



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO



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

**Estabilidad de los extractos de antocianinas obtenidos a partir de los
desechos del proceso de elaboración de jugo de Arándanos (*Vaccinium
myrtillus* L.) y de las corontas de Maíz Morado (*Zea mays* L.)**

TESIS

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

AUTORA

Bach. Quiroz Torres Zenaida Beatriz

ASESOR

Ing. Guerreño Braco James Jenner

LAMBAYEQUE – PERÚ

2017



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO



ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

TESIS

AUTORA

Bach. ZENaida BEATRIZ QUIROZ TORRES

APROBADO POR:

M.Sc. Ruben Darío Sachun García

PRESIDENTE DEL JURADO

M.Sc. Juan Francisco Robles Ruiz

SECRETARIO DEL JURADO

Ing. Héctor Villa Cajavilca

VOCAL

Ing. James Jenner Braco Guerrero

ASESOR

**LAMBAYEQUE-PERÚ
2017**

DEDICATORIA

A mis padres Ricardo Miro Quiroz Sánchez y Carmen Rosa Torres Delgado por su apoyo, confianza, por ser las mejores personas en mi vida, aprendiendo cada vez más de ellos, por ser las ganas de seguir creciendo.

A mis hermanos José Ricardo Quiroz Torres y Beatriz Del Carmen Quiroz Torres porque sé que cuento con ellos, y por toda esa intercomunicación que nos une desde donde estemos.

A todas las personas que de alguna forma me han ayudado y enseñado a mejorar como persona.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por brindarme esa fuerza de querer, de poder y lograrlo.

A mi gran amigo, Ing. William Sánchez Chávez, por sus ideas. Tiempo y paciencia en la realización de este trabajo.

A mi Asesor Ing. James Guerrero Braco, Docentes jurados, Técnico de laboratorio Sr. Sergio y a todas las personas de algún modo contribuyeron con sus ideas y tiempo para la realización de este trabajo.

ÍNDICE

Pág.

INTRODUCCIÓN.....	1
I. FUNDAMENTO TEÓRICO	5
1.1. MAÍZ MORADO.....	5
1.1.1. Nombres comunes	5
1.1.2. Variedades	5
1.1.3. Variedades mejoradas.....	8
1.1.4. Taxonomía y morfología.....	8
1.1.5. Fotoquímica.....	10
1.1.6. Composición nutricional	11
1.2. ARÁNDANO.....	13
1.2.1. Nombres comunes	13
1.2.2. Variedades	13
1.2.3. Taxonomía y morfología.....	14
1.2.4. Fitoquímica	15
1.2.5. Composición nutricional	16
1.3. ANTOCIANINAS.....	18
1.3.1. Estructura de las antocianinas	18
1.3.2. Biosíntesis de las antocianinas	21
1.3.3. Frutas que contienen antocianinas.....	23
1.3.4. Propiedades funcionales de las antocianinas.....	24
1.3.5. Estabilidad de antocianinas	27
1.3.6. Factores que influyen en la estabilidad de antocianinas.....	28
1.3.7. Vías de degradación de las antocianinas.....	33
1.3.8. Uso de las Antocianinas como colorantes naturales	36
1.4. EXTRACCIÓN SOLIDO-LÍQUIDO	37
1.4.1. Extracción de antocianinas	42
1.5. CINÉTICA QUÍMICA DEL DETERIORO DE LOS ALIMENTOS.....	46
1.5.1. Orden de reacción.....	48
1.5.2. Velocidad de reacción	49
1.5.3. Reacción de orden cero	49
1.5.4. Reacción de primer orden.....	51
1.5.5. Reacción de segundo orden.....	52
1.5.6. Tiempo de vida media	52
1.5.7. Modelo Q10	53
1.5.8. Modelo de Arrhenius.....	54
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	55

2.1.	LOCALIZACIÓN	55
2.2.	MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS.....	55
2.2.1.	Materiales y equipos	55
2.2.2.	Reactivos	56
2.3.	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	57
2.3.1.	Obtención de las muestras	57
2.3.2.	Almacenamiento de las muestras.....	57
	59	
2.3.3.	Codificación de las muestras.....	59
2.3.4.	Metodología de análisis.....	60
2.3.5.	Determinación del orden de reacción y la constante de velocidad	61
2.3.6.	Determinación de la Energía de activación.....	62
2.3.7.	Determinación del factor Q ₁₀	62
2.3.8.	Determinación del tiempo de vida media (T _{1/2}).....	63
2.3.9.	Análisis de datos	63
III.	RESULTADOS.....	64
3.1.	CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LOS EXTRACTOS EN ESTUDIO ANTES DEL ALMACENAMIENTO.	64
3.2.	DEGRADACIÓN DE ANTOCIANINAS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS.....	65
3.3.	ORDEN DE REACCIÓN DE LAS ANTOCIANINAS	71
3.4.	CONSTANTES DE VELOCIDAD (K), ENERGÍA DE ACTIVACIÓN (EA), FACTOR Q ₁₀ Y TIEMPO DE VIDA MEDIA (T _{1/2}) DE LAS ANTOCIANINAS.....	72
IV.	DISCUSIONES.....	77
V.	CONCLUSIONES.....	84
VI.	RECOMENDACIONES	86
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
VIII.	ANEXOS	100

LISTA DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Composición química del Maíz morado (Contenido en 100g).	13
Tabla 2. Especies del género <i>Vaccinium</i> de importancia comercial	14
Tabla 3. Composición química del arándano.	17
Tabla 4. Sustituyentes de las antocianinas	18
Tabla 5. Contenido de antocianos en alimentos.....	24
Tabla 6. Determinación de antocianinas en las muestras a diferentes tiempos y temperaturas en EPJA.	60
Tabla 7. Determinación de antocianinas en las muestras a diferentes tiempos y temperaturas para el extracto ECMM.	61
Tabla 8. Caracterización de los concentrados EPJA y ECMM.	64
Tabla 9. Concentración de antocianinas en las muestras en el EPJA durante el almacenamiento.	65
Tabla 10. Concentración de antocianinas en las muestras en el ECMM durante el almacenamiento.	66
Tabla 11. Estadísticas de regresión lineal simple para la degradación de antocianinas en EPJA y ECMM para cada temperatura a partir de los datos experimentales de concentración versus tiempo.....	71
Tabla 12. Constantes de velocidad de primer orden.	72
Tabla 13. Energía de Activación (E_a) y factor Q10 en degradación de compuestos	75
Tabla 14. Efecto de la temperatura en la k (h^{-1}) de las antocianinas en el EPJA a distintas temperaturas de almacenamiento	79
Tabla 15. Efecto de la temperatura en la k (h^{-1}) de las antocianinas en el ECMM a distintas temperaturas de almacenamiento.	80
Tabla 16. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas del EPJA a 30°C de almacenamiento.	101
Tabla 17. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas del EPJA a 40°C de almacenamiento.	102
Tabla 18. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas del EPJA a 50°C de almacenamiento.	103

Tabla 19. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas del EPJA a 60°C de almacenamiento.	104
Tabla 20. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas del ECMM a 30°C de almacenamiento.	105
Tabla 21. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas del ECMM a 40°C de almacenamiento 40 °C.	106
Tabla 22. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas del ECMM a 50°C de almacenamiento.	107
Tabla 23. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas del ECMM a 60°C de almacenamiento.	108
Tabla 24. Análisis de Varianza para constante de velocidad con un nivel de 95% de confianza del EPJA.	109
Tabla 25. Análisis de Varianza para constante de velocidad con un nivel de 95% de confianza del ECMM.	109
Tabla 26. Tabla de Medias para Constante de velocidad por Temperatura con intervalos de confianza del 95.0% del EPJA.	109
Tabla 27. Tabla de Medias para Constante de velocidad por Temperatura con intervalos de confianza del 95.0% del ECMM.	109
Tabla 28. Pruebas de Múltiple Rangos para constante de velocidad por Temperatura del EPJA. Método: 95.0 porcentaje LSD.	110
Tabla 29. Pruebas de Múltiple Rangos para constante de velocidad por Temperatura del ECMM. Método: 95.0 porcentaje LSD.	111

LISTA DE FIGURAS	Pág.
Figura 1. Estructura de las antocianinas.	18
Figura 2. Estructura de las diferentes antocianidinas.....	20
Figura 3. Ruta general de la biosíntesis de antocianinas.	22
Figura 4. Transformaciones estructurales de los antocianos en disolución acuosa. ..	29
Figura 5. Posibles mecanismos de degradación de dos antocianinas comunes.....	34
Figura 6. Procedimiento EPJA para su determinación de antocianinas.....	58
Figura 7. Procedimiento ECMM para su determinación de antocianinas	59
Figura 8. Concentración de antocianinas (mg/ 100ml) versus el tiempo de almacenamiento a 60°C del EPJA.	67
Figura 9. Concentración de antocianinas (mg/ 100ml) versus el tiempo de almacenamiento a 50°C del EPJA.	67
Figura 10. Concentración de antocianinas (mg/ 100ml) versus el tiempo de almacenamiento a 40°C del EPJA.	68
Figura 11. Concentración de antocianinas (mg/ 100ml) versus el tiempo de almacenamiento a 30°C del EPJA.	68
Figura 12. Concentración de antocianinas (mg/ 100ml) versus el tiempo de almacenamiento a 60°C del ECMM.	69
Figura 13. Concentración de antocianinas (mg/ 100ml) versus el tiempo de almacenamiento a 50°C del ECMM.	69
Figura 14. Concentración de antocianinas (mg/ 100ml) versus el tiempo de almacenamiento a 40°C del ECMM.	70
Figura 15. Concentración de antocianinas (mg/ 100ml) versus el tiempo de almacenamiento a 30°C del ECMM.	70
Figura 16. Degradación de antocianinas en EPJA a diferentes temperaturas.....	73
Figura 17. Degradación de antocianinas en ECMM a diferentes temperaturas.	74
Figura 18. Grafica de Arrhenius para la degradación de antocianinas en EPJA.....	76
Figura 19. Grafica de Arrhenius para la degradación de antocianinas en ECMM.....	76
Figura 20. Gráfico de Medias del EPJA.....	110
Figura 21. Gráfico de Medias del ECMM	111

LISTA DE ANEXOS

Pág.

Anexo 1. Procedimiento de análisis fisicoquímicos.....	100
Anexo 2. Resultados de las absorbancias en la determinación de antocianinas en EPJA.	101
Anexo 3. Resultados de las absorbancias en la determinación de antocianinas en ECMM.	105
Anexo 4. Resultados del análisis estadístico.....	109
Anexo 5. Imágenes	112

RESUMEN

El estudio se realizó en dos extractos para determinar la cinética de degradación de antocianinas, uno de ellos a partir del desecho del proceso del jugo de arándano (EPJA) y el otro obtenido a partir de la coronta del maíz morado (ECMM), fue evaluada a temperaturas de 30, 40, 50 y 60°C, utilizando los modelos cinéticos de orden cero, primer y segundo orden (todos los datos experimentales se ajustaron adecuadamente a una cinética de primer orden) ;así como el modelo de Arrhenius para evaluar la dependencia de la velocidad de degradación con respecto a la temperatura la cual esta variable tiene una influencia significativa en las constantes de cada extracto.

Se determinó que la degradación del compuesto evaluado en las cuatro temperaturas ensayadas siguió una cinética de primer orden con una alta correlación ($R^2 = 0.988$; 0,988; 0,993, 0.994 para el EPJA y 0.989, 0.991, 0.991, 0.962 para el ECMM). Se determinó que las antocianinas se degradan a menor velocidad (la velocidad de degradación aumenta con el incremento de la temperatura) a la temperatura más baja evaluada (30°C) en los dos extractos, siendo las constantes 0.0024 y 0.0016 h⁻¹ para EPJA y ECMM respectivamente

Asimismo a partir de las constantes de velocidad se determinaron los tiempos de vida media ($t_{1/2}$) como 284.4 h y 440.3 h en EPJA y ECCM respectivamente

a la temperatura de 30 °C; las energías de activación ($E_a = 14.58$ y 1.84 Kcal/mol en EPJA Y ECMM respectivamente) y los valores Q_{10} .

Las constantes de estabilidad obtenidas fueron realmente bajas, entonces se puede considerar que los extractos pueden ser incorporados a la industria que los fabrique por su alta estabilidad.

ABSTRACT

The study was realized in two extracts to determine the kinetic of degradation of antocianinas one from the waste of the process of the juice of cranberry (EPJA) and another one obtained from the coronta of the corn purple (ECMM), was evaluated to 30, 40, 50 and 60°C, using the kinetic models of order zero, first and second order; as well (All experimental data were adequately fitted to a first order kinetics) ;as the model of Arrhenius to evaluate the dependence of the speed of degradation with regard to the temperature which this variable has a significant influence on the constants of each extarct.

It was determined that anthocyanins degrade at a slower rate (degradation rate increases with increasing temperature) at the lowest temperature evaluated (30 ° C) in the two extracts, with the constants being 0.0024 and 0.0016 h⁻¹ for EPJA and ECMM respectively

Also from the speed constants the average lifetimes ($t_{1/2}$) were determined as 284.4 h and 440.3 h in EPJA and ECCM respectively at 30 ° C; The activation energies (E_a = 14.58 and 1.84 Kcal / mol in EPJA and ECMM respectively) and the values Q_{10} .

The stability constants obtained were indeed low, so it can be considered that the extracts can be incorporated into the industry which manufactures them for their high stability.

INTRODUCCIÓN

El color de un alimento es una de las características organolépticas fundamentales que se considera al elegir uno de ellos, ya sea porque indica el grado de madurez de una fruta o si un trozo de carne está o no fresco. En el caso de alimentos procesados como helados, bebidas de fantasía, jugos de fruta o confites, el color también es fundamental, ya que indica cual es el sabor más probable del alimento, así el rojo se asocia con frutilla, el amarillo con plátano, el verde con manzana o kiwi y el naranja con sabor a naranja (Ortega, 2004).

Se define color como la sensación producida por los rayos luminosos que impresionan los órganos visuales y que depende de su longitud de onda (RAE, diccionario de la lengua española, 2001). Si asociamos esta definición con los alimentos se tiene que el color de este da la primera impresión y quizás la más importante, acerca de él, la que nos lleva, en el anaquel del supermercado a elegir cuál de ellos consumir. Colorear los alimentos es y ha sido una práctica muy común en la industria que los fabrica, ya sea para resaltar el color natural, recuperar el color perdido por el tratamiento a los que se somete el alimento, dar un color uniforme a distintas partidas o simplemente hacerlo más atractivo a los consumidores, quienes en su mayoría prefiere productos de colores definidos y llamativos. Para conseguir dar color a los alimentos, fuera del que posee por su naturaleza se utilizan sustancias colorantes (aditivos) las cuales

son sustancias que al ser agregadas a los alimentos les proporciona, refuerzan o varían el color (Ortega, 2004).

Los colorantes pueden ser de origen natural o artificial, siendo estos últimos los más utilizados. Sin embargo, las regulaciones oficiales de la Unión Europea y EEUU han restringido el uso de colorantes artificiales debido a sus posibles efectos adversos sobre la salud (Tsuda *et al.*, 2001; Amin *et al.*, 2010). En la actualidad existe un creciente interés en el desarrollo, utilización y consumo de colorantes naturales (Stintzing y Carle, 2004; Moßhammer *et al.*, 2007).

Se ha observado una tendencia de los consumidores hacia los productos naturales así como una mayor preocupación sobre la toxicidad de los aditivos sintéticos ello se traduce no solo en una tendencia de mercado sino en una legislación cada vez restrictiva sobre el uso de este tipo de aditivos particularmente los colorantes (Muñoz *et al.* 2003).

Los colorantes naturales presentan demanda considerable en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica para reemplazar a los colorantes sintéticos, debido a su naturaleza química, inocuidad y funcionalidad. Entre estos colorantes naturales se encuentran las antocianinas que se distribuyen ampliamente en el reino vegetal y están presentes en raíces, tallos, hojas, flores y frutos de las plantas superiores (Escribano *et al.*, 2004; Pascual *et al.*, 2002).

El contenido de antocianinas frecuentemente se relaciona con la calidad del color y la capacidad antioxidante de frutos y vegetales (Zhonggao *et al.*, 2005). El arándano y maíz morando, son fuentes muy ricas de antocianinas, de los cuales se pueden obtener extractos muy ricos de estos compuestos que son interesantes por su impacto sobre las características sensoriales de los alimentos, ya que se pueden utilizar como colorantes alimentarios naturales. Además, debido a su elevada actividad antioxidante, presentan potenciales beneficios para la salud (Zapata, 2014).

La alta vulnerabilidad de las antocianinas a la temperatura (Kirca y Cemeroglu, 2003; Kirca *et al.*, 2007; Harbourne *et al.*, 2008), presencia de oxígeno (Starr y Francis, 1968), ácido ascórbico (Shrikhande y Francis, 1974) y peróxido de hidrógeno (Özkan *et al.*, 2002), así como cambios en el pH (Kirca *et al.*, 2007; Cevallos y Cisneros, 2004; Fossen *et al.*, 1998), permiten valorar la calidad de los productos que los contienen.

Actualmente, el estudio del contenido y estabilidad de antocianinas es de gran importancia ya que son relativamente inestables y presentan reacciones degradativas en el procesamiento y almacenamiento de las mismas.

A pesar de las ventajas que ofrecen las antocianinas como sustitutos potenciales de los colorantes artificiales, factores como su baja estabilidad y la falta de disponibilidad de material vegetal limitan su aplicación comercial (Wrolstad, 2000; Cevallos y Cisneros, 2004). Las restricciones en el uso de

colorantes sintéticos en alimentos han conducido al interés en el uso potencial de antocianinas como un colorante alimenticio en bebidas, jarabes, jugos de frutas, gelatinas, mermeladas, helados, dulces de pasta y yogures, así como en pasta dental, productos farmacéuticos, cosméticos y otros similares (Clydesdale y Francis, 1976; Durante *et al.*, 1995).

Objetivo general

- Evaluar la estabilidad térmica de los extractos de antocianinas obtenidos a partir de los desechos del proceso de elaboración de jugo de Arándanos (*Vaccinium myrtillus L.*) y de las corontas de maíz morado (*Zea mays L.*).

Objetivos específicos

- Determinar la concentración de antocianinas en los extractos a diferentes tiempos y temperaturas de almacenamiento.
- Determinar el orden de reacción de la degradación de antocianinas en los extractos.
- Determinar las constantes de velocidad de degradación de antocianinas en los extractos a las diferentes temperaturas de almacenamiento.
- Determinar el tiempo de vida media de la degradación de antocianinas en los extractos.
- Determinar la energía de activación (E_a) y los valores del factor Q_{10} de la reacción de degradación de antocianinas en los extractos evaluados.

I. FUNDAMENTO TEÓRICO

1.1. Maíz morado

1.1.1. Nombres comunes

Maíz Morado, “Kculi” (voz quechua), Millo o Elote, Peruvian purple corn, Purple corn, Purple maize, Indian corn, Abatí, etc.

1.1.2. Variedades

Hay diferentes variedades de Maíz morado, todas ellas proviene de una raza ancestral denominada “Kculi” que todavía se cultiva en el Perú. Las formas más típicas están casi extintas. La raza “Kculi” es muy antigua, restos arqueológicos con mazorcas típicas de esta raza se han encontrado en Ica, Paracas, Nazca y otros lugares de la costa central cuya antigüedad se estima por lo menos en 2,500 años. También se encuentran mazorcas moldeadas, con las características de la raza, en la cerámica Mochica (Sevilla y Valdez, 1985).

Manrique, (1997) refiere que Kculi es una de las cinco razas ancestrales de las que se han originado todas las demás, actualmente en existencia en el mundo. Presentan pocas razas que presentan pigmentos antociánicos en el grano y en la coronta.

En Sudamérica, donde se encuentran con mayor frecuencia, se encuentra el Kculli de Bolivia, que es muy parecido al peruano, tanto en la morfología de la planta y mazorca, como en la intensidad de la coloración; el Negrito chileno, que tiene la mazorca más chica y los granos más delgados, aunque presenta más hileras de granos; el Kculli argentino tiene las mazorcas grandes y se diferencia de las otras razas similares de Sudamérica en que los granos son más duros (Justiniano, 2010).

Sevilla y Valdez (1985), describen las variedades tradicionales más conocidas:

1.1.2.1. Cuzco Morado

Variedad relacionada a la raza Cuzco Gigante. Es tardía, de granos grandes, dispuestos en mazorcas de 8 hileras muy bien definidas. Se cultiva en diferentes lugares en zonas intermedias en altitud, en los departamentos de Cuzco y Apurímac.

1.1.2.2. Morado Canteño

Derivada de la raza Cuzco, con características de mazorca muy similares a la raza Cuzco Morado, aunque de menores dimensiones. Es más precoz. Se cultiva en muchos lugares en la Sierra del Perú, pero especialmente en las partes altas del valle del Chillón, en el departamento de Lima, hasta los 2,500 m.s.n.m. Es la variedad que más se consume en el mercado de Lima.

1.1.2.3. Morado de Caraz

Variedad derivada de las razas Ancashino y Alazán. Recibe este nombre porque se cultiva en la localidad de Caraz, en el Callejón de Huaylas, en extensiones relativamente grandes. El maíz es más chico que las variedades de origen cuzqueño. Es de precocidad intermedia y tiene la ventaja que puede adaptarse también a la Costa. Entre las variedades tradicionales es la que muestra mayor capacidad de rendimiento, y la que presenta la coronta más pigmentada.

