. A partir de los 90 °C en los tratamientos térmicos se observa formación de sedimentos, que posiblemente explican las pérdidas de pigmentos solubles.

Se pudo comprobar que durante un tiempo de almacenamiento de aproximadamente 60 días hubo una leve degradación de los antocianos del

jugo de cranberry concentrado por nanofiltración y posteriormente tratado térmicamente, es decir, existe dependencia de la degradación de antocianos en función del tiempo.

El jugo de cranberry concentrado por nanofiltración tiene un intenso color, por lo que para realizar las mediciones relacionadas con la degradación de color en función de la temperatura, con los colorímetros del sistema CIE XYZ es necesario diluir las muestras usando un factor mínimo de dilución de 5.

Durante el almacenamiento, el color de las muestras no es afectado por el tiempo, no existe diferencia significativa en cada uno de los tratamientos térmicos. Se puede concluir que el poder de tinción del jugo de cranberry concentrado por nanofiltración y tratado térmicamente se mantiene en el tiempo, su coloración es constante dependiendo sólo de la concentración.

La variación del color de los antocianos del jugo de cranberry concentrado por nanofiltración es proporcional a la concentración de los mismos, por lo tanto, se puede utilizar la misma concentración del jugo como colorante de diferentes tratamientos térmicos obteniéndose colores similares; a excepción de los tratamientos térmicos de 115 °C y 120 °C.

En la gelatina y el yoghurt se presenta el mismo patrón de color que con el jugo de cranberry puro; ya que utilizando como colorante las muestras tratadas térmicamente entre el rango de 70 °C a 110 °C se obtiene el mismo color como resultado en las 5 concentraciones diferentes.

El jugo nanofiltrado de cranberry concentrado por nanofiltración se puede utilizar como colorante en alimentos, teniendo en cuenta no someterlo a temperaturas mayores de 90 °C para prevenir la formación de sedimentos, y pérdida de antocianos.

6. RESUMEN

La presente investigación se basó en la utilización de un jugo de cranberry concentrado por nanofiltración como colorante en alimentos. Previo a la coloración en alimentos, el jugo de cranberry se sometió a 11 tratamientos térmicos desde 70 °C hasta 120 °C para ver principalmente la estabilidad de los pigmentos del jugo en función de la temperatura en cuanto al color y la concentración de antocianos. El método utilizado para determinar las concentraciones de antocianos en el jugo es un método fotométrico desarrollado por Wrolstad en 1975 y basado en el comportamiento de los antocianos frente a diferentes valores de pH. El color se midió de forma directa por medio del colorímetro del sistema CIE XYZ. Las muestras de jugo se almacenan en refrigeración a 4 ± 1 °C durante el experimento.

El jugo de cranberry al ser sometido a diferentes tratamientos térmicos es afectado en su concentración de antocianos; esta variación de antocianos es considerable a partir de 90 °C hasta la máxima temperatura de tratamiento de 120 °C. Durante el tiempo de almacenamiento la concentración de antocianos disminuye en todas las muestras de los 11 tratamientos térmicos, pero la variación de concentración no es significativa a nivel de confianza de 95 %.

El color no es afectado por tiempo de almacenado, ya que al medir el color a las muestras recién sometidas a los tratamientos térmicos se obtuvo el mismo resultado que con las muestras después de 30 y 60 días de almacenado. Cualquier variación de color durante el almacenamiento resulta no ser estadísticamente significativa a nivel de confianza de 95 %. El color se midió también en gelatina y yogurt, y no presentaron diferencias al utilizar cualquiera de las muestras de jugo como colorante, esto significa que los colorantes de los distintos tratamientos térmicos hasta una temperatura de 110 °C no eran diferentes. Los colores que presentaron el yogurt y la gelatina dependen sólo de las respectivas concentraciones de colorantes utilizados.

SUMMARY

The present study referred to the use, as a food colorant, of a cranberry juice obtained by nanofiltration. Before any colouring tests were performed on food samples, the cranberry juice was heat treated in 11 experiments within a temperature interval between 70 °C and 120 °C to observe its stability as to changes in colour and concentration of anthocyanin. To determine concentration of the anthocyanin, a photometric method, developed by Wrolstad in 1975 and based on the different absorbance of the anthocyanin at different pH-values, was used. Color was measured directly by a colorimeter based on the CIE XYZ system. The juice samples were stored refrigerated at 4 ± 1 °C during experiments.

