



Universidad Nacional
"Pedro Ruiz Gallo"



**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA E
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE
INGENIERÍA DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

*Cinética de la degradación térmica de antocianinas en
zumos pasteurizados de Granada (*Punica granatum*) y
Arándano (*Vaccinium myrtillus*)*

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

AUTORA

Bach. SANDOVAL RAFAEL ALICIA AURORA

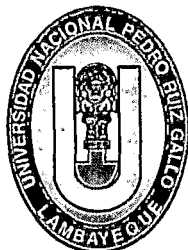
ASESOR

Ing. POZO SUCLUPE LUIS ANTONIO

Lambayeque - Perú
2015



UNIVERSIDAD NACIONAL "PEDRO RUIZ GALLO"
OFICINA CENTRAL DE BIBLIOTECA
PROCESOS TÉCNICOS
Nº DE INGRESO: _____
COD. DE CLASIFICACIÓN: _____



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO



**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA DE
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

***Cinética de la degradación térmica de antocianinas en zumos
pasteurizados de Granada (*Punica granatum*) y Arándano
(*Vaccinium myrtillus*)***

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO EN
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

AUTORA

Bach. SANDOVAL RAFAEL ALICIA AURORA

ASESOR

Ing. Pozo Suclupe Luis Antonio

LAMBAYEQUE – PERÚ

2015



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO



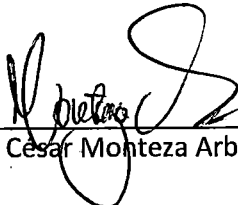
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

TESIS

AUTORA

Bach. SANDOVAL RAFAEL ALICIA AURORA


APROBADO POR:


Dr. César Monteza Arbulú

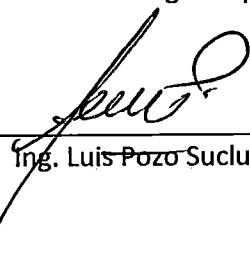
PRESIDENTE DEL JURADO


Ing. MSc. Ronald Gutierrez Moreno

SECRETARIO DEL JURADO


Ing. MSc. Renzo Chung Cumpa

VOCAL


Ing. Luis Pozo Suclupe

ASESOR

LAMBAYEQUE-PERÚ
2015

DEDICATORIA

Esta Tesis se la dedico primeramente a Dios porque sin Él no soy alguien en esta vida, porque me AMA y soy el ser más maravilloso que ha creado, así como me dice en cada palabra de su santa escritura, así también se la dedico a Nuestra Madre La Virgen María que con ejemplo de su pureza y bondad me ha dado la fortaleza para seguir adelante con todas mis metas que me he propuesto para así poder alcanzarlas.

A mi padre Juan que con su ejemplo de coraje, perseverancia y solidaridad he admirado mucho desde muy pequeña y por ser una de sus princesas, así como él nos considera a cada una de sus 5 hijas, por ser un excelente padre amoroso por responderme con una bella sonrisa cada vez que le digo cuanto lo amo.

A mi madre María ya que ella fue quien me habló de esta bonita carrera y es por eso que me motivó para poder estudiarla y alcanzar el objetivo de ser una profesional, por su amor tan grande, por su humildad y bondad que la caracteriza, por ser la razón de mi vivir, y por darme besitos en mi frente cada vez que le digo cuanto la amo.

A mis hermanas Anny y Esther ya que ellas siendo un poco menores que yo, aprendo mucho de ellas, y me alientan cada vez con sus consejos de amor de hermanas, a mis hermanitas pequeñas Jesabel y Fernanda siendo tan pequeñitas sacándome una sonrisa siempre con sus locuras, sus travesuras y para que vean en nosotras sus hermanas mayores un gran ejemplo a seguir, a mi último hermanito Juan apenas teniendo 2 añitos de edad es la alegría mayor en nuestro hogar, con sus ocurrencias, sus travesuras siendo un niño el cual la Inmaculada Concepción en su día le dio la vida a mi hermanito el 8 de diciembre 2013 un día que nuestra familia nunca olvidará. Todos mis hermanos forman la luz de mi vida y me estimulan para poder seguir adelante, ser un gran ejemplo para ellos y que cuando crezcan sean mejores que yo.

Alicia Aurora Sandoval Rafae

AGRADECIMIENTOS

Primeramente agradezco a Dios y a la Virgen María porque ellos me dieron a mi madre María que es la razón de mí vivir, gracias Mamita por tu amor y tus consejos, por amarme tal y como soy, a mi padre Juan que es mi Héroe y mi único príncipe azul, por tus enseñanzas, por tus correcciones, por motivarnos a cada uno de tus hijos de que todo en esta vida no es color de rosa, de que hay que luchar, sufrir y perseverar para cumplir nuestras metas, a mis hermanos Anny, Esther, Jesabel, Fernanda y Juancito ya que ellos forman la luz de mi vida y son mi motivo para seguir alcanzando muchas metas. Gracias Dios, Gracias Virgen María pues me dieron la familia que tanto admiro y tanto amo. Gracias!

Agradezco también a mi buen amigo William Sánchez, por tus enseñanzas nació este bonito tema de tesis, gracias por la paciencia que me tuviste, gracias por tu apoyo incondicional, por tus consejos no solo estudiantiles sino también en la vida personal. Eres un buen ejemplo para todos los Ingenieros Alimentarios que pueden seguir creciendo profesionalmente. Gracias William que Dios te bendiga siempre, estoy segura que vas a llegar muy lejos y siempre podrás contar conmigo. Gracias!

Gracias a todos mis profesores de mi casa de estudios la cual es la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, y más aún gracias a mis jurados de este proyecto, por sus correcciones, sus enseñanzas y sobre todo el haber sido Jurado de este día muy importante para mí. Gracias!

Gracias a mis buenas amigas de la Universidad Claudia, Yanina y Leyla, por su bonita amistad y los ánimos que siempre me dieron. Gracias chicas!

Gracias a mis hermanas del colegio Dorka, Jimena y Lourdes, a pesar de la distancia las llevo siempre en mi corazón una amistad como la nuestra es tan bendecida ya que estamos unidas en todo momento. Gracias chicas!

Alicia Aurora Sandoval Rafael.

INDICE GENERAL

INTRODUCCION	12
I. FUNDAMENTO TEORICO	15
1.1 Arándano	15
1.1.1 Nombres Comunes.	15
1.1.2 Nombre científico.	15
1.1.3 Taxonomía y morfología.	15
1.1.4 Composición nutricional.	16
1.1.5 Variedades de Arándano	17
1.1.6 Cultivo del Arándano en el Perú.	18
1.1.7 Mercado y Comercio de Arándano en el Perú.	19
1.2 Granada	21
1.2.1 Nombres Comunes.	21
1.2.2 Nombre científico.	21
1.2.3 Taxonomía y morfología.	21
1.2.4 Variedades de la Granada	24
1.2.5 Cultivo de Granada en el Perú.	23
1.2.6 Mercado y Comercio de Granada en el Perú	24
1.2.7 Composición nutricional	26
1.3 Antocianinas	26
1.3.1 Antocianinas en Arándano.	29
1.3.2 Antocianinas en Granada.	30
1.3.3 Propiedades funcionales de las antocianinas.	32
1.3.4 Estabilidad de las antocianinas.	33
1.3.5 Factores que influyen en la estabilidad de antocianinas	34
1.3.6 Vías de degradación de antocianinas.	38
1.4 Zumo	39
1.5 Cinética química del deterioro de los alimentos.	41
1.5.1 Orden de reacción.	42
1.5.2 Velocidad de reacción.	42
1.5.3 Reacción de orden cero.	43
1.5.4 Reacción de primer orden.	44
1.5.5 Reacción de segundo orden.	44
1.5.6 Tiempo de vida media.	44
1.5.7 Modelo Q10	45
1.5.8 Modelo de Arrhenius.	45
II. MATERIALES Y MÉTODOS	47

2.1 Localización	47
2.2 Materiales, reactivos y equipos.	47
2.2.1 Materia prima.	47
2.2.2 Materiales	47
2.2.3 Reactivos	47
2.2.4 Equipos	48
2.3 Metodología experimental.	48
2.3.1 Obtención de la muestra.	48
2.3.2 Almacenamiento de la muestra.	51
2.3.3 Codificación de la muestra.	51
2.3.4 Metodología de análisis	51
2.3.5 Determinación del orden de reacción y la constante de velocidad.	52
2.3.6 Determinación de la Energía de activación.	54
2.3.7 Determinación del factor Q_{10}	54
2.3.8 Determinación del tiempo de vida media ($T_{1/2}$)	54
2.3.9 Análisis estadístico.	54
III. RESULTADOS	56
3.1 Caracterización de los zumos pasteurizados de Arándano y de Granada	56
3.2 Degradación de antocianinas durante el almacenamiento de la muestra.	56
3.3 Orden de reacción de las antocianinas.	63
3.4 Constantes de velocidad (k), energía de activación (Ea), factor Q_{10} y tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de las antocianinas.	66
IV. DISCUSIONES	69
V. CONCLUSIONES	74
VI. RECOMENDACIONES	76
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
VIII. ANEXOS	90
Anexo I	90
Anexo II	92
Anexo III	96
Anexo IV	100
Anexo V	105



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición nutricional del arándano (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	16
Tabla 2: Principales Mercados de Exportación durante los últimos 3 años de arándanos del género <i>vaccinium</i> .	20
Tabla 3: Principales Mercados de Exportación de Granada en el mes de junio 2014 y junio 2015.	25
Tabla 4: Composición nutricional de la granada (<i>Punica granatum</i>)	26
Tabla 5: Control de características fisicoquímicas en el zumo pasteurizado de Arándano y en el zumo pasteurizado de Granada.	52
Tabla 6: Codificación de viales de laboratorio para la determinación de antocianinas (mg/L) en el zumo pasteurizado de Arándano y en el zumo pasteurizado de Granada.	53
Tabla 7: Resultados del análisis fisicoquímico del zumo pasteurizado de Arándano y del zumo pasteurizado de Granada.	56
Tabla 8: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Arándano durante su almacenamiento	57
Tabla 9: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Granada durante su almacenamiento	58
Tabla 10: Estadísticas de regresión lineal simple para la degradación de Antocianinas para cada temperatura a partir de los datos experimentales de concentración de antocianinas versus tiempo.	63
Tabla 11: Tabla de constantes de velocidad promedio (tres repeticiones) de primer orden y tiempo de vida media de los zumos pasteurizados de Arándano y Granada.	66
Tabla 12: Energías de Activación y valores de Q_{10} de la degradación de Antocianinas en los zumos pasteurizados de Arándano y Granada.	68
Tabla 13: Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas en el zumo de arándano, almacenadas a la temperatura de 30°C.	92
Tabla 14: Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas en el zumo de arándano, almacenadas a la temperatura de 40°C.	93
Tabla 15: Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas en el zumo de arándano, almacenadas a la temperatura de 50°C.	94
Tabla 16: Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas en el zumo de arándano, almacenadas a la temperatura de 60°C	95

Tabla 17: Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas en el zumo de granada, almacenadas a la temperatura de 30°C.	96
Tabla 18: Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas en el zumo de granada, almacenadas a la temperatura de 40°C.	97
Tabla 19: Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas en el zumo de granada, almacenadas a la temperatura de 50°C.	98
Tabla 20: Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas en el zumo de granada, almacenadas a la temperatura de 60°C.	99
Tabla 21: Análisis de Varianza para CONSTANTE DE VELOCIDAD - Suma de Cuadrados Tipo III.	100
Tabla 22: Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para constante de velocidad con intervalos de confianza del 95.0%	101
Tabla 23: Pruebas de Múltiple Rangos para constante de velocidad por Temperatura.	103
Tabla 24: Pruebas de Múltiple Rangos para constante de velocidad por Zumo.	104

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura de antocianinas en frutas y vegetales.	27
Figura 2: Ruta general de biosíntesis de las antocianinas.	28
Figura 3: Estructura de la Malvidina.	30
Figura 4: Estructura de la Cianidina.	32
Figura 5: Estructura de las antocianinas a diferentes valores de pH	36
Figura 6: Vías de degradación de antocianinas.	39
Figura 7: Esquema de la Metodología Experimental.	49
Figura 8: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Arándano (mg/L) versus el tiempo de almacenamiento a 60°C.	59
Figura 9: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Arándano (mg/L) versus el tiempo de almacenamiento a 50°C	59
Figura 10: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Arándano (mg/L) versus el tiempo de almacenamiento a 40°	60
Figura 11: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Arándano (mg/L) versus el tiempo de almacenamiento a 30°C	60
Figura 12: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Granada (mg/L) versus el tiempo de almacenamiento a 60°C.	61
Figura 13: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Granada (mg/L) versus el tiempo de almacenamiento a 50°C.	61
Figura 14: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Granada (mg/L) versus el tiempo de almacenamiento a 40°C.	62
Figura 15: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Granada (mg/L) versus el tiempo de almacenamiento a 30°C.	62
Figura 16: Degradación de las antocianinas a diferentes temperaturas en el zumo pasteurizado de arándano.	64
Figura 17: Degradación de las antocianinas a diferentes temperaturas en el zumo pasteurizado de Granda.	65
Figura 18: Gráfica de Arthenius de la degradación de antocianinas en el zumo pasteurizado de Arándano	67
Figura 19: Gráfica de Arthenius de la degradación de antocianinas en el zumo pasteurizado de Granada.	67
Figura 20: Formas estructurales predominantes de antocianinas presentes en los diferentes niveles de pH.	91
Figura 21: Gráfico de Medias.	104
Figura 22: Gráfico de Interacciones.	104

RESUMEN

El contenido de antocianinas frecuentemente se relaciona con la calidad del color y la capacidad antioxidante como es el caso de los frutos de arándano y granada. Muchos estudios de investigación han demostrado que las antocianinas y los extractos de plantas ricos en antocianinas pueden proveer potenciales beneficios para la salud. El presente trabajo de investigación tiene por objetivo determinar la cinética de degradación de antocianinas en zumos pasteurizados de granada y arándano, utilizando los modelos cinéticos de orden cero, primer y segundo orden. Se determinó que la degradación de antocianinas en los dos zumos evaluados y en las cuatro temperaturas ensayadas siguió una cinética de primer orden con una alta correlación, para el zumo pasteurizado de Arándano ($R^2 = 0.990; 0.982; 0.988; 0.984$) y para el zumo pasteurizado de Granada ($R^2 = 0.993, 0.991, 0.988$ y 0.976).

Se determinó que a la temperatura de almacenamiento más baja de este estudio (30°C) las constantes de velocidad de degradación de las antocianinas en los dos zumos fue menor, a partir de estas constantes se obtuvo tiempos de vida media ($t_{1/2}$) de 321 y 406 horas para el zumo de arándano y zumo de granada respectivamente; de esta manera se observó que las antocianinas presentes en el zumo de granada son mucho más estables respecto a las antocianinas presentes en el zumo de arándano, esto también se confirmó al obtener un valor menor de la energía de activación en el zumo de granada. Se determinó la cinética de degradación de antocianinas en zumos pasteurizados de granada y arándano a las temperaturas de 30, 40, 50 y 60°C .

ABSTRACT

The anthocyanins are often related to color quality and antioxidant capacity such as cranberry fruit and Granada. Many research studies have shown that anthocyanins and plant extracts rich in anthocyanins may provide potential health benefits. This research aims to determine the kinetics of degradation of anthocyanins in pasteurized juice and cranberry Granada, using the kinetic models of zero, first and second order. It was determined that the degradation of anthocyanins in both juices evaluated and four tested temperatures followed a first order kinetics with a high correlation to the pasteurized juice Cranberry ($R^2 = 0.990; 0.982; 0.988; 0.984$) and juice Granada pasteurized ($R^2 = 0.993, 0.991, 0.988$ and 0.976).

It was determined that the lower temperature storage study (30°C) rate constants degradation of anthocyanins in both juices was lower, from these time constants half-life ($t_{1/2}$) of 321 was obtained and 406 hours for cranberry juice and juice Granada respectively; thus it was found that anthocyanins present in the juice Granada are much more stable compared to anthocyanins present in cranberry juice, this was also confirmed by obtaining a lower value of the activation energy in the juice of Granada. the kinetics of degradation of anthocyanins was determined in Granada pasteurized juices and cranberry at temperatures of 30, 40, 50 and 60°C .

INTRODUCCIÓN

El contenido de antocianinas frecuentemente se relaciona con la calidad del color y la capacidad antioxidante de frutos y vegetales (Zhonggao *et al.*, 2005; Oh *et al.*, 2008). Además de la vitamina C, la vitamina E y los carotenoides, los polifenoles (una amplia clase de componentes que incluyen ácidos fenólicos, flavonoides, catequinas, y antocianinas) han demostrado una fuerte capacidad antioxidante (Wang y Xu, 2007). El zumo de Arándano y zumo de granada contienen altas concentraciones de antocianinas, responsables del color y además de una importante acción antioxidante, inhibidora de la producción de radicales libres, de la peroxidación lipídica y preventiva frente al cáncer (Mazza y Miniati, 2003; EFSA, 2010).

El estudio de las antocianinas en frutas, ha tomado fuerza la última década no solo por la capacidad colorante (Garzón 2008), sino también por su capacidad antioxidante (Cooke *et al.*; 2005). El interés en las antocianinas se ha intensificado debido a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas (Astrid, 2008). La acumulación de datos muestra que las antocianinas y los extractos de plantas ricos en antocianinas pueden proveer beneficios para la salud incluyendo protección del ADN (Lazze *et al.*, 2003), actividad anti-inflamatoria (Rossi *et al.*, 2003), actividad anticancerígena (Hou *et al.*, 2003; Hou *et al.*, 2004), actividad antioxidante (Wang & Jiao 2000; Matsumoto *et al.*, 2002; Oh *et al.* 2006), actividad antidiabética (Jankowski *et al.*, 2000; Tsuda *et al.*, 2003) y prevención de enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (Joseph *et al.*, 1999; Youdim *et al.*, 2000).

Durante el paso del tracto digestivo al torrente sanguíneo de los mamíferos, las antocianinas permanecen intactas y ejercen efectos terapéuticos conocidos que incluyen la reducción de la enfermedad coronaria, efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos; además del mejoramiento de la

agudeza visual y del comportamiento cognitivo (Miyazawa *et al.*, 1999). Los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante ya que estudios con fracciones de antocianinas provenientes del vino han demostrado que estas son efectivas en atrapar especies reactivas del oxígeno, además de inhibir la oxidación de lipoproteínas y la agregación de plaquetas (Ghiselli *et al.*, 1998).

Las antocianinas son compuestos lábiles y su estabilidad varía en función a su estructura y la composición de la matriz en la que se encuentre (Wrolstad, 2000; Delgado-Vargas y Paredes-López, 2003). La alta vulnerabilidad de las antocianinas a la temperatura (Kirca y Cemeroglu, 2003; Kirca *et al.*, 2006; Harbourne *et al.*, 2008), presencia de oxígeno (Starr y Francis, 1968), ácido ascórbico (Shrikhande y Francis, 1974) y peróxido de hidrógeno (Özkan M *et al.*, 2002, 2005), así como cambios en el pH (Kirca *et al.*, 2006; Cevallos-Casals y Cisneros-Zevallo, 2004; Fossen *et al.*, 1998), permiten valorar la calidad de los productos que los contienen. La degradación térmica de compuestos como las antocianinas puede ser evaluada mediante la cinética química aplicada a los alimentos (Labuza 1984).

Objetivo general

- Determinar la cinética de degradación térmica de antocianinas en el zumo pasteurizado de Granada (*Punica granatum*) y en el zumo pasteurizado de Arándano (*Vaccinium myrtillus*).

Objetivos específicos

- Determinar la concentración de antocianinas a diferentes tiempos y temperaturas de almacenamiento.
- Determinar el orden de reacción de las antocianinas a las diferentes temperaturas de almacenamiento.



- Determinar las constantes de velocidad de degradación de antocianinas a las diferentes temperaturas de almacenamiento.
- Determinar el tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de las antocianinas a las diferentes temperaturas de almacenamiento.
- Determinar la energía de activación (E_a) y el factor Q_{10} de la degradación de antocianinas.
- Comparar las constantes de velocidad de degradación de antocianinas determinadas en cada zumo.

I. FUNDAMENTO TEÓRICO

En los últimos años se ha incrementado el interés por el concepto de "alimento funcional", los consumidores cada vez están más interesados en alimentos saludables y la industria alimentaria está comprendiendo la potencialidad del mercado de los alimentos funcionales; a nivel mundial se ha iniciado una intensa actividad investigadora en el área de estos nuevos alimentos. El término alimento funcional hace referencia a alimentos o ingredientes que mejoran el estado general de salud y/o reducen el riesgo de enfermedad (Rubiano, 2006).

1.1. Arándano

1.1.1. Nombres comunes

Mirtilo, Anavia, Ráspano, Rasponera, Arandilla, Arandanera, Arandaño, Meruéndano, Raspanera, Raspona, Amabia.

1.1.2. Nombre científico

Vaccinium myrtillus.

1.1.3. Taxonomía y morfología

a) Taxonomía

El arándano es un arbusto que pertenece a la familia de las Ericáceas, género *Vaccinium*. Las especies de mayor importancia que se producen son los "arándanos altos del norte" (*V. corymbosum*), "arándanos altos del sur" (híbridos inter - específicos de *V. corymbosum* y *V. darrowi*), "arándanos bajos" (*V. angustifolium*) y "arándanos ojo de conejo" (*V. virgatum*, ex *V. ashei*). Existe además el "arándano de altura media", un híbrido entre *V. corymbosum* y *V. angustifolium* (Zapata, 2014).

b) Morfología

El fruto del arándano es una baya casi esférica, que según la especie y cultivar, puede variar en tamaño, de 0.7 a 1.5 centímetros de diámetro, y en color, desde azul claro hasta negro. La epidermis del fruto está cubierta por secreciones cerosas, que le dan una terminación muy atractiva, lo que tiene gran importancia a la hora de su comercialización (Zapata, 2014).