1.1.2.4. Arequipeño

En las alturas de los departamentos de Arequipa se encuentra una variedad de granos morados dispuestos en hileras regulares en la mazorca. La forma de la mazorca es similar al Cuzco, pero más chica. El color de la tusa no es tan intenso como en otras variedades, pero en la colección hecha en Arequipa se encuentra mucha variabilidad para esta característica, por lo que puede ser mejorada. Es más precoz que las variedades previamente citadas.

1.1.2.5. Negro de Junín

Se denomina así a una variedad precoz de granos negros, grandes, dispuestos irregularmente en una mazorca corta y redondeada. Es similar en forma a la raza San Jerónimo Huancavelicano. Se le encuentra en la Sierra Centro y Sur, hasta Arequipa, ocupando alturas mayores que otras variedades.

1.1.3. Variedades mejoradas

1.1.3.1. PMV – 58

La única variedad que está en producción actualmente, es una variedad mejorada por la Universidad Nacional Agraria La Molina, obtenida a través de la variedad Morado de Caraz, adaptada a la costa y sierra baja. Resistencia a roya y cercospora. De periodo vegetativo intermedio, mazorcas medianas de 15 –20 cm., alargadas y con alto contenido de pigmento, y un potencial de rendimiento de 6 Tn/ha (Manrique, 1997).

1.1.3.2. PMV –582

Variedad mejorada por la Universidad Nacional Agraria La Molina, adaptada a la sierra alta, planta baja, intermedia de mazorcas medianas, con alto contenido de antocianinas, con un potencial de rendimiento de 4 Tn/ha (Manrique ,1997).

1.1.4. Taxonomía y morfología

1.1.4.1. Taxonomía

El maíz morado se clasifica de la siguiente manera (Takhtajan, 1980).

Clase	:	Liliopsida o monocotiledónea
Familia	:	Poaceae
Género	:	<i>Zea</i>
Especie	:	<i>Zea mays L.</i>

1.1.4.2. Morfología

Takhtajan (1980), lo describe de la siguiente manera:

1.1.4.2.1. Raíz

Las raíces son fasciculadas y su misión es la de aportar un perfecto anclaje a la planta. En algunos casos sobresalen unos nudos de las raíces a nivel del suelo y suele ocurrir en aquellas raíces secundarias o adventicias.

1.1.4.2.2. Tallo

El tallo es simple erecto, de elevada longitud pudiendo alcanzar los 4 metros de altura, es robusta y sin ramificaciones. Por su aspecto recuerda al de una caña, no presenta entrenudos.

1.1.4.2.3. Hojas

Las hojas son largas, de gran tamaño, lanceoladas, alternas. Se encuentran abrazadas al tallo y por el haz presenta vellosidades. Los extremos de las hojas son muy afilados y cortantes.

1.1.4.2.4. Flores

El maíz es de inflorescencia monoica con inflorescencia masculina y femenina separada dentro de la misma planta.

1.1.4.2.5. Fruto y semilla

El grano o fruto del maíz es un cariopse. La pared del ovario o pericarpio está fundida con la cubierta de la semilla o testa y ambas están combinadas conjuntamente para conformar la pared del fruto. El fruto maduro consiste de tres partes principales: la pared, el embrión diploide y el endosperma triploide. La parte más externa del endosperma en contacto con la pared del fruto es la capa de aleurona.

1.1.5. Fotoquímica

Los componentes químicos en el maíz morado son: ácido salicílico, grasas, resinas, saponinas, sales de potasio y sodio, azufre y fósforo, y sus compuestos fenólicos (Arroyo *et al.*, 2010).

Los compuestos fenólicos contenidos en el maíz morado, actúan como antioxidantes, secuestrando especies reactivas de oxígeno e inhibiendo las enzimas productoras de radicales libres (Atmani *et al.*, 2011).

Dentro de los compuestos fenólicos, tenemos a las antocianinas; concretamente, pigmentos hidrosolubles ampliamente distribuidos en el reino vegetal (Aguilera *et al.*, 2011).

La cianidina 3-glucósido es una importante antocianina presente en el maíz morado, suprime el 7,12-dimethylbenzo antraceno, el cual induce a la carcinogénesis mamaria, lo que indica que el color de maíz morado puede ser un agente quimioterapéutico prometedor (Fukamachi *et al.*, 2008).

1.1.6. Composición nutricional

El maíz azul ofrece algunas características nutricionales muy interesantes destacando una menor cantidad de almidón, un índice glucémico inferior menor al maíz normal (interesante para personas diabéticas), y una carga proteica superior en un 20% al del maíz blanco (Méndez *et al.*, 2005).

1.1.6.1. Carbohidratos

Los carbohidratos complejos representan alrededor del 80% del peso total del grano. Los polisacáridos más importantes en el maíz azul son los estructurales y los de reserva. Los del tipo estructural se encuentran en las paredes del grano y son la pectina, hemicelulosa y lignina (Boyer y Shannon, 2001).

1.1.6.2. Proteínas

Las proteínas son las macromoléculas más importantes desde el punto de vista nutricional. Representan aproximadamente el 10% del grano. El maíz azul contiene albuminas, globulinas, glutelinas y prolaminas (Badui, 2006).

1.1.6.3. Lípidos

Los lípidos representan el 5% del maíz azul. Se encuentran en mayor proporción con el germen. Además los lípidos del maíz azul son muy estables, porque contienen altos niveles de antioxidantes del grano y el 16% restante se encuentra en el endospermo. La mayoría de los lípidos son triglicéridos y se componen por los ácidos linoléico (50%), oleico (35%), palmítico (13%), esteárico (4%) y linolenico (3%). Por lo tanto, el maíz azul es una excelente fuente de ácidos grasos y genera aceites de buena calidad (Boyer y Shannon, 2001).

1.1.6.4. Vitaminas

El maíz azul posee vitaminas hidrosolubles y liposolubles. El grano contiene dos vitaminas liposolubles en concentraciones importantes: la vitamina A con 2.5mg/kg y la vitamina E con 36mg/kg. En la aleurona, germen y endospermo están las vitaminas hidrosolubles. Se han encontrado cantidades variables de tiamina y riboflavina. La concentración está determinada por el medio ambiente, prácticas de cultivo y la genética (Dickerson, 2008).

1.1.6.5. Minerales

Los minerales se encuentran mayoritariamente en el germen del maíz azul. El fósforo es el más abundante y representa el 0.1% del grano integral. (Dickerson, 2008).

De forma sintetizada la composición química del maíz grano y coronta del maíz morado, se reporta en la siguiente tabla:

Tabla 1. Composición química del Maíz morado (Contenido en 100g).

Componente	Maíz Grano (%)	Coronta (%)
Humedad	11.40	11.20
Proteína	6.70	3.74
Grasa	1.50	0.32
Fibra	1.80	24.01
Cenizas	1.70	3.29
Carbohidratos	76.90	57.44

Fuente: Collazos, (1962) y Fernández (1995).

1.2. Arándano

1.2.1. Nombres comunes

Los nombres recibidos por la fruta en distintos idiomas son: blueberry en inglés, bleuet en francés, mirtillo en italiano y portugués, y heidelberre en alemán.

1.2.2. Variedades

Los arándanos constituyen un grupo de especies nativas principalmente del hemisferio Norte, que pertenecen al género *Vaccinium* de la familia de las Ericáceas. Representan una de las especies frutales de más reciente domesticación, ya que los programas formales de mejoramiento genético se inician sólo a principios del presente siglo. El arándano “alto”, *Vaccinium*

corymbosum L.; el arándano “ojo de conejo”, *V. ashei* R.; y el arándano “bajo”, *V. angustifolium*. El arándano alto fue la especie que primero se introdujo al cultivo a partir de selecciones provenientes de cruzamientos de *V. corymbosum* y *V. australe* en 1906 EE.UU (Buzeta, 1997).

De las más de 30 especies que constituyen el género *Vaccinium*, sólo un pequeño grupo de ellas tienen importancia comercial. En la Tabla 2 aparecen enumeradas las especies de interés, indicándose el nombre científico más comúnmente para referirse a cada una de ellas.

Tabla 2. Especies del género *Vaccinium* de importancia comercial

Nombre vulgar	Nombre científico	Tipo de cultivo
Arandano Alto (Highbush)	<i>Vaccinium</i> <i>corymbosum</i> L.	cultivado
Arandano Ojo de Conejo (Rabbiteye)	<i>Vaccinium ashei</i>	cultivado
Arándana	<i>Vaccinium</i> <i>macrocarpon</i>	silvestre
Arándano Europeo (Bilberry)	<i>Vaccinium myrtillus</i>	silvestre

Fuente: Muñoz, (2008)

1.2.3. Taxonomía y morfología

Los arándanos son arbustos rectos siempre verdes, con hojas alternas, enteras o cerradas, las flores axilares o terminales, en racimo y el fruto tiene forma de una baya esférica de color azul metálico (Sudzuki, 2002).

Los arándanos son pequeñas bayas esféricas de 7 a 25 mm de color azul claro a oscuro, que contienen pequeñas semillas y presentan un sabor agridulce muy característico. Proviene de plantas florales de la familia Ericaceae, género *Vaccinium* (Corrêa *et al.*, 2008).

1.2.4. Fitoquímica

Los arándanos son una importante fuente de diferentes fitonutrientes (ácido ascórbico, manganeso, compuestos polifenólicos). Entre los distintos compuestos que poseen, se le ha prestado especial atención al grupo de las antocianinas debido a que poseen una muy alta capacidad antioxidante (Rice *et al.*, 1995) y se les atribuyen propiedades anticancerígenas, beneficiosas para el tracto urinario y reductoras de enfermedades cardiovasculares (Kalt and Dufour, 1997).

Los arándanos son notificados por su alto contenido de ácido ascórbico, sin embargo la mayor fuente de propiedades antioxidantes de estos frutos no está ligado al contenido de ácido ascórbico (Smith *et al.*, 2000). La capacidad antioxidante que poseen los arándanos se correlaciona con el contenido total de compuestos fenólicos y antocianos, mientras que la vitamina C contribuye en forma pequeña dentro de la capacidad antioxidante total (Kalt *et al.*, 2000).

El fruto del arándano contiene principalmente antocianinas, responsables de su característico color azul y también menores cantidades de quercatina; ácidos p-hidroxibenzoico, protocateico y clorogénico; y taninos condensados (Mazza y Miniati, 1993).

El fruto constituye una excelente fuente de vitamina C; de fibra dietética; de minerales como manganeso, potasio, hierro y calcio; y presenta además un bajo nivel de calorías lo que lo convierte en un producto con variados e importantes beneficios para la nutrición y salud, transformándose en un componente importante de una dieta sana (Pritts y Hancock, 1992; Gough, 1994).

Las antocianinas y otros compuestos fenólicos son componentes característicos de este tipo de frutas (Del Río *et al.*, 2010). No sólo imparten un color característico, sino también, propiedades antioxidantes (Heinonen y col., 1998; Azevedo *et al.*, 2010).

1.2.5. Composición nutricional

La “Food and Drug Administration” (FDA, 2011) lo cataloga como un alimento libre de grasas y sodio, libre de colesterol y rico en fibras y vitamina C.

Tabla 3. Composición química del arándano.

Componente	Cantidad
Agua (%)	83.2
Carbohidratos (%)	15.3
Fibras (%)	1.5
Proteínas (%)	0.7
Grasas (%)	0.5
Pectinas (%)	0.5
Azúcares totales (%)	10-14
Azúcares reductores (%)*	>95
Sacarosa (%)	0.24
Fructuosa (%)	4.04
Glucosa (%)	3.92
Contenido de sólidos solubles (%)	10.1 - 14.2
Acidez titulable (%)	0.3-0.8
Principal ácido orgánico	Cítrico
Pigmentos	
Antocianinas (ug/100g)	
Carotenoides (ug/100g)	0.2-0.3
β Caroteno (ug/100g)	
Vitamina A (UI)	100
Ácido ascórbico (ug/100g)	14
Componentes volátiles de significancia organoléptica	Trans-2-hexanol

* Sobre azúcar total

Fuente: Dinamarca *et al.* (1986).

1.3. Antocianinas

1.3.1. Estructura de las antocianinas

Las antocianinas son glucósidos solubles formados por una molécula de antocianidina (aglicona) que se unen a una fracción de carbohidrato a través de un enlace β -glucosídico y son una de las clases de flavonoides que existen en abundancia (Gross, 1987). La estructura química consiste en un grupo flavilo formado por un anillo de benzopirano unido a un anillo fenílico (Badui, 2006).

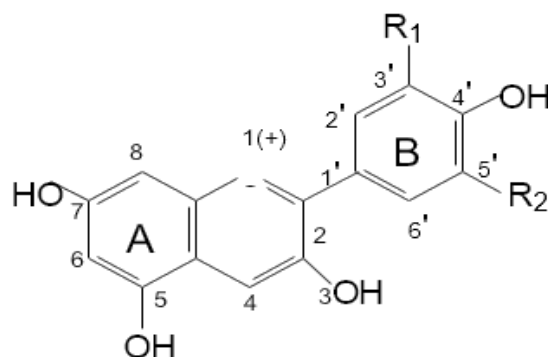


Figura 1. Estructura de las antocianinas.

Fuente: Rodríguez y Wrolstad, (2001).

Tabla 4. Sustituyentes de las antocianinas

Aglicona	Substitución		λ_{max} (nm)
R ₁ R ₂	espectro visible		
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH3	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH3	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH3	OCH3	510 (azul-rojo)

Fuente: Rodríguez y Wrolstad, (2001).

Todas las antocianinas son derivadas del catión flavilo básico (Gross, 1987). Se conocen más de 100, las diferencias entre ellas se debe al número de grupos hidróxilos, el grado de metoxilación de éstos grupos, así como la naturaleza y el número de los ácidos aromáticos y alifáticos presentes en la molécula (Lewis y Walker, 1995).

Las flavonas aparecen junto con las antocianinas y también participan en el color de las plantas como copigmentos. El mecanismo de copigmentación es exclusivo de la familia de las antocianinas e incluye asociaciones con flavonoides, polifenoles, alcaloides, ácidos orgánicos y otros compuestos de favilio. El papel que desempeñan estos copigmentos es el de proteger el catión flavilio de las antocianinas del ataque nucleofílico de las moléculas de agua y por lo tanto mantener el color intenso (Lewis y Walker, 1995).

Debido a la poca solubilidad de las antocianinas en agua, éstas no se encuentran de manera libre en la naturaleza, sino en su forma glicosilada (antocianidinas). En esta estructura encontramos que el grupo hidroxilo de la posición 3 está siempre glicosilada, lo que le dará estabilidad y solubilidad al cromóforo (Walford, 1980).

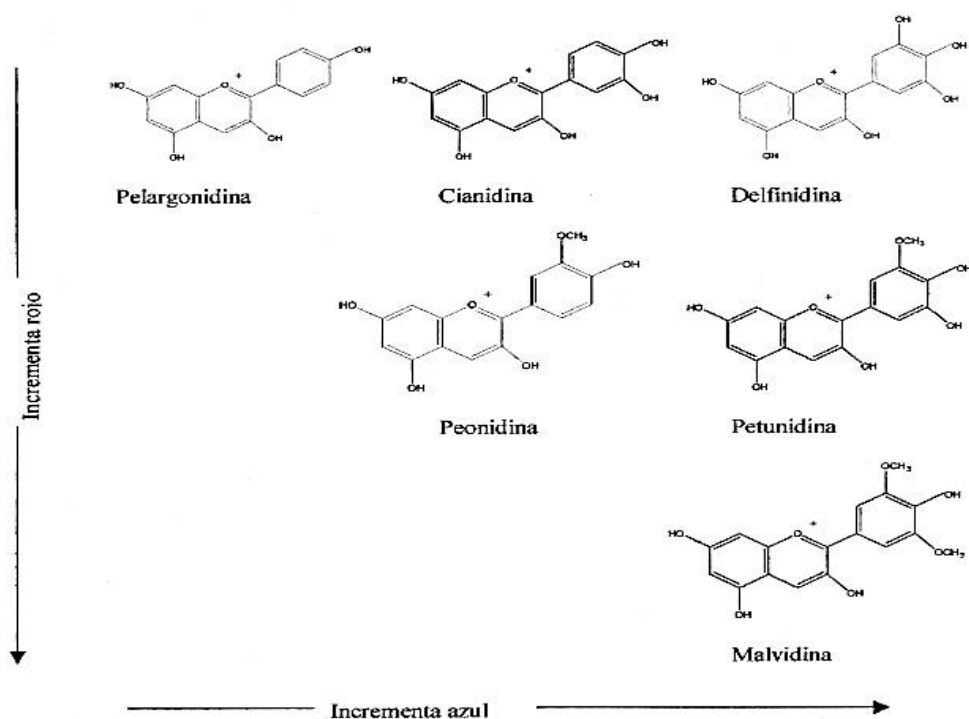


Figura 2. Estructura de las diferentes antocianidinas

Fuente: Fennema, (2000).

Las antocianinas tienen un sustituyente hidroxilo glicosilado, el cual les da estabilidad y solubilidad. Dependiendo de los otros sustituyentes se obtendrán diferentes colores. La variedad de antocianinas depende del número de grupos hidroxilo, azúcares, grupos alifáticos y ácidos aromáticos unidos a la estructura básica de las antocianinas. Los carbohidratos comúnmente unidos a las antocianidinas son glucosa, galactosa, xilosa, arabinosa y rammosa (Chirinos *et al.*, 2006).

1.3.2. Biosíntesis de las antocianinas

Los compuestos fenólicos son biosintetizados por varias rutas, entre las cuales sobresalen la del ácido shikímico y la del ácido malónico. En la ruta del ácido shikímico, los carbohidratos simples derivados de la glicólisis, de la ruta de las pentosas fosfato y del ciclo de Calvin se convierten en diversos ácidos orgánicos como el cinámico, p-coumárico, cafeico, ferúlico, clorogenico y fenilalanina. En el paso principal de la biosíntesis de flavonoides, ordinariamente el p-coumaril-CoA, derivado de la L-fenilalanina en el —metabolismo general del fenilpropanoidell entra en una reacción de condensación con tres moléculas de malonil-CoA para formar un intermediario chalcona (C15). El C15 es formado para dar el precursor de la antocianina, por ej. El flavonol-3-diol, que es transformado al catión flavilio antocianidina por una hidroxilación en el C-2 seguida por dos deshidrataciones (Harbone *et. al*, 1992) (Figura 3). Finalmente, la molécula se estabiliza por glicosilación del O-heterociclo, luego suceden las posteriores modificaciones de la antocianina que incluyen una hidroxilación adicional, metilación de los grupos hidroxilos, posterior acilación y glicosilación (Strack y Wray, 1994).

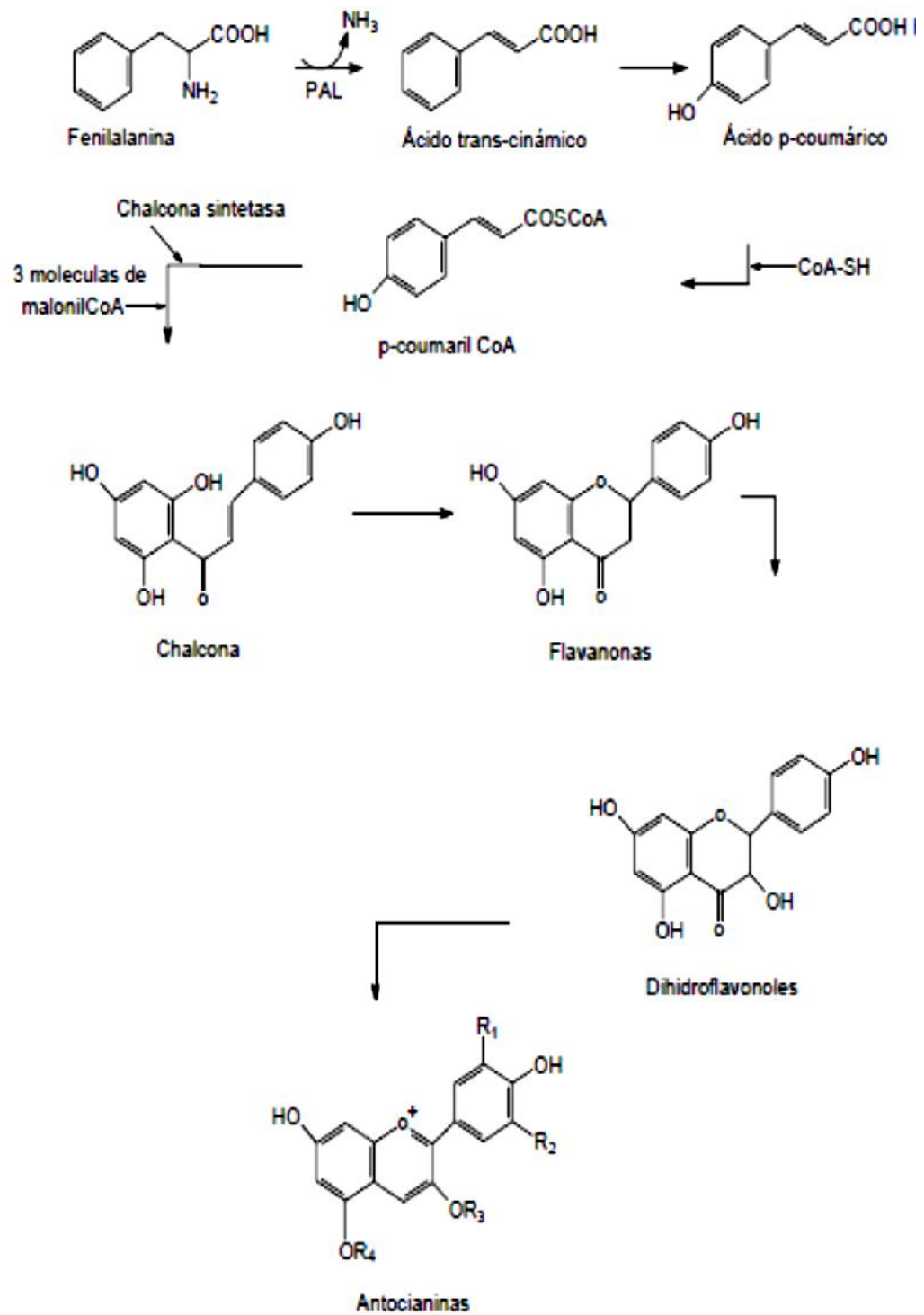


Figura 3. Ruta general de la biosíntesis de antocianinas.