Cranberry juice was affected in its anthocyanin concentration during the different heat treatments; changes in concentrations being most noticeable at 90 °C upwards to 120 °C, the maximum temperature of heat treatment. During storage, concentrations of anthocyanin of the samples of the 11 heat treatments diminished, although change in concentration was not significant at a confidence level of 95 %.

Colour was not affected by duration of storage, since measurements of sample colour gave the same results for samples of juices, obtained immediately after heat treatment and after 30 and 60 days storage. Any variation during storage did not prove to be significant at a confidence level of 95 %. Colour was also measured on jelly and yoghurt. No differences in colour were noticed, when any of the different colorant samples were used, which meant that the colorants obtained after any heat treatment up to 110 °C did not show any difference. The colour of either yoghurt or jelly depended only on the respective concentrations of the colorants used.

7. BIBLIOGRAFÍA

- BADUI, S. 1999. Química de los Alimentos. Longman de México Editores. México. 648 p.
- CABRITA, L.; TORGLS, F. y ANDERSEN, O. 2000. Color and Stability of the Six Common Anthocyanidin 3-glucosides in Aqueous Solutions. Food Chemistry. 68:101-107.
- CAMIRE, A y CLYDESDALE, F. 1979. High-Pressure Liquid Chromatography of Cranberry Anthocyanins. Journal of Food Science. 44:926-927.
- CEDILLO-LÓPEZ, D; CRUZ-SALGADO M y BELTRÁN-OROZCO M.2005. Identificación de los Espectros de antocianinas del Fruto del Cerezo Dulce (*Prunus avium*) variedad sweetheart, en diferentes condiciones de extracción. VII Congreso nacional de Ciencia de los Alimentos y III Foro de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato. México.
- CEMEROGLU, B; VELIOGLU, S y ISIK, S. 1994. Degradation Kinetics of Anthocyanins in Sour Cherry Juice and Concentrate. Journal of Food Science. 59:6, 1216-1218.
- CHIRIBOGA, C y FRANCIS, F. 1973. Ion Exchange Purified Anthocyanin Pigments as a Colorant for Cranberry Juice Cocktail. Journal of Food Science. 38:464-467.
- FENNEMA, O. 2000. Química de los Alimentos. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 1095 p.

- HONG, V. y WROLSTAD, R. 1990, Use of HPLC Separation/ Photodiode Array Detection for Characterization of Anthocyanins. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 38: 708-715.
- IVERSEN, C. 1999. Black Currant Nectar: Effect of Processing and Storage on Anthocyanin and Ascorbic Acid Content. *Journal of Food Science*. 64: 37-41.
- LINDEN, G. y LORIENT. 1996. *Bioquímica Agroindustrial*. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 428 p.
- MAIN, J; CLYDESDALE, F y FRANCIS, F. 1978. Spray Drying Anthocyanins Concentrates for use as Food Colorants. *Journal of Food Science*. 43:1693-1694.
- MATISSEK, R.; SCHNEPEL, F. y STEINER, G. 1992. *Análisis de los Alimentos*. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 416 p.
- ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION (FAO) y LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). 1963. *Normas de Identidad y Pureza para los Aditivos Alimentarios. Volumen II. Colores Alimentarios*. 143p.
- PARRA, V. 2004. Estudio comparativo en el uso de colorantes naturales y sintéticos en alimentos. Tesis Lic. Ingeniería en Alimentos. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias.
- POO, S. 2004. Concentración de antocianinas en jugo de cranberries (*Vaccinium Macrocarpon Ait.*) por nanofiltración. Tesis Lic. Ingeniería en Alimentos. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias.