1.1.4. Composición nutricional

Tabla 1. Composición nutricional del arándano (*Vaccinium myrtillus*).

Componentes	Cantidad (g/100)
Agua	83.2
Carbohidratos	15.3
Fibras	1.5
Proteínas	0.7
Grasas	0.5
Pectinas	0.5
Azúcares totales	10 a 14
Sacarosa	0.24
Fructuosa	4.04
Glucosa	3.92
Contenido de solubles	10.1-14.2
Acidez titulable	0.3-0.38
Vitamina A (U.I)	100
Ácido ascórbico (mg/100g)	14

Fuente: Facultad de Medicina de la Universidad de Oporto, Portugal, (2010).

1.1.5. Variedades de arándano

El Perú cuenta con un potencial probado para la producción temprana, pero falta investigación respecto al comportamiento de las variedades en los distintos climas, aun así, hay una limitante en la disponibilidad de variedades. Teniendo en cuenta que la variedad "Biloxi" es una buena alternativa complementaria, que se debe seguir probando, por lo que existen muchos centros que están desarrollando variedades tempranas. Entre las variedades de arándano tenemos: (Vial, 2006).

- **"O'neal"** es de bajo vigor y productividad, post cosecha regular.
- **"Misty"** es de vigor medio, tiende a sobre producir, calibre irregular, sensible a enfermedades de suelo y madera.
- **"Legacy"** es vigorosa, fruta de muy buena calidad. Se comporta de manera muy distinta en diferentes lugares.
- **"Biloxi"** produce fruta en brotes del mismo año. Algo totalmente inusual, vigorosa, larga floración, útil para cultivos siempre verdes.
- **"Briggita"** es vigorosa, fruta de muy buena calidad, en firmeza, apariencia y sabor. Muy productiva.
- **"Star"** su cosecha es concentrada, fruta grande, muy buena calidad, poco sabor, rendimientos variables.
- **"Jewel"** es más productiva y vigorosa que Star, fruta de buena calidad, pero tiende a ablandarse.

- **“Emerald”** es una fruta muy grande y muy firme de 18-20 mm. Es la más vigorosa de todas las variedades.
- **“Primadonna”** es firme, su productividad media está entre Star y Emerald. Fruto grande y de buena calidad en apariencia y sabor.
- **“Scintilla”** es de tamaño grande, buen color, sabor y muy firme. Es vigorosa, fruta azul claro, buen balance entre dulzor y acidez.
- **“Ventura”** es productiva, vigorosa, fruta azul claro, buen balance entre dulzor y acidez.
- **“Corona”** es vigorosa y productiva, frutos firmes, muy grandes y de buen sabor.

1.1.6. Cultivo del Arándano en el Perú

Aunque la mayor cantidad de información histórica sobre la introducción del cultivo de arándano en el Perú cita a los años 2007 y 2008 como punto de partida, lo cierto es que Alex Hall (gerente general de Agrícola Los Medanos), una empresa agroexportadora ubicada en Villacurí, Ica realizó los primeros ensayos con este cultivo a partir del año 2004, mucha perspectiva apuntó hacia este cultivo, iniciando así una serie de ensayos en esta zona con variedades como Misty, O’neil y Biloxi.

Los resultados iniciales fueron alentadores, pues contra todo pronóstico este cultivo empezó a desarrollarse con normalidad bajo estas condiciones y sobrepasó todas las expectativas.

El arándano es un cultivo que tiene muchas oportunidades para nuestro país y al igual que en otros cultivos de exportación, creceremos poco a poco, pero en forma segura y sostenible. Actualmente, los precios del arándano en los mercados del hemisferio norte lo hacen un cultivo atractivo por su rentabilidad y los resultados hasta el momento muestran que es un cultivo que se adapta muy bien tanto a condiciones de sierra como de costa con muy buena productividad.

Las nuevas variedades que se están introduciendo también permiten tener mayor rango de posibilidades para este cultivo y así como son útiles las experiencias de otros países vecinos, son de mucha importancia nuestros propios resultados basados en experiencias locales (Agroenfoque 2013).

1.1.7. Mercado y Comercio de Arándano en el Perú.

Sierra Exportadora (2014), viene impulsando la producción de arándanos, apoyando a los pequeños y medianos productores de la sierra. Se creó el programa Perú Berries, el cual actúa como intermediario en la venta de arándanos, impulsa el cultivo y articula a los pequeños y medianos productores con las grandes empresas agroindustriales.

Asimismo, se vienen realizando capacitación a productores y empresarios sobre la forma de cultivo de arándanos, así como las oportunidades de mercado, contando con expertos en el cultivo y comercio de arándanos. En cuanto al poder de negociación de los consumidores se dice que la minoría peruana dispuesta a comprar arándanos es muy sensible al precio pues se consideran muy caros en relación a otras frutas y también escasos.

Aunque la mayoría de la población peruana no reconoce o no ha consumido arándanos, el mercado mundial demanda arándanos principalmente como fruto fresco y por lo tanto existe la oportunidad de aprovechar el creciente mercado que consume arándanos con valor agregado.

En cuanto a las oportunidades de la Foda, existen posibilidades de brindar más productos a base de arándanos al consumidor, dada la creciente demanda de estos productos y el gran apoyo de Sierra Exportadora para incentivar la inversión en arándanos. El Perú cuenta con la capacidad de abastecer al mercado internacional en épocas de escasez durante los meses de setiembre a noviembre, donde se cosechan los arándanos en el país (Sierra Exportadora 2014).

Tabla 2. Principales Mercados de Exportación durante los últimos 3 años de arándanos del género *vaccinium*.

País Socio	Cantidad (kg)			% de participación		
	2010	2011	2012	2010	2011	2012
Reino unido	336	1,956	18,127	5%	29%	41%
Holanda	324	0	14,932	5%	0%	33%
Bélgica	1,449	1,836	7,802	23%	27%	17%
Estados unidos	0	2,703	1,600	0%	40%	4%
Costa Rica	0	0	1,000	60%	0%	2%
Otros	3,800	225	1,261	7%	3%	3%
Total	6,359	6,722	44,721	100%	100%	100%

Fuente: SUNAT (2012).

1.2. Granada

1.2.1. Nombres comunes

Granado, Granado agrio, Granado enano.

1.2.2. Nombre científico

Punica granatum.

1.2.3. Taxonomía y morfología

a) Taxonomía:

La granada pertenece a la familia de las Punicáceas, género *Punica*, se originó desde los Balcanes hasta el Himalaya (Valdez 2011).

b) Morfología

Según Valdez (2011), la granada es una baya denominada balausta, es globoso, de 10-15 cm de diámetro, con la piel correosa de amarillenta a rojiza y con numerosas semillas envueltas en una pulpa comestible rosada

1.2.4. Variedades de la Granada

Las variedades que más se cultivan en Perú es la Mollar, la Valenciana al igual que en España. En la India que es la principal zona productora y de donde es originaria la granada existen muchas variedades, la preferencia es por aquellas con pulpa carnuda, jugosa alrededor de las semillas.

Los tipos con las semillas relativamente suaves se clasifican a menudo como "sin semillas". Entre las mejores están "Bedana" es casi grande, con parduzco o la corteza blanquecina, reduce rosáceo-blanco a pulpa, dulce, las semillas suavemente, "Kandhari es grande, de color rojo oscuro, con pulpa de color rosa oscuro o sangre-roja, un poco ácida y semillas duras. (AMPEX, 2006).

Según AMPEX, 2006 Otros incluyen:

- **“Alandi”** de tamaño mediano, con la pulpa roja o rosada, carnuda, semillas muy duras.
- **“Dholka”** grande, amarillo-rojo, con los remiendos de oscuro-rosado y de la púrpura en la base, o todo-sobre verdoso-blanco; corteza gruesa, carnudo, purpurino-blanco o blanco, dulce, pulpa; semillas duras.
- **“Kabul”** grande, con la corteza rojo oscuro y amarilla claro; pulpa carnuda, rojo oscuro, dulce, levemente amarga.
- **“Rojo del Muscat”** pequeño a las semillas del medio, con la corteza fina o bastante gruesa, carnudas, jugosas, medio-dulces de la pulpa, suaves.
- **“Shell de papel”** redondo, medio grande, amarillo claro ruborizado con color de rosa; con la pulpa carnuda, rojiza o rosada, dulce, muy jugosa de la corteza muy fina, y semillas suaves. Osos pesadamente.
- **“Pune”** grande, con la corteza rojo oscuro, gris o grisáceo-verde, manchada a veces, y la pulpa naranja-roja o rosado-y-roja.
- **“Rubí español”** redondo, pequeño-medio o grande; brillante-rojo, con la corteza fina, carnudo, levantar-coloreada, el dulce, la pulpa aromática, y semillas pequeñas-medias, bastante suaves. Medio considerado en calidad.
- **“Vellodu”** a la pulpa grande, con la corteza medio-gruesa, carnuda, jugosa y a las semillas.



- **“Blanco”** grande, color crema del Muscat teñida con color de rosa; corteza fina; pulpa carnuda, crema-coloreada, dulce; siembra.
- **“Maravilloso”** originado como corte en la Florida y propagado en California en 1896. La fruta es el púrpura-rojo muy grande, oscuro, con la corteza medio-gruesa; de color rojo oscuro, jugoso, pulpa del winey. La planta es vigorosa y productiva.

Según AMPEX, 2006, en España las más conocidas y comerciales son las siguientes:

- **“Mollar de Elche”**. Árbol muy vigoroso, de rápido desarrollo, fruto de tamaño grande, grano grueso, rojo oscuro y pepitilla (semilla) muy reducida y blanda, madura entre octubre y noviembre.
- **“Mollar valenciana”**. Árbol vigoroso, fruto de tamaño grande, forma redondeada y aplanada, granado grueso y pepitilla muy reducida. Se caracteriza por ser de recolección temprana. Los precios de venta suelen ser significativamente más elevados, debido a la escasez de producto en la época de recolección.
- **“Wonderfull”**. La granada maravillosa se trata de una fruta más grande que lo normal con un sabor más agradable. Roja su carne, jugosa con un sabor agudo. Crecimiento de hasta cerca de 20 pies (aprox. 6 metros) de alto o acortados a la forma.

1.2.5. Cultivo de Granada en el Perú

Según AMPEX (2006), la producción regional de granada fresca en el Perú se concentra en 3 regiones lidera la producción nacional Ica, que concentra el 51% de la producción nacional y además es la región donde

la empresa Agrícola Athos S.A., que es la principal empresa exportadora de granada fresca en el Perú, tiene sus cultivos con variedades distintas a las que se siembran en los valles de Huaral y Chilca, la variedad que cultiva la Empresa Agrícola Athos S.A es una variedad californiana de características más resistentes para largos viajes lo que le permite exportar a diferentes países del mundo.

Según dicha organización, en segundo lugar, esta Lima con 21% de la producción, concentrándose la producción específicamente en los valles de Huaral y Chilca fundamentalmente en estos valles se cultiva la variedad Mollar la cual es menos resistente a los viajes largos. Esta zona de Lima es una de las principales zonas de acopio para las empresas exportadoras.

Asimismo, AMPEX señala que en tercer lugar está la región La Libertad con un 12%. Otras regiones de la costa tienen un gran potencial para iniciarse en este cultivo sobre todo para destinarlo a la exportación son Tacna que actualmente concentra el 1.3% de la producción nacional, Moquegua con 1.1% de la producción nacional y Lambayeque con el 1% de la producción nacional estos departamentos tienen las condiciones para incrementar su producción y destinarla a la exportación.

1.2.6. Mercado y Comercio de Granada en el Perú.

Según el Ministerio de Comercio Exterior del Perú (2012), la granada ya es una estrella de las exportaciones peruanas y puede convertirse en un nuevo boom en los próximos cuatro años (Ver tabla 3).

Mario Ocharán, subdirector de inteligencia y prospectiva comercial de Prom-Perú opinó en tal sentido. Informó que las ventas de este producto

pasaron de US\$ 1,1 millones en el 2007 a US\$ 11,6 millones en el 2011, lo que representó un crecimiento promedio de 80% anual en ese período. Se prevé que al cierre del 2016 las exportaciones de Granada lleguen a US\$ 45 millones anuales.

Este crecimiento exponencial, según Ocharán, se debe a que los consumidores buscan cada vez más productos con una alta concentración de antioxidantes. El principal mercado de la granada peruana es Holanda (Países Bajos), cuyas compras alcanzaron los US\$4,3 millones en el 2001. Otro mercado destacado es Rusia, al cual se exportaron granadas por un valor de US\$2,7 millones en el 2011.

Tabla 3. Principales Mercados de Exportación de Granada en el mes de junio 2014 y junio 2015.

Producto	País	Junio 2014 (Kg)	Junio 2015 (Kg)
GRANADA	Canadá	17,100	68,514
	Hong Kong	34,656	86,514
	Italia	-	51,346
	Neandertal	103,968	614,574
	Rusia	-	173,280
	Singapur	-	16,690
	Ucrania	-	17,168
	Reino Unido	138,624	714,583
	Estados Unidos	67,104	50,867

Fuente: AGRO VICTORIA S.A.C. (2015).

1.2.7. Composición nutricional

Tabla 4. Composición nutricional de la granada (*Punica granatum*).

Componente	Cantidad por 100 g de porción comestible
Energía (kcal)	34.00
Proteínas (g)	0.7
Grasa (g)	0
Fibra (g)	0.2
Calcio (mg)	8
Hierro (mg)	0.6
Magnesio (mg)	3
Fósforo (mg)	15
Yodo (µg)	0
Potasio (mg)	275
Sodio (mg)	5
Selenio (µg)	0.6
Zinc (mg)	0.3
Vitamina C (mg)	5.7
Tiamina (mg)	0.02
Riboflavina (mg)	0.02
Vitamina B6 (mg)	0.11
Vitamina A (mg)	3.5
Vitamina D (µg)	0

Fuente: EFSA, 2010.

1.3. Antocianinas

La palabra antocianina deriva del griego *anthos* (flor) y *kyanos* (azul oscuro). Forman un grupo de aproximadamente 500 compuestos que presentan color rojo, púrpura y azul de muchas frutas y vegetales, son solubles en agua, pertenecen al grupo de flavonoides. Generalmente en las frutillas son responsables del color rojo, violeta y azul. Las frutas

rojas, vegetales y vino tinto son las fuentes más ricas en antocianinas para humanos (Delgado-Vargas y col., 2000; McGhie y col.; 2007).

Químicamente las antocianinas son derivados del catión 2-fenilbenzopireno y contienen dos anillos benzóilos (A y B) separados por un anillo heterocíclico (C) (Figura 1). Las antocianinas más comunes son cianidina, delфина, pelargonidina, petunidina y malvidina (Hosseinian y Beta, 2007).

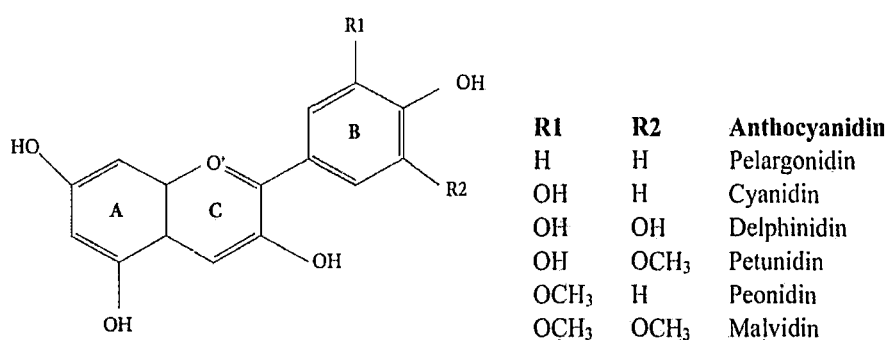


Figura 1: Estructura de antocianinas en frutas y vegetales.

Fuente: De Pascual y Sánchez (2008)

Las variaciones estructurales de las antocianinas se deben a las diferencias en el número de grupos hidroxilo en la molécula, el grado de metilación, la naturaleza y número de moléculas de azúcares a la molécula de aldehído (aglicona) y la posición de ésta, así como a la naturaleza y número de ácidos aromáticos y alifáticos unidos a los azúcares (Delgado-Vargas y col., 2000; McGhie y col.; 2007).

Las antocianinas se sintetizan a partir de la condensación de dos moléculas precursoras (Figura 2): malonil CoA y P-cumaril-CoA. Cabe

resaltar que esta ruta sintética también es compartida por otros compuestos fenólicos.

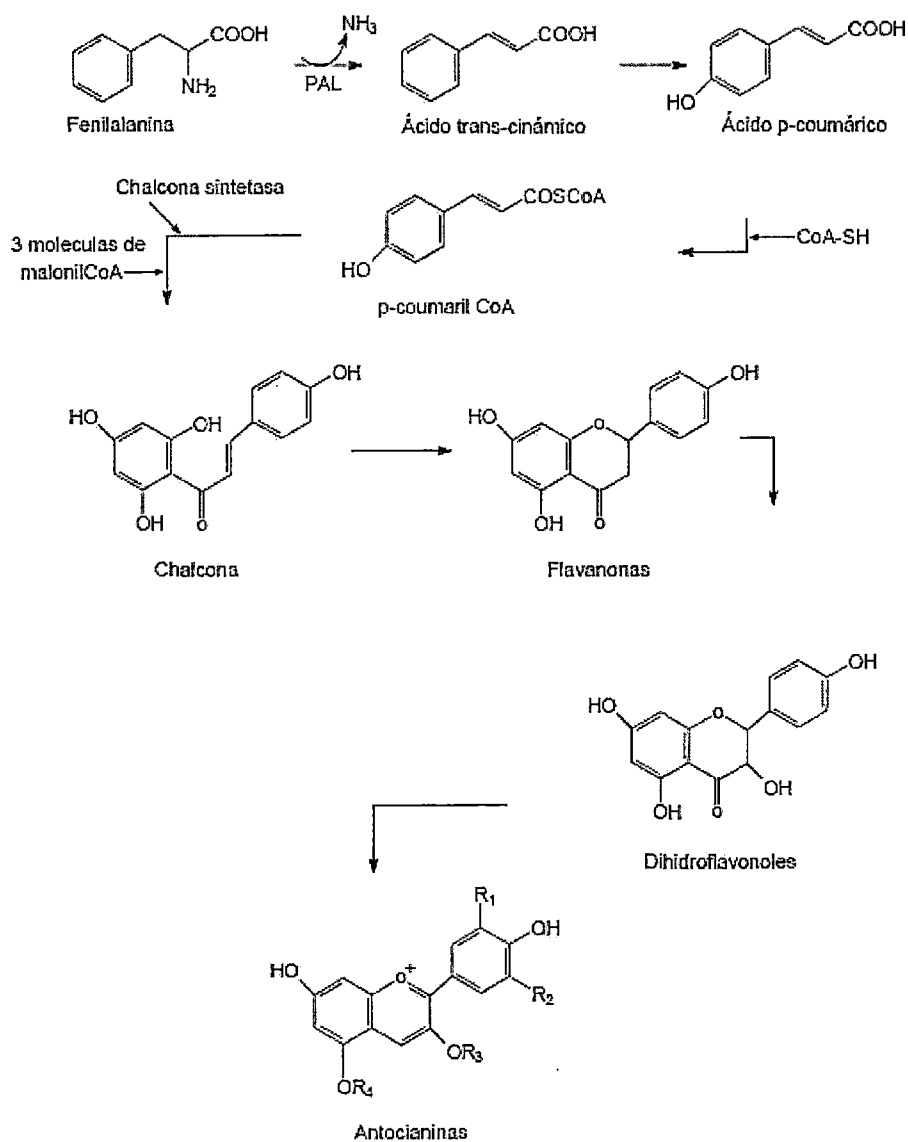


Figura 2: Ruta general de biosíntesis de las antocianinas.

Fuente: Delgado-Vargas (2000).

La principal reacción de biosíntesis de los flavonoides es la condensación de los acilos provenientes de cumaril-CoA y tres moléculas de malonil-CoA catalizada por la enzima chalcona isomerasa que lleva a cabo la isomerización de chalcona a flavona, misma que es convertida en flavones o antocianinas (Gauche, 2010).

Las antocianinas son compuestos reactivos, se degradan rápidamente o reaccionan con otros sustituyentes en mezclas y forman compuestos coloreados u oscuros. La pérdida de pigmentación de las antocianinas puede ocurrir en presencia de oxígeno, algunas enzimas o por exposición a altas temperaturas. (Jackman y col., 1987).

Las principales fuentes dietéticas de las antocianinas son frutos rojos, como las bayas y las uvas rojas, vino tinto, cereales y maíz morado, así como algunas verduras como la col roja (Lopes *et al.*, 2002). El consumo diario de antocianinas totales se ha estimado entre 3 y 215 mg / día (Chun *et al.*, 2007).

Dado que las antocianinas en la dieta se restringen a las bayas, frutas rojas y el vino tinto se debe suponer que existen variaciones entre los individuos debido a las diferencias en la ingesta de estos productos ricos en antocianinas (Clifford, 2000).

1.3.1. Antocianinas en Arándano

El arándano es reconocido por sus propiedades benéficas sobre la salud, existen numerosos estudios convincentes de este potencial (Seeram, 2006 b; Seeram, 2008; Seeram, 2008a). Contiene compuestos fenólicos, como antocianinas, flavonoides, proantocianidinas, ácidos fenólicos y estilbenos (Neto, 2007).