Fuente: Delgado *et al.*, (2000).

1.3.3. Frutas que contienen antocianinas

En la dieta humana, los antocianos están principalmente presentes en bebidas como el vino tinto y en alimentos de coloración rojiza como ciertos cereales, vegetales y muy abundantemente en frutas rojas como bayas y la uva tinta (Hidalgo, 2003).

Las antocianinas aparecen transitoriamente en la ontogenia de la planta para la percepción o filtración de la luz o pueden acumularse como resultado de estrés. Dentro de las vacuolas, las antocianinas, pueden estar localizadas en organelos esféricos conocidos como antocianoplastos, que se forman mientras la síntesis de pigmentos está en operación (Lewis y Walker, 1995).

Tabla 5. Contenido de antocianos en alimentos.

Alimento	Contenido (mg/100g)(mg/L)
Nectarina	2,4
Melocotón	4,2
Lechuga	2,2-5,2
Mosto	5,9
Pera	5-10
Grosella roja	22
Ciruela roja	2-25
Grosella Espinosa	2-43,3
Alubia pinta	24,144,5
Cebolla roja	23,3-48,5
Fresas	19-55
Manzana roja	0-60
Berenjena	8-85
Arándano rojo	67-140
Rábano rojo	100-154
Ruibarbo	4-200
Aceituna negra	42-228
Zumo de Granada	15-252
Lombarda	322
Mora	82,5-325,9
Vino tinto	164-350
Arándano (<i>V. corymbosum</i> L.)	61,8-438
Cereza	2-450
Grosella	130-476
Arroz negro	10-493
Frambuesa	20-687
Uva tinta	30-750
Arándano (<i>V. myrtillus</i> L.)	300-1017
Fruto de aronia (<i>A. melanocarpa</i>)	410-1480
Maiz rojo	1642
Baya de sauco	664-1816

Fuente: De Pascual *et al.*, 2002.

1.3.4. Propiedades funcionales de las antocianinas

El interés de los pigmentos antociánicos se ha intensificado recientemente debido a sus propiedades farmacológicas y terapéutica (Astrid, 2008).

Durante el paso del tracto digestivo al torrente sanguíneo de los mamíferos, las antocianinas permanecen intactas (Miyazawa *et al.*, 1999) 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. Los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante. 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).

Wang y Jiao (2000), así como Wang y Lin (2000) han demostrado que frutos ricos en antocianinas evidencian una alta actividad antioxidante contra la presencia de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y contra los radicales peróxido ($ROO\cdot$), superóxido (O_2^-), hidroxilo ($OH\cdot$) y oxígeno singulete (1O_2). Como ejemplo tenemos al fruto de la omija (*Schizandra chinensis*), donde el pigmento consistente mayoritariamente de Cya-3-O-xylrut explicado como 86% (DPPH) y 98% (ABTS) demostró actividad antioxidante total de extracto acuoso del fruto (Kim *et al.*, 2009).

Otros investigadores (Koide *et al.*, 1997) reportan efectos antitumorales al usar extractos de frijoles rojos de soya que contenían cianidina conjugada con glucosa y ramnosa. De igual manera, Hagiwara *et al.*, (2002) demostraron que

el suministro de papas púrpuras dulces y repollo morado a ratas de laboratorio, causan supresión de tumores.

En cuanto a la actividad anticancerígena, Kamei *et al.*, (1998) reportaron la supresión de células cancerígenas HCT-15 provenientes del colon humano y de células cancerígenas gástricas AGS al suministrar fracciones de antocianinas del vino tinto. Así también, 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. Por otra parte, Vourela *et al.*, (2005) encontraron efecto supresor de prostaglandina EG2, sinónimo de actividad antiinflamatoria en extractos de antocianinas de frambuesa.

Con respecto a la actividad antidiabética de las antocianinas, la cual fue reportada por Perossini *et al.* (1987), estudios clínicos realizados en Italia revelaron que 79% de los pacientes diabéticos consumidores de extracto de bayas rojas (160 mg dos veces al día durante un mes) mostraron alivio en los síntomas de retinopatía diabética. De acuerdo con Tristán *et al.* (2005) antocianinas provenientes de cuatro especies de arándanos silvestres:

Amelanchier alnifolia, Viburnum trilobum, Prunus virginian y Shepherdia argétea, muestran propiedades hipoglucémicas.

El mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo como resultado del consumo de antocianinas ha sido reportado por Joseph *et al.* (1999) y Shukitt *et al.* (2005) donde han demostrado que el comportamiento cognitivo y las funciones neuronales de ratas de laboratorio puede ser mejorado a través de suplementación nutricional con extractos de arándanos y fresas.

De Pascual y Sánchez (2008) concluyen que la literatura existente sobre actividades biológicas provee suficiente evidencia para pensar que los productos ricos en antocianinas, tales como bayas o vino tinto, pueden tener un efecto protector sobre la salud humana, especialmente para la prevención de enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer.

1.3.5. Estabilidad de antocianinas

Beltrán, (2011) indica que Investigaciones recientes demostraron que existen antocianinas con ciertas características, presentando una mayor estabilidad debido al desarrollo de ciertos mecanismos: asociación intermolecular (acilación), asociación intermolecular (copigmentación), interacciones con otros compuestos y su polimerización.

1.3.6. Factores que influyen en la estabilidad de antocianinas

El núcleo flavilio de los pigmentos de antocianicos es deficiente en electrones y, por lo tanto, muy reactivo. Las reacciones comprenden la decoloración de los pigmentos y son casi siempre no deseables en el procesado de frutas y hortalizas (Fennema, 2000). El índice de la destrucción de los pigmentos es acelerado por el alto pH, oxígeno, altas temperaturas, ácido ascórbico, azúcar, enzimas, etc. (Shrikhande, 1976).

1.3.6.1. Efecto del pH

En condiciones ácidas se conserva un color intenso de la antocianina, ya que existirá un equilibrio entre las cuatro estructuras de la misma (Chandra *et al*, 1992).

Se puede decir que las antocianinas actúan como indicadores ácido-base puesto que el color resultante está en función de la estructura que se encuentre en mayor proporción a determinados pH. A pH's muy bajos se forma el catión flavilo (rojo), a medida que incrementa el pH se forma la base quinoidal (anhidra) del color azul, en un medio alcalino, aparece el carbinol incoloro. En condiciones básicas fuertes (pH 7) se produce daño irreversible en el pigmento con la aparición de una chalcona de color amarillo pálido (Gross, 1987).

Se ha demostrado que en la región de pH entre 5-7 las antocianinas más simples son inestables y rápidamente pierden color debido a la hidratación de la posición-2 del esqueleto de la antocianidina, generalmente se acepta que las antocianinas muestran su color más intenso cuando están en la forma de ion flavilio (Francis y Markakis, 1989).

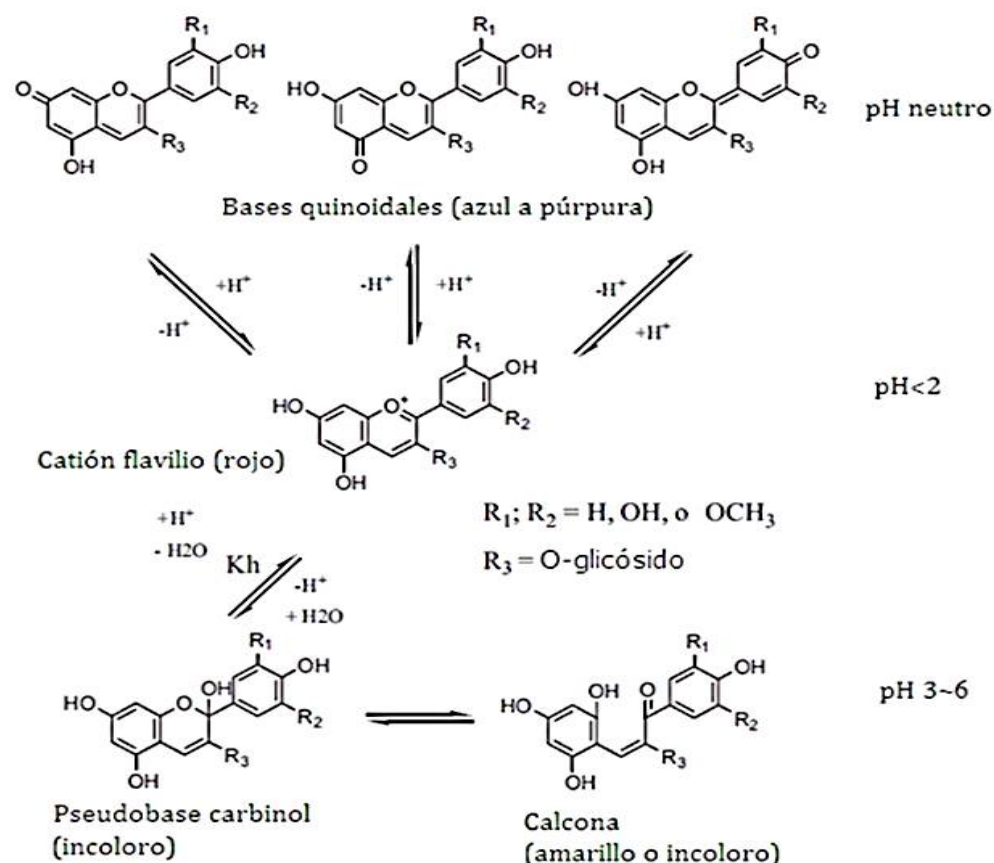


Figura 4. Transformaciones estructurales de los antocianos en disolución acuosa.

Fuente: Houbiers *et al.*, (1998).

1.3.6.2. Efecto de la temperatura

El efecto de la temperatura en la estabilidad de antocianinas en sistemas modelos y en productos alimenticios ha sido estudiado por muchos

investigadores; el consenso general es que los pigmentos antociánicos son notoriamente destruidos por el calor durante el procesamiento y almacenamiento de los alimentos, existe un incremento logarítmico con un incremento aritmético de la temperatura (Markakis, 1982).

Sapers *et al.*, (1981) realizó un estudio sobre estabilidad de la col morada cuando es calentada durante 5 horas, encontrando que la absorbancia de la muestra decrece significativamente durante los primeros 30 minutos, seguida por un decremento más gradual al parecer lineal.

Aun no existe un mecanismo de degradación por temperatura, Markakis *et al.*, (1975) han postulado una hidrólisis del enlace glicosídico (posición 3) seguido por una conversión de la aglicona a chalcona, que a la vez, da como resultado una α -dicetona. Una degradación mayor de la antocianina da productos con precipitados de color café (Markakis, 1982).

La estabilidad de la antocianina está directamente relacionada con la temperatura. Las conversiones estructurales de las antocianinas son reacciones endotérmicas. Resisten bien los procesos térmicos alta temperatura-corto tiempo. Por efecto del calor (a temperaturas por encima de 60 °C) se degradan según una cinética de primer orden. En general, las características estructurales que conducen a una mayor estabilidad al pH son

las mismas que conducen a una mayor estabilidad térmica. Por lo tanto, las antocianinas altamente hidroxiladas son menos estables térmicamente que las metiladas, glicosiladas o acetiladas (Fennema, 2000).

1.3.6.3. Luz

Se ha reconocido que la luz es un factor que acelera la degradación de las antocianinas. Se ha observado que la sustitución del hidroxilo en C-5 hace que la antocianina sea más susceptible a la fotodegradación. Sin embargo, la copigmentación puede retrasar esta fotodegradación, cuando ésta se presenta con flavonas polihidroxiladas, isoflavonas y auronas sulfonadas. (Delgado *et al.*, 2000).

1.3.6.4. Oxígeno

La remoción de dicho oxígeno genera una prevalencia más amplia del color, por lo que el procesamiento de los alimentos con antocianinas se lleva a cabo bajo condiciones de vacío o nitrógeno (Fennema, 2000).

1.3.6.5. Metales

Los complejos con metales con características de cada una de las plantas, con los cuales se determina un espectro de colores único de cada una de ellas. Iones metálicos como aluminio, estaño y hierro pueden formar complejos con las antocianinas que contienen grupos hidroxilo en el anillo fenólico. El

acomplejamiento puede formar efectos batocrómicos hacia el azul con el hierro y aluminio (Fennema, 2000).

Se ha demostrado que el acomplejamiento con metales puede incrementar y estabilizar el color de las antocianinas en los alimentos, pero los mismos también pueden provocar pérdidas del color, ya que considerando la habilidad de los metales como cobre y hierro de actuar como catalizadores redox generan un resultado neto negativo (Walford, 1980).

1.3.6.6. Azúcares

Los azúcares a altas concentraciones estabilizan a las antocianinas (Lewis y Walker, 1995). Esto es debido a que a altas concentraciones se tiene una baja actividad del agua, que es uno de los factores de degradación de las antocianinas, por el ataque nucleofílico al catión flavilio que ocurre en el C-2 formando la base carbinol incolora. Por otro lado, cuando los azúcares están en bajas concentraciones no tendrán efecto sobre la actividad del agua, provocando que sus productos de degradación (hidroximetilfurfural y furfural) aceleren la degradación de las antocianinas (Hulme, 1971).

1.3.6.7. Ácido Ascórbico

El ácido ascórbico es un compuesto muy común en una gran variedad de frutas, y el cual varía dependiendo de la variedad de la fruta, el grado de madurez y la intensidad de la luz durante su crecimiento (Hulme, 1971). Se ha

observado que en presencia de oxígeno, el ácido ascórbico destruye a las antocianinas, ya que forma peróxido de hidrógeno durante la oxidación del mismo; esta reacción se acelera en presencia de cobre y es inhibida en presencia de flavonoles como la quercetina. El H_2O_2 actúa rompiendo el anillo de pirilio de la antocianina por un ataque nucleofílico en C2 produciendo ésteres incoloros y derivados de la cumarina. Estos productos de degradación son totalmente destruidos y polimerizados para formar precipitados cafés (Fennema, 2000).

1.3.7. Vías de degradación de las antocianinas.

La figura 5 muestra la degradación de antocianinas y la formación de varios compuestos intermedios. Los mecanismos de degradación maximizan la calidad alimenticia y visual. Relativamente poco se conoce sobre los mecanismos de degradación de antocianinas, pero la estructura química y la presencia de otros ácidos orgánicos tienen una influencia fuerte. El índice de degradación de antocianinas aumenta durante el tratamiento y el almacenamiento como las subidas de temperaturas (Palamidis y Markakis, 1978).

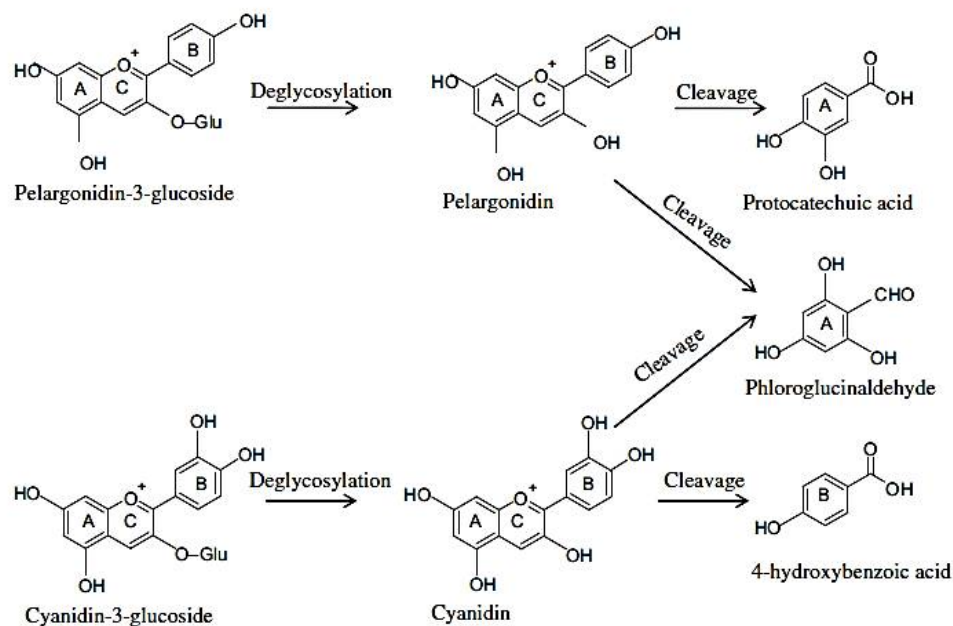


Figura 5. Posibles mecanismos de degradación de dos antocianinas comunes.

Fuente: A. Patras *et al.*, (2010).

Adams (1973), determina que el enlace aglicona-azúcar es más lábil que otros enlaces glucosídicos en pH 2 y 4. Sin embargo, a pH 1 todos los enlaces glucosídicos son accesibles a la hidrólisis al calentamiento para el compuesto cianidina-3-rutinósido a pH 1 resultó la formación de raminosa y glucosa, pero sólo trazas de rutinosa. El estudio realizado por Seeram, Bourquin y Nair (2001) demuestran que las altas temperaturas en combinación con pH alto provocan degradación de antocianinas en cerezas. Sin embargo, un estudio separado realizado por Von-Elbe y Schwartz (1996) sugirieron que la cumarina 3, 5-diglicósidos también son productos de degradación térmica comunes de antocianina 3, 5-diglicósidos.

1.3.7.1. Degradación oxidativa

El oxígeno también juega un papel vital en la degradación de antocianinas procesos. La presencia de oxígeno puede acelerar la degradación de antocianinas, ya sea a través de un oxidación mecanismo directo y / o a través de la acción de oxidación por enzimas (Jackman, Yada y Tung, 1987). La presencia de oxígeno, enzimas tales como PPO catalizan la oxidación de ácido clorogénico (CG) en el correspondiente o-quinona (chlorogenoquinone, CGQ). Esta quinona reacciona con antocianinas para formar productos de condensación de color marrón (Kader *et al.*, 1999). Kader *et al.* (1999) trabaja con las soluciones modelo de sustratos purificados, también propuso que la cianidina 3-glucósido [orto-difenólico antocianina, (Cy 3-glc)] se degrada por un mecanismo de oxidación acoplada que implica la enzima generado por la quinona con la regeneración parcial del o-difenólico co-sustrato (CG).

Sarni *et al.*, (1995) informaron de que los productos de degradación de Cy-3-glc y Mv 3-GLC contenía tanto el ácido cafeoiltartárico y restos de antocianinas. Además, estos productos de degradación fueron gradualmente reemplazados por productos incoloros como consecuencia de una mayor degradación oxidativa.

Sadilova *et al.*, (2007) estudiaron la degradación térmica de antocianinas por HPLCDAD-MS y los patrones de degradación evaluados de fresa y sauco.

Ellos encontraron que después de 4 h de calentamiento de fresa; un producto de degradación se detectó presentando un máximo de absorción a 253 nm (R_t 23.5, m/z 139). Su ion molecular indicó que era la 3, 4-hidroxibenzoico ácido (también conocido como ácido protocatéquico) un escote producto del anillo B pelargonidina. El anillo A del antocianina fue degradada a floroglucinaldehído con un ión molecular a m/z 155. Para concentrado de baya del sauco, después de calentar el extracto durante 4 h, productos de degradación se identificaron a 280 nm. Floroglucinaldehído y protocatéquico fueron los principales picos en los espectros de masas por comparación de los datos característicos con los de un comercial patrón de referencia.

1.3.8. Uso de las Antocianinas como colorantes naturales

Las políticas regulatorias en cuanto al uso de colorantes derivados de las antocianinas varían de país a país (Ottersäater, 1999). Estados unidos es el país más restrictivo en cuanto al uso de las antocianinas como colorantes naturales. Allí, cuatro de los 26 colorantes que están exentos de certificación y aprobados para el uso en alimentos se derivan de la cáscara de la uva, del extracto de la uva, del jugo de vegetales y del jugo de frutas. Las fuentes más comunes de jugo de vegetales son el repollo morado, los rábanos y diferentes variedades de bayas (Wrolstad, 2000).

En contraste, en la Unión Europea, Chile, Colombia, Irán, Israel, Corea del Sur, Malta, Perú, Arabia Saudita y los Emiratos Árabes todos los colorantes derivados de las antocianinas son reconocidos como naturales (Ottersäater, 1999).

1.4. Extracción Sólido-Líquido

La extracción sólido – líquido es una operación básica cuya finalidad es la separación de uno o más componentes contenidos en una fase sólida, mediante la utilización de una fase líquida o disolvente. El componente o los componentes que se transfieren de la fase sólida a la líquida reciben el nombre de soluto, mientras que el sólido insoluble se denomina inerte (Ibarz y Barbosa, 2005).