- REIN, M. 2005. Copigmentación Reactions and Color Stability of Berry Anthocyanins. University of Helsinki. Finland. Department of Applied Chemistry and Microbiology. Food Chemistry Division.
- SAKAMURA, S. y FRANCIS, F. 1961. The Anthocyanins of American Cranberry. *Journal of Food Science*.25: 318-321.
- SHEWFELT, R. y AHMED, E. 1977. Anthocyanin Extracted From Red Cabbage Promise as Coloring For Dry Beverage Mixes. *Journal of Food Science*. 42: 52-59.
- SHRIKHANDE, A. 1976. Anthocyanins in Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 193-218.
- SHRIKANDE, A y FRANCIS, F. 1974. Effect of Flavonols on Ascorbic Acid and Anthocyanins Stability in Model Systems. *Journal of Food Science*. 39:904-906.
- STARR, M. y FRANCIS, F. 1973. Effect of Metallic Ions on Color and Pigment Content of Cranberry Juice Cocktail. *Journal of Food Science*. 38: 1043-1046.
- TIAN, Q. AZIZ, R. STONER, G. y SCHWARTZ, S. 2005. Anthocyanin Determination in Black Raspberry (*Rubus occidentalis*) and Biological Specimens Using Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Food Science*. 70:1, 43-47.
- VALLS, J; LAMPREAVE, M; NADAL, M y AROLA, L. 2000. Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Alimentación Equipos y Tecnología*. 19:2, 119-124.

- WIGHTMAN, J. y WROLSTAD, R. 1995. Anthocyanin Analysis as a Measure of Glycosidase Activity in Enzymes for Juice Processing. *Journal of Food Science*. 60:4, 862-867.
- WONG, D. 1995. *Química de los Alimentos: Mecanismos y Teoría*. Ed. Acribia, S.A. España. 476 p.
- WOOD, A; VON ELBE, J y AMUNDSON, C. 1980. Anthocyanins Recovery from Cranberry Pulp Wastes by Membrane Technology. *Journal of Food Science*. 45:875-879.
- WROLSTAD, R. 1976. *Color and Pigment Analysis in Fruit Products*. Oregon State University Agricultural Experiment Station Bulletin 624.
- WROLSTAD, R y GIUSTI, M. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. <http://www.wiley.com/legacy/cp/cpfac/facsample.htm>
- WROLSTAD, R. 2004. Anthocyanins Pigments-Bioactivity and Coloring Properties. *Journal of Food Science*. 69:5, 419-421.
- ZHOU, Y y SING, B. 2004. Effect of Light on Anthocyanin Levels in Submerged, Harvested Cranberry Fruit. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 5:259-263.

ANEXOS

ANEXO 1

Cálculo de energía equivalente y parámetros cinéticos de degradación: valor D, z, k, E_a, Q₁₀

Trat. Termico	Tiempo s	Temp Max °C	Equi. energética total K s	Equivalente energética desde 60 °C K s	Tiempo equivalente en segundos para un tratamiento a T °C:										
					70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120
70°C	1035	71,5	67404	5304	530	354	265	212	177	56	53	51	48	46	44
75°C	2225	75,7	152364	18864	1886	1258	943	755	629	199	189	180	171	164	157
80°C	1520	81,7	112136	20936	2094	1396	1047	837	698	220	209	199	190	182	174
85°C	1930	86,7	147120	31320	3132	2088	1566	1253	1044	330	313	298	285	272	261
90°C	3680	90,7	277818	57018	5702	3801	2851	2281	1901	600	570	543	518	496	475
95°C	3135	95,8	243048	54948	5495	3663	2747	2198	1832	578	549	523	500	478	458
100°C	4015	99,6	317788	76888	7689	5126	3844	3076	2563	809	769	732	699	669	641
105°C	3910	105,0	317726	83126	8313	5542	4156	3325	2771	875	831	792	756	723	693
110°C	3760	111,2	308180	82580	8258	5505	4129	3303	2753	869	826	786	751	718	688
115°C	4485	115,0	370888	101788	10179	6786	5089	4072	3393	1071	1018	969	925	885	848
120°C	4225	120,1	356868	103368	10337	6891	5168	4135	3446	1088	1034	984	940	899	861

Continuación de cálculo de energía equivalente y parámetros cinéticos de degradación: valor D, z, k, E_a, Q₁₀