Existen publicaciones sobre la actividad antimutagénica y anticarcinogénica de arándano los cuales se corroboraron utilizando ensayos biológicos (Neto, 2007a). Los efectos biológicos de los compuestos fenólicos han sido reportados *in vitro* e *in vivo* (Manach, 2004; Manach, 2005). Las antocianinas están presentes en concentraciones elevadas en el arándano, cabe resaltar que no solamente poseen capacidad antioxidante, sino también tienen ciertos efectos fisiológicos sobre supresión de cáncer (Stone-Zafra y col., 2007).

Skrede *et al.*, (2000), realizaron cambios en antocianinas y polifenoles durante el procesamiento de jugo de arándano por espectroscopia de masas y demostraron que la antocianidina con mayor porcentaje en el arándano es la malvidina. Los miembros del género *Vaccinium* son fuentes ricas de antocianinas, flavonoides, proantocianidinas o taninos condensados (Kalt y col., 2000). Las frutillas del género *Vaccinium* son ampliamente reconocidas por su capacidad antioxidante (Laplaud, 1997).

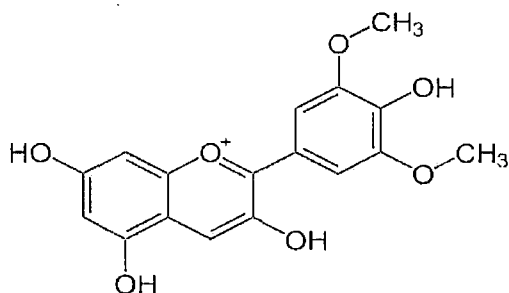


Figura 3: Estructura de la Malvidina.

Fuente: Walford (1980).

1.3.2. Antocianinas en Granada

La granada además de los arilos, la cáscara y el albedo, presentan un mayor contenido de fenoles solubles totales, flavonoides y taninos hidrolizables, así como una mayor capacidad antioxidante (Gil y col.,

2000; Tzulker y col., 2007; Rinaldi y col., 2013). También se ha demostrado que los taninos hidrozilables de la granada pueden actuar como antioxidantes, agentes antitumorales o antihepatotóxicos, y mejorar la salud cardiovascular. Así mismo, presentan propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, antivirales, antidiabéticas (De la Cruz y col., 2011).

Se ha reportado que los compuestos fenólicos son uno de los principales compuestos nutraceuticos de la granada, a los cuales se les han atribuido sus propiedades benéficas a la salud. Fischer y col. (2011a, 2011b) reportaron alrededor de cincuenta compuestos en jugos de granada obtenidos de arilos y de exprimidor, así como en la cáscara y el albedo.

De acuerdo a sus espectros UV y de masas reportaron antocianinas, galotaninos, elagitaninos y ácidos hidroxibenzoicos. Las antocianinas son el grupo más grande de los flavonoides presentes en los arilos y son responsables del color característicos del jugo de granada, además se les ha asociado con la prevención de enfermedades cardiovasculares, obesidad, diabetes y cáncer (Mena y col., 2011; Viladomiu y col., 2013).

Entre las antocianinas encontradas en el jugo de granada destacan la delfinifina-3-glucósido, delfinidina-3,5-diglucósido, pelargonidina-3-glucósido, pelargonidina-3.5-diglucósido, cianidina-3-glucósido y cianidina-3,5-diglucósido, siendo ésta última la más abundante en la granada (Johanningsmeier y Harris, 2011). Gil *et al.*, (2000) estudiaron la actividad antioxidante del zumo de granada y su relación con la composición fenólica y procesamiento, y obtuvieron que la cianidina-3glucósido es la antocianina más abundante en el jugo de granada.

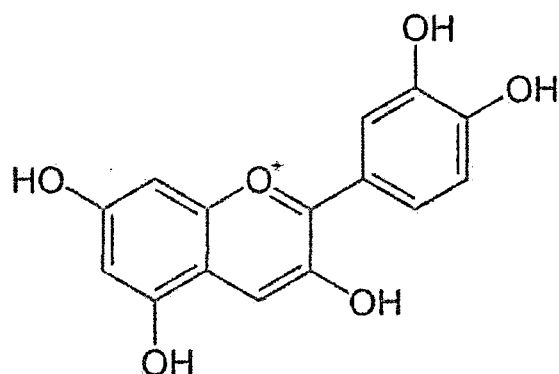


Figura 4: Estructura de la Cianidina

Fuente: Fimognari (2005).

1.3.3. Propiedades funcionales de la antocianinas

Los antocianos son los compuestos considerados responsables del color rojo de las granadas; la importancia de estos compuestos fenólicos radica en su acción antioxidante que protege frente a los radicales libres y retrasa el proceso de envejecimiento de las células. La actividad captadora de radicales libres de estos flavonoides ha sido demostrada en distintos estudios (Espín *et al.*, 2000). Aunque en distintos estudios se han indicado las amplias variaciones que se dan en cuanto al contenido de estos nutrientes dependiendo de la variedad (Fadavi, *et al.*, 2005).

Además, también se han descrito compuestos en estos frutos que presentan propiedades antioxidantes, anticancerígenas así como un efecto protector frente a la arterioesclerosis (Aviram *et al.*, 2000; Adams *et al.*, 2006). Se estima que un 10 % de la capacidad antioxidante del zumo de granada se debe a la presencia de estos polifenoles, los antocianos (Gil *et al.*, 2000).

Tristan *et al.* (2005) realizaron bioensayos que demuestran que los arándanos inhiben las etapas de iniciación, promoción y progresión de la carcinogénesis. Referente a la actividad antiinflamatoria, Wang y Mazza (2002) encontraron en extractos concentrados de antocianinas efecto inhibitorio de la producción de óxido nítrico en macrófagos activados.

De acuerdo con Tristan *et al.*, (2005) antocianinas provenientes de cuatro especies de arándanos silvestres: *Amelanchier alnifolia*, *Viburnum trilobum*, *Prunus virginian* y *Shepherdia argétea*, muestran propiedades hipoglucémicas. Tales frutos, con alto contenido de sustancias fitoquímicas, han sido consumidos tradicionalmente por tribus norteamericanas para la protección de enfermedades crónicas como diabetes.

El zumo de Arándano y granada contienen altas concentraciones de antocianinas, compuestos flavonoides responsables del color y además de una importante acción antioxidante, inhibidora de la producción de radicales libres, de la peroxidación lipídica y preventiva frente al cáncer (Cacace y Mazza, 2003; EFSA, 2010).

Por todo lo anterior, las antocianinas gradualmente están siendo incorporadas dentro de productos alimenticios y bebidas como colorantes, alimentos funcionales o suplementos alimenticios. El aumento en el contenido de antocianinas con mayor estabilidad y vida de anaquel prolongada incrementará las aplicaciones alimenticias, el consumo total y con ello incrementar su efecto benéfico en la salud humana (Shipp y Abdel-Aal, 2010).

1.3.4. Estabilidad de las antocianinas

La propiedad de las antocianinas de ser solubles en agua facilita su incorporación en numerosos sistemas acuosos alimenticios, estas cualidades hacen que las antocianinas sean colorantes naturales atractivos (Longo y Vasapollo 2006); sin embargo, las antocianinas aisladas son altamente inestables y muy susceptibles a la degradación durante el almacenamiento y el procesamiento.

Su estabilidad se ve afectada por varios factores tales como pH, temperatura de almacenamiento, luz, oxígeno; de esta forma su inestabilidad es una limitante para su aplicación como colorante comercial en la industria de alimentos (Castañeda *et al.*, 2009; Olaya *et al.*, 2009; Owusu 2005). Polo *et al.*, (2004), las antocianinas pueden perder color durante el calentamiento, porque el equilibrio se desplaza hacia las formas incoloras carbinol y chalcona.

Por lo tanto, la estabilidad de las antocianinas en relación con las variaciones de pH y la temperatura es uno de los principales problemas de estudio químico en matrices alimentarias. La medición de la capacidad antioxidante de un alimento ha tomado mucho interés debido a que ofrece información sobre la estabilidad a los procesos oxidativos, además de la contribución de muchas sustancias fitoterapéuticas que tienen actividad antioxidante y aportan beneficios para la salud (Rojano *et al.*, 2012).

1.3.5. Factores que influyen en la estabilidad de antocianinas

Existen diversos factores que influyen en la estabilidad de las antocianinas. La estructura de éstas puede verse afectada en cualquier etapa de un proceso tecnológico, como por ejemplo un proceso de extracción de antocianinas de un material vegetal, como así también

durante un tratamiento térmico o durante el almacenamiento de un producto que las contiene (Zapata, 2014).

- **El pH**

Las antocianinas pueden encontrarse en diferentes formas químicas dependiendo del pH, es decir que este factor influye en su estructura y por lo tanto en su estabilidad (Figura 5). A pH 1 predomina el catión flavilio que es de color rojo y es la forma más estable de las antocianinas, a valores de pH entre 2 y 4 ocurre la pérdida de un protón y adición de agua, encontrándose las antocianinas preferentemente bajo las formas quinodales de color azul. A pH entre 5 y 6 se observan las especies pseudobase carbinol, que es incolora, y chalcona, de color amarillo (Figura 5) ambas bastante inestables. A pH superiores a 7 se produce la degradación rápida de las antocianinas por oxidación con el aire.

Esta reacción se ve afectada, además del pH, por la presencia de sustituyentes presentes en el anillo B (Moldovan *et al.*, 2012; Castañeda *et al.*, 2009; Garzón, 2008). A pH entre 4 y 6, pH característico de las frutas y hortalizas frescas o procesadas, se observa una mezcla en equilibrio de las formas catión flavilio, bases quinodales y carbinol, como así también de la forma chalcona (Moldovan *et al.*, 2012).

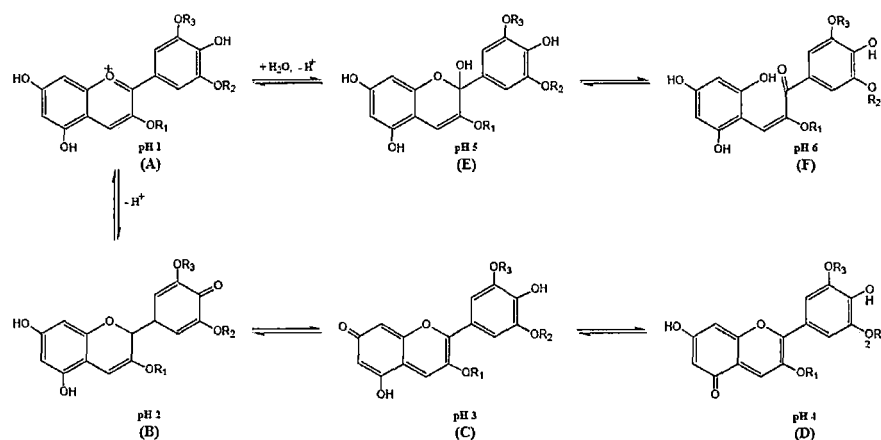


Figura 5: Estructura de las antocianinas a diferentes valores de pH.

Dónde R1= H o glúcido, R2 y R3= H o metilo

Fuente: Castañeda *et al.*, (2009).

- Temperatura

La temperatura es otro de los factores críticos que influyen en la degradación de antocianinas. Las conversiones estructurales de las antocianinas son reacciones endotérmicas. Resisten bien procesos térmicos a altas temperaturas durante cortos periodos de tiempo. Por efecto del calor (a temperaturas por encima de los 60°C) se degradan según una cinética de primer orden (Min-Sheng y Po-Jung, 2007).

Por otra parte, un estudio sobre la cinética de degradación de antocianinas durante el tratamiento térmico de jugo de arándanos, entre las temperaturas de 40 y 80°C, señaló que ésta fue de primer orden y que la degradación fue mayor a valores más altos de temperatura (Pereira Kechinski *et al.*, 2010). Wang y Xu (2007) estudiaron también la cinética de degradación de antocianinas, en este caso en jugo de mora, durante el tratamiento térmico y el almacenamiento y llegaron a la misma conclusión que Pereira Kechinski *et al.*, (2010). Hubo una pérdida de



antocianinas, tanto durante el tratamiento térmico como durante el almacenamiento. Esta pérdida siguió una cinética de primer orden. Además, la degradación de antocianinas aumentó con el incremento de la temperatura.

Timberlake 1980, estudió aspectos de antocianinas particularmente relacionadas con las bebidas y concluye que los incrementos de temperatura resultan en pérdida del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula y apertura de anillo con la consecuente producción de chalconas incoloras.

- **Oxígeno**

Las antocianinas pueden oxidarse por reacción directa con oxígeno, o bien a través de una oxidación indirecta en la que éstas reaccionan con compuestos que han sido previamente oxidados, dando lugar a la formación de productos de color marrón o incoloro. También, pueden reaccionar con radicales de oxígeno actuando como antioxidantes. Estos mecanismos de oxidación se ven favorecidos cuando se eleva la temperatura (Rein, 2005).

- **El Agua**

Cuando los azúcares se encuentran a altas concentraciones, la actividad de agua es baja, por lo que las moléculas de agua tienen menores posibilidades de atacar el catión flavilio para formar la base carbinol. Sin embargo, cuando los azúcares están en bajas concentraciones la actividad de agua no se ve afectada, por lo que sus productos de degradación (hidroximetilfurfural y furfural) aceleran la degradación de las antocianinas (Kopjar y Piližota, 2009; Lewis y Walker, 1995).

- **La Luz**

La luz es un factor que acelera la degradación de las antocianinas (Delgado-Vargas *et al.*, 2000). Ferreira Ozela *et al.*, (2007), al estudiar el efecto de la luz sobre la estabilidad de las antocianinas en extracto de frutos de espinaca blanca, concluyeron que la luz ejerce un efecto adverso sobre su estabilidad.

Laleh *et al.*, (2006) llegaron a la misma conclusión en su investigación referida a la estabilidad de antocianinas presentes en extractos de frutos de 4 especies de berberies, como así también Devi *et al.*, (2012) al estudiar la estabilidad de antocianinas extraídas de salvado de sorgo rojo. Por lo tanto, resulta importante proteger, no solo del oxígeno, sino también de la luz a los productos ricos en antocianinas.

1.3.6. Vías de degradación de antocianinas

La principal vía de degradación de las antocianinas es la hidratación del catión flavilio, debido al ataque nucleofílico del agua sobre el carbono 2 del catión, como se puede observar en el siguiente esquema (Davis y Mazza, 1993) (Ver figura 6).

Hidratación. - Da lugar a la base incolora del carbinol incolora. Entre pH 4 y 5.5 habrá poco color, ya que las dos formas coloreadas estarán en bajas concentraciones y el equilibrio se desplazará a las formas incoloras. Por lo tanto, la forma chalcona es la más susceptible a la degradación, y la forma iónica flavilio es la más aceptable (Chandra, 1992; Wesche-Ebeling *et al.*, 1996). Con esto se sabe que una de las desventajas de las antocianinas como colorantes de alimentos es la ausencia de color en soluciones ligeramente ácidas o neutras.

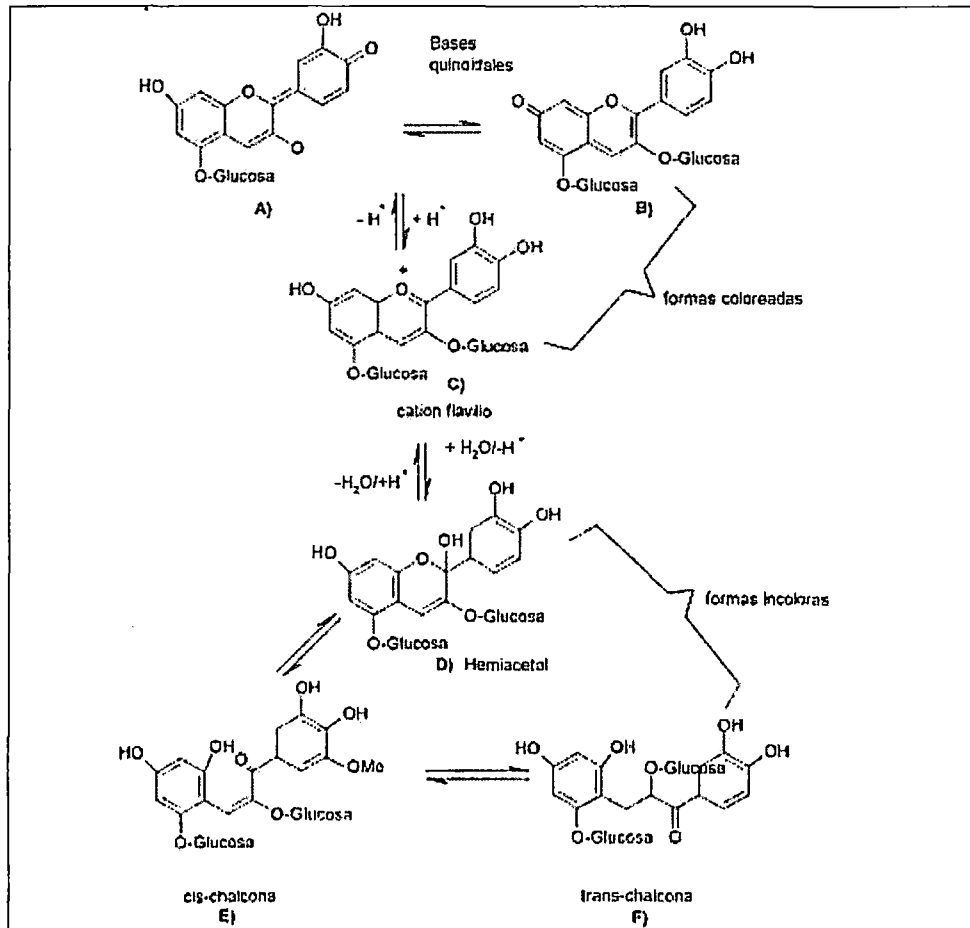


Figura 6: Vías de degradación de antocianinas.

Fuente: Brouillard (1977).

1.4. Zumo

Según la Norma General del Codex para Zumos (Jugos) y Néctares De Frutas (CODEX STAN 247-2005), por zumo (jugo) de fruta se entiende el líquido sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras y frescas o frutas que se han mantenido en buen estado por procedimientos adecuados, inclusive por tratamientos de superficie aplicados después de

la cosecha de conformidad con las disposiciones pertinentes de la Comisión del Codex Alimentarius.

Algunos zumos (jugos) podrán elaborarse junto con sus pepitas, semillas y pieles, que normalmente no se incorporan al zumo (jugo), aunque serán aceptables algunas partes o componentes de pepitas, semillas y pieles que no puedan eliminarse mediante las buenas prácticas de fabricación (BPF).

Los zumos (jugos) se preparan mediante procedimientos adecuados que mantienen las características físicas, químicas, organolépticas y nutricionales esenciales de los zumos (jugos) de la fruta de que proceden. Podrán ser turbios o claros y podrán contener componentes restablecidos de sustancias aromáticas y aromatizantes volátiles, elementos todos ellos que deberán obtenerse por procedimientos físicos adecuados y que deberán proceder del mismo tipo de fruta. Podrán añadirse pulpa y células obtenidas por procedimientos físicos adecuados del mismo tipo de fruta.

El zumo (jugo) de fruta se obtiene como sigue:

Zumo (jugo) de fruta exprimido directamente por procedimientos de extracción mecánica.

Por zumo (jugo) concentrado de fruta se entiende el producto que se ajusta a la definición dada inicialmente, salvo que se ha eliminado físicamente el agua en una cantidad suficiente para elevar el nivel de grados Brix al menos en un 50% más que el valor Brix establecido para el zumo (jugo) reconstituido de la misma fruta.

En la producción de zumo (jugo) destinado a la elaboración de concentrados se utilizarán procedimientos adecuados, que podrán combinarse con la difusión simultánea con agua de pulpa y células y/o el orujo de fruta, siempre que los sólidos solubles de fruta extraídos con agua se añadan al zumo (jugo) primario en la línea de producción antes de proceder a la concentración. Los concentrados de zumos (jugos) de fruta podrán contener componentes restablecidos de sustancias aromáticas y aromatizantes volátiles, elementos todos ellos que deberán obtenerse por procedimientos físicos adecuados y que deberán proceder del mismo tipo de fruta.

Zumo (jugo) de fruta extraído con agua

Por zumo (jugo) de fruta extraído con agua se entiende el producto que se obtiene por difusión con agua de:

- Fruta pulposa entera cuyo zumo (jugo) no puede extraerse por procedimientos físicos, o fruta deshidratada entera.

Estos productos podrán ser concentrados y reconstituidos.

1.5. Cinética química del deterioro de los alimentos

Singh citado por Man y Jones, (1997) indica que la cinética química involucra el estudio de la velocidad y mecanismos por el cuál una especie química se convierte a otro. Una comprensión de los mecanismos de reacción junto con la cuantificación de las constantes de velocidad, facilita la selección de las mejores condiciones de un proceso o del almacenamiento, así como también nos puede ayudar a predecir el tiempo de vida en anaquel un alimento (Labuza, 1984).

Las reacciones químicas se producen en los alimentos durante el procesamiento y almacenamiento. Algunas reacciones dan como resultado la pérdida de la calidad, mientras que otras reacciones dan lugar a la formación de sabores o colores indeseados, acortando la vida en anaquel del alimento (Casp y Abril 2003).

Según Labuza, (1984) la cinética química trata de medir las velocidades de las reacciones y encontrar ecuaciones que relacionen la velocidad de una reacción con las variables experimentales. Por largos años en el enfoque ha sido elaborar modelos simples, en función al grado de sofisticación utilizando para detectar los diversos reactantes y productos finales. Por ejemplo, supongamos que tenemos la reacción:



Donde: A es un reactante; C , es el producto, y k_f es la constante de velocidad hacia adelante.

1.5.1. Orden de reacción

El orden de reacción está definido como la suma de los exponentes de las concentraciones en la ley de la rapidez de la reacción (Atkins, 2006). Este es también llamado orden total de reacción, pues el orden depende del reactivo que se analice (Brown T. 2004).