La extracción sólido – líquido recibe distintos nombres según la finalidad del proceso (lavado, percolación, etc.). Así, se denomina lixiviación cuando se desea obtener un componente valioso que está contenido en un sólido, disolviéndolo con un líquido (Ibarz y Barbosa, 2005).

En la industria de procesos biológicos y alimenticios, muchos productos se separan de su estructura natural original por medio de este tipo de procesos (Geankoplis, 1999). Algunos ejemplos podrían ser la etapa de maceración del

proceso de extracción de sacarosa de la caña de azúcar o la extracción de aceites esenciales de cítricos, entre otros.

La forma en que el soluto está contenido en el sólido inerte puede ser diversa. Se puede dar el caso de un sólido disperso en el material insoluble o que esté recubriendo su superficie. También puede tratarse de un líquido que esté adherido o retenido en el sólido, o bien que esté contenido en su estructura molecular (Ibarz y Barbosa, 2005). Este es el caso, por ejemplo, de las antocianinas que se encuentran acumuladas en las vacuolas de las células de frutas, vegetales y cereales (Leguizamón *et al.*, 2005).

La extracción sólido-líquido se lleva a cabo en una sola o en múltiples etapas. Una etapa es una unidad de equipo en la que se ponen en contacto las fases durante un tiempo determinado, de forma que se realiza la transferencia de materia entre los componentes de las fases. Esta transferencia tiene lugar hasta alcanzarse el equilibrio. En este contexto, el equilibrio se puede definir como aquella situación lograda cuando la disolución adherida al residuo tiene la misma composición que la del flujo líquido (Brennan *et al.*, 1980). Una vez alcanzado dicho equilibrio se procedería a la separación mecánica de las fases. Sin embargo, en un proceso real es difícil alcanzar el equilibrio teórico ya que se necesitaría un tiempo de proceso muy largo. Es por esto, que para el cálculo de las etapas reales es preciso considerar una eficacia. Ésta se

define para una etapa como el cociente entre el cambio en la composición que se logra realmente y el que debería haber tenido lugar en una situación de equilibrio teórico bajo las mismas condiciones de trabajo (Ibarz y Barbosa, 2005).

En cuanto al mecanismo de la extracción de un soluto contenido en una partícula sólida mediante un líquido, se puede considerar que ocurre en tres periodos sucesivos hasta alcanzar el equilibrio (Ibarz *et al.*, 2000). Estos periodos son los siguientes:

- a. Transferencia de solvente desde el seno de la solución extractiva hacia el sólido. En la extracción sólido-líquido, inicialmente el disolvente penetra y difunde en la matriz sólida llenando sus poros.
- b. Difusión del soluto en el disolvente contenido en los poros del sólido. Dado que generalmente el soluto se encuentra en el interior de las partículas sólidas es necesario que el soluto entre en contacto con el disolvente, que se disuelva y que la mezcla soluto-disolvente difunda hasta la superficie de la partícula.

La transferencia del soluto desde el interior de la partícula sólida hasta su superficie se realiza debido al gradiente de concentración que existente entre la interfase disolvente - partícula. En el interior del poro, se considera que el disolvente permanece prácticamente estacionario, por lo que la transferencia de soluto desde las zonas de mayor concentración hacia el exterior se realiza

únicamente por difusión molecular. La expresión de la velocidad de transferencia de materia en esta etapa vendrá dada por la Ecuación 1. El signo negativo es como consecuencia de que la difusión ocurre hacia una concentración menor del soluto transferido (Ibarz *et al.*, 2000).

$$N_s = -Dl \frac{dc}{dz} \quad (1)$$

Dónde:

D: Difusividad del soluto a través del disolvente en m² / s.

C: Concentración de soluto la disolución en kg / m³.

z: Distancia en el interior de poro en m.

Dado que la difusividad es una propiedad del material que depende de la temperatura, un aumento de ésta podría mejorar la transferencia de materia. Si también se disminuye el tamaño de partícula, además de presentar una mayor área interfacial respecto a su volumen, la distancia de difusión del soluto en su interior es más pequeña, por lo que aumenta la transferencia de masa (Ullauri, 2010).

Transferencia del soluto desde la superficie de las partículas hasta el seno de la disolución. Una vez que el soluto ha alcanzado la superficie de la partícula, se transfiere desde este punto hasta el seno de la disolución gracias al gradiente de concentración. Esta transferencia de materia se realiza por

transporte molecular y turbulento de forma simultánea. En esta etapa la velocidad de transferencia de materia viene dada por la expresión (Ibarz *et al.*, 2000):

$$N_s = -\frac{dM}{A dt} = K_L (C_i - C_d) \quad (2)$$

Dónde:

M: Masa de soluto transferida en kg.

A: Superficie de contacto partícula – disolución en m².

t: Tiempo en s.

C_i: Concentración del soluto en el solvente en la interfase sólido-líquido en kg / m³.

C_d: Concentración del soluto en el seno de la disolución en kg / m³.

K_L: Coeficiente de transferencia de materia en m / s.

Se mencionó anteriormente, que desde el punto de vista teórico, la transferencia de materia tiene lugar hasta que se llega al equilibrio, el cual se alcanza cuando el soluto se disuelve totalmente en el disolvente y se obtiene una disolución de concentración uniforme. En el caso de que el contenido de soluto en el sólido sea suficientemente elevado, se considera que se ha llegado al equilibrio cuando la disolución que se halla en contacto con el sólido esté saturada. Para aumentar la velocidad global de transferencia de materia suele actuarse sobre distintos factores como la reducción del tamaño de partícula, el aumento de la temperatura de extracción, la agitación del fluido,

la proporción de sólido-líquido y el tipo de disolvente utilizado. En este punto cabe destacar que resulta muy importante la elección de un disolvente que sea selectivo con el soluto que se desea extraer y que presente una viscosidad lo suficientemente baja para que pueda penetrar y moverse con facilidad por el interior de sólido (Ibarz *et al.*, 2000).

1.4.1. Extracción de antocianinas

Las antocianinas se pueden extraer de diferentes tejidos vegetales (Francis y Markakis, 1989; Wrolstad, 2000). El método usual de extracción es la extracción sólido-líquido. Sin embargo, es de destacar la existencia de otros métodos. Así, científicos japoneses desarrollaron una metodología alternativa que consiste en extraer las antocianinas mediante la fermentación de las matrices que las contienen (Fan *et al.*, 2008b).

A nivel comercial, las antocianinas se obtienen principalmente de los subproductos industriales de la uva. En la actualidad existe la tendencia de utilizar los extractos antociánicos sin necesidad de realizar la separación de los distintos componentes, debido a que todos ellos, no sólo los colorantes, presentan propiedades antioxidantes (Fennema, 2000).

En relación a la extracción, Rodríguez y Wolstrad (2001) señalan que el carácter polar de la molécula de antocianina permite su solubilidad en variados

solventes, tales como alcoholes, acetona y agua. Su estabilidad es afectada fácilmente por modificaciones estructurales con grupos hidroxilo, metoxilo, glucósidos y, especialmente, grupos acilos, además de por factores como la temperatura y la luz (Francis y Markakis, 1989; Wrolstad, 2000).

El método de extracción debe ser el más adecuado para cada aplicación concreta. Así, en el caso de las antocianinas, se debe maximizar la extracción de pigmentos, minimizar los compuestos adjuntos extraídos y limitar la degradación o alteración del estado natural del extracto. El conocimiento de los factores involucrados en su estabilidad y de los mecanismos de degradación es sumamente vital para una eficiente extracción, purificación y uso de las antocianinas como colorantes de alimentos (Gutiérrez *et al.*, 2009a).

En este sentido, Gorriti Gutiérrez *et al* (2009a) estudiaron las mejores condiciones de extracción de antocianinas a partir de corontas de maíz morado. Ensayaron extracciones con soluciones etanólicas al 20 % y pH 2 acondicionadas según un diseño factorial con los factores temperatura y tiempo de extracción. Los resultados obtenidos indicaron que las mejores condiciones de extracción correspondieron a una temperatura de 75°C y un tiempo de extracción de entre 120 y 240 minutos, mientras que las condiciones más desfavorables fueron 25°C y 30 minutos. También estudiaron la influencia de otras variables de proceso como el solvente, el pH, la temperatura y el

tiempo de extracción (Gorriti Gutiérrez *et al.* 2009 b). Concluyeron que la extracción se vio favorecida por la utilización de un medio etanólico al 20% como agente de extracción y un pH entre 2 y 4.

Cacace y Mazza (2003) publicaron un trabajo que consistió en la optimización de la extracción de antocianinas y compuestos fenólicos de grosellas negras usando etanol acuoso como solvente de extracción. Las variables independientes seleccionadas por estos investigadores fueron: concentración de etanol, temperatura y relación solvente - sólido. Dos de las respuestas evaluadas fueron la concentración de polifenoles totales y la concentración de antocianinas. Los resultados obtenidos mostraron que los mejores resultados se obtuvieron con una concentración de etanol de 60%, una relación solvente-sólido 19 L: 1kg de frutos y una temperatura de 30°C. La elevación de la temperatura de extracción no afectó la extracción de fenoles, sin embargo, provocó una disminución en el rendimiento de extracción de antocianinas debido a la degradación de las mismas. Se identificó la existencia de una temperatura crítica a partir de la cual la degradación fue mayor. Esta temperatura aumentó con la concentración de etanol. Así, para una concentración de etanol de 20% la temperatura crítica fue 25°C, mientras que para una concentración de etanol de 95%, la temperatura crítica fue 35 °C. En general, hubo una fuerte disminución en la concentración de las antocianinas extraídas a temperaturas superiores a 45 °C.

También Fan *et al.* (2008a) investigaron sobre las condiciones de extracción de antocianinas presentes en batata morada. Trabajaron con etanol como solvente de extracción acidificado con ácido clorhídrico, cuyas variables independientes fueron: temperatura de extracción, tiempo y relación sólido - líquido y como respuesta evaluaron el rendimiento de extracción de antocianinas. La temperatura de extracción y la relación sólido-líquido aumentaron el rendimiento de extracción, mientras que el tiempo no tuvo efecto significativo. Estos autores obtuvieron que la mejor combinación de las variables fue temperatura de 80°C, relación sólido- líquido 1:32 y tiempo de extracción 60 minutos.

Marina, (2014) realizó un estudio de optimización para la extracción de antocianinas de arándanos, empleó dos metodologías. Una consistió en una extracción con solvente y se la identificó como “Extracción sólido-líquido de antocianinas” (ESLA) y la otra consistió en un proceso fermentativo, que se denominó “Extracción de antocianinas por fermentación” (EAF). En el caso de extracción Sólido-Líquido todas las variables de proceso estudiadas (pH, temperatura, tiempo de extracción, tipo de solvente, proporción de materia prima / solvente) tuvieron una influencia significativa en la extracción sólido-líquido de antocianinas de arándanos. Así, el mayor rendimiento de extracción se obtuvo cuando se utilizó como solvente etanol acidificado con ácido cítrico al 1% en una proporción materia prima / solvente de 1:3 kg/kg, con una

temperatura de extracción de $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ y un tiempo de extracción de 2 h. La extracción sólido-líquido de antocianinas resultó ser más adecuada para extraer antocianinas de arándanos dado que fue más sencilla, requirió menor tiempo y se logró un mayor rendimiento en la extracción que la extracción por fermentación.

1.5. Cinética química del deterioro de los alimentos

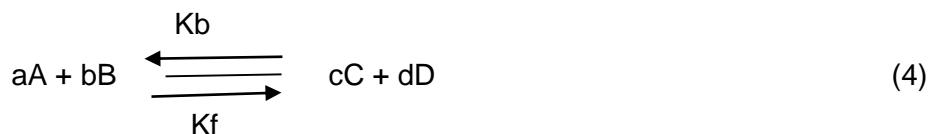
Las reacciones químicas se producen en los alimentos durante el procesamiento y almacenamiento. Algunas reacciones dan como resultado la pérdida de la calidad, mientras que otras reacciones dan lugar a la formación de sabores o colores indeseados, acortando la vida en anaquel del alimento (Casp, 2003).

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 el enfoque ha sido elaborar modelos simples, en función al grado de sofisticación utilizado para detectar los diversos reactantes y productos finales. Por ejemplo, supongamos que tenemos la reacción:



Dónde: A es un reactante; C, es el producto, y k_f es la constante de velocidad hacia adelante. Si utilizamos las herramientas de análisis más sofisticadas

podríamos encontrar que las reacciones químicas son más complejas; por ejemplo de este tipo:



En este caso A reacciona con B para formar dos productos, C y D, los cuales; a su vez, también reaccionan con una velocidad constante hacia atrás, k_b . Las letras minúsculas indican que existe más de una molécula para cada componente actuando en la reacción. Así la ecuación estándar que definiría la tasa de pérdida de los reactivos o de ganancia de cualquiera de los componentes se podría anotar de la siguiente manera:

$$\frac{-dA}{dt} = \frac{dB}{dt} = \frac{dC}{dt} = \frac{dD}{dt} = k_f [A]^a [B]^b - k_b [C]^c [D]^d \quad (5)$$

Según Labuza, (1984) Para resolver la ecuación anterior, que predice el cambio de la concentración de cualquier componente en el tiempo, se necesita conocer las concentraciones de cada componente como una función del tiempo. Si esto fuera posible, aún tendríamos una sola ecuación con seis incógnitas (k_f , k_b , a , b , c , d). Por lo tanto, la situación es técnicamente imposible de resolver.

Según Labuza, (1984) Para solucionar este tipo de problema hay que seleccionar la condición con que se desarrolla la reacción, ya sea hacia adelante o hacia atrás. Para la mayoría de los sistemas de degradación de

alimentos, k_b es insignificante en comparación con k_f , para el período de tiempo de interés práctico; es decir $[C]$ y $[D]$ son muy pequeños lo cual nos permite tratar la reacción como irreversible. En la mayoría de los casos, la concentración de la sustancia reaccionante que afecta principalmente a la calidad global es limitante, las concentraciones de las otras especies que son relativamente grandes y su cambio con el tiempo es insignificante. Esto permite que la ecuación (6) pueda ser expresada en términos de reactantes específicos, de la siguiente manera:

$$\frac{-d[A]}{dx} = k'_f [A]^a \quad (6)$$

Donde a es el aparente o pseudorden de la reacción del componente A y k'_f es la constante de velocidad aparente de reacción. Obviamente esta forma de la ecuación ignora el verdadero mecanismo de acción, pero resulta útil desde un punto de vista práctico. Basándose en el análisis anteriormente mencionado y el reconocimiento de la complejidad de los sistemas alimentarios; la degradación de los alimentos y la pérdida de la calidad de lo mismo, en la práctica, podría verse afectada por la pérdida de los factores de calidad deseables $[A]$ (por ejemplo: nutrientes, sabores característicos, etc.) o por la formación de factores indeseables $[B]$ (por ejemplo: sabores desagradables, decoloración, etc.).

1.5.1. Orden de reacción

Estrictamente hablando, se le conoce como orden de reacción al número de moléculas que participan bajo la forma de reactivos, pero en términos simples podemos decir que el orden de reacción es el factor exponencial (n) que acompaña a la concentración en las ecuaciones 5 ó 6. Aunque muy rara vez se han realizado investigaciones para comprender claramente los mecanismos implicados en la reacción de sistemas complejos, como en los casos de alimentos y materiales biológicos. La mayoría de la información disponible ha sido simplificada para adaptar cinéticas de reacción de orden cero ($n=0$) o de primer orden ($n=1$) para situaciones complejas sin tratar de comprender los verdaderos mecanismos de reacción. Recientemente se han realizado investigaciones en sistemas alimentarios encontrando cinéticas de reacción de segundo orden ($n=2$), pero estas son menos comunes (Labuza, 1984).

1.5.2. Velocidad de reacción

Cuando se trata de sistemas alimentarios, un enfoque común para reportar las velocidades de reacción es como el cambio en la concentración de un reactivo como una función del tiempo. La velocidad de reacción por lo tanto proporciona una medición de la reactividad y la estabilidad de un sistema dado.

1.5.3. Reacción de orden cero

Según Labuza, (1982) 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.

Una explicación mecanicista es que el reactante es de tal exceso que su concentración se mantiene constante durante todo el período de observación, y por lo tanto la velocidad de reacción parece ser independiente de la concentración. Asumiendo que $n=0$, para las reacciones de orden cero, la ecuación diferencial ordinaria 7 que representa la cinética de pérdida de factores de calidad deseable $[A]$ puede ser resueltas de la siguiente manera:

$$\frac{-d[A]}{dt} = k[A]^0 \quad (7)$$

$$\int_A^{A_0} d[A] = -k \int_0^t dt \quad (8)$$

$$A - A_0 = -kt \quad (9)$$

$$A = A_0 - kt \quad (10)$$

La forma estadística de determinar si los datos experimentales siguen esta linealidad, es realizando un análisis de regresión lineal simple y es el coeficiente de determinación (R^2) el que determina la bondad del ajuste de los datos, siendo la unidad ($R^2=1$) el ajuste perfecto, indicando que los valores están en una línea recta. Aunque existen otros indicadores estadísticos para determinar la bondad del ajuste de los datos; como el Error Cuadrado Medio (ECM), el coeficiente de determinación es el más utilizado (Labuza, 1982).

1.5.4. Reacción de primer orden

Según Labuza, (1984) 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. Asumiendo que $n=1$, para las reacciones de primer orden, la ecuación diferencial ordinaria 11 que representa la cinética de pérdida de factores de calidad deseable $[A]$ puede ser resueltas de la siguiente manera:

$$\frac{-d[A]}{dt} = k[A]^1 \quad (11)$$

$$\int_A^{A_0} \frac{d[A]}{[A]} = -k \int_0^t dt \quad (12)$$

$$\ln \frac{[A]}{A_0} = -kt \quad (13)$$

$$[A] = [A_0]e^{-kt} \quad (14)$$

$$\ln[A] = \ln[A_0] - kt \quad (15)$$

Siendo A_0 , la concentración inicial, en el tiempo cero, del atributo medido. Las reacciones de primer orden se caracterizan por el cambio logarítmico en la concentración del atributo medido con respecto al tiempo.

1.5.5. Reacción de segundo orden

Según Toledo, (2004) existen dos tipos de cinética de reacción de segundo orden y pueden ser unimoleculares (16) o biomoleculares. Asumiendo que $n=2$, para las reacciones unimoleculares de segundo orden, la ecuación diferencial ordinaria 17 que representa la cinética de pérdida de factores de calidad deseable $[A]$ puede ser resueltas de la siguiente manera:



$$\frac{-d[A]}{dt} = k[A]^2 \quad (17)$$

$$\int_A^{A_0} \frac{d[A]}{[A]^2} = -k \int_0^t dt \quad (18)$$

$$\frac{1}{A} = \frac{1}{A_0} + kt \quad (19)$$

Las reacciones unimoleculares de segundo orden se caracterizan por tener una relación hiperbólica entre la concentración del reactante o producto con el tiempo. Si se grafica la inversa de la concentración ($1/[A]$) versus el tiempo (t), se obtendrá un representación lineal (Toledo, 2004).

1.5.6. Tiempo de vida media

El tiempo de vida media, es una manera de expresar el tiempo requerido para perder la mitad de la concentración de los factores deseables o ganar la mitad de la concentración de los factores indeseables.

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

$$t_{\frac{1}{2}} = -\ln(0.5)/k \quad (20)$$

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 (k) sobre las bases de los logaritmos naturales.

1.5.7. Modelo Q10

Un modelo muy utilizado para predecir el tiempo de vida útil, considerando la variación de la velocidad de reacción cada 10°C y se expresa de la siguiente manera (Kilcast y Subramaniam, 2011).

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:

$$Q_{10} = \frac{\text{tiempo de vida a la temperatura } T}{\text{tiempo de la vida a la temperatura } T+10} \quad (21)$$

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

Si una velocidad de reacción se duplica con un cambio de temperatura de 10°C, entonces el valor de Q10 = 2. Para las reacciones de degradación enzimática, degradación pigmentos naturales, pardeamiento no enzimático y tasa de crecimiento microbiano, el valor de Q10 es generalmente alrededor de 2. Esto también se puede interpretar como el aumento del tiempo de vida en anaquel en un factor de 2, si se reduce 10°C el almacenamiento del producto (Casp, 2003).

1.5.8. Modelo de Arrhenius

Según Casp, (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 comprobada 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:

$$k = k_0 \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (22)$$

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. La energía de activación se puede definir como la mínima energía que deben poseer las moléculas antes de que ocurra la reacción y el término exponencial es la fracción de moléculas que poseen esta energía mínima. Si pasamos a logaritmo la ecuación anterior, tenemos:

$$\ln k = \ln k_0 - \left(\frac{E_a}{R} \frac{1}{T}\right) \quad (23)$$

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Localización

Los análisis fisicoquímicos de las muestras se realizaron en el laboratorio de Química analítica de la facultad de Ingeniería Química e Industrias alimentarias de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

2.2. Materiales, reactivos y equipos

2.2.1. Materiales y equipos

Para la obtención de la muestra se utilizaron los siguientes materiales y equipos:

- Molino manual.
- Papel filtro whatman N°6.
- pHmetro POMETER PH-009.
- Balanza analítica MODEL. EHA 701.
- Refractómetro ATAGO PAL-3.
- Depósitos de plástico y vidrio.

Para los análisis fisicoquímicos se utilizaron los siguientes materiales de laboratorio:

- Vaso precipitado.
- Pipetas.
- Baguetas.

- Pizetas.
- Tubos de ensayo.
- Matraces.