Concentración mg/L		$\frac{\Delta C_i}{\Delta C_{\max}} = \frac{(C_i - C_i)}{(C_i - C_0)}$	Trat. Termico	Valor D (s)	Valor k		T ₂ -T ₁	Valor z	
final Cf	inicial Ci				k = 2,303/D	Ln (k ₂ /k ₁)		$[(T_2-T_1)/Ln(k_2/k_1)] * Ln10$	Ln 10/z
84,73	85,51	0,0091	70	7265	0,000316982	0,405532378	5	28,390	0,0811
79,09	85,51	0,0750	75	4843	0,000475506	0,28761480	5	40,029	0,0575
78,51	87,26	0,1002	80	3633	0,000633965	0,223183914	5	51,585	0,0446
80,07	85,90	0,0679	85	2906	0,000792488	0,182281194	5	63,160	0,0365
68,99	85,53	0,1934	90	2422	0,000950947	0,128869729	5	89,338	0,0258
		0,1934	90	2422	0,000950947	0,079436587	5	144,932	0,0159
56,65	85,31	0,3360	95	765	0,003011364	0,051302854	5	224,411	0,0103
58,20	87,26	0,3330	100	727	0,003169888	0,048779593	5	236,019	0,0098
53,64	85,12	0,3699	105	692	0,003328347	0,046528752	5	247,437	0,0093
53,58	86,28	0,3791	110	660	0,00348687	0,04444219	5	259,054	0,0089
45,77	85,90	0,4672	115	632	0,003645329	0,042567658	5	270,462	0,0085
42,07	87,84	0,5210	120	605	0,003803852	0,040181593	5	286,522	0,0080
			125					150,438	

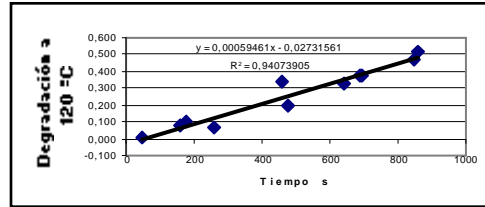
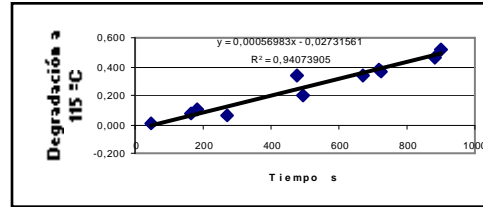
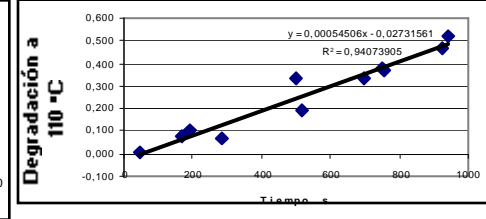
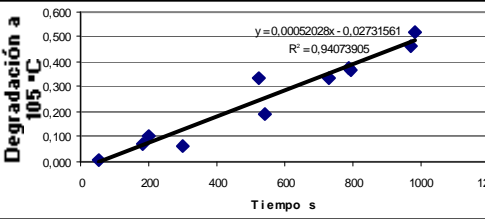
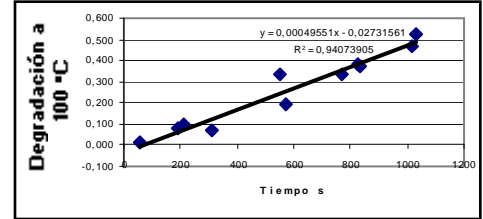
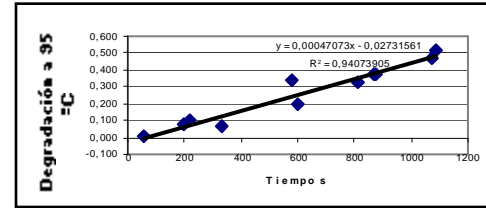
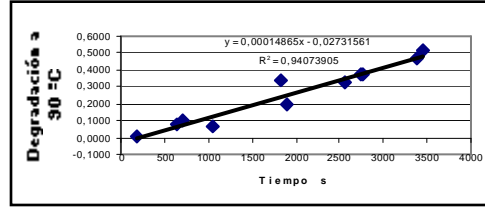
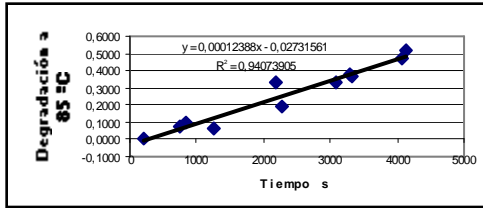
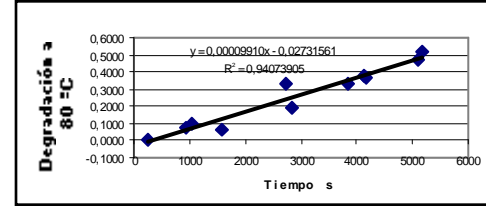
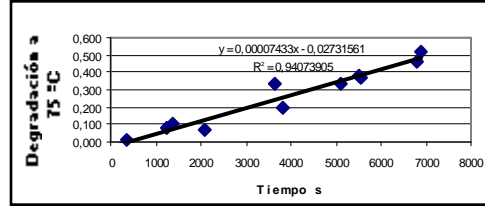
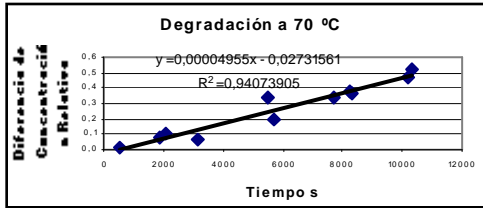
(T ₂ *T ₁)	Ea (Ln10/z)* (T ₂ *T ₁)	Ea/R	Q ₁₀ $e^{((Ea/R)*(10^{(T_2-T_1)}))}$
5250	51,216	6,160200	1,012
6000	41,513	4,993125	1,008
6800	36,508	4,391185	1,006
7650	33,545	4,034719	1,005
8550	26,506	3,188064	1,004
8550	16,338	1,965154	1,002
9500	11,724	1,410182	1,001
10500	12,321	1,481963	1,001
11550	12,928	1,554939	1,001
12650	13,524	1,626657	1,001
13800	14,131	1,699686	1,001
15000	14,499	1,743927	1,001