Según Brown T. 2004, es el parámetro que permite conocer la dependencia de la velocidad de la reacción con las concentraciones de los reactivos, en pocas palabras es la relación que hay entre la velocidad de reacción y la concentración de los reactivos.

1.5.2. Velocidad de reacción

Es la magnitud que indica la rapidez con que se produce una reacción (Petrucchi, 2003). Depende del mecanismo de la reacción (serie de pasos individuales que dan lugar a la reacción global (Petrucchi, 2003).

Aunque tradicionalmente se puede aplicar la cinética de reacción para controlar los cambios químicos que ocurren en un sistema, otros cambios como los fisicoquímicos también pueden describirse utilizando un enfoque de cinética. Por ejemplo, cambios en la textura y color que se producen en los sistemas alimentarios se pueden describir utilizando las velocidades de reacción (Fu y Labuza, 1997).

1.5.3. Reacción de orden cero

En este tipo de reacciones, la velocidad es independiente de la concentración. Esto puede ocurrir en dos situaciones diferentes: (a) cuando la velocidad de reacción es independiente de la concentración del reactante y (b) cuando la concentración del reactante es tan grande que la velocidad de reacción global parece ser independiente de su concentración (Labuza, 1982).

Asumiendo que $n=0$, para las reacciones de orden cero, la ecuación diferencial ordinaria que representa la cinética de pérdida de factores de calidad deseable $[A]$ queda expresada de la siguiente manera:

$$A = A_0 - kt \quad (\text{Ec.1})$$

Donde:

A: concentración final del atributo medido.

A_0 : concentración inicial del atributo medido.

k: constante de velocidad de degradación del atributo medido.

t: tiempo de almacenamiento.

1.5.4. Reacción de primer orden

La mayoría de las reacciones implicadas en el procesamiento y almacenamiento de los alimentos siguen una cinética de reacción de primer orden ($n=1$), como, por ejemplo, la degradación de vitaminas, produciendo una disminución en el valor nutricional del alimento, o la degradación de antocianinas durante el almacenamiento de alimentos coloreados, produciendo una pérdida en la apariencia del mismo (Labuza, 1984). La ecuación cinética de primero orden queda expresada de la siguiente manera:

$$\ln[A] = \ln[A_0] - k \quad (\text{Ec.2})$$

1.5.5. Reacción de segundo orden

Según Van Boekel, (2009) las reacciones de segundo orden ($n=0$), no son tan frecuente en los sistemas alimentarios, debido a la naturaleza bimolecular de las reacciones. Esto viene a demostrar que la cinética observada experimentalmente no corresponde necesariamente a un mecanismo real. La expresión de la ecuación de segundo orden es la siguiente:

$$\frac{1}{[A]} = \frac{1}{[A_0]} + kt \quad (\text{Ec.3})$$

1.5.6. Tiempo de vida media

Según Vidaurre (2014), el tiempo de vida media, es una manera de expresar el tiempo requerido para perder la mitad de la concentración de

factores deseables $[A]$ o ganar la mitad de la concentración de los factores indeseables $[B]$.

El tiempo de vida media ($t_{1/2}$), está dado por:

$$t_{(1/2)} = -\ln(1/2)/k_1 \quad (\text{Ec.4})$$

Resulta más sencillo visualizar la velocidad de una reacción cuando se expresa como el tiempo de vida media en lugar de una constante de velocidad sobre la base de los logaritmos naturales.

1.5.7. Modelo Q10

Un modelo muy utilizado para predecir el tiempo de vida útil, considerando la temperatura, como el factor de abuso, para acelerar las reacciones en los alimentos es el llamado factor adimensional "Q₁₀" el cual se define como: La variación de la velocidad de reacción cada 10°C y se expresa de la siguiente manera (Kilcast y Subramaniam, 2011).

$$Q_{10} = \frac{\text{tiempo de vida a la temperatura } T}{\text{tiempo de la vida a la temperatura a } T+10} \quad (\text{Ec.5})$$

$$Q_{10} = \frac{k_{T+10}}{k_T} \quad (\text{Ec.6})$$

Donde T es la temperatura (°C) y k es la constante de velocidad de reacción

1.5.8. Modelo de Arrhenius

Según Casp y Abril, (2003) la influencia de la temperatura sobre la constante de velocidad de reacción se puede describir utilizando la ecuación desarrollada por Svante Arrhenius. El modelo de Arrhenius que relaciona la velocidad de una reacción química a los cambios de

temperatura es el mejor ejemplo de modelo aceptado con validez comparada experimentalmente.

Se trata de un modelo lineal que expresa el efecto de la temperatura sobre la constante de velocidad (k) de diferentes reacciones en muchos sistemas alimentarios, se representa de la siguiente manera:

$$k = k_0 \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (\text{Ec.7})$$

Donde k_0 es el factor pre-exponencial, E_a es la energía de activación, R es la constante de los gases (1,987 cal/K mol) y T es la temperatura absoluta en K.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Localización

Este trabajo se desarrolló en la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo en la ciudad de Lambayeque, departamento de Lambayeque.

Los análisis fisicoquímicos se realizaron en el laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ingeniería Química e Industrias Alimentarias.

2.2. Materiales, reactivos y equipos

Materia prima

- Arándano (*Vaccinium myrtillus*)
Variedad: Emerald
- Granada (*Punica granatum*)
Variedad: Bedan

Materiales

- Baguetas.
- Fiolas de 50 ml.
- Fiolas de 1000 ml.
- Matraz Erlenmeyer de 100 ml.
- Pipetas de 10 ml.
- Probetas de 10 ml.
- Pizetas.
- Vaso precipitado de 100 ml.
- Viales de laboratorio de 10 ml.

2.2.1. Reactivos

- Cloruro de Potasio (KCl) en polvo.

- Acetato de sodio (CH_3COONa) en polvo.
- Ácido clorhídrico concentrado.
- Sorbato de potasio 500ppm.

2.2.2. Equipos

- Balanza Analítica, Medición: 0,001 a 250g, Sensibilidad 0,001
- Calentador RED VELD-scientifica, Potencia 450W, Tensión 230V
- Espectrofómetro GENESYS 10 UV, Rango de medición: 450 a 750nm, Sensibilidad: 0,1 de transmitancia.
- Incubadora provista con termostato MT-512 Ri
- Potenciómetro HANNA, pH: 1-14, Sensibilidad 0,01
- Refractómetro ATAGO PAL-3, Grados Brix: 0-100°Bx, Sensibilidad 0,1.

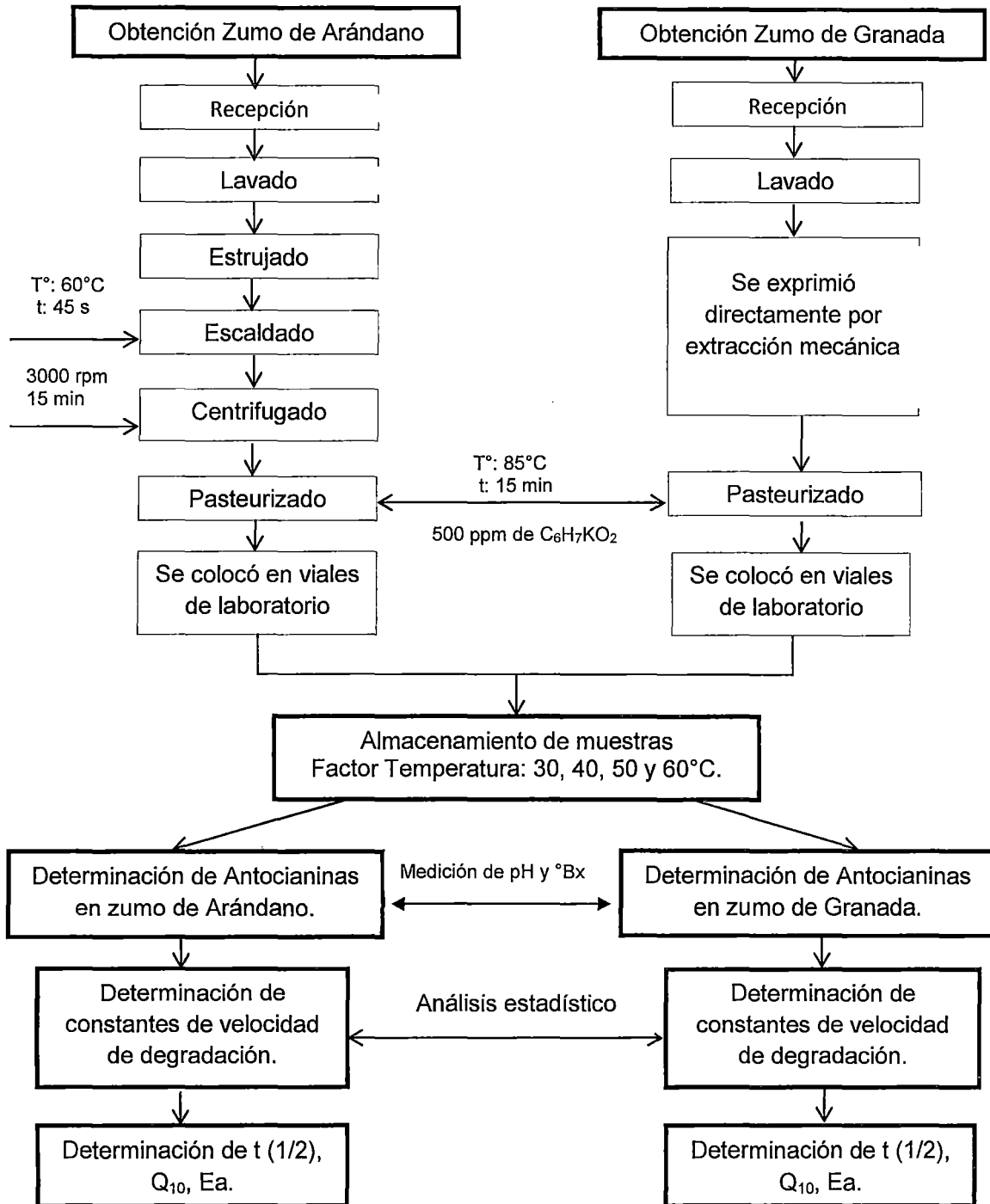
2.3. Metodología experimental

En esta sección se describen los procedimientos utilizados para la obtención y almacenamiento de las muestras experimentales, así como las pruebas realizadas para cumplir con los objetivos planteados de este trabajo (Ver figura 7).

2.3.1. Obtención de la muestra

a. Zumo de arándano

El zumo pasteurizado de arándano se obtuvo mediante extracción mecánica (CODEX STAN 247-2005) a partir de granos de arándano de la variedad Emerald, provenientes del departamento de Arequipa.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 7: Esquema de la Metodología Experimental

Para su tratamiento se siguió la metodología propuesta por Wang *et al.* (2007); las enzimas fenoloxidasas se inactivaron por medio de calentamiento (escaldado breve a 60°C por 45 s) y enfriado rápido a 30°C, posteriormente el jugo se colocó en tubos de ensayo (20ml por cada tubo), para luego ser centrifugado a 3000 rpm por 15 min.

El sobrenadante se llevó a un proceso de pasteurización a 85°C por 15 min, se adicionó 500 ppm de sorbato potasio, se envasó en envases de vidrio a una temperatura no menor a 80°C y luego el zumo envasado se enfrió rápidamente en Baño María.

b. Zumo de granada

Para la obtención del zumo pasteurizado de granada se siguió la metodología propuesta por Zambrano, 2011; considerando las especificaciones de la Norma General Del Codex Para Zumos (Jugos) Y Néctares De Frutas (CODEX STAN 247-2005).

Se adquirió frutos de granada de la variedad *Bedana* provenientes de del distrito de Jayanca, provincia y departamento de Lambayeque. El zumo se obtuvo de la parte comestible en buen estado de las granadas debidamente maduras y frescas, las cuales fueron exprimidas directamente por procedimientos de extracción mecánica. El zumo se llevó a un proceso de pasteurización a 85°C por 15 min, se le adicionó 500 ppm de sorbato de potasio, se envaso en envases de vidrio, luego se enfrió rápidamente en Baño María.

Según el procedimiento detallado se elaboró un lote de 50 unidades de 10ml de zumo pasteurizado de arándano y 50 unidades de 10 ml

de zumo pasteurizado de granada, se seleccionaron 44 unidades de cada zumo respectivamente al azar.

2.3.2. Almacenamiento de la muestra

Las 44 muestras seleccionadas al azar del zumo pasteurizado de arándano y zumo pasteurizado de granada fueron almacenadas a diferentes temperaturas equitativamente.

- Incubadora A: 30°C (11 unidades de muestreo)
- Incubadora B: 40°C (11 unidades de muestreo)
- Incubadora C: 50°C (11 unidades de muestreo)
- Incubadora D: 60°C (11 unidades de muestreo)

2.3.3. Codificación de la muestra

A diferentes tiempos (tabla 6) de almacenamiento se extrajeron al azar las unidades de muestreo de las incubadoras y se codificaron. El código estuvo conformado por dos números, el primero que representaba el orden que se extrajo la unidad de muestreo de la incubadora, es decir tomando valores desde 1 hasta 11 y el segundo número representó la temperatura de almacenamiento, así por ejemplo el código 560 representaba a la sexta muestra extraída de la incubadora de 60 ° C de almacenamiento.

2.3.4. Metodología de análisis

Se caracterizó el zumo de arándano y el zumo de granada mediante análisis fisicoquímicos como la determinación de pH y grados Brix.

Tabla 5. Control de características fisicoquímicas en el zumo pasteurizado de Arándano y en el zumo pasteurizado de Granada.

Determinaciones	Unidades	Norma o Referencia
Determinación de		Método
pH	pH	Potenciómetro HANNA
Grados Brix	°Brix	Lectura directa en un Refractómetro ATAGO PAL-3

Fuente: Elaboración propia.

Se determinó la concentración de antocianinas (mg/L) en el zumo pasteurizado de arándano y en el zumo pasteurizado de granada a diferentes tiempos y temperaturas de almacenamiento, como se detalla en la tabla 6.

2.3.5. Determinación del orden de reacción y la constante de velocidad

El orden de reacción y las constantes de velocidad de degradación de antocianinas en el zumo pasteurizado de arándano y en el de granada se determinó mediante un análisis de regresión lineal simple a partir de las concentraciones de antocianinas medidas versus el tiempo de almacenamiento. Se determinó el coeficiente de determinación (R^2) y el Error Cuadrado Medio (ECM) utilizando el software Ms Excel (Microsoft, 2013), estos estadísticos indicaron el ajuste y el error respectivamente de la ecuación cinética evaluada. Los valores de las constantes de degradación se establecieron determinando la pendiente de degradación de antocianinas a las diferentes temperaturas de almacenamiento.

Tabla 6. Codificación de viales de laboratorio para la determinación de antocianinas (mg/L) en el zumo pasteurizado de Arándano y en el zumo pasteurizado de Granada.

30°C		40°C		50°C		60°C	
Tiempo (h)	Código	Tiempo (h)	Código	Tiempo (h)	Código	Tiempo (h)	Código
Zumo de Arándano							
0	030	0	040	0	050	0	060
48	130	24	140	9	150	4	160
96	230	48	240	18	250	8	260
144	330	72	340	27	350	12	360
192	430	96	440	36	450	16	460
240	530	120	540	45	550	20	560
288	630	144	640	54	650	24	660
336	730	168	740	63	750	28	760
384	830	192	840	72	850	32	860
432	930	216	940	81	950	36	960
480	1030	240	1040	90	1050	40	1060
Zumo de Granada							
0	030	0	040	0	050	0	060
120	130	24	140	9	150	4	160
240	230	48	240	18	250	8	260
360	330	72	340	27	350	12	360
480	430	96	440	36	450	16	460
600	530	120	540	45	550	20	560
720	630	144	640	54	650	24	660
840	730	168	740	63	750	28	760
960	830	192	840	72	850	32	860
1080	930	216	940	81	950	36	960
1200	1030	240	1040	90	1050	40	1060

Fuente: Elaboración propia.

2.3.6. Determinación de la Energía de activación

Para determinar la Energía de Activación se realizó un Análisis de regresión lineal simple a partir de los Logaritmos de las constantes determinadas versus la inversa de las temperaturas convertidas en Kelvin, se determinó la pendiente lo cual representa la Energía de Activación.

2.3.7. Determinación del factor Q_{10}

Se determinó el Factor Q_{10} utilizando la ecuación 3. Este nos indicó el cambio de la constante de velocidad de degradación de antocianinas en los zumos cada 10°C.

2.3.8. Determinación del tiempo de vida media ($T_{1/2}$)

Para determinar el tiempo de vida media, es decir el tiempo en que las antocianinas se degradan en un 50 % en zumos, se utilizó la ecuación 4.

2.3.9. Análisis estadístico

Se caracterizó las muestras de los dos zumos a través de análisis fisicoquímicos, el análisis para cada componente de las muestras se realizó por triplicado, se determinó el promedio y la precisión con la desviación estándar (S).

Para determinar el orden de reacción de las antocianinas y constante de velocidad de degradación durante el almacenamiento estudiado, se realizó un análisis de regresión lineal simple a partir de la concentración de antocianinas determinadas versus el tiempo de almacenamiento, del mismo modo se determinó las energías de activación para la degradación del compuesto estudiado en los dos



zumos. Los estadísticos determinados fueron el coeficiente de determinación (R^2), y Error Cuadrado Medio (ECM).

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para las constantes de velocidad determinas en presentes estudio en dos zumos y a las diferentes temperaturas de almacenamiento con un nivel de confianza de 95% con la finalidad de determinar si existe o no diferencias significativas. Se realizó pruebas de Múltiple Rangos (Prueba de Tukey) con un nivel de significancia de 0.05 para constante de velocidad por temperatura de almacenamiento, así mismo para constante de velocidad por zumo estudiado.

III. RESULTADOS

3.1.Caracterización de los zumos pasteurizados de Arándano y de Granada

Tabla 7. Resultados del análisis fisicoquímico del zumo pasteurizado de Arándano y del zumo pasteurizado de Granada.

Zumo de Arándano					
Componente	*X ₁	*X ₂	*X ₃	\bar{x}	\bar{s}
Antocianinas totales (mg/L)	45.089	44.869	44.869	44.942	0.127
Ph	3.39	3.39	3.47	3.42	0.046
° Brix	8	10	10.8	9.6	1.44
Zumo de granada					
Antocianinas totales (mg/L)	54.359	54.450	54.268	54.359	0.091
Ph	3.42	3.44	3.50	3.45	0.042
° Brix	14.9	14.9	15.1	14.97	0.115

*x: resultado.

Fuente: Elaboración propia.

Los métodos de ensayo para determinar los componentes que se detalla en la tabla 7, se describen en el Anexo I.

3.2.Degradación de antocianinas durante el almacenamiento de la muestra.

Tabla 8. Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Arándano durante su almacenamiento.

60°C		50°C		40°C		30°C	
t	C	t	C	t	C	t	C
0	44.942 ±0.127	0	44.942 ±0.127	0	44.942 ±0.127	0	44.942 ±0.127
4	41.167 ±0.229	9	39.261 ±0.110	24	40.030 ±0.291	48	43.733 ±0.063
8	38.307 ±0.063	18	31.170 ±0.262	48	37.904 ±0.063	96	38.197 ±0.168
12	32.882 ±0.110	27	27.713 ±0.110	72	30.756 ±0.254	144	32.296 ±0.168
16	30.243 ±0.110	36	21.958 ±0.168	96	25.404 ±0.110	192	31.819 ±0.168
20	24.524 ±0.479	45	19.685 ±0.190	120	24.671 ±0.354	240	27.603 ±0.110
24	22.581 ±0.444	54	15.580 ±0.063	144	20.198 ±0.254	288	24.597 ±0.229
28	19.465 ±0.110	63	15.946 ±0.220	168	17.266 ±0.220	336	22.765 ±0.110
32	18.476 ±0.291	72	11.217 ±0.220	192	15.909 ±0.127	384	19.245 ±0.220
36	17.669 ±0.229	81	9.824 ±0.168	216	15.250 ±0.317	432	18.952 ±0.063
		90	9.348 ±0.110	240	13.930 ±0.229	480	15.946 ±0.190

t: tiempo de almacenamiento (h).

C: concentración de antocianinas (mg/L).

Tabla 9. Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Granada durante su almacenamiento.

60°C		50°C		40°C		30°C	
t	C	t	C	t	C	t	C
0	54.359 ±0.091	0	54.359 ±0.091	0	54.359 ±0.091	0	54.359 ±0.091
12	48.714 ±0.328	24	44.465 ±0.139	48	47.803 ±0.241	120	47.287 ±0.105
24	44.799 ±0.091	48	36.391 ±0.229	96	42.310 ±0.210	240	37.727 ±0.190
36	36.452 ±0.229	72	32.112 ±0.229	144	33.690 ±0.091	360	28.526 ±0.145
48	33.599 ±0.091	96	24.888 ±0.053	192	27.164 ±0.053	480	25.768 ±0.091
60	27.347 ±0.139	120	22.369 ±0.278	240	25.222 ±0.091	600	19.061 ±0.105
72	24.342 ±0.320	144	16.906 ±0.105	288	20.305 ±0.000	720	16.936 ±0.091
84	20.609 ±0.139	168	16.724 ±0.105	336	16.056 ±0.139	840	13.142 ±0.139
96	19.243 ±0.229	192	11.837 ±0.241	384	14.872 ±0.263		
108	17.573 ±0.182			432	13.688 ±0.210		
				480	11.321 ±0.053		

t: tiempo de almacenamiento (h).

C: concentración de antocianinas (mg/L).

Las tablas 8 y 9 muestran las concentraciones de antocianinas medidas durante el tiempo de almacenamiento a diferentes temperaturas, estas concentraciones se calcularon a partir de absorbancias medidas en un espectrofotómetro GENESYS 10 UV. Las absorbancias se muestran en los Anexos II y III.