Para realizar los ensayos de estabilidad se utilizaron 4 incubadoras hechas de madera prensada (OSB) de 9 mm de espesor, en el interior se encontraban recubiertas con tecnopord de 0.5 pulgadas de espesor, cada incubadora se le instaló un foco de 100 watts y un termostato-full Gauge MT-512 Ride para el control automático de la temperatura.

Para medir el contenido de antocianinas totales en las muestras se utilizó un Espectrofotómetro GENESYS 10 UV.

2.2.2. Reactivos

Se utilizaron los siguientes reactivos:

- Ácido cítrico.
- Ácido clorhídrico concentrado (HCl)
- Etanol v/v 50%.
- cloruro de potasio (KCl); pH 1,0 (0,025M)
- acetato de sodio (CH₃COONa); pH 4,5 (0,4M)

2.3. Metodología experimental

2.3.1. Obtención de las muestras

2.3.1.1. Obtención del extracto a partir de desechos del proceso de jugo de arándano (EPJA).

La muestra se obtuvo siguiendo la metodología propuesta por Marina (2014). Para la extracción se utilizó como solvente etanol (v/v 50%) acidificado con ácido cítrico al 1% en una proporción materia prima /solvente de 1:3 kg/kg, con una temperatura de extracción de $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ y un tiempo de extracción de 2 h.

2.3.1.2. Obtención del extracto a partir de corontas de maíz morado (ECMM).

La muestra se obtuvo siguiendo la metodología propuesta por Gorriti *et al.* (2009), se utilizó como solvente etanol (v/v 20%) (Se acidificó con ácido cítrico hasta pH 2), con una temperatura de extracción de 65°C y un tiempo de extracción de 2 horas.

Una vez obtenido los diferentes extractos se procedió a llenar en viales de 5 ml completando 44 muestras por extracto.

2.3.2. Almacenamiento de las muestras

Las muestras EPJA y ECMM fueron almacenadas en las incubadoras a temperaturas de 30°C , 40°C , 50°C y 60°C .

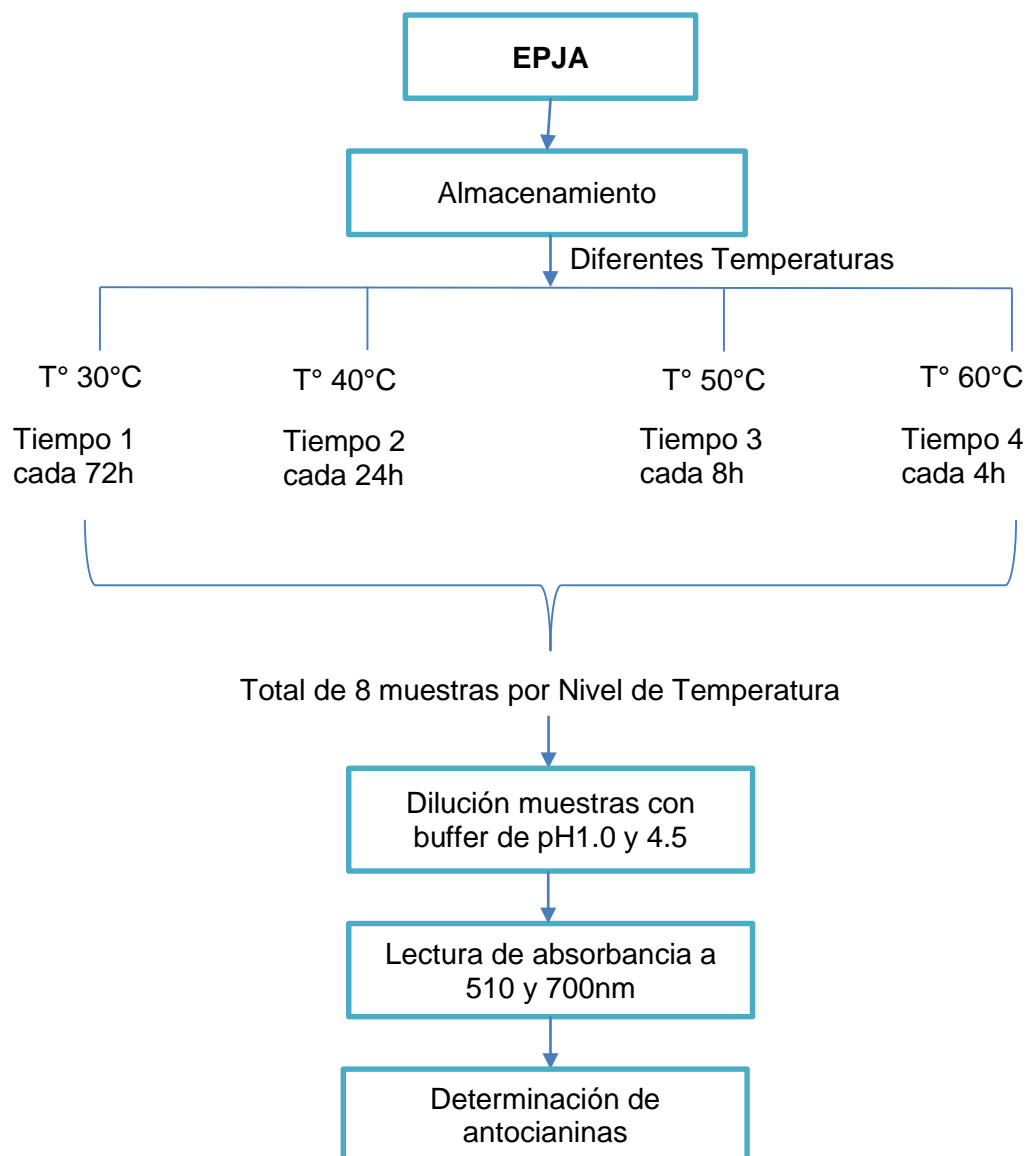


Figura 6. Procedimiento EPJA para su determinación de antocianinas

Fuente: Elaboración Propia (2016)

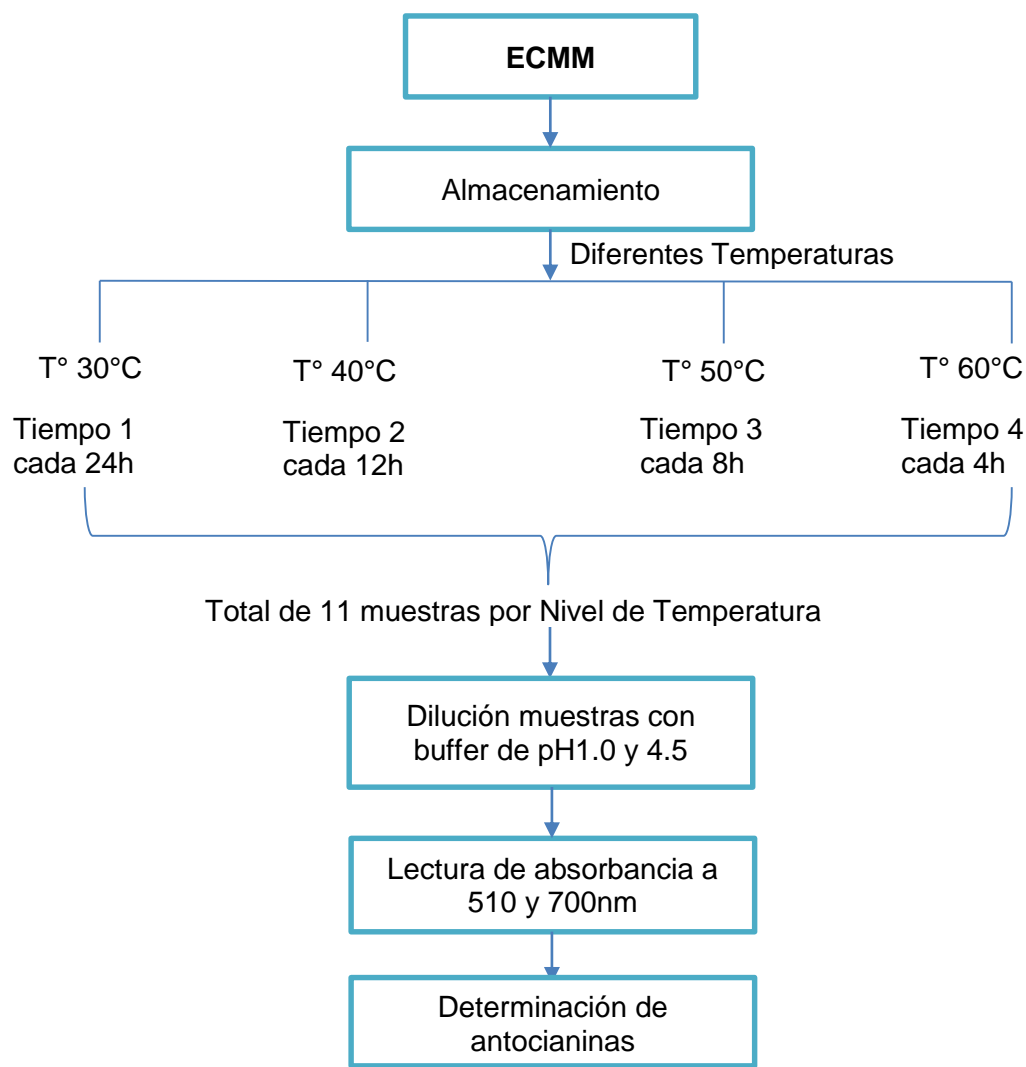


Figura 7. Procedimiento ECMM para su determinación de antocianinas

Fuente: Elaboración Propia (2016)

2.3.3. Codificación de las muestras

Las muestras de los respectivos extractos se retiraron al azar en diferentes tiempos (tabla 6 y 7) de las incubadoras para medir el contenido de antocianinas totales. Los códigos estuvieron conformados por un numero de tres cifras, la primera cifra indicó el orden en que se retiró la muestra de la

incubadora y las siguientes dos cifras indicaron la temperatura de almacenamiento, así por ejemplo el código 240 significa que es la segunda muestra retirada del almacenamiento a 40 °C.

2.3.4. Metodología de análisis

Se caracterizó la muestra con análisis fisicoquímicos como grados Brix, pH y concentración de antocianinas totales, las mediciones se realizaron por triplicado.

Tabla 6. Determinación de antocianinas en las muestras a diferentes tiempos y temperaturas en EPJA.

30 °C		40 °C		50 °C		60 °C	
t	M	t	M	t	M	t	M
0	030	0	040	0	050	0	060
72	130	24	140	8	150	4	160
144	230	48	240	16	250	8	260
216	330	72	340	24	350	12	360
288	430	96	440	32	450	16	460
360	530	120	540	40	550	20	560
432	630	144	640	48	650	24	660
504	730	168	740	56	750	28	760

t: tiempo (horas).

M: Código de muestra extraída al azar de las incubadoras.

Fuente: Elaboración Propia (2016)

Tabla 7. Determinación de antocianinas en las muestras a diferentes tiempos y temperaturas para el extracto ECMM.

30 °C		40 °C		50 °C		60 °C	
t	M	t	M	t	M	t	M
0	030	0	040	0	050	0	060
24	130	12	140	8	150	4	160
48	230	24	240	16	250	8	260
72	330	36	340	24	350	12	360
96	430	48	440	32	450	16	460
120	530	60	540	40	550	20	560
144	630	72	640	48	650	24	660
168	730	84	740	56	750	28	760
192	830	96	840	64	850	32	860
216	930	108	940	72	950	36	960
240	1030	120	1040	80	1050	40	1060

t: tiempo (horas).

M: Código de muestra extraída al azar de las incubadoras.

Fuente: Elaboración Propia (2016)

En los diferentes tiempos que se especifica en las tablas 6 y 7 se procedió a medir el contenido de antocianinas totales en las muestras de los respectivos extractos.

El procedimiento para determinar el contenido de antocianinas se detalla en el Anexo I.

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

El orden de la cinética de degradación de las antocianinas se determinó a partir de la variación de la concentración de antocianinas presentes en los extractos en función del tiempo de almacenamiento. Se determinaron las

estadísticas de regresión lineal simple R^2 (coeficiente de determinación) y ECM (Error Cuadrado Medio) para medir el ajuste y el error respectivamente de los modelos de orden cero, primer orden y segundo orden a los datos experimentales de este estudio.

Las constantes de velocidad se calcularon mediante regresión lineal simple a partir de la concentración de antocianinas versus el tiempo de almacenamiento. Los cálculos se realizaron utilizando el software MsExcel (Microsoft, 2013).

2.3.6. Determinación de la Energía de activación

La energía de activación que representa la pendiente de la curva que describe la ecuación de Arrhenius se determinó mediante análisis de regresión lineal simple a partir de las constantes de velocidad versus las temperaturas de almacenamiento. Los cálculos se realizaron utilizando el software MsExcel (Microsoft, 2013).

2.3.7. Determinación del factor Q₁₀

El factor Q_{10} que representa la variación de la constante de velocidad cada 10°C se calculó utilizando la ecuación 21, para cada intervalo de temperatura experimental.

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

El tiempo de vida media que representa la degradación en un 50% de la concentración inicial del compuesto evaluado, en el presente estudio se determinó utilizando la ecuación 20 para cada temperatura de almacenamiento y extractos estudiados.

2.3.9. Análisis de datos

Se realizó análisis de regresión lineal simple, los estadísticos utilizados fueron el coeficiente de determinación (R^2) y el Error Cuadrado Medio (ECM), para la determinación del orden de reacción y la constante de velocidad a las temperaturas estudiadas. Posteriormente para hallar el tiempo de vida media y E_a se utilizó la Ecuación de Arrhenius.

Para analizar el efecto de la temperatura y las constantes de velocidad determinadas en los extractos, se realizó un análisis de varianza simple (ANOVA) utilizando el software Statgraphics Centurion XVI.

III. RESULTADOS

3.1. Caracterización fisicoquímica de los extractos en estudio antes del almacenamiento.

Tabla 8. Caracterización de los concentrados EPJA y ECMM.

Componente	X_1	X_2	X_3	\bar{x}	\bar{s}
EPJA					
Antocianinas totales	131.235	131.052	130.868	131.052	0.183
° Brix	25	24	24	24.333	0.577
pH	2.0	2.0	2.0	2.000	0.000
ECMM					
Antocianinas totales	164.484	164.818	164.484	164.595	0.193
° Brix	27	26	26	26.333	0.577
pH	2.3	2.2	2.2	2.233	0.058

*x: resultado para EPJA (mg/100ml), para ECMM (mg/100 ml)

Fuente: Elaboración Propia (2016).

3.2.Degradación de antocianinas durante el almacenamiento de las muestras.

Tabla 9. Concentración de antocianinas en las muestras en el EPJA durante el almacenamiento.

60 °C		50 °C		40 °C		30 °C	
t	ATT	t	ATT	t	ATT	t	ATT
0	131.052 ±0.183	0	131.052 ±0.183	0	131.235 ±0.183	0	131.052 ±0.000
4	116.755 ±0.183	8	115.655 ±0.183	24	110.340 ±0.183	72	110.340 ±0.183
8	111.806 ±0.183	16	111.256 ±0.183	48	88.468 ±0.106	144	88.773 ±0.280
12	100.076 ±0.183	24	100.504 ±0.106	72	72.216 ±0.183	216	78.448 ±0.485
16	89.017 ±0.106	32	89.628 ±0.183	96	61.891 ±0.106	288	61.952 ±0.183
20	83.274 ±0.106	40	81.503 ±0.106	120	51.993 ±0.106	360	55.720 ±0.183
24	74.476 ±0.280	48	76.065 ±0.183	144	48.999 ±0.423	432	41.607 ±0.183
28	66.717 ±0.183	56	70.322 ±0.106	168	35.558 ±0.183	504	40.446 ±0.212

t: tiempo (horas).

ATT: Antocianinas totales (mg/100ml)

Fuente: Elaboración Propia (2017)

Tabla 10.Concentración de antocianinas en las muestras en el ECMM durante el almacenamiento.

60 °C		50 °C		40 °C		30 °C	
t	ATT	t	ATT	t	ATT	t	ATT
0	164.595 ±0.193	0	164.595 ±0.193	0	164.484 ±0.167	0	164.484 ±0.167
4	158.973 ±0.167	8	156.580 ±0.096	12	163.204 ±0.096	24	159.530 ±0.537
8	155.745 ±0.096	16	153.741 ±0.096	24	157.526 ±0.096	48	155.411 ±0.096
12	150.067 ±0.193	24	148.342 ±0.096	36	149.956 ±0.167	72	146.060 ±0.096
16	141.941 ±0.000	32	145.002 ±0.096	48	148.954 ±0.167	96	140.104 ±0.578
20	139.380 ±0.386	40	136.764 ±0.442	60	143.332 ±0.096	120	137.265 ±0.167
24	132.700 ±0.255	48	132.366 ±0.193	72	137.710 ±0.096	144	130.062 ±0.201
28	126.912 ±0.167	56	131.198 ±1.112	84	136.207 ±0.255	168	125.130 ±0.255
32	121.568 ±0.167	64	127.635 ±0.920	96	129.882 ±0.061	192	121.234 ±0.167
36	117.950 ±0.096	72	122.236 ±0.334	108	128.136 ±0.096	216	120.399 ±0.167
40	119.119 ±0.096	80	118.172 ±0.096	120	124.073 ±0.167	240	111.048 ±0.167

t: tiempo (horas).

ATT: Antocianinas totales (mg/100ml)

Fuente: Elaboración Propia (2017)

Los cuadros anteriores muestra las concentraciones promedio de antocianinas determinadas (3 repeticiones) durante el experimento, cada concentración promedio con su respectiva desviación estándar. Las absorbancias leídas en el espectrofotómetro se muestran en el Anexo II.

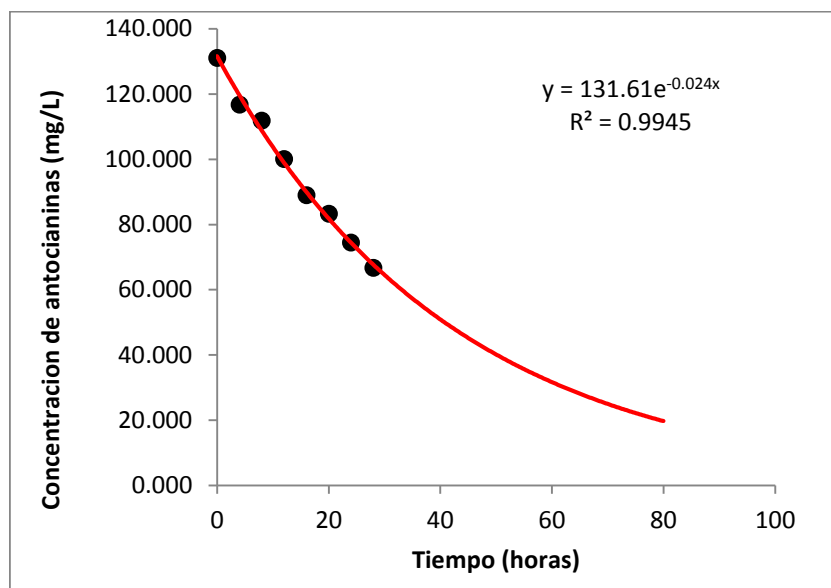


Figura 8. Concentración de antocianinas (mg/ 100ml) versus el tiempo de almacenamiento a 60°C del EPJA.

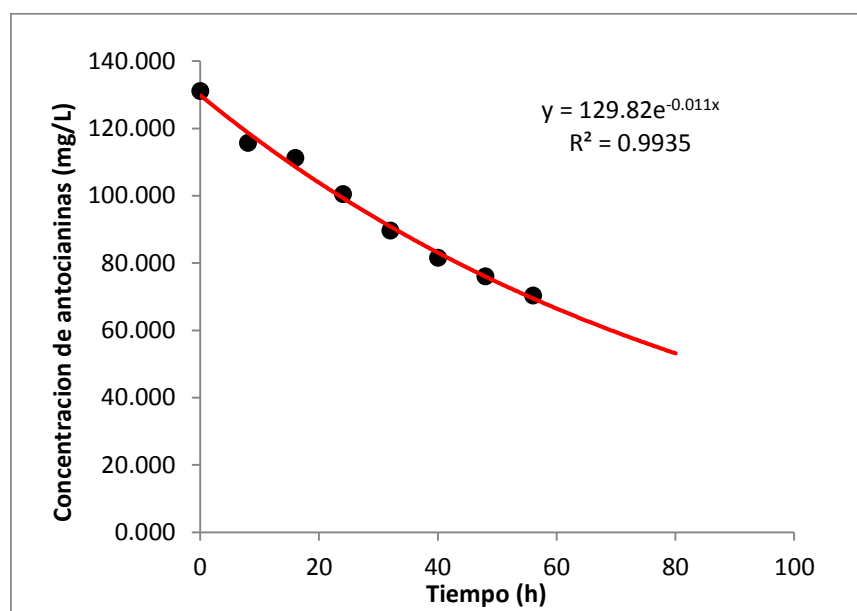


Figura 9. Concentración de antocianinas (mg/ 100ml) versus el tiempo de almacenamiento a 50°C del EPJA.