$$Z = [(T_2-T_1)/Ln(k_2/k_1)] * Ln10$$

$$k = 2.303/D$$

$$Ea = (Ln10/z)* (T_2*T_1)$$

$$Q_{10} = e^{[(Ea/R)*(10^{(T_2-T_1)})]}$$



Cálculos para determinar valor D

T °C	M	C	Y1=	Y2 =	D s	log(D)
			0,4	0,04		
70	0,00004955	-0,02731561	8623,928	1358,539051	7265	3,86126
75	0,00007433	-0,02731561	5748,898	905,6317772	4843	3,68514
80	0,0000991	-0,02731561	4311,964	679,2695257	3633	3,56023
85	0,00012388	-0,02731561	3449,432	543,3936874	2906	3,46330
90	0,00014865	-0,02731561	2874,643	452,8463505	2422	3,38414
95	0,00047073	-0,02731561	907,7722	143,0025917	765	2,88353
100	0,00049551	-0,02731561	862,3754	135,8511634	727	2,86125
105	0,00052028	-0,02731561	821,3185	129,3834282	692	2,84007
110	0,00054506	-0,02731561	783,979	123,5012843	660	2,81986
115	0,00056983	-0,02731561	749,9002	118,132794	632	2,80056
120	0,00059461	-0,02731561	718,6485	113,2096837	605	2,78207