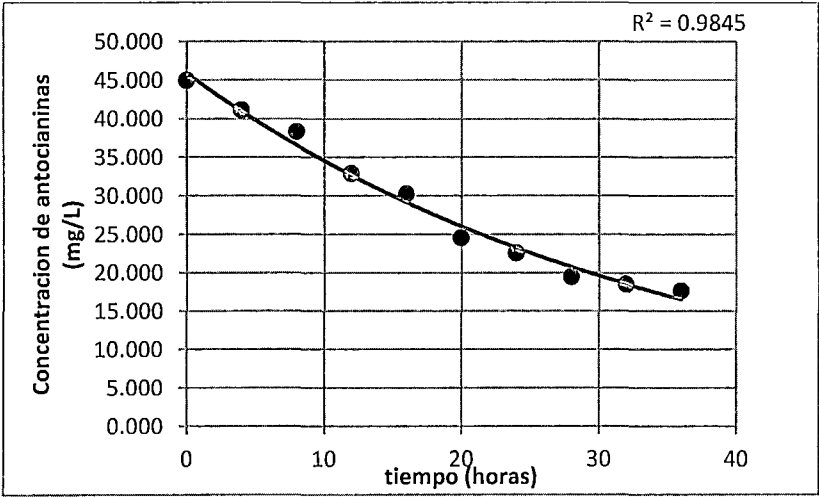


Figura 8: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Arándano (mg/L) versus el tiempo de almacenamiento a 60°C.

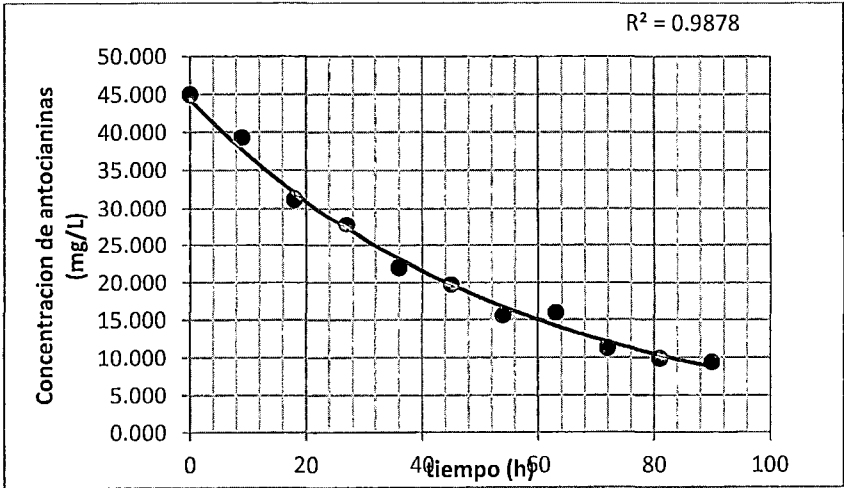


Figura 9: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Arándano (mg/L) versus el tiempo de almacenamiento a 50°.

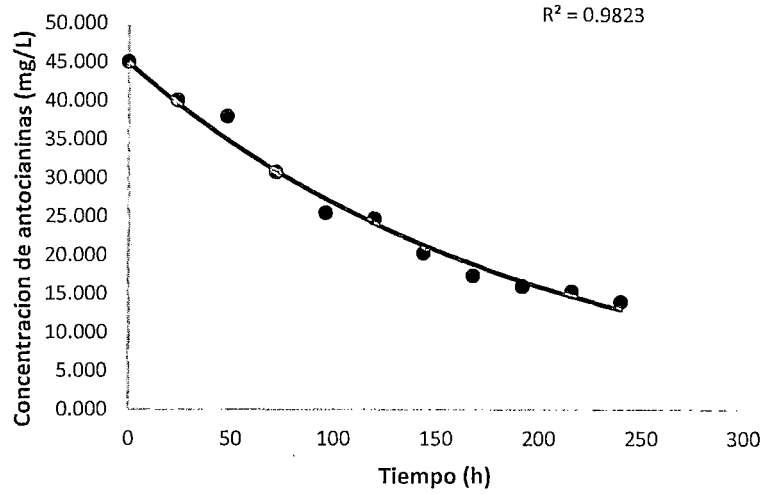


Figura 10: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Arándano (mg/L) versus el tiempo de almacenamiento a 40°C.

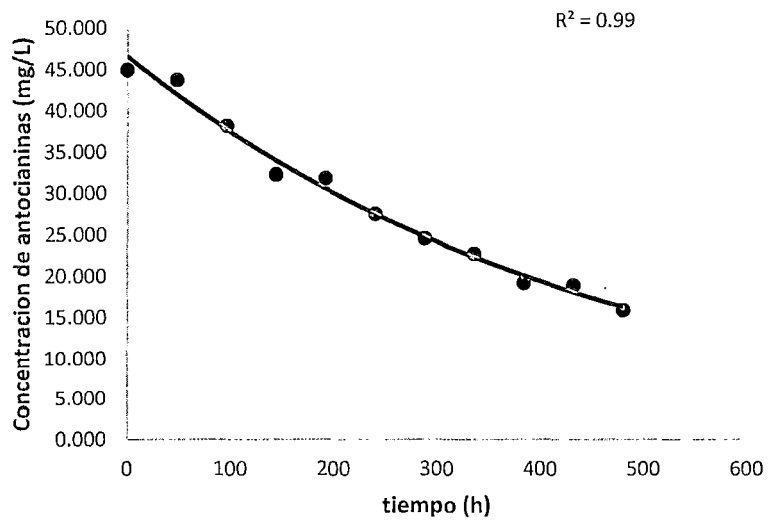


Figura 11: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Arándano (mg/L) versus el tiempo de almacenamiento a 30°C.

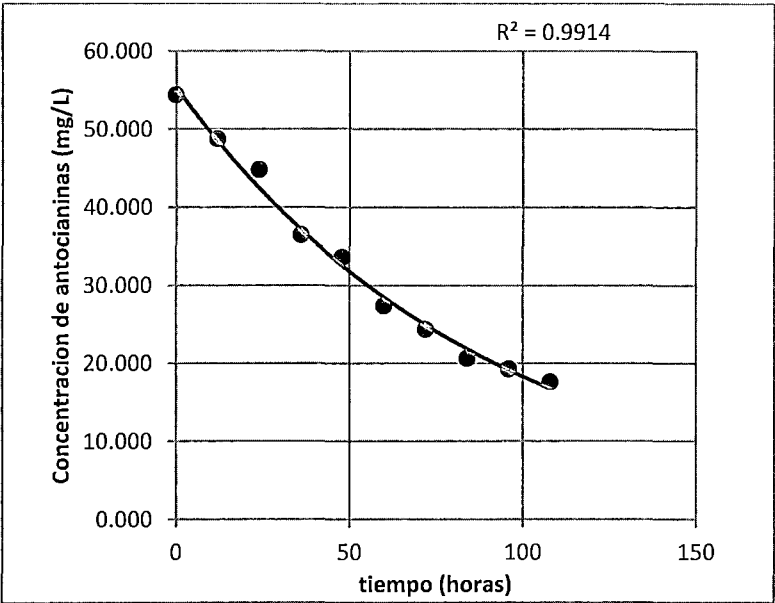


Figura 12: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Granada (mg/L) versus el tiempo de almacenamiento a 60°C

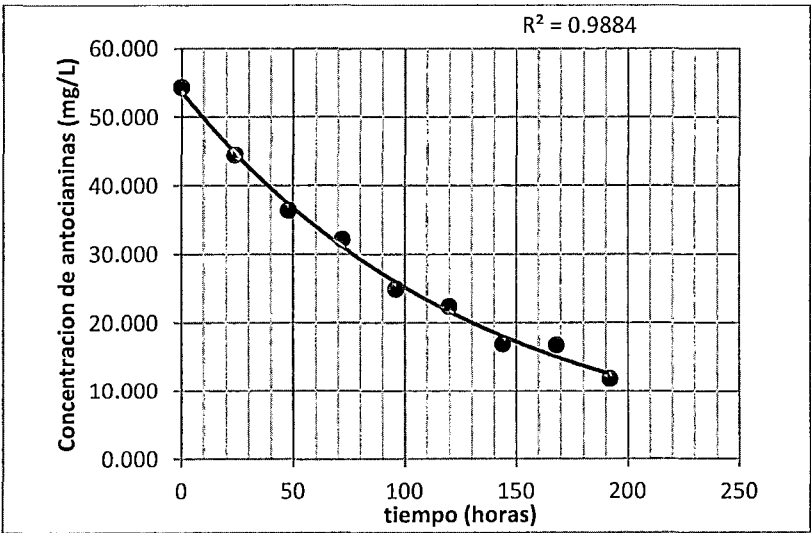


Figura 13: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Granada (mg/L) versus el tiempo de almacenamiento a 50°C.

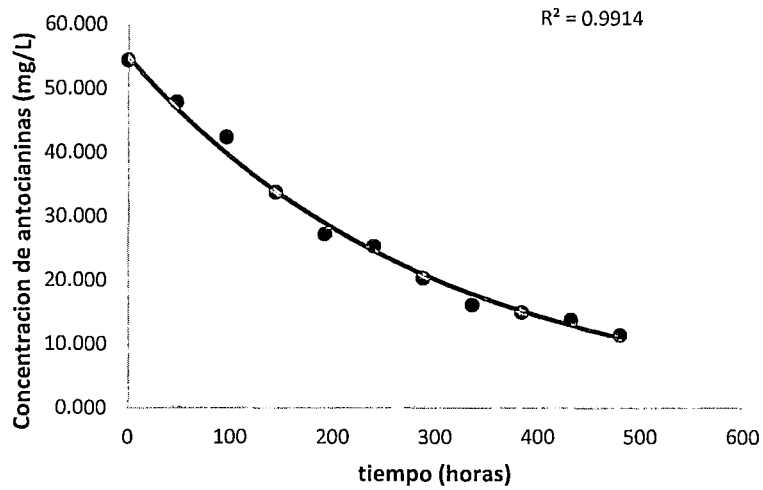


Figura 14: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Granada (mg/L) versus el tiempo de almacenamiento a 40°C.

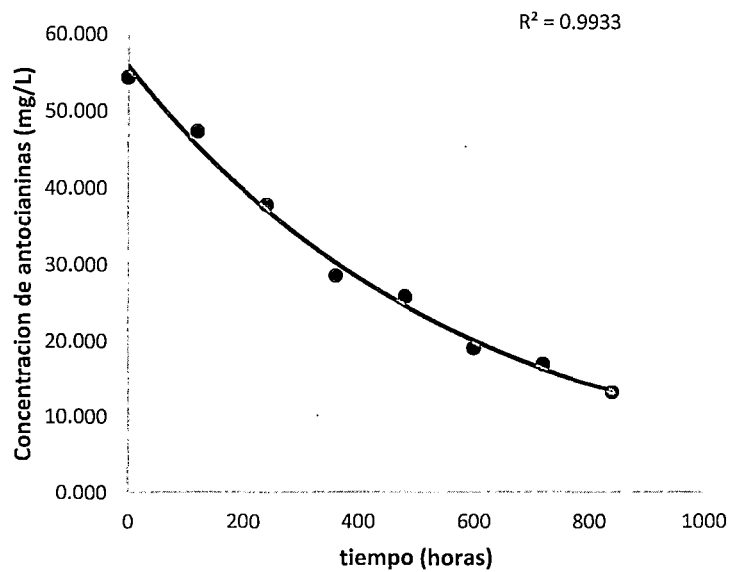


Figura 15: Concentración de antocianinas en el zumo pasteurizado de Granada (mg/L) versus el tiempo de almacenamiento a 30°C.

Las figuras 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 y 15 muestran el comportamiento de la concentración de antocianinas a través del tiempo de para el zumo pasteurizado de Arándano y zumo pasteurizado de Granada. Dichos gráficos muestran la tendencia exponencial de la degradación de antocianinas durante el tiempo de almacenamiento a las diferentes temperaturas de estudio.

3.3. Orden de reacción de las antocianinas

Tabla 10. Estadísticas de regresión lineal simple para la degradación de Antocianinas para cada temperatura a partir de los datos experimentales de concentración de antocianinas versus tiempo.

Cinética De Reacción	Temperatura de almacenamiento							
	30°C		40°C		50°C		60°C	
	R ²	ECM	R ²	ECM	R ²	ECM	R ²	ECM
Zumo de Arándano								
Orden 0	0.972	5.117	0.944	6.859	0.934	4.055	0.967	4.232
Orden 1	0.990	1.166	0.982	1.709	0.988	1.032	0.984	1.110
Orden 2	0.965	0.965	0.981	10.313	0.950	78.244	0.978	6.160
Zumo de Granada								
Orden 0	0.959	3.310	0.941	4.648	0.951	3.686	0.966	3.784
Orden 1	0.993	1.427	0.991	1.394	0.988	0.983	0.976	1.237
Orden 2	0.954	73.524	0.966	106.328	0.929	66.442	0.979	18.177

*R²: Coeficiente de determinación lineal; *ECM: Error cuadrado medio.

Mediante las estadísticas de regresión lineal simple que se muestran en la Tabla 10, se determinó el ajuste de los datos que muestra la Tabla 8 y 9, para cada temperatura de almacenamiento. Los coeficientes de determinación (R²) más altos del zumo pasteurizado de Arándano (0.990,

0.982, 0.988 y 0.984) y del zumo pasteurizado de Granada (0.993, 0.991, 0.988 y 0.976) se obtuvieron al evaluar la cinética de degradación de antocianinas con el modelo de primer orden para las temperaturas de 30°C, 40°C, 50°C y 60°C respectivamente para cada zumo. Asimismo, los valores del error cuadrado medio (*ECM*) más bajos para el zumo pasteurizado de Arándano (1.166, 1.709, 1.032 y 1.110) y para el zumo pasteurizado de Granada (1.427, 1.394, 0.983 y 1.237), nos indicaron que la cinética de primer orden explica con menor error la degradación de antocianinas en cada temperatura de almacenamiento. Por lo tanto, se afirmó que la degradación de antocianinas en el zumo pasteurizado de Arándano y en el zumo pasteurizado de Granada sigue una función exponencial (cinética de primer orden)

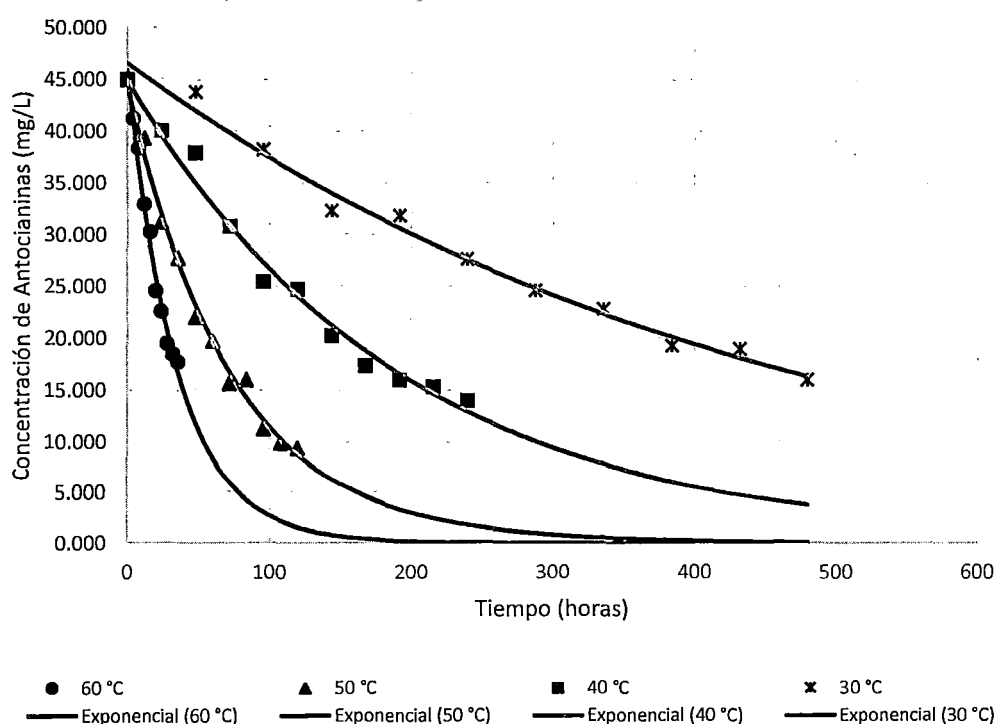


Figura 16: Degradación de las antocianinas a diferentes temperaturas en el zumo pasteurizado de arándano.

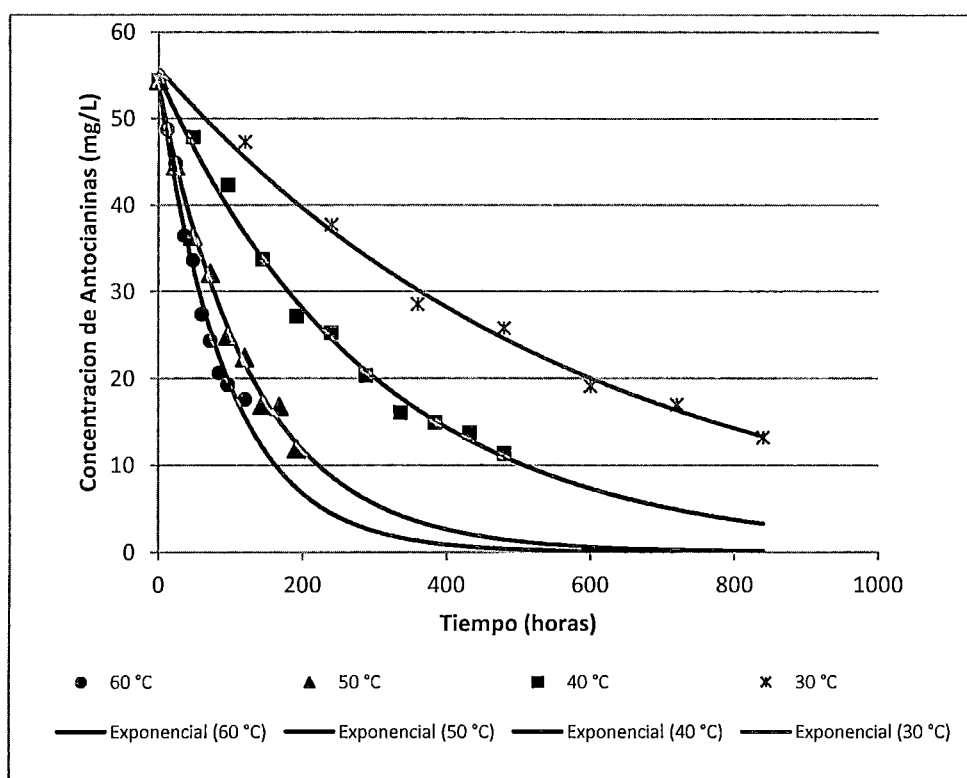


Figura 17: Degradación de las antocianinas a diferentes temperaturas en el zumo pasteurizado de Granada.

En las figuras 16 y 17 se muestra la degradación de antocianinas a diferentes temperaturas de almacenamiento, las pendientes de la curvas representan a la constante de velocidad de degradación, se puede observar que a la temperatura más alta de almacenamiento (50°C) la curva de degradación tiene mayor pendiente, es decir las antocianinas se degradan a mayor velocidad a temperaturas altas y a menor velocidad a temperaturas bajas de almacenamiento, este comportamiento se cumple en los dos zumos estudiados.

3.4. Constantes de velocidad (k), energía de activación (Ea), factor Q10 y tiempo de vida media (t1/2) de las antocianinas

Tabla 11. Tabla de las constantes de velocidad promedio (tres repeticiones) de primer orden y tiempo de vida media de los zumos pasteurizados de Arándano y Granada.

Temperatura (°C)	Zumo de Arándano		Zumo de Granada	
	K (h ⁻¹)	T _{1/2} (h)	k (h ⁻¹)	T _{1/2} (h)
30	0.002 ±0.0000	320.731	0.002 ± 0.0000	405.681
40	0.005 ± 0.0000	133.506	0.003 ± 0.0000	206.100
50	0.018 ± 0.0002	38.318	0.008 ± 0.0001	91.348
60	0.028 ±0.0004	24.420	0.011 ± 0.0001	62.482

Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo al análisis estadístico que se muestra en el Anexo IV, se concluyó que existe diferencia significativa entre el promedio de las constantes del zumo pasteurizado de arándano y las constantes del zumo pasteurizado de granada. Así mismo que existe diferencias significativas entre las constantes promedios a cada temperatura de estudio, de esta manera se evidencio la influencia de la temperatura.

Las constantes de velocidad más bajas se obtuvieron para el zumo de granada, la figura 21 que representa las interacciones entre los zumos y la

temperatura de almacenamiento, muestra con claridad que las antocianinas presentes en el zumo de granada son más estables a la temperatura respecto al zumo de arándano.

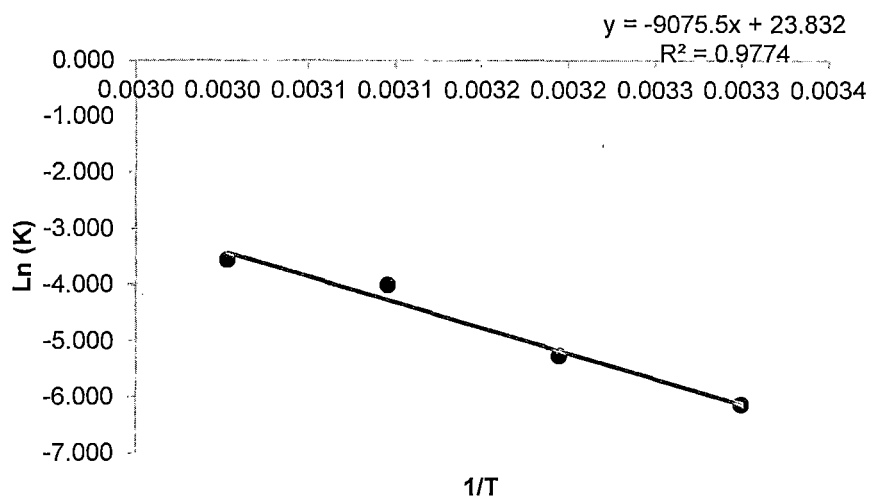


Figura 18: Gráfica de Arrhenius de la degradación de antocianinas en el zumo pasteurizado de Arándano.