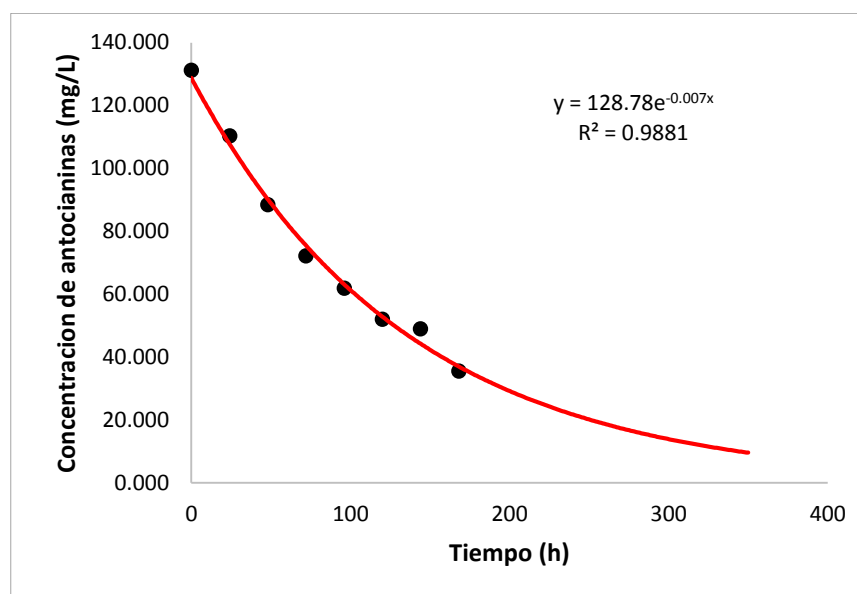


Figura 10. Concentración de antocianinas (mg/ 100ml) versus el tiempo de almacenamiento a 40°C del EPJA.

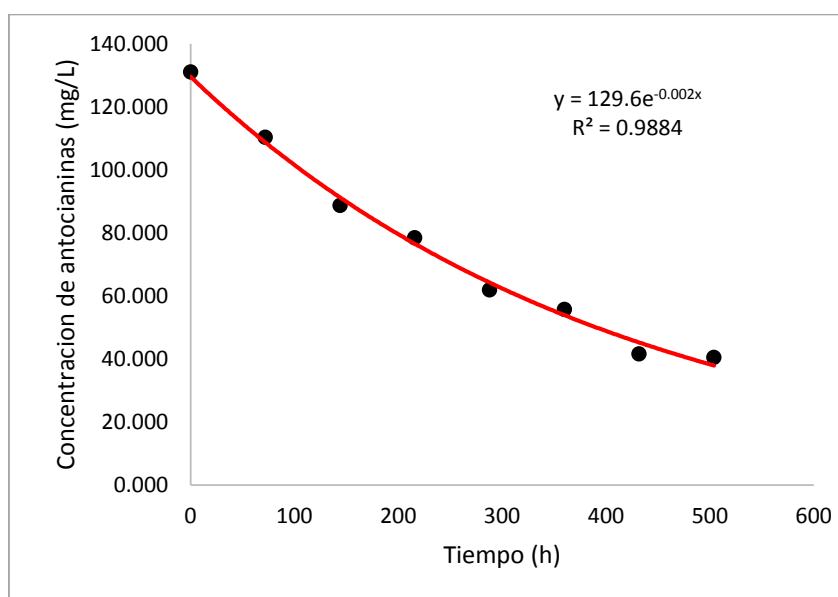


Figura 11. Concentración de antocianinas (mg/ 100ml) versus el tiempo de almacenamiento a 30°C del EPJA.

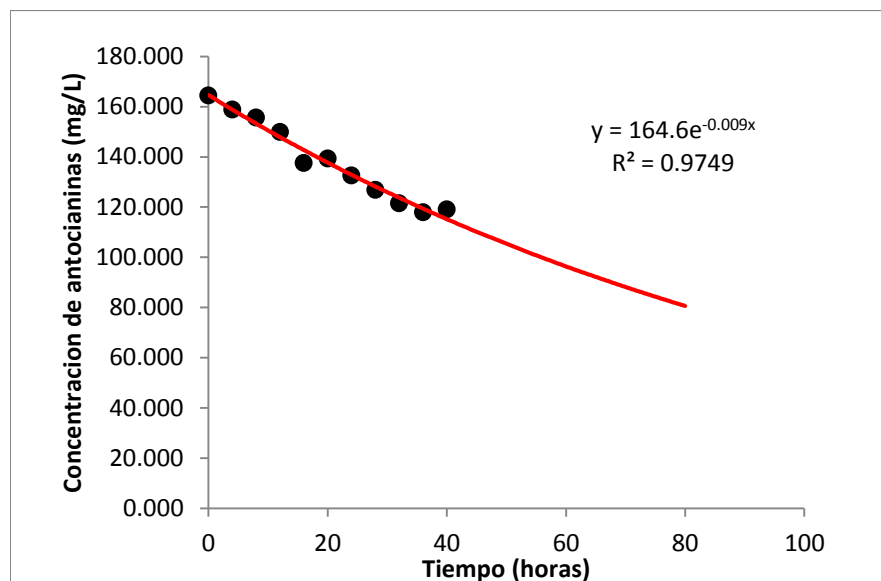


Figura 12. Concentración de antocianinas (mg/ 100ml) versus el tiempo de almacenamiento a 60°C del ECMM.

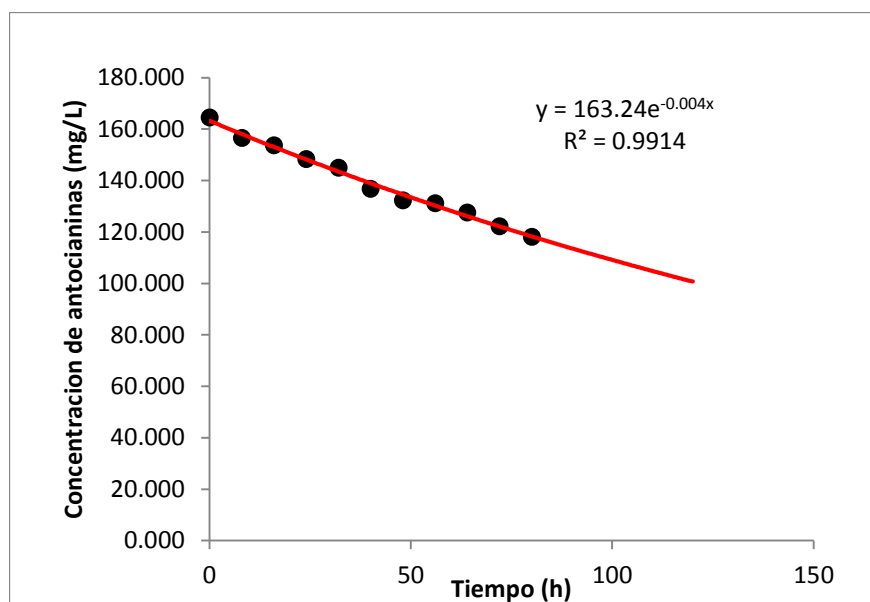


Figura 13. Concentración de antocianinas (mg/ 100ml) versus el tiempo de almacenamiento a 50°C del ECMM.

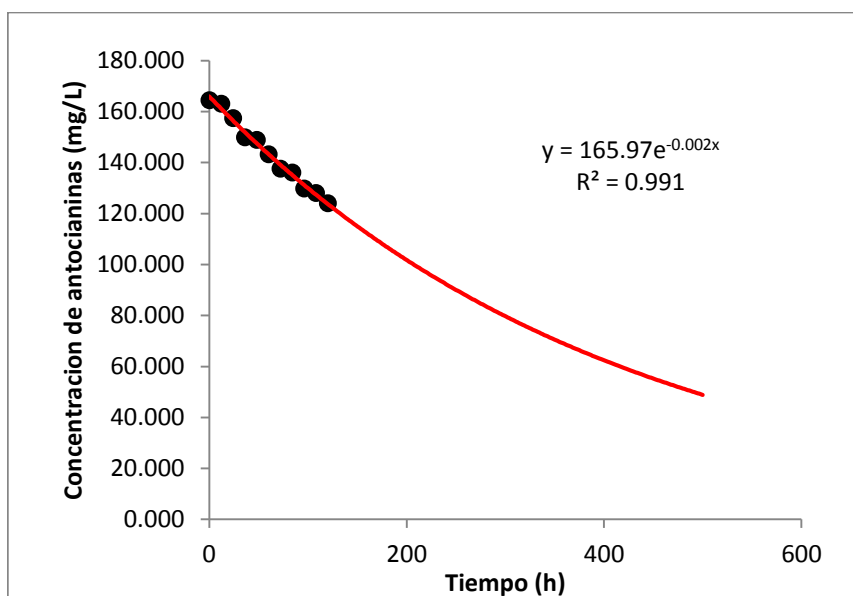


Figura 14. Concentración de antocianinas (mg/ 100ml) versus el tiempo de almacenamiento a 40°C del ECMM.

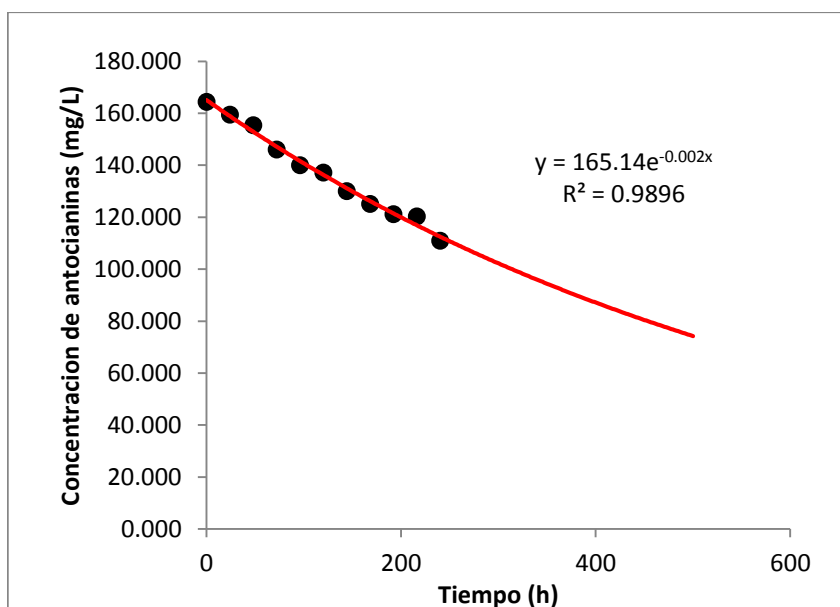


Figura 15. Concentración de antocianinas (mg/ 100ml) versus el tiempo de almacenamiento a 30°C del ECMM.

Las gráficas anteriores muestran la degradación de antocianinas durante el almacenamiento de las muestras experimentales, se observa que la degradación a cada temperatura tiene una tendencia exponencial con pendiente negativa. Para determinar específicamente el orden de reacción de las antocianinas en los extractos se realizó un análisis de regresión lineal simple, determinando los estadísticos, coeficiente de determinación (R^2) y Error Cuadrado Medio (ECM).

3.3. Orden de reacción de las antocianinas

Tabla 11. Estadísticas de regresión lineal simple para la degradación de antocianinas en EPJA y ECMM para cada temperatura a partir de los datos experimentales de concentración 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
EPJA								
Orden 0	0.957	15.436	0.949	18.130	0.983	6.701	0.991	2.802
Orden 1	0.988	5.304	0.988	6.709	0.993	2.980	0.994	2.866
Orden 2	0.964	98.284	0.949	104.968	0.990	6.695	0.979	13.287
ECMM								
Orden 0	0.987	9.308	0.988	8.253	0.987	10.682	0.959	12.048
Orden 1	0.989	2.483	0.991	1.796	0.991	1.743	0.962	9.819
Orden 2	0.986	3.413	0.990	2.123	0.990	1.796	0.962	9.494

* R^2 : Coeficiente de determinación lineal; *ECM: Error cuadrado medio.

Fuente: Elaboración Propia (2016)

En la tabla 11 se muestran los resultados de las estadísticas de regresión lineal simple, estos resultados nos permitieron determinar el orden de reacción de antocianinas en los extractos evaluados. Se observó que para todas las temperaturas ensayadas los coeficientes de determinación (R^2) más altos fueron 0.988, 0.988, 0.993, 0.994 para EPJA y 0.989, 0.991, 0.991, 0.962 para ECMM, los cuales corresponden a una cinética de primer orden. Los errores de ajuste más bajos a los modelos cinéticos también correspondieron a una cinética de primer orden en todas las temperaturas ensayadas, de esta manera se concluyó que la degradación de antocianinas en los extractos evaluados y todas las temperaturas ensayadas siguieron una cinética de primer orden.

3.4. Constantes de velocidad (k), energía de activación (Ea), factor Q_{10} y tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de las antocianinas.

Tabla 12. Constantes de velocidad de primer orden.

Temperatura (°C)	EPJA		ECMM	
	k (h ⁻¹)	$t_{1/2}$ (h)	k (h ⁻¹)	$t_{1/2}$ (h)
30	0.0024 ± 0.0000	284.419	0.0016 ± 0.0000	440.331
40	0.0074 ± 0.0000	93.479	0.0024 ± 0.0000	283.525
50	0.0112 ± 0.0000	62.099	0.0041 ± 0.0001	171.016
60	0.0237 ± 0.0002	29.204	0.0095 ± 0.0000	73.27 7

Fuente: Elaboración Propia (2016)

La tabla 12 muestra las constantes de velocidad promedios determinadas en el estudio experimental, estas constantes son de primer orden, se muestra cada una con su respectiva desviación estándar, pues son el promedio de tres repeticiones. También la tabla muestra los tiempos de vida media a cada temperatura experimental y por cada extracto evaluado, este es el tiempo en que tarda en degradarse las antocianinas hasta la mitad de su concentración inicial, a cada temperatura de almacenamiento. Se puede observar constantes de velocidad más pequeñas y tiempos de vida media más grandes a la temperatura de 30 °C.

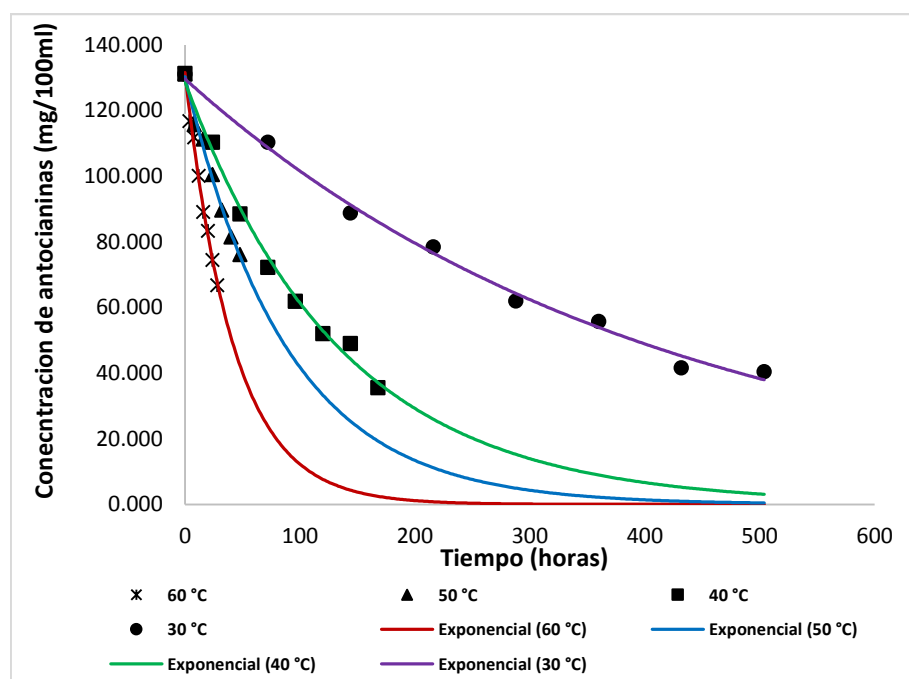


Figura 16. Degradación de antocianinas en EPJA a diferentes temperaturas.

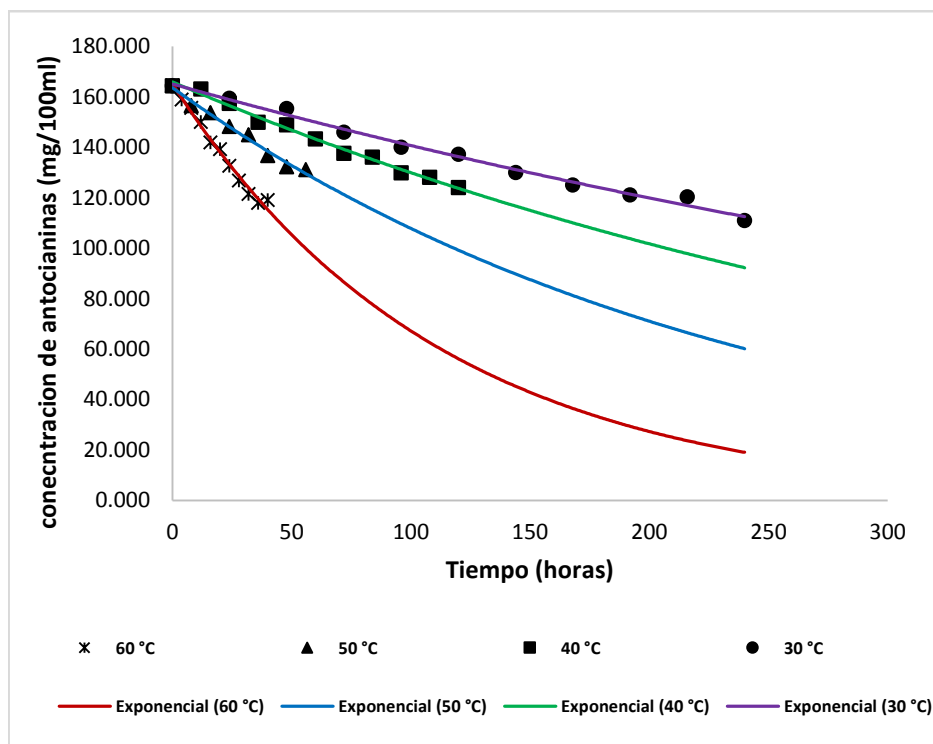


Figura 17. Degradación de antocianinas en ECMM a diferentes temperaturas.

Las gráficas anteriores describen la degradación exponencial de pendiente negativa de las antocianinas en los extractos durante el almacenamiento experimental. Se puede observar que las pendientes son diferentes a cada temperatura de almacenamiento, recordemos que las pendientes son las constantes de velocidad de degradación, en ese sentido es claro que a las temperaturas más bajas de almacenamiento las antocianinas se degradan con menos velocidad es decir tienen menos pendiente en la gráfica, esto se cumple en los dos extractos evaluados.

Tabla 13. Energía de Activación (E_a) y factor Q_{10} en degradación de compuestos

	E_a (kcal)	Q_{10} 30°C-40°C	Q_{10} 40°C-50°C	Q_{10} 50°C-60°C
EPJA	14.548	3.00	1.50	2.10
ECMM	11.843	1.60	1.70	2.30

Fuente: Elaboración Propia (2016)

La tabla 13 muestra los resultados de energía de activación y factores Q_{10} determinados para los dos extractos. Con respecto a la E_a , este es un parámetro de la ecuación de Arrhenius determinado al modelar las constantes de velocidad determinadas a cada temperatura experimental y para cada uno de los extractos estudiados.

Las figuras 18 y 19 muestran las curvas obtenidas para cada extracto, la pendiente de cada curva representa la energía de activación, se observa un elevado coeficiente de determinación (R^2), lo que significa un buen ajuste, también en cada grafica se muestra la respectiva ecuación de Arrhenius, la cual sirve para calcular valores de constantes de velocidad a las temperatura de almacenamiento deseadas. Se puede observar que la pendiente para el EPJA es mayor respecto a de ECMM.

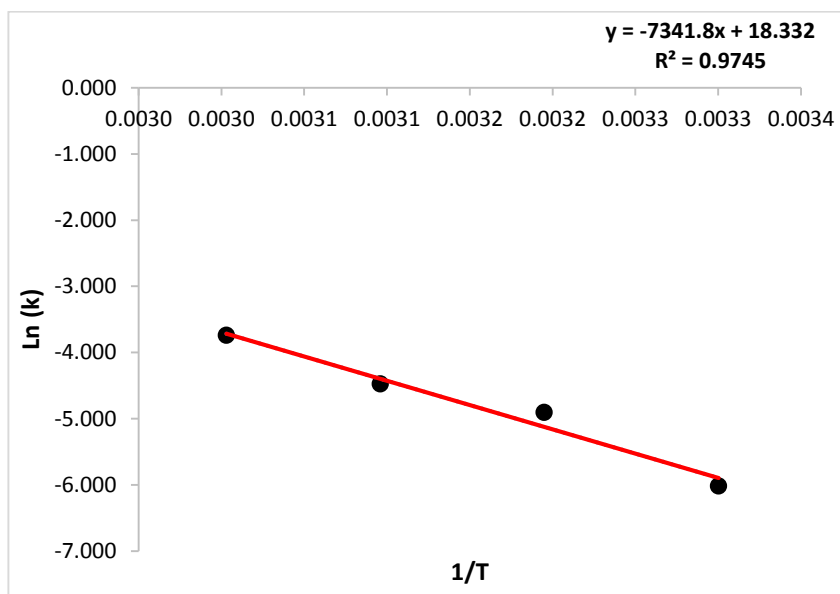


Figura 18. Gráfica de Arrhenius para la degradación de antocianinas en EPJA.