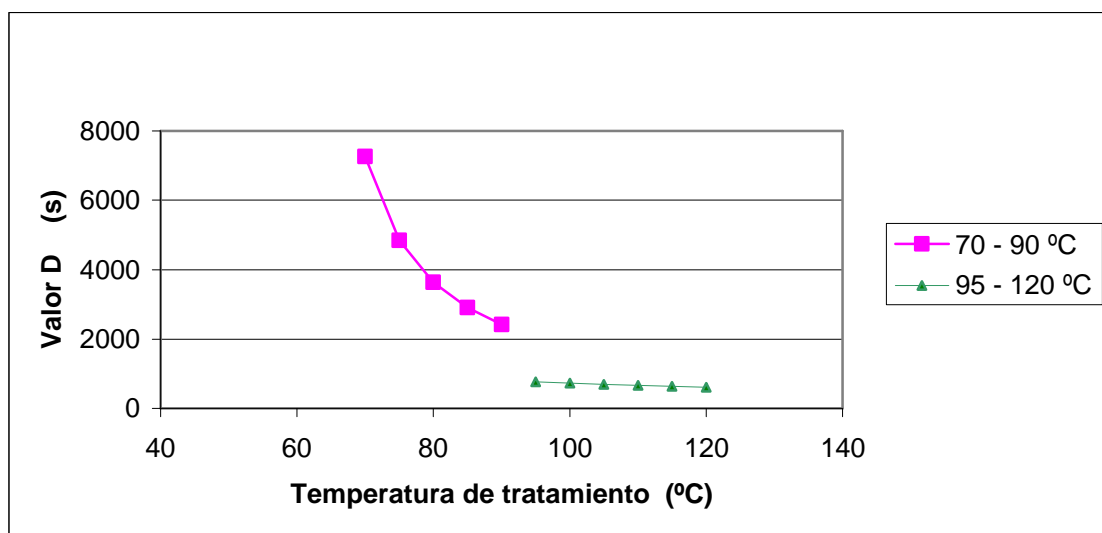


FIGURA A1.2 Valor D en función de las temperaturas de los tratamientos

ANEXO 2

Análisis estadístico realizado en *Statgraphics Plus 5.1* para evaluar dependencia entre los tratamientos térmicos en función de las concentraciones de antocianos totales

Análisis de varianza

Análisis de la Varianza				
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F
Entre grupos	16381,4	10	1638,14	33,37
Intra grupos	3338,22	68	49,0915	
Total (Corr.)	19719,6	78		

Contraste múltiple de rangos

Método: 95,0 porcentaje LSD			
	Frec.	Media	Grupos homogéneos
trat 120	6	33,0447	X
trat 115	8	38,269	X
trat 105	7	48,318	X
trat 95	7	49,6659	X
trat 110	7	53,8163	XX
trat 100	6	60,4213	XX
trat 90	7	65,1014	XX
trat 80	8	71,1986	XX
trat 85	7	71,792	XX
trat 75	8	72,3403	XX
trat 70	8	79,227	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
trat 100 - trat 105	*12,1032	7,7785
trat 100 - trat 110	6,605	7,7785
trat 100 - trat 115	*22,1523	7,55079
trat 100 - trat 120	*27,3766	8,07213
trat 100 - trat 70	*-18,8057	7,55079
trat 100 - trat 75	*-11,9191	7,55079
trat 100 - trat 80	*-10,7774	7,55079
trat 100 - trat 85	*-11,3708	7,7785
trat 100 - trat 90	-4,68018	7,7785
trat 100 - trat 95	*10,7554	7,7785
trat 105 - trat 110	-5,49823	7,47334
trat 105 - trat 115	*10,0491	7,23603
trat 105 - trat 120	*15,2734	7,7785
trat 105 - trat 70	*-30,909	7,23603
trat 105 - trat 75	*-24,0223	7,23603
trat 105 - trat 80	*-22,8806	7,23603
trat 105 - trat 85	*-23,474	7,47334
trat 105 - trat 90	*-16,7834	7,47334
trat 105 - trat 95	-1,34784	7,47334
trat 110 - trat 115	*15,5473	7,23603
trat 110 - trat 120	*20,7716	7,7785
trat 110 - trat 70	*-25,4107	7,23603
trat 110 - trat 75	*-18,5241	7,23603
trat 110 - trat 80	*-17,3824	7,23603
trat 110 - trat 85	*-17,9758	7,47334
trat 110 - trat 90	*-11,2852	7,47334
trat 110 - trat 95	4,15039	7,47334
trat 115 - trat 120	5,22431	7,55079
trat 115 - trat 70	*-40,958	6,99067
trat 115 - trat 75	*-34,0714	6,99067
trat 115 - trat 80	*-32,9297	6,99067
trat 115 - trat 85	*-33,5231	7,23603
trat 115 - trat 90	*-26,8325	7,23603
trat 115 - trat 95	*-11,3969	7,23603
trat 120 - trat 70	*-46,1824	7,55079
trat 120 - trat 75	*-39,2957	7,55079
trat 120 - trat 80	*-38,154	7,55079
trat 120 - trat 85	*-38,7474	7,7785
trat 120 - trat 90	*-32,0568	7,7785
trat 120 - trat 95	*-16,6212	7,7785
trat 70 - trat 75	6,88666	6,99067
trat 70 - trat 80	*8,02837	6,99067
trat 70 - trat 85	*7,43496	7,23603
trat 70 - trat 90	*14,1256	7,23603
trat 70 - trat 95	*29,5611	7,23603
trat 75 - trat 80	1,1417	6,99067
trat 75 - trat 85	0,548296	7,23603
trat 75 - trat 90	*7,23889	7,23603
trat 75 - trat 95	*22,6745	7,23603
trat 80 - trat 85	-0,593409	7,23603
trat 80 - trat 90	6,09719	7,23603
trat 80 - trat 95	*21,5328	7,23603
trat 85 - trat 90	6,6906	7,47334
trat 85 - trat 95	*22,1262	7,47334
trat 90 - trat 95	*15,4356	7,47334