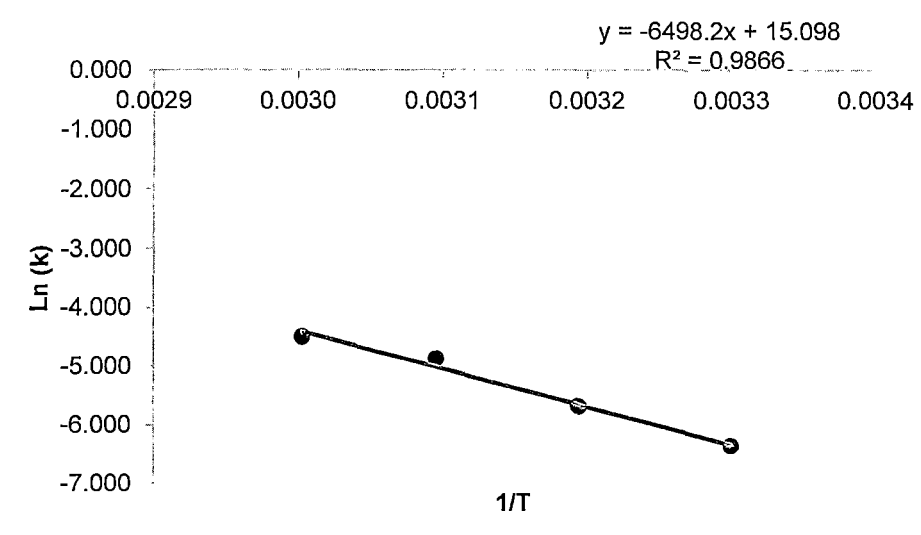


Figura 19: Gráfica de Arrhenius de la degradación de antocianinas en el zumo pasteurizado de Granada

Las figuras 18 y 19, muestran la gráfica linealizada que representa la ecuación Arrhenius (Ec.7), las pendientes de estas rectas permiten calcular los valores de la energía de activación (E_a) para la degradación de Antocianinas, se puede observar en la graficas que la pendiente de la recta en el zumo pasteurizado de Arándano es mucho mayor que la pendiente de la recta en el zumo pasteurizado de Granada.

Se determinó el factor Q_{10} a partir de las constantes que se muestran en la Tabla 11. Los valores de energía de activación y factor Q_{10} , se muestran en la tabla 12.

Tabla 12. Energías de Activación y valores de Q_{10} de la degradación de Antocianinas en los zumos pasteurizados de Arándano y Granada.

Zumo	E_a (kcal)	Q_{10} 30°C-40°C	Q_{10} 40°C-50°C	Q_{10} 50°C-60°C
Arándano	18.033	2.40	3.50	1.60
Granada	12.912	2.00	2.30	1.50

La tabla 12 muestra que el valor de la energía de activación determinada en el zumo de arándano es mayor al valor determinado en el zumo de granada, esto significa que la influencia de la temperatura en las antocianinas presentes en el zumo de arándano es mucho mayor que la influencia en las antocianinas presentes en el zumo de granada, dicho de otra manera, las antocianinas presentes en el zumo de arándano son menos estables que las antocianinas presentes en el zumo de granada. Se puede observar que los valores del factor Q_{10} , son menores en el zumo de granada, lo cual confirman lo que demuestra las energías de activación.

IV. DISCUSIÓN

Orden de reacción

En el presente estudio se determinó que la degradación de antocianinas presentes en los dos zumos evaluados es decir en el de arándano y granada se sigue una cinética de primer orden, este resultado concuerda con los estudios realizados por los siguientes autores:

Sánchez *et al.*, (2014) estudiaron la cinética de degradación de la betacianinas, betaxantinas y vitamina C a 30°C, 40°C y 50°C, fue evaluada en una bebida a base de betarraga y miel de abeja, utilizando los modelos cinéticos de orden cero, primer y segundo orden; así como el modelo de Arrhenius para evaluar la dependencia de la velocidad de degradación con respecto a la temperatura. Se determinó que la degradación de los tres compuestos evaluados en las tres temperaturas ensayadas siguió una cinética de primer orden.

Zambrano *et al.*, (2011) estudiaron la estabilidad térmica y de almacenamiento de las antocianinas en jugo y concentrado de agraz (*Vaccinium meridionale*). Determinaron que la degradación de las antocianinas con la temperatura fue modelada adecuadamente con la ecuación de Arrhenius.

Buckow *et al.*, (2010) estudiaron los efectos de la presión y la temperatura en la degradación de antocianinas totales presentes en el zumo de arándano (*Vaccinium myrtillus*), el estudio fue realizado durante el tratamiento térmico a temperaturas seleccionadas en un rango de 60-121°C, también se evaluó la estabilidad de antocianinas para varios de

estos tratamientos durante el almacenamiento a 4, 25, y 40°C. el orden de reacción de las antocianinas fue de primer orden.

Kechinski *et al.*, (2010) estudiaron la cinética de degradación de antocianinas en el zumo de arándano durante el tratamiento térmico a 40°C, 50°C, 60°C, 70°C y 80°C en cada nivel de temperatura determinaron que la degradación de este colorante siguió un modelo cinético de primer orden.

Alighourchi y Barzegar, (2009) estudiaron la calidad del color de una manera sistemática en zumos reconstituidos de Granada, las mediciones se realizaron a intervalos de un mes durante 210 días a las temperaturas de 4, 20 y 37 ° C. Determinaron que la degradación de los pigmentos siguió una cinética de reacción de primer orden.

Songnian *et al.*, (2008) estudiaron la estabilidad de antocianinas en el jugo de granada y su cinética de degradación y obtuvieron que la cinética de degradación en el jugo de granada siguió una reacción de primer orden.

Wang y Xu, (2007) estudiaron la estabilidad térmica de antocianinas en el jugo y concentrado de mora (*Rubus fruticosus*) en el rango de temperaturas de 60-90°C y 5-37°C. Los resultados indicaron que la degradación térmica de las antocianinas siguió una cinética de reacción de primer orden.

Maskan, (2006) estudió la cinética de gradación del color en el jugo concentrado de Granada por diversos métodos de calentamiento: Uso de Microondas, Vacío Rotatorio y Proceso de Calentamiento Atmosférico.

Los resultados indicaron que la degradación de dichos compuestos responsables del color se ajustó un modelo cinético de primer orden.

Kirca *et al.*, (2006) estudiaron la estabilidad de las antocianinas en zanahorias negras, en varios zumos de fruta y néctares. Los jugos de frutas (manzana, uva, naranja, toronja, mandarina y limón) y néctares (albaricoque, melocotón y piña), el estudio se realizó durante el calentamiento en el rango de temperaturas de 70-90°C y durante el almacenamiento a 4-37°C. La degradación de antocianinas en todos los alimentos estudiados siguió una cinética de primer orden.

Cemeroglu *et al.*, (1994) estudiaron los efectos de la temperatura y los sólidos solubles en la degradación de antocianinas, el estudio fue realizado en el zumo y concentrado de cereza agria a rangos de temperaturas de 18 a 37°C y de 50 a 80°C. Determinaron que la degradación de antocianinas siguió una cinética de reacción de primer orden.

Constantes de velocidad

Las antocianinas presentes en el zumo de arándano se degradaron durante el almacenamiento a constantes de velocidad de 0.002, 0.005, 0.018 y 0.028 h⁻¹ a las temperaturas de 30, 40, 50 y 60°C respectivamente, estos resultados determinados en el presente estudio concuerdan con los valores encontrados por Pereira *et al.*, (2010) quienes estudiaron la cinética de degradación de antocianinas en el jugo de arándano durante el tratamiento térmico a 40, 50, 60, 70 y 80°C las constantes de velocidad determinadas fueron de 0.004, 0.016 y 0.027 h⁻¹ a las temperaturas de 40, 50 y 60°C respetivamente. Estos resultados determinados en el presente estudio son menores con los valores

encontrados por Wang y Xu, (2007) que estudiaron la estabilidad térmica de antocianinas en el jugo y concentrado de mora a temperaturas de 60, 70, 80 y 90°C, una de las constantes de velocidad determinada fue 0.041 en la temperatura de 60°C.

Las antocianinas presentes en el zumo de granada se degradaron durante el almacenamiento a constantes de velocidad de 0.002, 0.003, 0.008 y 0.011 h⁻¹ a las temperaturas de 30, 40, 50 y 60°C respectivamente, las constantes determinadas en el presente estudio concuerdan con las constantes determinadas en el estudio realizado por Cemeroglu *et al.*, (1994) que estudiaron la cinética de degradación de antocianinas en el jugo de cereza agria a temperaturas de 50 y 60°C las constantes de velocidad determinadas fueron 0.009, 0.013h⁻¹ respectivamente, así también las constantes determinadas en el presente estudio fueron mayores a los valores encontrados por Alighourchi y Barzegar, (2009) que estudiaron la degradación cinética de antocianinas en *zumos de Granada* a temperaturas de 4, 20 y 37°C siendo una de las constantes de velocidad determinada 0.001 h⁻¹ a la temperatura de 37°C.

Energía de activación

En el presente estudio se determinó que la energía de activación para la degradación de antocianinas en el zumo pasteurizado de Arándano y en el zumo pasteurizado de Granada fueron 18.033 kcal y 12.912 kcal respectivamente, estos resultados concuerdan con los estudios realizados por Pereira, *et al.*, (2010) quienes determinaron que la energía de activación para la degradación de antocianinas en el jugo de arándano es 19.234 kcal. Songnian *et al.*, (2008) estudiaron la

estabilidad de antocianinas en el jugo de granada y su cinética de degradación y determinaron que su energía de activación fue 12.48 kcal.

Por otra parte, se puede apreciar que las energías de activación determinadas en el presente estudio se encuentran en el rango de energías de activación obtenidas por los siguientes autores: Cemeroglu, *et al.*, (1994); Wang y Xu *et al.*, (2007); Zambrano *et al.*, (2011); quienes determinaron valores igual a 17.45, 14.10, y 10.47 kcal; en jugos de cereza, mora, y agraz, respectivamente, en estudios de cinética de degradación térmica de antocianinas.

Factor Q_{10}

El factor Q_{10} fue determinado para evaluar el cambio de la constante de velocidad de la degradación de antocianinas cada 10°C, se encontraron valores de 2.4 a 30-40°C, 3.5 a 40-50°C y 1.6 a 50-60°C en el zumo pasteurizado de Arándano, estos resultados son aproximados con el estudio realizado por Pereira *et al.*, (2010) quienes determinaron que el valor Q_{10} es de 4.27 a 40-50°C y 1.67 a 50-60°C en el jugo de arándano.

Asimismo, en el zumo pasteurizado de Granada los valores fueron 2.0 a 30-40°C, 2.3 a 40-50°C y 1.5 a 50-60°C, siendo este último resultado, menor al estudio realizado por Cemeroglu, *et al.*, (1994) quienes determinaron que el valor Q_{10} es de 2.20 a 50-60°C en el jugo de cereza.

V. CONCLUSIONES

- Se determinó la cinética de degradación térmica de antocianinas en el zumo pasteurizado de Granada (*Punica granatum*) y zumo pasteurizado de Arándano (*Vaccinium myrtillus*), a partir de las concentraciones de antocianinas a diferentes tiempos y a temperaturas de almacenamiento de 30, 40, 50 y 60°C.
- Se determinó que la degradación de antocianinas en los zumos pasteurizados de arándano y granada, durante su almacenamiento a todas las temperaturas estudiadas, siguió una cinética de primer orden.
- Se determinó que las antocianinas se degradan a través del tiempo con una velocidad de 0.002, 0.004, 0.018 y 0.028 h⁻¹ a las temperaturas de 30, 40, 50 y 60 respectivamente en el zumo pasteurizado de arándano; y a 0.002, 0.003, 0.008 y 0.011 h⁻¹ a las temperaturas de 30, 40, 50 y 60°C respectivamente en el zumo pasteurizado de Granada.
- La degradación de antocianinas en los dos zumos es mucho más lenta a medida que baja la temperatura de almacenamiento. A través del análisis estadístico se concluyó que existen diferencias significativas entre las constantes de velocidad degradación promedio de los dos zumos, siendo las antocianinas presentes en el zumo de granada mucho más estables que las del zumo de arándano.
- Se determinó un mayor tiempo de vida media de las antocianinas en los zumos a la temperatura de almacenamiento más baja (30°C), en el zumo de arándano el tiempo de vida media fue 320.731 horas y en el zumo de granada 405.681 horas, evidenciando que las antocianinas presentes en el zumo de granada son mucho más estables respecto a las del zumo de

arándano ya que los compuestos de cada zumo no son los mismos, teniendo en cuenta que los alimentos son multicomponentes, es decir sus reacciones son complejas y la velocidad de estas depende de muchos factores propios del alimento.

- Los valores de energía de activación para el zumo pasteurizado de Arándano y Granada fueron 18.033 kcal/mol y 12.912 kcal/mol respectivamente, estos valores también confirmaron la mayor estabilidad de las antocianinas presentes en el zumo de granada, así mismo se llegó a esta última conclusión con los valores Q_{10} que se determinaron en este estudio.

VI. RECOMENDACIONES

- Para la medición de absorbancias en el espectrofotómetro se recomienda usar celdas de cuarzo o tubos de ensayo de vidrio, y si se utiliza celdas de plástico verificar que estén completamente limpias porque sustancias impregnadas en la superficie de estas celdas y que generan colores, influyen en los valores medidos de la muestra.
- Para estudios posteriores en zumo de arándano, se recomienda cumplir con las revoluciones y el tiempo en la centrifugación de la muestra, de esta manera se evita que partículas en suspensión interfieran en las mediciones de las absorbancias en el espectrofotómetro.
- Para estudios posteriores de la cinética de degradación térmica de antocianinas se recomienda evaluar como mínimo un 50% de su degradación para no tener problemas en definir el orden de reacción y determinar las constantes de velocidad.
- Los zumos de arándano y Granda, además de las antocianinas, tienen otros compuestos importantes, se recomienda evaluar la cinética de degradación térmica de estos compuestos en estudios posteriores.
- Se recomienda monitorear las temperaturas de almacenamiento de las muestras, verificar que los termostatos de las incubadoras se encuentren correctamente programados y calibrados.
- Se recomienda controlar correctamente los intervalos de tiempo para retirar las muestras de las incubadoras, codificarlas adecuadamente y medir lo más rápido posible el contenido de antocianinas.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, L. S.; Seeram, N. P.; Aggarwal, B. B.; Takada, Y.; Sand, D.; Heber, D. 2006 Pomegranate juice, total pomegranate ellagitannins, and punicalagin suppress inflammatory cell signaling in colon cancer cells. *J. Agric. Food Chem.* 54, 980-955.
- Alighourchi, H., & Barzegar, M. 2009. Some physicochemical characteristics and degradation kinetic of anthocyanin of reconstituted pomegranate juice during storage. *Journal of Food Engineering*, 90(2), 179-185.
- AGROENFOQUE 2013. Cultivo de Arándano en el Perú.
- AMPEX 2006. Perfil De Mercado De La Granada Fresca (*Granatum L. de Punica*).
- Astrid, G. G. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3), 27-36.
- Atkins. 1999. Fisicoquímica. Omega, Barcelona.
- Aviram, M.; Dornfeld, L.; Rosenblat, M.; Volkova, N.; Kaplan, M.; Coleman, R. 2000. Pomegranate juice consumption reduced oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Amer. J. Clin. Nutr.* 71, 1062-1076.
- Buckow, R., Kastell, A., Terefe, N. S., & Versteeg, C. 2010. Pressure and temperature effects on degradation kinetics and storage stability of total anthocyanins in blueberry juice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(18), 10076-10084.
- Brouillard, R. And Delaporte, B. 1977. Chemistry of Anthocyanin Pigments. Kinetic and Thermodynamic Study of Proton Transfer, Hidration, and Tautomeric Reactions of Malvidin-3-Glucoside. *Journal of the American Chemical Society.* (2 1). EE.UU.

- Brown Theodore L. et al. Química: La ciencia central. (Novena Edición), 2004. Editorial Pearson Educación, México.
- Cacace, J.E.; Mazza G. 2003. Optimization of extraction of anthocyanins from black currants with aqueous ethanol, en: Journal of Food Science 68(1): 240-248.
- Carolina Pereira, *et al* 2010. Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment. Journal of food science, vol. 75, no 2, p. C173-C176.
- Casp A; Abril J. 2003. *Procesos de conservación de alimentos*. 2ªed. Mundi-Prensa.
- Castañeda, A., Pacheco, M., Páez, M., Rodríguez, J. y Galán, C. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. Journal Food Chemistry 113: 859–871.
- Cemeroglu, B., Velioglu, S., & Isik, S. 1994. Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. Journal of Food Science, 59(6), 1216-1218.
- Cevallos-Casals, B.A. and Cisneros-Zevallos, L. 2004. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. Food Chemistry 86(1): 69-77.
- Chandra, A.; Nair, M., y Lezzoni, A. 1992. Evaluation and Characterization of Anthocyanin Pigments in Tart Cherries (*Pornus cerasus* L.). Journal of Agriculture and Food Chemistry, 40:867-898.
- Chun OK, Chung SJ, Song WO. 2007 Estimado la ingesta de flavonoides en la dieta y de las principales fuentes de alimentos de adultos en Estados Unidos. J. . Nutr; 137 :. 1244-1252.
- Clifford, M.N. 2000. Anthocyanins-nature, occurrence and dietary burden. J. Sci. Food Agriculture, 80:1063-1072.

- Cooke D., Steward W. P., Gescher A. J., Marczylo T. 2005. Anthocyanins from fruits and vegetables – Does bright colour signal cancer chemopreventive activity. *Eur. J. Cancer*, 41, 1931–1940.
- Davis, J. and Mazza, G. 1993. Copigmentation of Simple and Acylated Anthocyanins with Colorless Phenolic Compounds. *J. Agric. Food Chem.* (41). EE.UU.
- De Pascual-Teresa S, Sanchez-Ballesta MT. 2008 Anthocyanins: from plant to health. *Phytochem. Rev*; 7:281–299
- Delgado-Vargas F, Jiménez Ar, Paredes-López O. 2000 Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains-Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Crit Rev Food Sci Nutr*.;40(3):173-289.
- Delgado-Vargas, F. y Paredes-López, O. 2003. Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- De la Cruz R, Aguilera-Carbó A, Prado-Barragán A, Rodríguez-Herrera R, Contreras-Esquivel J, Aguilar C. 2011 Biodegradación Microbiana de Elagitaninos. *Bio Tecnología*.; 15(3): 11-18.
- Devi SP, Saravanakumar M, Mohandas S. 2012. The effects of temperature and pH on stability of anthocyanins from red sorghum (*Sorghum bicolor*) bran. *African Journal of Food Science*, 6: 567-573.
- Espín JC, García-Conesa MT y Tomás-Barberán FA. 2007. Nutraceuticals. Facts and ficiton. *Phytochemistry* 68: 2986-3008.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (2010).
- Fadavi, A.; Barzegar, M.; Azizi, M. H.; Bayat, M. 2005. Physicochemical composition of ten pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) grown in Iran. *Food Sci. Tech. Int*, 11, 113-119.
- Faria A, Pestana D, Teixeira D, de Freitas V, N de Mateus, C de Calhau. 2010. Departamento de bioquímica (U38-FCT), Facultad de medicina de la Universidad de Oporto, 4200-319 Oporto, Portugal.

- Ferreira Ozela E, Stringheta C, Cano Chauca M. 2007. Stability of anthocyanin in spinach vine (*Basella rubra*) fruits. *Ciencia e Investigación. Agraria*, 34: 115-120.
- Fimognari C, Berti F, Nüsse M, Cantelli Forti G, Hrelia P. 2005. In vitro Antitumor Activity of Cyanidin-3-O- β -Glucopyranoside. University of Bologna, Bologna, Italy; bGSF-National Research Center for Environment and Health, Neuherberg, Germany.
- Fischer UA, Carle R, Kammerer DR. 2011a Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) pee, mesocarp, ail and differently produced juices by HPLC-CAD-ESI/MS. *Food Chemistry*.; 127:807-821.
- Fisher UA, Dettmann JS, Carle R, Kammerer DR. 2011b Impact of processing and storage on the phenolic profiles and contents of pomegranate (*Punica granatum* L.) juices. *European Food Research and Technology*.; 233:797-816.
- Fossen, T., L. Cabrita and O. Andersen. 1998. Colour and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline region. *Food Chemistry* 63(4): 435-440.
- Fu, B.; Labuza T.P. 1997. *Shelf life testing: procedures and prediction methods in Quality of frozen food*. Ed. Erickson and T.T. Hung, 377-415. New York: Chapman & Hall, International Thomson.
- Garzón, G. Col. 2008. Anthocyanins as natural colorants and bioactive compounds. *Acta Biol.*, 13, 27- 36.
- Ghiselli A., Nardini M., Baldi A. y Scaccini C. 1998. Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 46(2),361-367.
- Gauche C., Da Silva E., Bordignon M. Effect of pH on the copigmentation of anthocyanins from Cabernet Sauvignon grape extracts with organic acids. *Sci. Agric.* 2010; 67 (1):1-4.