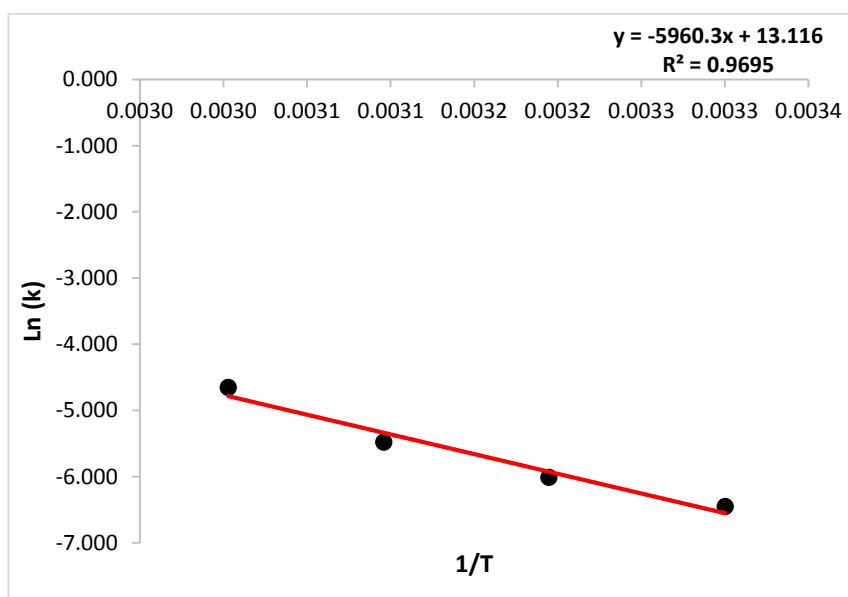


Figura 19. Gráfica de Arrhenius para la degradación de antocianinas en ECMM.

IV. DISCUSIONES

Orden de reacción de antocianinas en los extractos

En el presente estudio se determinó que el orden de reacción de las antocianinas es de primer orden en EPJA Y ECMM, este resultado concuerda con los estudios realizados por los siguientes autores:

Sánchez *et al.*, (2014) estudiaron la cinética de degradación de la betacianinas y betaxantinas que son colorantes naturales así como las antocianinas, almacenaron sus muestras a 30, 40 y 50 °C, la muestra evaluada fue una bebida a base de betarraga y miel de abeja, utilizaron 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 dos 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 corresponde a una cinética de primer orden.

Kırca y Cemeroğlu, (2003) estudiaron la cinética de degradación de antocianinas en el zumo y concentrado de naranja sanguínea. Determinaron que la degradación de las antocianinas siguió una cinética de primer orden.

Cemeroglu *et al.*, (1994) estudiaron la cinética de degradación de antocianinas en el jugo y concentrado de guindo. Determinaron que la degradación de las antocianinas siguió una cinética de primer orden.

Osses, (2007) Determinaron el Potencial de Coloración en Alimentos de un Concentrado de Jugo de Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) Obtenido por Nanofiltración. Su evaluación fue por medio del tratamiento térmico de las muestras. Determinaron que la degradación de las antocianinas siguió una cinética de primer orden.

Yang *et al.*, (2008) realizaron estudios de cinética de degradación térmica de antocianinas en maíz morado, determinaron que las antocianinas siguen una cinética de primer orden en su degradación.

Buckow *et al.*, (2010); Kechinski *et al.*, (2010); Alighourchi y Barzegar, (2008); Songnian *et al.*, (2008) y Maskan, (2006) realizaron estudios de estabilidad de antocianinas, los dos primeros autores en zumo de arándano, los dos siguientes en zumo de granada y el ultimo en concentrado de granada, todos

determinaron que las antocianinas se degradan siguiendo una cinética de primer orden.

Constantes de velocidad de EPJA

Tabla 14. Efecto de la temperatura en la k (h^{-1}) de las antocianinas en el EPJA a distintas temperaturas de almacenamiento

Temperatura	K_{EPJA}
30	0.0024 ± 0.0000
40	0.0074 ± 0.0000
50	0.0112 ± 0.0000
60	0.0237 ± 0.0002

El análisis de varianza (ANOVA) simple señaló diferencias significativas entre las medias de k a 30, 40, 50 y 60 °C para este EPJA (p -valor < 0.05). Ver Anexo IV.

Las constantes obtenidas concuerdan con las constantes determinadas por Wang y Xu, (2007) quienes determinaron que las constantes de velocidad de degradación de antocianinas en el concentrado de jugo de mora (65 ° Brix) fueron 0.0022, 0.0050, 0.0109 y 0.0227 h^{-1} a las temperaturas de 30, 40, 50 y 60 °C respectivamente, del mismo modo concuerdan con los estudios de Zapata, (2014) quien determinó que las constantes de velocidad de degradación de antocianinas en el extracto Solido-Líquido de arándano fueron 0.0038, 0.0072, 0.0131, 0.0232 h^{-1} a las temperaturas de 30, 40, 50 y 60 °C respectivamente. Por otra parte las constantes de velocidad de degradación

de antocianinas en EPJA son menores a las determinadas por Kirca y Cemeroğlu, (2003) en jugo concentrado de naranja sanguínea (69 ° Brix), estas fueron 0.0046, 0.0123, 0.0306, 0.0723 h⁻¹ a las temperaturas de 30, 40, 50 y 60 °C respectivamente, de mismo modo con Kechinski et al., (2010) quien realizó estudios de estabilidad de antocianinas en jugo de arándano. Las constantes de velocidad de degradación de antocianinas en EPJA son mayores a las determinadas por Cemeroğlu *et al.*, (1994) quien realizó estudios en el jugo concentrado de cereza (45 ° Brix), determinó que las constantes de velocidad de degradación de antocianinas fueron 0.0012, 0.0030, 0.0068, 0.0148 h⁻¹ a las temperaturas de 30, 40, 50 y 60 °C respectivamente, así mismo Zambrano *et al.*, (2011) quien realizó estudios de estabilidad de antocianinas en el jugo concentrado de agraz.

Constantes de velocidad de ECMM

Tabla 15. Efecto de la temperatura en la k (h⁻¹) de las antocianinas en el ECMM a distintas temperaturas de almacenamiento.

Temperatura	K _{ECMM}
30	0.0016 ± 0.0000
40	0.0024 ± 0.0000
50	0.0041 ± 0.0001
60	0.0095 ± 0.0000

El análisis de varianza (ANOVA) simple señaló diferencias significativas entre las medias de k a 30, 40, 50 y 60 °C para este ECMM (p-valor < 0.05). Ver Anexo IV.

Las constantes obtenidas concuerdan con los de Cemeroğlu *et al.*, (1994) quien realizó estudios en el jugo concentrado de cereza (45 ° Brix), determinó que las constantes de velocidad de degradación de antocianinas fueron 0.0012, 0.0030, 0.0068, 0.0148 h⁻¹ a las temperaturas de 30, 40, 50 y 60 °C respectivamente. Las constantes de degradación de antocianinas en ECMM son menores a las constantes determinadas por Wang y Xu, (2007) quienes determinaron que las constantes de velocidad de degradación de antocianinas en el concentrado de jugo de mora (65 ° Brix) fueron 0.0022, 0.0050, 0.0109 y 0.0227 h⁻¹ a las temperaturas de 30, 40, 50 y 60 °C respectivamente, del mismo modo con los resultados de Zapata, (2014) quien determinó que las constantes de velocidad de degradación de antocianinas en el extracto Solido-Líquido de arándano fueron 0.0038, 0.0072, 0.0131, 0.0232 h⁻¹ a las temperaturas de 30, 40, 50 y 60 °C respectivamente, también con los resultados de Kirca y Cemeroğlu, (2003) en jugo concentrado de naranja sanguínea (69 ° Brix), estas fueron 0.0046, 0.0123, 0.0306, 0.0723 h⁻¹ a las temperaturas de 30, 40, 50 y 60 °C respectivamente; también con los resultados Kechinski *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. por otra parte los resultados de las constantes de velocidad de ECMM son mayores a las determinadas por Alighourchi y Barzegar, (2008) en el jugo reconstituido de Granada a temperaturas de 30,

40, 50 y 60°C siendo las constantes de degradación de antocianinas 0.0009, 0.0014, 0.0021 y 0.0031 h⁻¹ respectivamente.

Energía de activación para EPJA

En el presente trabajo de investigación se obtuvo que la energía de activación de EPJA fue 14.588 kcal /mol, resultados que concuerdan con las determinadas por Wang y Xu, (2007); Cemeroglu *et al.*, (1994) y Zapata, (2014); quienes realizaron estudios de estabilidad de antocianinas en el jugo concentrado de mora (15.373 kcal/mol), jugo concentrado de cereza (15.58 kcal/mol) y en el extracto Solido-Líquido de arándano respectivamente (12.37 kcal/mol).

La energía de activación que se obtuvo en el presente estudio en EPJA fue menor a la obtenida por Kirca y Cemeroğlu, (2003), en jugo concentrado de naranja sanguínea (17.83 kcal/mol). Por otra parte la energía de activación que se obtuvo en EPJA fue mayor a la obtenida por Zambrano *et al.*, (2011) quien realizó estudios de estabilidad de antocianinas en el jugo concentrado de agraz (8.97kcal /mol).

Energía de activación para ECMM

En el presente trabajo de investigación se obtuvo que la energía de activación de ECMM fue 11. 843 kcal /mol. Este resultado concuerda con el de Songnian *et al.*, (2008) quienes estudiaron la estabilidad de antocianinas en el jugo de

granada, determinaron que su energía de activación fue 12.48 kcal /mol. Por otra parte la energía de activación determinada en ECMM es mayor que la determinada por Zambrano *et al.*, (2011) quienes determinaron el valor de 8.97 kcal /mol en el concentrado de agraz. La energía de activación de ECMM es menor a los resultados de los siguientes autores: Kechinski, *et al.*, (2010) determinó que la energía de activación para la degradación de antocianinas en el jugo de arándano fue 19.234 kcal /mol; Wang y Xu *et al.*, (2007) determinaron el valor de 14.10 kcal /mol para el jugo de mora y Cemeroglu, *et al.*, (1994) determinó un valor de 17.45 kcal /mol para el jugo de cereza.

Factor Q_{10}

En el presente trabajo de investigación se obtuvieron valores de Q_{10} en un rango de 1.5 hasta 3.0 para los extractos evaluados (EPJA Y ECMM), estos valores se encuentran dentro del rango de los resultados de otros autores como

Cemeroglu, *et al.*, (1994); Wang y Xu *et al.*, (2007); Pereira, *et al.*, (2010); Zambrano *et al.*, (2011); Kirca y Cemeroglu, (2003) y Zapata, (2014) quienes realizaron estudios de estabilidad de antocianinas en concentrado de mora, jugo de mora, jugo de arándano, concentrado de agraz, concentrado de naranja sanguínea y extracto de antocianinas a partir de arándano, respectivamente.

V. CONCLUSIONES

1. Se evaluó el efecto de la temperatura en la estabilidad (degradación) de antocianinas en los extractos obtenidos a partir de los desechos del proceso de elaboración de jugo arándanos (EPJA) y de las corontas de maíz morado (ECMM).
2. Se determinó la concentración de antocianinas en el EPJA y ECMM a diferentes tiempos y temperaturas de almacenamiento estudiadas; en la cual la concentración del pigmento sigue una pendiente negativa.
3. Se obtuvo como resultado que la degradación por la temperatura de antocianinas en EPJA Y ECMM correspondió a una cinética de primer orden a cada una de las temperaturas de estudio (30, 40, 50 y 60 °C).
4. Se determinó que las constantes velocidad de degradación de antocianinas en EPJA fueron 0.0024, 0.0074, 0.0112, 0.0237 h⁻¹ a las temperaturas de almacenamiento de 30, 40, 50 y 60 °C respectivamente. Para el ECMM se obtuvieron las siguientes constantes, 0.0016, 0.0024, 0.0041, 0.0095 h⁻¹ a las temperaturas de almacenamiento de 30, 40, 50 y 60 °C respectivamente.
5. Se determinó que los tiempos de vida media para la degradación de antocianinas en EPJA fueron 284.419, 93.479, 62.933, 29.204 h las

temperaturas de almacenamiento de 30, 40, 50 y 60 °C respectivamente. Para el ECMM se obtuvieron los siguientes tiempos, 440.331, 283.525, 171.016, 73.277 h-1 a las temperaturas de almacenamiento de 30, 40, 50 y 60 °C respectivamente. Se pudo observar que los tiempos de vida media para degradación de antocianinas en el ECMM fueron mayores respecto a los del EPJA a todas las temperaturas de estudio.

6. Se determinaron los siguientes valores de energía de activación (Ea), 14.588 Kcal/mol y 11.843 Kcal/mol para EPJA y ECMM respectivamente, se pudo observar que la Ea del EPJA fue mayor a la del ECMM. Con respecto a los valores de Q10 determinados se concluyó que estos son diferentes cada 10 °C en los extractos evaluados.

VI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda cumplir con las buenas prácticas de manufactura durante la obtención, acondicionamiento y evaluación de las muestras experimentales.
2. Se recomienda monitorear la programación y calibración de los termostatos que incluye las incubadoras, así mismo de todos instrumentos y equipos utilizados en el estudio.
3. Se recomienda cumplir estrictamente con los tiempos programados para retirar cada muestra experimental de las incubadoras, estas deberán ser medidas lo más rápido posible (se puede utilizar un culer para transportarlas al lugar de medición o también mantearlas en refrigeración mientras se esté midiendo cada muestra en un orden).
4. Se recomienda calibrar los instrumentos del laboratorio que se van utilizar para la medición de la muestras experimentales (espectrofotómetro, potenciómetro, refractómetro, etc.).
5. Durante el almacenamiento de las muestras experimentales en las incubadoras, verificar que estas estén correctamente ubicadas y herméticamente cerradas.

6. En el presente trabajo de investigación los niveles de la variable de estudio (temperatura) fueron cuatro, es decir, las muestras experimentales se almacenaron a 30, 40, 50 y 60 °C, se recomienda en estudios futuros de estabilidad, si es posible aumentar los niveles del factor, de esta forma se podrá modelar mejor a los datos experimentales con la ecuación de Arrhenius.
7. Se recomienda determinar de una manera eficiente los intervalos de tiempos en que se retiran las muestras experimentales de la incubadoras para su respectiva medición, esto se logra revisando antecedentes de estudio.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adams, J. B. (1973). Thermal degradation of anthocyanin with particular reference on 3 glucosides of cyanidin. In acidified aqueous solution at 100 C. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 24, 747e762.
2. Aguilera, M.; Reza, M.; Chew, R.; Meza, J. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *Revista de ciencias biológicas y de la salud* 13: 16-22.
3. Alighourchi, H., & Barzegar, M. (2008). Some physicochemical characteristics and degradation kinetic of anthocyanin. *Journal of Food Engineering*.
4. Amin, K.A., Abdel Hameid, H. y Abd Elsttar, A.H. (2010). Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. *Food and Chemical Toxicology* 48, 2994–2999.
5. Arroyo, J.; Saez, E.; Rodríguez, M.; Chumpitaz, V.; Burga, J.; de la Cruz, W.; Valencia, J. (2010). Reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de maíz morado (*Zea mays* L.) en ratas hipercolesterolémicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica* 24: 157-162.
6. Astrid, G. G. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3), 27-36.
7. Atmani, D.; Ruiz-Larrea M.B.; Ruiz-Sanz, J.I.; Lizcano, L.J.; Bakkali, F.; Atmani, D. (2011). Antioxidant potential, cytotoxic activity and phenolic content of *Clematis flammula* leaf extracts. *J. Med. Plants Res.* 5: 589-598.
8. Azevedo, J., Fernandes, I., Faria, A., Oliveira, J., Fernandes, A., Freitas, V. D. & Mateus, N. (2010). Antioxidant properties of anthocyanidins, anthocyanidin-3-glucosides and respective portisins. *Food Chemistry*, 119, 518-523.
9. Badui, S. (2006). *Química de los alimentos*. Cuarta Edición. Editorial Alhambra. México, D.F. 140-145.
10. Beltrán, A. (2011). Estudio de la estabilidad y conservación de extractos acuosos y etanólicos usados como indicador ácido-base a partir de col morada (*Brassica*

olerácea), Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), Quelite (*Amaranthus hybridus* L.) y Rosa royal william (*Rosa* sp). Tesis para optar al título de Ingeniero Químico. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Veracruzana.

11. Boyer, C. y Shannon, J. (2001). Carbohydrates of the kernel, com: chemistry and technology. *Journal of Cereal Science*. 1:253-272.
12. Brennan JG, Butters JR, Cowell ND, Lilly AE. (1980) Las operaciones de la ingeniería de los alimentos. 2a ed., Zaragoza: Acribia.
13. Buckow R, Kastell A, Shiferaw, Terefe NS &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: 10076-10084.
14. Buzeta, A. (1997). Arándanos. In: Chile: Berries para el 2000. Fundación Chile. Santiago, Chile. pp 53-88.
15. Cacace, J.E y Mazza, G.(2003). Optimization of extraction of anthocyanins from CECSA.
16. Casp A.; Abril J. (2003). Procesos de conservación de alimentos. 2ª ed. Mundi – Prensa.
17. 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.
18. 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.
19. Chandra, A.;Nair, M.; Lezzoni, A.(1992). Evaluation and characterization of the anthocyanin pigments in! tart cherries (*prunus cerasus* L)). *Journal!Agric. Food Chemistry*. 86(1): 69-77.
20. Chirinos, R.; campos, D.; Arbizu, C.; Rogez, H, Larondelle., Noratto, g & Cisneros-Zevallos, I. (2006). Effect of genotype, maturity stage and post-harvest storage on phenolic compounds, carotenoid content and antioxidant capacity, of Andean

mashua tubers (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. p. 437-446.

21. Clydesdale F. M. And Francis F. J. (1976). Pigments. En: *Principles of Food Chemistry, Part I, Food Chemistry*, 1st ed. Marcel Dekker, New York.
22. Collazos, CH.C. (1962). *La composición de los Alimentos Peruanos*. 3ªEd. revisada. Lima-Perú.
23. Corrêa Antunes, L. E., Dias Gonçalves, E., Ristow, N. C., Carpenedo, S. & Trevisan, R. (2008). Fenologia, produção e qualidade de frutos de mirtilo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43, 1011-1015.
24. De Pascual, S. y Sánchez, M. T. (2008). Anthocyanins: from plant to health. *Phytochemical Review*, 7:281-299.
25. Del Rio, D., Borges, G. & Crozier, A. (2010). Berry flavonoids and phenolics: Bioavailability and evidence of protective effects. *British Journal of Nutrition*, 104, S67-S90
26. Delgado, V. F.; Jiménez, A.R.; Paredes, L. O. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins and betalains-characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Food Sci. Nutr*, 40, 173-289.
27. Dickerson, G. (2008). Nutritional analysis of New Mexico blue com and dent com kernels. *Cooperative Extension of Agriculture*. 20:7-8.
28. Dinamarca, P., Poblete, R. y Sánchez, R. (1986). Aspectos técnico económicos en la producción de berries. Fundación Chile. Departamento agroindustrial (Publicación Técnica Nº 16). Santiago. Chile.
29. Durante M. J., Pifferi P. G., Spagna G. And Gilioli E. (1995). Partial Characterización of *Vitis vinifera* grape var. Ancellota, *Lebensm. Wiss. U. Technol.* 28:635.
30. Escribano, M. Santos, B.C. Rivas, J.C. (2004). Anthocyanins in cereals. *Journal of Chromatography A*; 1054: 129-141.

31. ESPAÑA. REAL ACADEMIA ESPAÑOLA (RAE). (2001). Diccionario de la Lengua Española.
32. Fan G, Han Y, Gu Z, Che D. (2008). Optimizing conditions for anthocyanins extraction from purple sweet potato using response surface methodology (RSM), LWT - Food Science and Technology 41:155–160.
33. Fennema, O.R. (2000). Química de los Alimentos, 2a ed. Zaragoza: Acribia S.A.1095p.
34. Fernandez. N. (1995). Extracción y pre-purificación de antocianinas de maíz morado en el maíz morado. Tesis para optar el título de Ing. Químico. U.N.A. Lima– Perú.
35. Fossen, T., L. Cabrita and O. Andersen. (1998). Colour and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline región. Food Chemistry 63 (4): 435 – 440.
36. Francis FJ y Markakis PC. (1989). Food colorants: anthocyanins. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 28: 273–314.
37. Fukamachi, K.; Imada, T.; Ohshima, Y.; Xu J.; Tsuda, H. (2008). Purple corn color suppresses Rasprotein level and inhibits 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammarycarcinogenesis in the rat. Cancer Sci. 99: 1841–1846.
38. Geankoplis CJ. Procesos de transporte y operaciones unitarias. 3a ed. México.(1999).
39. 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.
40. 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.
41. Gorriti Gutierrez A, Arroyo Acevedo J, Negron Ballarte L, Jurado Teixeira B, Purizaca Llajaruna H, Santiago Aquise I, Taype Espinoza E, Quispe Jacobo F.