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 3

Análisis estadístico realizado en Statgraphics Plus 5.1 para evaluar variación de color en función de los filtros X, Y y Z durante el almacenamiento

Análisis día cero de almacenamiento

Filtro X

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	289,424	10	28,9424	0,06	1,0000
Intra grupos	19955,8	44	453,542		
Total (Corr.)	20245,3	54			

Filtro Y

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	681,777	10	68,1777	0,09	0,9999
Intra grupos	33727,6	44	766,535		
Total (Corr.)	34409,3	54			

Filtro Z

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1129,4	10	112,94	0,11	0,9996
Intra grupos	45336,6	44	1030,38		
Total (Corr.)	46466,0	54			

Análisis al mes de almacenamiento

Filtro X

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	2354,46	10	235,446	0,46	0,9052
Intra grupos	22416,9	44	509,475		
Total (Corr.)	24771,4	54			

Filtro Y

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1420,34	10	142,034	0,19	0,9960
Intra grupos	32523,2	44	739,163		
Total (Corr.)	33943,5	54			

Filtro Z

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	275,182	10	27,5182	0,03	1,0000
Intra grupos	47604,6	44	1081,92		
Total (Corr.)	47879,8	54			

Análisis a dos meses de almacenamiento

Filtro X

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	267,369	10	26,7369	0,08	0,9999
Intra grupos	15170,2	44	344,778		
Total (Corr.)	15437,6	54			

Filtro Y

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	1403,4	10	140,34	0,22	0,9936
Intra grupos	28676,5	44	651,739		
Total (Corr.)	30079,9	54			

Filtro Z

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	270,85	10	27,085	0,03	1,0000
Intra grupos	47612,2	44	1082,09		
Total (Corr.)	47883,0	54			

ANEXO 4

Análisis estadístico realizado en Statgraphics Plus 5.1 para evaluar variación de color en función de los filtros X, Y y Z en la aplicación en alimentos

GELATINA

Filtro X

Análisis de la Varianza						
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor	
Entre grupos	0,0587417	10	0,00587417	0,57	0,8261	
Intra grupos	0,450388	44	0,0102361			
Total (Corr.)	0,50913	54				

Filtro Y

Análisis de la Varianza						
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor	
Entre grupos	0,0113252	10	0,00113252	2,25	0,0319	
Intra grupos	0,0221557	44	0,000503539			
Total (Corr.)	0,0334809	54				

YOGHURT

Filtro X

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,00836228	10	0,000836228	0,41	0,9321
Intra grupos	0,0886984	44	0,00201587		
Total (Corr.)	0,0970606	54			

Filtro Y

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	0,00483777	10	0,000483777	0,66	0,7539
Intra grupos	0,0322273	44	0,000732438		
Total (Corr.)	0,037065	54			