- Gil MI, Tomás-Barberán FA, Hess-Pierce B, Holcroft DM, Kader AA. 2000. Antioxidant Activity of Pomegranate Juice and Its Relationship with Phenolic Composition and Processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 48:4581-4589.
- Giusti, M. and R. Wrolstad. 2001. Anthocyanins. characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. Unit F1.2. In: Wrolstad, R. and S. Schwartz (eds.). *Current protocols in food analytical chemistry*. John Wiley and Sons, Inc. New York. pp. F1.2.1-F.1.2.13.
- Harbourne, N., J. Jacquier, D. Morgan and J. Lyng. 2008. Determination of the degradation kinetics of anthocyanins in a model juice system using isothermal and non-isothermal methods. *Food Chemistry* 111(1): 204–208.
- Hosseinian, F. S., and Beta, T. 2007. Saskatoon and wild blueberries have higher anthocyanins contents than other Manitoba berries. *J. Agric. Food Chem.* 55. 10832-10838.
- Hou F, X; Wang, S.; Hu Y.Y. 2003. Effects of noise on antioxidant enzymes of cochlea in guinea pigs. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. 21(2): 121-3.
- Hou D, X; Kai K.; Li J.J.; Lin S.; Terahara N.; Wakamatsu M.; Fuji M.; Youg M.R.; Colburn N. 2004. Anthocyanidins inhibit activator protein 1 activity and cell transformation: structure activity relationship and molecular mechanisms. *Carcinogenesis* 25: 29-36.
- Jackman, R. L., Yada, R. Y., Tung, M., and Speers, R. A. 1987. Anthocyanins as food colorants-A Review-. *J Food Biochem. Soc.* 11: 201-270.
- Jankowski A.; Janlowska B.; Niwdworok J. 2000. The effect of anthocyanin dye from grapes on experimental diabetes. *Folia Med Cracov* 41: 5-15.

- Johanningsmeier SD, Harris GK. 2011. Pomegranate as a Functional Food and Nutraceutical Source. *Annual Review of Food Science and Technology. Technol*;2:181-201.
- Joseph J.; Shuktt-Hale B.; Denisova NA.; Bielinsk D.; Martin A.; McEwen J.J.; Bickford PC. 1999. Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive, and motor behavioral deficits with blueberry, spinach, or strawberry dietary supplementation. *J Neurosci* 19: 8114-8121.
- Kalt, W., McDonald, J. E., and Donner, H. 2000 Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity of processed lowbush blueberry products. *J. Food Sci.* 5:390-393.
- Kechinski, C. P., Guimarães, P. V. R., Noreña, C. P. Z., Tessaro, I. C., & Marczak, L. D. F. 2010. Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment. *Journal of food science*, 75(2), C173-C176.
- Kilcast, D.; Subramaniam, P. 2011. Food and beverage stability and shelf life. Woodhead Publishing Limited.
- Kirca, A. and, B. Cemeroglu. 2003. Thermal degradation of blood orange anthocyanins. *Food Chemistry* 81(4): 583–587.
- Kirca, A., M. Özkan and B. Cemeroglu. 2006. Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. *Food Chemistry* 101(1): 212–218.
- Kopjar M, Piližota V. 2009. Copigmentation effect of phenolic compounds on red currant juice anthocyanins during storage. *Croatian Journal of Food Science and Technology*,1: 16-20.
- Labuza, T.P. 1984. *Application of chemical kinetics to deterioration of food*. *Journal Chemical Education* 61(4): 348-358.
- Labuza. 1984. Application of chemical kinetics to deterioration of foods. *Journal Chemical Education*.



- Laleh GH, Frydoonfar H, Heidary R, Jameel R, Zare S. 2006. The effect of light, temperature, pH and species on stability of anthocyanin pigments in four berberis species. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5: 90-92
- Laplaud, P.M., Lelubre, A., and Chapman, M. J. 1997 Antioxidant action of *Vaccinium myrtillus* extra con human low-density lipoproteins in Vitro: Initial observations. *Fundam. Clin. Pharm.* 11: 35-40.
- Lazze M.; Pizzala R.; Savio M.; Stivala L.; Prosperi E.; Bianchi L. 2003. Anthocyanins Project against DNA damage induced by tert-butyl-hidroperoxide in rat smooth muscle and hematoma cells. *Mutat Res* 535: 103-115.
- Lewis C, Walker J. 1995. Effect of polysaccharide son the colour of anthocyanins. *Food Chemistry*, 54: 315-319.
- Longo, L. y Vasapollo, G. 2006. Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries. *Food Chemistry* 94: 226–231.
- Lopes-da-Silva M, de Pascual-Teresa S, Rivas-Gonzalo J, Santos-Buelga C. 2002. Identificación de pigmentos de antocianina en la fresa (cv Camarosa) por LC utilizando DAD y ESI-MS detección. *Eur. Res alimentos. Technol*; 214 :. 248-253.
- MCGHIE T, et al. 2007 Dietary Supplementation with Fruit Polyphenolics Ameliorates Age-related Deficits in Behavior and Neuronal Markers of Inflammation and Oxidative Stress; 27(1):49-57.
- Manach, C., Scalbert, A, Morand, C., Rémésy, C., and Jimenez, L. 2004 Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 79: 727-747.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., Faria A., Olivera J., Neves P., Gameiro P., Santos-Buelga C., Fritas V., and Mateus N. 2005. Antioxidant Properties of Prepared Blueberry (*Vaccinium myrtillus*) Extracts. *J. Agric. Food Chem.* 53: 6896-69902.

- Maskan, M. 2006. Production of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice concentrate by various heating methods: colour degradation and kinetics. *Journal of Food Engineering*, 72(3), 218-224.
- Matsumoto HY, Nakamura Y, Hirayama M, Yoshiki Y, Okubo K. 2002. Antioxidant activity of Black currant anthocyanin aglycons and their glycosides measured by chemiluminescence in a neutral pH region and in human plasma. *J. Agric. Food Chem.*, 50(18): 5034–5037.
- Mazza, G.; Miniati; E. 2003. Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains. Boca Raton-Florida: *CRC Press*, 131-216.
- Mena P, García-Viguera C, Navarro-Rico J, Moreno DA, Bartual J, Saura D. y col. 2011. Phytochemical characterisation for industrial use of pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars grown in Spain. *Journal of the Science of Food and Agriculture.*; 91(10): 1893-1906.
- Min-Sheng S, Po-Jung Ch. 2007. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. *Food Chemistry* 104: 182–187.
- Miyazawa, T., Nakagawa, K., Kudo, M., Muraishi, K. & Someya, K. 1999. Direct intestinal absorption of red fruit anthocyanins, cyaniding-3-glucoside and cyaniding-3,5-diglucoside, into tracts and humans. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1083-1091.
- Moldovan B, David L, Chişbora C, Cimpoiu C. 2012. Degradation kinetics of anthocyanins from european cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit extracts. Effects of temperature, pH and storage solvent. *Molecules* 2012, 17: 11655-11666.
- Neto, C. C. 2007., and Kader, A. A. 1993. Low O₂ induced changes in pH and energy charge in pear fruits tissue. *Postharv Biol Tech.* 3:285-291.
- Neto, C. C. 2007a. Cranberry and blueberry: evidence for protective effects against cancer and vascular diseases. *Mol. Nutr. Food Res.* 51: 652-664.

- Oh J, Kim SJ, Imm J. 2006. Antioxidative effect of crude anthocyanins in water-in-oil microemulsion system. *Food Sci Biotech* 15: 283–8.
- Oh YS.; Lee J.H.; Yoon S.H.; Oh C.H.; Choi D.S.; Choe E.; Jung M.Y. 2008. Characterization and quantification of anthocyanins in grape juices obtained from the grapes cultivated in Korea by HPLC/DAD, HPLC/MS, and HPLC/MS/MS. *J. Food Sci.*, 73(5): C378–89.
- Olaya, C., Castaño, M. y Garzón, G. 2009. Stability of anthocyanins from *Rubus glaucus* Benth and *Solanum betaceum* Cav. dark-red strain as affected by temperature, storage time and water activity. *Acta Biológica Colombiana* 14 (3): 141-156.
- Owusu, A. 2005. Chemistry Postharvest. En: Introduction to Food Chemistry. Primera Edición. Editorial CRC Press. United States of America. P. 219.
- Özkan, M., A. Yemenicioglu, N. Asefi, and B. Cemeroglu. 2002. Degradation kinetics of anthocyanins from sour cherry, pomegranate and strawberry juices by hydrogen peroxide. *Journal of Food Science* 67(2): 525-529.
- Ozkan, M., A. Yemenicioglu and B. Cemeroglu. 2005. Degradation of various fruit juice anthocyanins by hydrogen peroxide. *Food Research International* 38(8-9): 1015-1021.
- Pereira Kechinski C, Ramos Guimaraes PV, Zapata Noreña CP, Tessaro IC, Ferreira Marczak LD. 2010. Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment. *Food Science*, 75: 173-176.
- Petrucci, W. S. Harwood, F. G. Herring, (Prentice Hall, Madrid, 2003. *Química General*, 8ª edición. R. H.
- Polo-Insfran DD, Brenes CH, Talcott ST. 2004. Phytochemical composition and pigment stability of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.). *J Agric Food Chem.*;52:1539-45.

- Rein M. 2005. Copigmentation reactions and color stability of berryanthocyanins. Academic dissertation. University of Helsinki. Department of Applied Chemistry and Microbiology Food Chemistry Division.
- Rinaldi M, Caligiani A; Borgese R, Palla G, Barbanti D, Massini R.2013. The effect of fruit processing and enzymatic treatments on pomegranate juice composition, antioxidant activity and polyphenols content. *Food Science and Technology*; 53: 355-359.
- Rojano, Benjamín; Cristina Zapata, Isabel y Cortes 2012, Farid Bernardo. Estabilidad de antocianinas y valores de capacidad de absorción de radicales oxígeno (ORAC) de extractos acuosos de corozo (*Bactris guineensis*).
- Rossi A, Serraino I, Dugo P, Di Paola R, Mondell L, Gerovese T, Morabito D, Dugo G, Sautebin L, Caputi AP, Cuzzocrea S. 2003. Protective effects of anthocyanins from blackberry in a rat model of acute lung inflammation. *Free Radic Res* 37: 891-900.
- Rubiano, L. S. 2006. Alimentos funcionales, una nueva alternativa de alimentación. *Orinoquia*, 10(1), 16-23.
- Sánchez, W.; Cortez, J.; Solano, Mi.; Vidaurre, J.; 2014. Cinética de degradación térmica de betacianinas, betaxantinas y vitamina C en una bebida a base de jugo de remolacha (*Beta vulgaris* L.) y miel de abeja. *Scientia Agropecuaria* [online]. 2015, vol.6, n.2, pp. 111-118.
- Seeram, N.P. 2008. Berry Fruits for Cancer Prevention: Current Status and Future Prospects. *J. Agric. Food Chem*56: 630-635.
- Seeram, N, P., Adams, L. S., Zhang, Y., Lee, R., Sand, D., Scheuller, H. S., and Heber, D 2006b. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red Raspberry, and Strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. *J. Agric Food Chem*. 54: 9329-9339.

- Seeram, N.P., Aviram, M., Zhang Y., Henning, S.M., Feng, L., Dreher, M. and Heber, D. 2008a. Comparasion of antioxidante potency of Commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States. *J. Agric Food Chem.* 56:1415-1422.
- Shipp J. y Abdel-Aal S. M. 2010. Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients. *The Open Food Science Journal*, 4:7-22.
- Shrikhande A.; Francis F. 1974. Effect of flavonols on ascorbic acid and anthocyanin stability in model systems. *Journal of Food Science* 39(5): 904–906
- Sierra Exportadora. 2014. Cultivo de Arándano en el Perú.
- Singh, R.P.; 1994. Scientific principles of shelf life evaluations, In: *Shelf Life Evaluation of Foods*, C M D Man and J A Jones (eds). Blackie Academic and Professional, London pp. 3+26.
- Skrede, G., Wrolstad, R. E., & Durst, R. W. 2000. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Journal of Food Science*, 65(2), 357-364.
- Songnian, G., Zhouyong, D., Haiyan, S., & Xinghua, L. 2008. Stability of anthocyanin in pomegranate juice and its degradation kinetics. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2008(3).
- Starr M.S.; Francis F. 1968. Oxygen and ascorbic acid effect on the relative stability of four anthocyanin pigments in cranberry juice. *Food Technology* 22(10): 91–93.
- Stone-Zafra, S., Yasmin, T., Baghci, M., Chatterjee, A., Vinson, J.A. and Bagchi D. 2007. Research article. Berry anthocyanins as novel antioxidant in human health and disease prevention. *Mol. Nutr. Food Res.* 51:675-683.

- Timberlake, C.F. y Henry, B.S. 1986. Plant pigments as natural food colours. *Endeavour* NS 10:31-36.
- Tsuda T, Horio F, Uchida K, Aoki H, Osawa T. 2003. Dietary cyaniding 3-O-beta-D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *J Nutr* 133: 2125-30.
- Tristan F., Kraft B., Schmidt B. M., Yousef G. G., Knigh C. T. G. y Cuendet M. 2005. Chemopreventive potential of wild lowbush blueberry fruits in multiple stages of carcinogenesis. *Journal of Food Science*, 70(3), S159-S166.
- Tzulker R, Glazer I, Bar-Ilan I, Holland D, Aviram M, Amir R. 2007 Antioxidant Activity, Polyphenol Content, and Related Compunds in Different Fruit Juices and Homogenates Prepared from 29 Different Pomegranate Accessions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 55: 9559-9570.
- Valdez-Hernández, J. I 2011. Características anatómicas y propiedades físicas de la madera en el cultivo del granado (Apartados del 1. al 3.)
- Vial, C. (2006) Variedades de Arándano en el Perú.
- Van Boekel, S.; Martinus, A. 2009. Kinetic Modeling of Reactions in Foods. New York; CRC Press.
- Vidaurre, J. 2014. *Principios básicos para determinar la vida útil de los alimentos*. Lambayeque: CIP.
- Viladomiu M, Hontecillas , Lu P, Bassaganya-Riera J.2013. Preventive and Prophylactic Mechanisms of Action of Pomegranate Bioactive Constituents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*; 2013:1-18.
- Walford J. 1980. Development in Food Colours. Appl. Sci. London, England. P. 46-89.
- Wang J. y Mazza G. 2002. Inhibitory effects of anthocyanins and other phenolic compounds on nitric oxide production in LPS/IFN gamma-

- activated RAW 264.7 macrophages, *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 50, 850-857.
- Wang S.; Jiao H. 2000. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *J. Agric Food Chem* 48: 5677-84.
- Wang, W. D., & Xu, S. Y. 2007. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of Food Engineering*, 82(3), 271-275.
- Wesche-Ebeling P. y Montgomery M.W. 1990. Strawberry Polyphenol Oxidase: its Role in Anthocyanin Degradation *Journal of Food Science*, 55: 71-734, 745.
- Wrolstad, R.E; Francis, & G. J. Lauro (Eds.) 2000, *Natural Food Colorants y Anthocyanins* (pp. 237-252). New York: Marcel Dekker. Cap. 11.
- Youdim MB, Gassen M, Gross A, Mandel S, Grunblatt E. 2000. Iron chelating, antioxidant and cytoprotective properties of dopamine receptor agonist, apomorphine. *J. Neural Transm Suppl.* 58: 83–96.
- Zambrano, M., Jobanny, J., Rojas Sarmiento, H. A., Borda Guerra, G. D. C., Caro, H., Nidia, A., & Medina Riaño, M. F. 2011. Stability of anthocyanins in juice and concentrate of agraz (*vaccinium meridionale* sw). *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 64(1), 6015-6022.
- Zapata, Luz, 2014. Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria. Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Zhonggao, J., J. Liu and S. Wang. 2005. Antioxidant activities of total pigment extract from blackberries. *Food Technology Biotechnology* 43: 97–102.

VIII. ANEXOS

Anexo I. Procedimiento de análisis fisicoquímicos.

A. Determinación de antocianinas.

El contenido de antocianinas totales se determinó según el método de pH diferencial, descrito por Giusti y Wrolstad (2001), usando dos sistemas buffer: cloruro de potasio (KCl); pH 1,0 (0,025M), y acetato de sodio (CH₃COONa), pH 4,5 (0,4M). Estos autores realizaron la caracterización y medición de antocianinas por Espectroscopía UV-Visible y concluyen que en éste método pH diferencial las antocianinas sufren transformaciones estructurales reversibles con un cambio en el pH que se manifiesta por sorprendentemente diferentes espectros de absorbancia, la forma de oxonio color predomina a pH 1,0 y de la forma hemiacetal incoloro a pH 4,5 (Fig. 20). El método pH-diferencial se basa en esta reacción, y permite la medición precisa y rápida de las antocianinas totales, incluso en presencia de pigmentos degradados polimerizados y otros compuestos que interfieren.

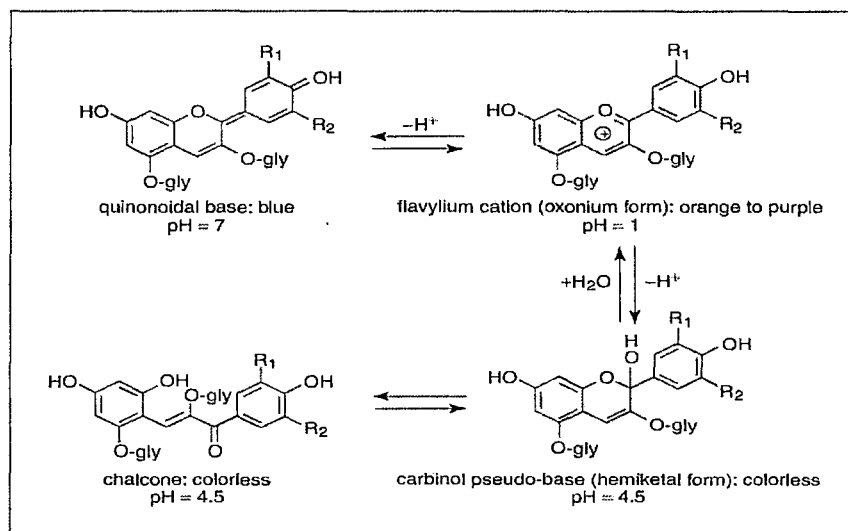


Figura 20: Formas estructurales predominantes de antocianinas presentes en los diferentes niveles de pH.

*quinonoidal base blue: Base quinoidal azul.

*flavylium cation (oxonium form) orange to purple: cation flavilio oxonio: naranja a purpura.

*chalcone colorless: Incolora chalcona

*carbinol pseudo-base (hemiketal form) colorless: pseudo-base carbinol forma hemiacetal incolora.

Las 11 muestras que fueron almacenadas en cada incubadora, fueron extraídas de acuerdo al tiempo programado, cada muestra contenía 10 ml, se extrajo 2 ml de muestra y se diluyó (1ml para cada solución) con las respectivas soluciones buffer (5ml) y la absorbancia fue medida 3 veces a 510 y 700 nm, usando un espectrofotómetro UV-Vis. El contenido total de antocianinas se expresó de acuerdo con la ecuación 8:

$$[AC_t] = \frac{AxMxFDx1000}{\epsilon x l} \quad (\text{Ec. 8})$$

Donde:

Para la concentración de Antocianinas en Arándano:

[ACt] = mg/L de Malvidin-3,5-diglucósido; A = (A510 - A700) pH1,0 - (A510 - A700) pH4,5; M (peso molecular) = 691 g/mol de Malvidin-3,5-diglucósido; FD= factor de dilución; l= ancho de la celda en cm; ϵ = 37700 coeficiente de extinción molar en L/mol/cm de Malvidin-3,5-diglucósido; 1000 = conversión de g a mg.

Para la concentración de Antocianinas en Granada:

[ACt] = mg/L de Cianidina-3-glucósido; A = (A510 - A700) pH1,0 - (A510 - A700) pH4,5; M (peso molecular) = 449,2 g/mol de Cianidina-3-glucósido para el zumo pasteurizado de Arándano; factor de dilución; l= ancho de la celda en cm; ϵ = 29600 coeficiente de extinción molar en L/mol/cm de Cianidina-3-glucósido; 1000 = conversión de g a mg.

B. Determinación de sólidos solubles (°Brix).

Para medir los sólidos solubles (°Brix) de zumo pasteurizado de arándano (*Vaccinium myrtillus*) y granada (*Punica Granatum*) se utilizará un Refractómetro ATAGO PAL-3.

C. Determinación de pH.

Para medir el pH de zumo pasteurizado de granada (*Punica Granatum*) y zumo pasteurizado de arándano (*Vaccinium myrtillus*) se utilizará un Potenciómetro HANNA.

Anexo II. Resultados de las absorbancias en la determinación de antocianinas en arándano.

Tabla 13. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas en el zumo de arándano, almacenadas a la temperatura de 30°C.

tiempo (h)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
0	0.638 ±0.001	0.026 ±0.001	0.223 ±0.000	0.020 ±0.001
48	0.622 ±0.001	0.024 ±0.001	0.218 ±0.001	0.018 ±0.001
96	0.544 ±0.001	0.023 ±0.001	0.190 ±0.001	0.017 ±0.001
144	0.458 ±0.002	0.017 ±0.001	0.160 ±0.001	0.013 ±0.001
192	0.454 ±0.002	0.018 ±0.001	0.159 ±0.001	0.013 ±0.001
240	0.393 ±0.001	0.016 ±0.001	0.137 ±0.001	0.011 ±0.001
288	0.347 ±0.001	0.013 ±0.001	0.121 ±0.001	0.011 ±0.001
336	0.323 ±0.001	0.012 ±0.002	0.113 ±0.001	0.009 ±0.001
384	0.271 ±0.001	0.012 ±0.001	0.093 ±0.002	0.009 ±0.001
432	0.268 ±0.001	0.010 ±0.001	0.093 ±0.001	0.007 ±0.000
480	0.229 ±0.001	0.009 ±0.001	0.081 ±0.001	0.006 ±0.001

Tabla 14. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas en el zumo de arándano, almacenadas a la temperatura de 40°C.

tiempo (h)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
0	0.638 ±0.001	0.026 ±0.001	0.223 ±0.000	0.020 ±0.001
24	0.572 ±0.001	0.022 ±0.002	0.204 ±0.002	0.018 ±0.001
48	0.537 ±0.001	0.022 ±0.001	0.186 ±0.001	0.015 ±0.001
72	0.436 ±0.001	0.017 ±0.001	0.152 ±0.001	0.013 ±0.001
96	0.362 ±0.001	0.014 ±0.001	0.127 ±0.001	0.010 ±0.001
120	0.349 ±0.001	0.013 ±0.001	0.123 ±0.002	0.011 ±0.001
144	0.288 ±0.001	0.012 ±0.001	0.101 ±0.001	0.008 ±0.001
168	0.241 ±0.001	0.009 ±0.001	0.082 ±0.001	0.007 ±0.001
192	0.228 ±0.001	0.008 ±0.001	0.081 ±0.001	0.006 ±0.001
216	0.213 ±0.001	0.008 ±0.001	0.072 ±0.002	0.006 ±0.001
240	0.198 ±0.001	0.008 ±0.002	0.068 ±0.001	0.005 ±0.001

Tabla 15. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas en el zumo de arándano, almacenadas a la temperatura de 50°C.

tiempo (h)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
0	0.638 ±0.001	0.026 ±0.001	0.223 ±0.000	0.020 ±0.001
9	0.556 ±0.001	0.022 ±0.002	0.194 ±0.002	0.017 ±0.001
18	0.442 ±0.002	0.018 ±0.001	0.153 ±0.001	0.012 ±0.001
27	0.394 ±0.001	0.016 ±0.001	0.138 ±0.001	0.012 ±0.002
36	0.312 ±0.001	0.012 ±0.001	0.108 ±0.001	0.008 ±0.001
45	0.283 ±0.001	0.013 ±0.001	0.098 ±0.001	0.007 ±0.001
54	0.221 ±0.001	0.009 ±0.001	0.077 ±0.001	0.007 ±0.001
63	0.223 ±0.001	0.008 ±0.002	0.077 ±0.001	0.007 ±0.001
72	0.159 ±0.001	0.007 ±0.003	0.055 ±0.001	0.005 ±0.001
81	0.137 ±0.001	0.006 ±0.002	0.046 ±0.002	0.004 ±0.001
90	0.134 ±0.001	0.005 ±0.001	0.047 ±0.000	0.003 ±0.001

Tabla 16. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas en el zumo de arándano, almacenadas a la temperatura de 60°C.

tiempo (h)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
0	0.638 ±0.001	0.026 ±0.001	0.223 ±0.006	0.020 ±0.000
4	0.661 ±0.001	0.006 ±0.001	0.308 ±0.001	0.027 ±0.001
8	0.621 ±0.001	0.007 ±0.001	0.291 ±0.001	0.025 ±0.001
12	0.531 ±0.001	0.006 ±0.001	0.248 ±0.001	0.022 ±0.001
16	0.487 ±0.001	0.005 ±0.001	0.227 ±0.001	0.021 ±0.001
20	0.397 ±0.002	0.005 ±0.001	0.185 ±0.002	0.016 ±0.001
24	0.367 ±0.001	0.004 ±0.001	0.172 ±0.002	0.015 ±0.002
28	0.313 ±0.001	0.003 ±0.001	0.146 ±0.001	0.013 ±0.001
32	0.301 ±0.001	0.003 ±0.001	0.142 ±0.001	0.012 ±0.001
36	0.284 ±0.002	0.002 ±0.001	0.131 ±0.001	0.010 ±0.001

Anexo III. Resultados de las absorbancias en la determinación de antocianinas en granada.

Tabla 17. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas en el zumo de granada, almacenadas a la temperatura de 30°C.

tiempo (h)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
0	0.857 ±0.002	0.034 ±0.001	0.255 ±0.001	0.029 ±0.001
120	0.748 ±0.001	0.031 ±0.001	0.223 ±0.001	0.024 ±0.001
240	0.593 ±0.001	0.023 ±0.001	0.175 ±0.001	0.020 ±0.001
360	0.448 ±0.002	0.018 ±0.001	0.133 ±0.001	0.016 ±0.001
480	0.406 ±0.002	0.017 ±0.001	0.120 ±0.002	0.014 ±0.001
600	0.298 ±0.001	0.012 ±0.001	0.088 ±0.001	0.011 ±0.001
720	0.269 ±0.002	0.012 ±0.002	0.080 ±0.001	0.009 ±0.001
840	0.208 ±0.001	0.008 ±0.002	0.061 ±0.001	0.006 ±0.001

Tabla 18. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas en el zumo de granada, almacenadas a la temperatura de 40°C.

tiempo (h)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
0	0.857 ±0.002	0.034 ±0.001	0.255 ±0.001	0.029 ±0.001
48	0.752 ±0.001	0.029 ±0.002	0.223 ±0.002	0.025 ±0.001
96	0.670 ±0.001	0.027 ±0.001	0.199 ±0.001	0.020 ±0.001
144	0.532 ±0.001	0.022 ±0.001	0.158 ±0.001	0.018 ±0.001
192	0.428 ±0.001	0.016 ±0.001	0.127 ±0.001	0.013 ±0.001
240	0.398 ±0.001	0.016 ±0.001	0.118 ±0.001	0.012 ±0.001
288	0.321 ±0.001	0.012 ±0.001	0.096 ±0.001	0.011 ±0.001
336	0.255 ±0.001	0.011 ±0.001	0.077 ±0.001	0.009 ±0.001
384	0.236 ±0.001	0.008 ±0.001	0.072 ±0.002	0.007 ±0.001
432	0.215 ±0.001	0.008 ±0.001	0.064 ±0.001	0.008 ±0.001
480	0.178 ±0.001	0.006 ±0.001	0.052 ±0.001	0.005 ±0.001

Tabla 19. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas en el zumo de granada, almacenadas a la temperatura de 50°C.

tiempo (h)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
0	0.857 ±0.002	0.034 ±0.001	0.255 ±0.001	0.029 ±0.001
24	0.702 ±0.001	0.027 ±0.001	0.208 ±0.001	0.022 ±0.001
48	0.577 ±0.001	0.022 ±0.001	0.173 ±0.001	0.018 ±0.001
72	0.503 ±0.001	0.018 ±0.001	0.148 ±0.001	0.015 ±0.002
96	0.393 ±0.001	0.014 ±0.001	0.117 ±0.001	0.012 ±0.001
120	0.348 ±0.001	0.012 ±0.001	0.102 ±0.002	0.012 ±0.001
144	0.268 ±0.001	0.010 ±0.001	0.081 ±0.001	0.008 ±0.001
168	0.263 ±0.001	0.007 ±0.001	0.077 ±0.001	0.009 ±0.001
192	0.188 ±0.001	0.006 ±0.001	0.055 ±0.001	0.005 ±0.001

Tabla 20. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas en el zumo de granada, almacenadas a la temperatura de 60°C.

tiempo (h)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
0	0.857 ±0.002	0.034 ±0.001	0.255 ±0.001	0.029 ±0.001
12	0.774 ±0.001	0.031 ±0.001	0.232 ±0.002	0.024 ±0.001
24	0.708 ±0.001	0.028 ±0.001	0.211 ±0.000	0.023 ±0.001
36	0.578 ±0.001	0.022 ±0.001	0.173 ±0.001	0.017 ±0.001
48	0.532 ±0.001	0.022 ±0.001	0.159 ±0.001	0.017 ±0.001
60	0.431 ±0.001	0.017 ±0.001	0.128 ±0.001	0.014 ±0.001
72	0.385 ±0.001	0.014 ±0.001	0.116 ±0.001	0.013 ±0.002
84	0.323 ±0.002	0.012 ±0.001	0.095 ±0.001	0.011 ±0.001
96	0.308 ±0.001	0.012 ±0.001	0.093 ±0.002	0.009 ±0.001
108	0.278 ±0.001	0.011 ±0.001	0.082 ±0.001	0.008 ±0.001

Anexo IV. Resultados del análisis estadístico

Tabla 21. Análisis de Varianza para CONSTANTE DE VELOCIDAD - Suma de Cuadrados Tipo III.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	0.0012	3	0.0004	16278.800	0.0000
B: Zumo	0.0003	1	0.0003	13759.340	0.0000
INTERACCIONES					
AB	0.0003	3	0.0001	3780.940	0.0000
RESIDUOS	0.0000	16	0.0000		
TOTAL (CORREGIDO)	0.0018	23			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Tabla 22. Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para constante de velocidad con intervalos de confianza del 95.0%

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	24	0.0097			
Temperatura					
30	6	0.00193	6.401E-05	0.00179764	0.00206903
40	6	0.0043	6.401E-05	0.00416431	0.00443569
50	6	0.0128	6.401E-05	0.0126643	0.0129357
60	6	0.01975	6.401E-05	0.0196143	0.0198857
Zumo					
Arandano	12	0.01345	4.5262E-05	0.013354	0.013546
Granada	12	0.00594	4.5262E-05	0.00584572	0.00603762
Temperatura por Zumo					
30, Arándano	3	0.00217	9.0523E-05	0.00197477	0.00235857
30, Granada	3	0.0017	9.0523E-05	0.0015081	0.0018919
40, Arándano	3	0.0052	9.0523E-05	0.0050081	0.0053919
40, Granada	3	0.0034	9.0523E-05	0.0032081	0.0035919
50, Arándano	3	0.01807	9.0523E-05	0.0178748	0.0182586
50, Granada	3	0.00753	9.0523E-05	0.00734143	0.00772523
60, Arándano	3	0.02837	9.0523E-05	0.0281748	0.0285586

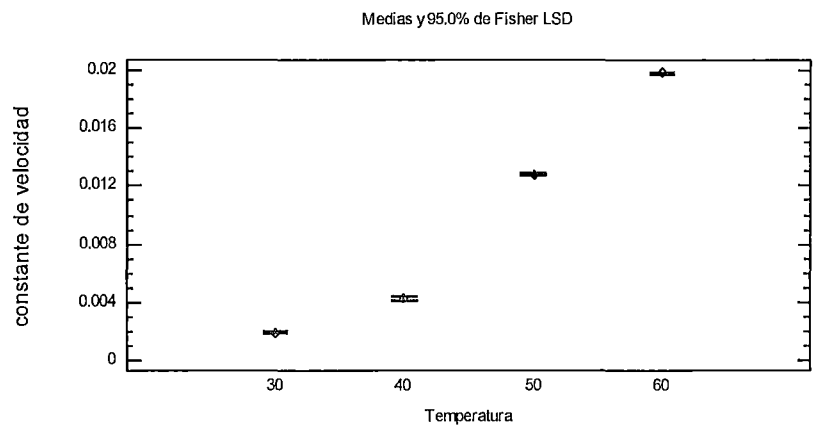


Figura 21. Gráfico de Medias

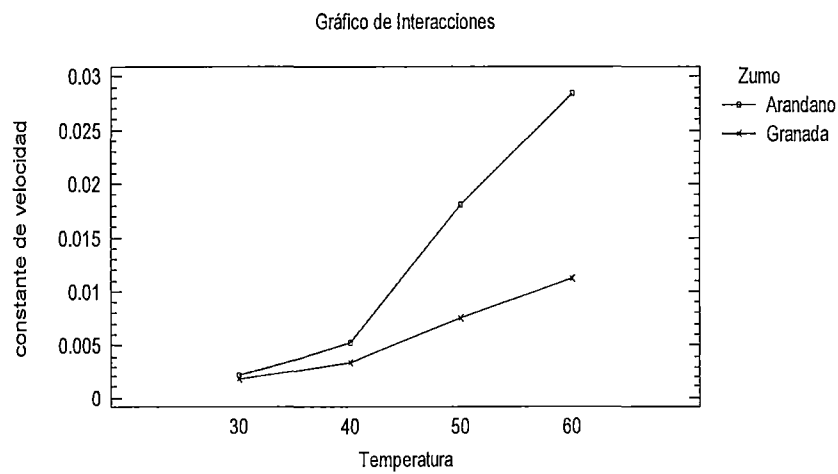


Figura 22. Gráfico de Interacciones

Tabla 23. Pruebas de Múltiple Rangos para constante de velocidad por Temperatura.

Método: 95.0 porcentaje

Tukey HSD

					Grupos
Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS		Homogéneos
	30	6	0.00193	6.401E-05	X
	40	6	0.0043	6.401E-05	X
	50	6	0.0128	6.401E-05	X
	60	6	0.01975	6.401E-05	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
30 – 40	*	-0.0024	0.00025911
30 – 50	*	-0.0109	0.00025911
30 – 60	*	-0.0178	0.00025911
40 – 50	*	-0.0085	0.00025911
40 – 60	*	-0.0155	0.00025911
50 – 60	*	-0.007	0.00025911

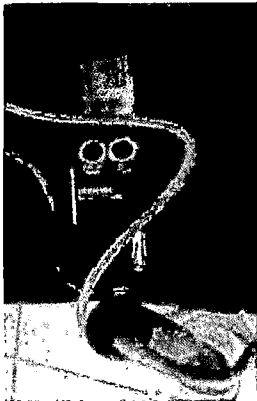
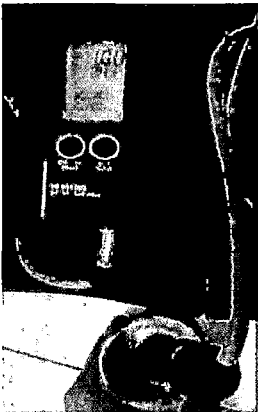
* indica una diferencia significativa.

Tabla 24. Pruebas de Múltiple Rangos para constante de velocidad por Zumos

Método: 95.0 porcentaje Tukey				
HSD				
				Grupos
Zumo	Casos	Media LS	Sigma LS	Homogéneos
Granada	12	0.00594	4.5262E-05	X
Arandano	12	0.01345	4.5262E-05	X
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites	
Arandano – Granada	*	0.00751	0.00013569	
* indica una diferencia significativa.				

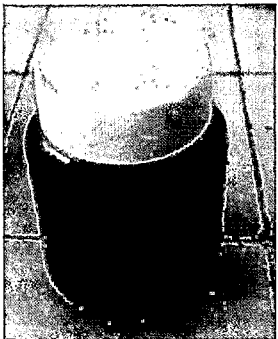
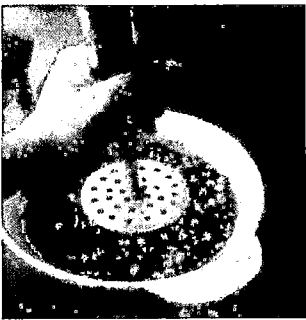
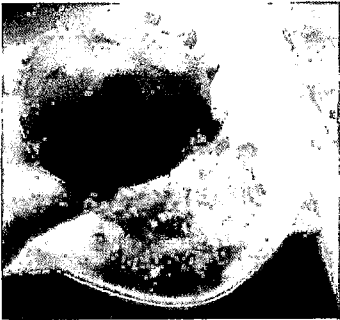


Anexo V. Imágenes
A. Preparación de los Buffer

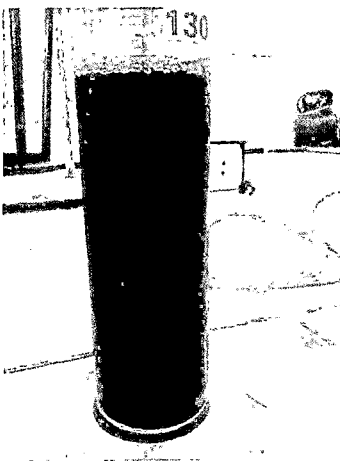


B. OBTENCIÓN DEL ZUMO

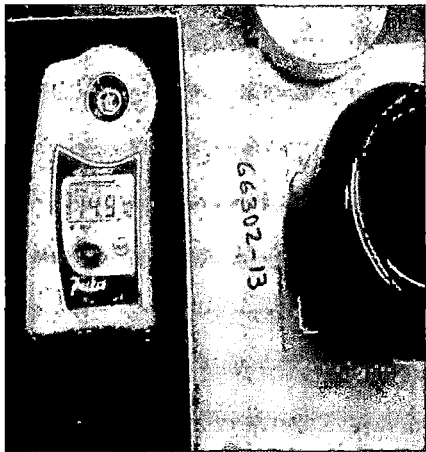
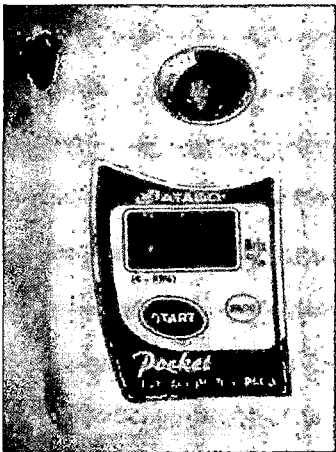
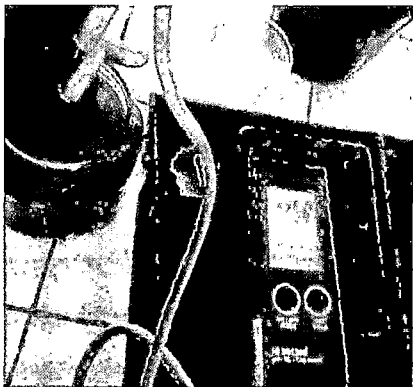
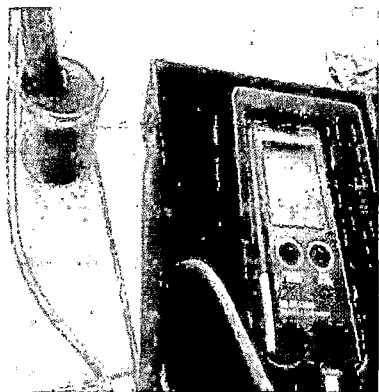
Zumo de Granada

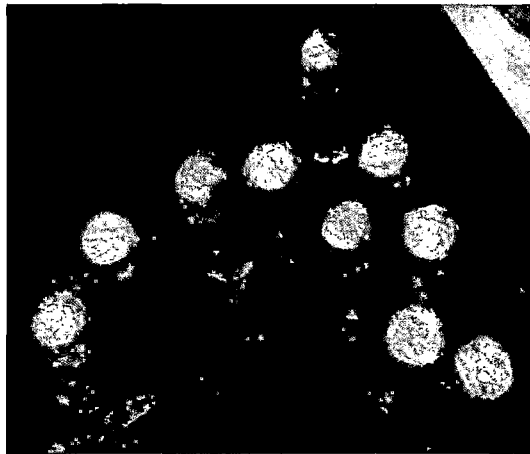
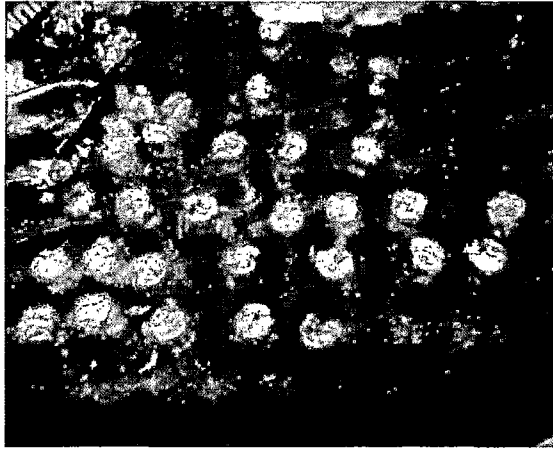


Zumo de Arándano

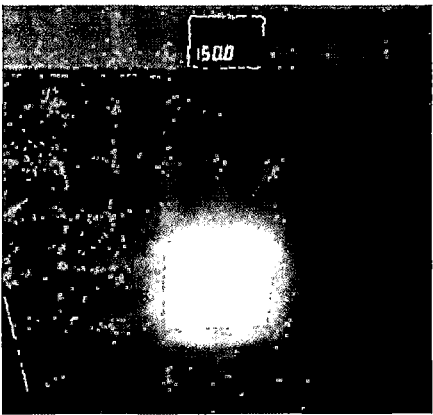
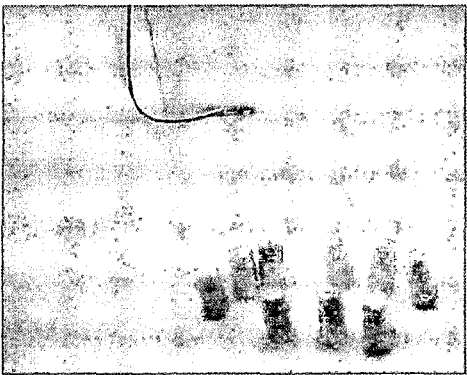
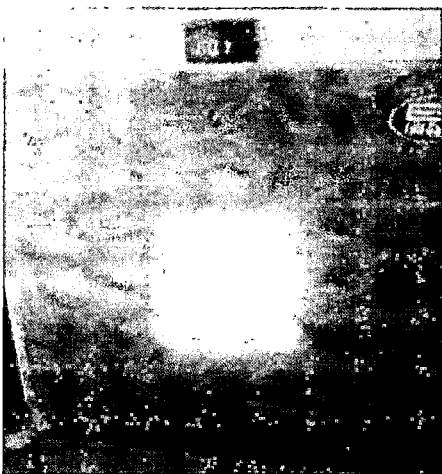


C. MEDICION DE pH y ° Brix EN LA MUESTRA



D. Envasado de muestras

E. Almacenamiento de las muestras en las incubadoras



F. Medición de las absorvancias en el espectrotómetro.