- (2009^a). Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas del maíz morado (*Zea mays* L.): Método de extracción. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 8: 509–518.
42. Gough, R.(1994) The Highbush blueberry and its Management. First edition. Haworth Press, Inc. Nueva York, Estados Unidos.
 43. Gross, J. (1987). Pigments in fruits. Academic press, London. pp 59-85.
 44. Hagiwara A., Yoshino H., Ichiharam T., Kawabe M., Tamanos S. y Aoki H. (2002). Prevention by natural food anthocyanins, purple sweet potato color and red cabbage color, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-B]pyridine (phip)-associated colorectal carcinogenesis in rats. Journal of Toxicology Science, 27:57-68.
 45. Harborne, J.B; Mabry, T.J. Biosynthesis, En The Flavonoids: Advances in Research, Chapman &Hall. London. (1992). 641-679.
 46. 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 nonisothermal methods. Food Chemistry 111(1): 204–208.
 47. Heinonen, I. M., Meyer, A. S. & Frankel, E. N. (1998). Antioxidant Activity of Berry Phenolics on Human Low-Density Lipoprotein and Liposome Oxidation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 4107-4112.
 48. Hidalgo, J., 2003. Tratado de enología II. Mundi-Prensa Libros, Madrid.
 49. Houbiers C, Lima JC, Maçanita AL and Santos H. (1998). Color stabilization of malvidin 3-glucoside: Self-aggregation of the flavylum cation and copigmentation with the Z-chalcone form. Journal of Physical Chemistry B. 102: 3578-85.
 50. Hulme, A. C. (1971) The Biochemistry of Fruits and Their Products, Academic Press. New York.
 51. Ibarz Ribas A, Barbosa Cánovas GV, Garza Garza S, Gimeno Añó V. (2000). Métodos experimentales en la ingeniería alimentaria. España: Acribia SA.Farid MM.

52. Ibarz, A.; Barbosa – Cànovas G.V. (2005). Operaciones Unitarias en la Ingeniería de Alimentos. España: Mundi.
53. Jackman, R. L., Yada, R. Y., & Tung, M. A. (1987). A review: separation and chemical properties of anthocyanins used for their qualitative and quantitative analysis. *Journal of Food Biochemistry*, 11, 279e308.
54. Joseph J. A., Shukitt-Hale B., Denisova N. A., Bielinski D. B., Martin A. y McEwen. (1999). Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive and motor behavioral deficits with blueberry, spinach or strawberry dietary supplementation. *Journal of Neuroscience*, 19:8114-21.
55. Justiniano E.A. (2010). Fenología e intensidad de color en corontas del maíz morado (*Zea mays L.*) en sus diferentes estados de desarrollo en la localidad de la Molina. Perú.
56. Kader, F., Irmouli, M., Nicolas, J. P., & Metche, M. (1999). Degradation of cyanidin by caffeic acid o-quinone. Determination stoichiometry and characterization of degraded products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4625e4630.
57. Kalt, W. and Dufour, D. (1997). Health functionality of blueberries. *Hort Technology*. 7(3), 216 -221. p 11,28.
58. Kamei H., Hashimoto Y., Koide T., Kojima T. y Hasegawa M. (1998). Effect of metanol extracts from red and white wines. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 13(6):447-52.
59. 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.
60. Kilcast, D.; Subramaniam, P. 2011. Food and beverage stability and shelf life. Woodhead Publishing Limited.
61. Kim H. S., Joo H. M. y Yoo H. S. (2009). Structural identification and antioxidant properties of major anthocyanins extracted from omija (*Schizandra chinensis*) fruit. *Journal of Food Science*, 74(2), 134-140.

- 62.** Kirca, A., & Cemeroğlu, B. (2003). Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. *Food Chemistry*, 81(4), 583-587.
- 63.** Kirca, A., M. Özkan and B. Cemeroglu. (2007). Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. *Food Chemistry* 101(1): 212–218.
- 64.** Koide T., Kamei H., Hashimoto Y., Kojima T. y Hasegawa M. (1997). Antitumor effect of anthocyanin fractions extracted from red soybeans and red beans in vitro and in vivo. *Cancer Biotherapy Radiopharmaceuticals*, 12(4), 277-280.
- 65.** Labuza, T.P. (1984). Application of chemical kinetics to deterioration of foods. *Journal of Chemical Education* 61(4): 348-358.
- 66.** Labuza, T.P. (1982). Shelf life dating of food. Westport, CT: Food and Nutrition Press.
- 67.** Leguizamón G, González León A, Báez Sañudo R. (2005). Antocianinas en uva LPS/IFN gamma-activated RAW 264.7 macrophages, *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 50, 850-857
- 68.** Lewis.C y Walker,J. (1995).Efecto de los polisacáridos sobre el color de las antocianinas.*Química de los alimentos*.319-325.
- 69.** Manrique, A.(1997). El maíz en el Perú. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC). Lima, Perú. 362 Págs.
- 70.** Markakis P., Livingston GE, Fellers, RC. (1975).Quantitative Aspects of Strawberry Pigment Degradation. *Food Res.* 22:117-130.
- 71.** Markakis, P. (1982). Anthocyanins as Foods Colors. Academic Press, New York.
- 72.** Maskan, M.(2006). Production of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice concentrate by various heating methods: colour degradation and kinetics. En: *Journal of Food Engineering*. Vol.72, Nº 1, p. 218–224
- 73.** Mazza, G. & Miniati, E.(1993). Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains, CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo.

74. Méndez, G., Solorza, J. y Paredes, O. (2005). Composición química y colorimétrica de híbridos y variedades de maíz. *Revista agrociencia*. 39:267-274.
75. 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.
76. Moßhammer, M. R., Rohe, M., Stintzing, F.C. y Carle, R. (2007). Stability of yelloworange cactus pear (*Opuntia ficus-indica* [L.]Mill. cv. 'Gialla') betalains as affected by the juice matrix and selected food additives. *European Food Research and Technology* 225, 21–32.
77. Muñoz, Schwartz y Loyola. (2003). Antocianos, colorantes naturales de aplicación industrial. *Fitoterapia*. 2: 147-152.
78. Muñoz,C.(1988). Antecedentes del arándano. Seminario: El cultivo del arándano.INIA Estación Experimental Carillanca. Programas Frutales y Viñas. Chile.pp 5-12.
79. Ortega, V. (2004). Estudio Comparativo en el uso de colorantes naturales y sintéticos en alimentos, desde el punto de vista funcional y toxicológico (Doctoral dissertation, Tesis]. Chile: Ingeniería de alimentos. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile).
80. Osses, F. (2007). Determinación del Potencial de Coloración en Alimentos de un Concentrado de Jugo de Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) Obtenido por Nanofiltración.
81. Ottersäater G. (1999). *Coloring of Food, Drugs and Cosmetics*. New York, N.Y.: Marcel Dekker, Inc.
82. 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.
83. Palamidis, N., and Markakis, P. (1978). Stability of grape anthocyanin in a carbonated beverage. *Industrie delle Bevande*, 7, 106e109.

- 84.** Pascual-Teresa S, Santos-Buelga, C, Rivas-Gonzalo JC. (2002). LC-2. MS Analysis of anthocyanins from purple corn cob. *Journal of the Science of Food and Agriculture*; 82: 1003-1006.
- 85.** Patras, A., Brunton, N. P., O'Donnell, C., & Tiwari, B. K. (2010). Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology*, 21(1), 3-11.
- 86.** Perossini M., Guidi G., Chiellini S. y Siravo D. (1987). Studio clinic sull'impeigo degli antocianisidi del miritillo (Tegens) nel trattamento delle microangiopathi retiniche di tipo diabético.
- 87.** Pritts, M. & Hancock, J. (1992). Highbush blueberry production guide. Cooperative Extension Publication NRAES-55. Ithaca. New York., 199.
- 88.** Rice-Evans; Miller, Bolwell; Bramley and Pridham.(1995).The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free radical research*, 22(4), 375-83.p 11.
- 89.** Rodriguez L y Wolstrad R. (2001). Extraction, isolation, and purification of anthocyanins. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*.
- 90.** Sadilova, E., Carle, R., & Stintzing, F. C. (2007). Thermal degradation of anthocyanins and its impact on color and in vitro antioxidant capacity. *Molecular nutrition & food research*, 51(12), 1461-1471.
- 91.** Sánchez-Chávez, W., Cortez-Arredondo, J., Solano-Cornejo, M., & Vidaurre-Ruiz, J. (2015). 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*, 6(2), 111-118.
- 92.** Sapers, G.M., Taffer, I. y Ross, L. (1981). Functional Properties of a Food Colorant Prepared from Red Cabbage. *J. Food Sci.* Vol 46. Pag: 105-109.
- 93.** Sarni, P., Fulcrand, H., Souillol, V., Souquet, J. M., & Cheynier, V. (1995). Mechanisms of anthocyanin degradation in grape must-like model systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 69(3), 385e391.

94. Seeram, N. P., Bourquin, L. D., & Nair, M. G. (2001). Degradation products of cyanidin glycosides from tart cherries and their bioactivities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4924e4929.
95. Sevilla, R. y Valdez, A. (1985). Estudio de factibilidad del cultivo de maíz morado. Fondo de Promoción y Exportación (FOPEX). Lima, Perú. 46.
96. Shrikhande, A. (1976). Anthocyanins in Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 193-218.
97. Shrikhande, A. and F. Francis. (1974). Effect of flavonols on ascorbic acid and anthocyanin stability in model systems. *Journal of Food Science* 39(5): 904–906.
98. Shukitt-Hale B., Galli R. L., Meterko V., Carey A., Bielinski D. F y McGhie T. (2005). Dietary supplementation with fruit polyphenolics ameliorates age-related deficits in behavior and neuronal markers of inflammation and stress. *Age the urnal of American Aging Association*, 27(1), 49-57.
99. Smith et al. (2000). Bioactive properties of wild blueberry fruits. *Journal of food science*. 65: 352-356
100. 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*.3.
101. Starr, M.S. and F. Francis. (1968). Oxygen and ascorbic acid effect on the relative stability of four anthocyanin pigments in cranberry juice. *Food Technology* 22(10): 91–93.
102. Stintzing, F. y Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends Food Science Technology* 15,19-38.
103. Strack, D.; Wray, V. (1994). The anthocyanins. En *The Flavonoids: Advances in Research*. Chapman & Hall, London. 1-19.
104. Sudzuki, F. (2002). Arándanos y arándanas. In *Cultivo de frutales menores*. Universitaria. Santiago, Chile. pp 89-97.

- 105.** Takhtajan, A. (1980). Outline of classification of flowering plants (Magnoliophyta). The botanical review new York, estados unidos.46:225-226, 316-318.
- 106.** Toledo, R. (2004). Fundamentals of Food Process Engineering. Third Edition.Springer. United States
- 107.** 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.
- 108.** Tsuda, S., Murakarni, M., Kano, K., Taniguchi, K. y Sasaki, Y.F. (2001). DNA damage induced by red food dyes orally administered to pregnant and male mice. Toxicological Sciences 61, 92-99.
- 109.** U.S.FDA. (2011). Food and Drugs Requirements.U.S. Agent Requirement.
- 110.** Ullauri, P.G. (2010). Transporte de masa en extracción fase sólido – líquido. Quito: ReCiTel. Variedades de maíz. Revista Agrociencia. 39:267- 274.
- 111.** Von Elbe, J. H., & Schwartz, S. J. (1996). Colorants. In O. R. Fennema (Ed.), Food chemistry (3rd ed.). (pp. 651e722) New York, NY: Marcel Dekker, Inc.
- 112.** Vourela S., Kreander K., Karonen M., Nieminen R., Hamalainen M. y Galkin A. (2005). Preclinical evaluation of rapessed, raspberry and pine bark phenolics for health related effects. Journal Agricultural and Food Chemistry, 53(15), 5922-5931.
- 113.** Walford, J. (1980).Developments in Food Colors. Applied Science Publishers. Ed. London.pp. 116-142.
- 114.** 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.

115. Wang S. Y. y Jiao H. (2000). Scavering capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals and singlet oxygen. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5677-5684.
116. Wang S. Y. y Lin H. S. (2000). Antioxidant activity in fruit and leaves of blackberry, raspberry and strawberry is affected by cultivar and maturity. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 48, 140-146.
117. Wang, W. D., & Xu, S. Y. (2007). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of food engineering*, 82(3), 271-275.
118. Wrolstad R. (2000). Anthocyanins. In: Lauro GJ, Francis FJ, editors. *Natural Food Colorants*. New York, N.Y.: Marcel Dekker, Inc. p. 237-252
119. Yang, Z., Han, Y., Gu, Z., Fan, G., & Chen, Z. (2008). Thermal degradation kinetics of aqueous anthocyanins and visual color of purple corn (*Zea mays* L.) cob. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(3), 341-347.
120. 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.
121. Zapata, Im. (2014). Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria. *Universitat Politècnica de València*.
122. 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 1. Procedimiento de análisis físicoquímicos.

A. Determinación de antocianinas.

El contenido de antocianinas totales se determinará 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). Las muestras fueron diluidas con las respectivas soluciones buffer y la absorbancia fue medida a 510 y 700 nm, usando un espectrofotómetro UV-Vis. El contenido total de antocianinas se expresó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$[AC_t] = \frac{AxMxFDx1000}{\epsilon x l}$$

Donde: [AC_t] = mg/L de Cianidina-3-glucósido; A = (A₅₁₀ - A₇₀₀) pH1,0 - (A₅₁₀ - A₇₀₀) pH4,5; M (peso molecular) = 691 g/mol de Malvidin-3,5-diglucósido y 449,2 g/mol de Cianidina-3-glucósido; FD = factor de dilución; l = ancho de la celda en cm; ε = 29600 coeficiente de extinción molar en L/mol/cm de Cianidina-3-glucósido y 37700 coeficiente de extinción molar en L/mol/cm de Malvidin -3,5- diglucósido; 1000 = conversión de g a mg.

B. Determinación de sólidos solubles (°Brix).

Para medir los sólidos solubles (°Brix) de los extractos se utilizó un Refractómetro ATAGO PAL-3.

C. Determinación de pH.

Para medir el pH de los extractos se utilizó un Potenciómetro HANNA.

Anexo 2. Resultados de las absorbancias en la determinación de antocianinas en EPJA.

Tabla 16. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas del EPJA a 30°C de almacenamiento.

tiempo (h)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
0	1.127	0.058	0.366	0.012
	0.000	0.000	0.000	0.000
72	0.954	0.052	0.308	0.009
	0.001	0.001	0.001	0.001
144	0.766	0.042	0.247	0.006
	0.001	0.001	0.001	0.001
216	0.673	0.036	0.215	0.007
	0.002	0.001	0.001	0.001
288	0.533	0.028	0.171	0.004
	0.001	0.001	0.001	0.001
360	0.479	0.025	0.152	0.002
	0.001	0.001	0.002	0.001
432	0.354	0.018	0.111	0.003
	0.001	0.001	0.001	0.002
504	0.330	0.015	0.096	0.002
	0.001	0.000	0.001	0.001

Tabla 17. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas del EPJA a 40°C de almacenamiento.

Tiempo (h)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700nm
0	1.128	0.058	0.366	0.012
	0.001	0.001	0.001	0.001
24	0.929	0.046	0.290	0.010
	0.001	0.001	0.000	0.001
48	0.762	0.039	0.246	0.006
	0.002	0.001	0.001	0.001
72	0.657	0.035	0.234	0.006
	0.001	0.000	0.001	0.000
96	0.537	0.027	0.176	0.004
	0.002	0.000	0.001	0.001
120	0.448	0.022	0.145	0.003
	0.001	0.001	0.001	0.000
144	0.378	0.017	0.097	0.003
	0.001	0.000	0.001	0.001
168	0.287	0.011	0.085	0.003
	0.001	0.002	0.001	0.001

Tabla 18. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas del EPJA a 50°C de almacenamiento.

Tiempo (h)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700nm	510 nm	700nm
0	1.128	0.058	0.367	0.012
	0.001	0.001	0.001	0.001
8	1.003	0.040	0.343	0.012
	0.001	0.001	0.001	0.000
16	0.969	0.039	0.331	0.008
	0.001	0.001	0.001	0.001
24	0.879	0.027	0.315	0.011
	0.001	0.001	0.000	0.001
32	0.809	0.019	0.309	0.008
	0.001	0.002	0.001	0.000
40	0.734	0.013	0.279	0.003
	0.001	0.001	0.001	0.001
48	0.672	0.007	0.252	0.002
	0.001	0.001	0.001	0.001
56	0.595	0.001	0.210	0.000
	0.001	0.001	0.001	0.000

Tabla 19. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas del EPJA a 60°C de almacenamiento.

Tiempo (h)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
0	1.127	0.058	0.366	0.012
	0.001	0.001	0.001	0.001
4	1.009	0.047	0.337	0.011
	0.001	0.001	0.001	0.000
8	0.968	0.036	0.331	0.009
	0.001	0.002	0.001	0.000
12	0.879	0.029	0.316	0.012
	0.001	0.001	0.001	0.001
16	0.806	0.020	0.308	0.008
	0.001	0.001	0.001	0.001
20	0.743	0.016	0.279	0.007
	0.001	0.001	0.001	0.001
24	0.665	0.009	0.252	0.002
	0.001	0.001	0.001	0.001
28	0.607	0.011	0.236	0.004
	0.001	0.002	0.001	0.001

Anexo 3. Resultados de las absorbancias en la determinación de antocianinas en ECMM.

Tabla 20. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas del ECMM a 30°C de almacenamiento.

Tiempo (h)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700nm
0	1.194	0.016	0.206	0.013
	0.001	0.001	0.001	0.002
24	1.157	0.016	0.198	0.012
	0.001	0.001	0.001	0.001
48	1.128	0.015	0.193	0.011
	0.001	0.003	0.002	0.001
72	1.062	0.014	0.182	0.009
	0.002	0.001	0.002	0.001
96	1.017	0.013	0.174	0.009
	0.001	0.002	0.003	0.002
120	0.995	0.013	0.170	0.010
	0.001	0.002	0.003	0.001
144	0.946	0.012	0.162	0.007
	0.001	0.001	0.000	0.002
168	0.908	0.012	0.155	0.009
	0.001	0.000	0.001	0.001
192	0.880	0.011	0.151	0.008
	0.001	0.001	0.001	0.001
216	0.872	0.012	0.146	0.007
	0.001	0.001	0.001	0.002
240	0.810	0.010	0.142	0.007
	0.001	0.001	0.001	0.002

Tabla 21. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas del ECMM a 40°C de almacenamiento 40 °C.

Tiempo (h)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
0	1.194	0.016	0.206	0.013
	0.001	0.001	0.001	0.002
12	1.185	0.016	0.204	0.012
	0.001	0.001	0.001	0.001
24	1.143	0.016	0.195	0.011
	0.002	0.001	0.001	0.000
36	1.088	0.015	0.186	0.010
	0.001	0.001	0.001	0.001
48	1.082	0.014	0.185	0.009
	0.003	0.000	0.002	0.001
60	1.039	0.013	0.178	0.011
	0.001	0.001	0.001	0.001
72	0.999	0.013	0.169	0.009
	0.001	0.001	0.002	0.002
84	0.988	0.014	0.166	0.007
	0.001	0.001	0.002	0.002
96	0.942	0.012	0.161	0.008
	0.001	0.000	0.001	0.001
108	0.930	0.012	0.158	0.007
	0.001	0.001	0.002	0.002
120	0.899	0.012	0.152	0.008
	0.001	0.000	0.002	0.001

Tabla 22. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas del ECMM a 50°C de almacenamiento.

Tiempo (h)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
0	1.194	0.016	0.205	0.012
	0.000	0.001	0.000	0.001
8	1.147	0.014	0.206	0.010
	0.001	0.001	0.001	0.000
16	1.126	0.009	0.212	0.015
	0.001	0.001	0.001	0.001
24	1.099	0.011	0.220	0.021
	0.001	0.001	0.003	0.001
32	1.089	0.009	0.217	0.006
	0.001	0.000	0.002	0.001
40	1.026	0.004	0.211	0.008
	0.001	0.001	0.001	0.001
48	0.986	0.003	0.199	0.008
	0.001	0.001	0.001	0.001
56	0.974	0.006	0.187	0.005
	0.005	0.001	0.001	0.002
64	0.941	0.003	0.179	0.005
	0.005	0.001	0.001	0.001
72	0.900	0.002	0.170	0.004
	0.001	0.001	0.001	0.001
80	0.866	0.002	0.160	0.003
	0.001	0.001	0.001	0.001

Tabla 23. Promedio de las absorbancias obtenidas en la determinación de antocianinas del ECMM a 60°C de almacenamiento.

Tiempo (h)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700nm
0	1.194	0.016	0.205	0.012
	0.000	0.001	0.000	0.001
4	1.155	0.015	0.198	0.011
	0.001	0.001	0.001	0.001
8	1.129	0.015	0.192	0.011
	0.003	0.002	0.002	0.000
12	1.108	0.016	0.206	0.012
	0.002	0.001	0.002	0.001
16	1.060	0.007	0.209	0.005
	0.000	0.001	0.001	0.001
20	1.039	0.012	0.207	0.015
	0.001	0.001	0.001	0.003
24	0.996	0.009	0.206	0.013
	0.001	0.001	0.001	0.002
28	0.968	0.010	0.206	0.008
	0.001	0.001	0.001	0.001
32	0.937	0.017	0.210	0.017
	0.002	0.001	0.002	0.001
36	0.902	0.004	0.198	0.006
	0.002	0.002	0.002	0.002
40	0.882	0.008	0.177	0.016
	0.001	0.003	0.002	0.002

Anexo 4. Resultados del análisis estadístico.

Tabla 24. Análisis de Varianza para constante de velocidad con un nivel de 95% de confianza del EPJA.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.00075	3	0.00025	33275.96	0.00000
Intra grupos	6.0E-08	8	7.5E-09		
Total (Corr.)	0.00075	11			

Tabla 25. Análisis de Varianza para constante de velocidad con un nivel de 95% de confianza del ECMM.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.00011	3	3.8109E-05	7621.78	0
Intra grupos	0.00000	8	5.0000E-09		
Total (Corr.)	0.00011	11			

Tabla 26. Tabla de Medias para Constante de velocidad por Temperatura con intervalos de confianza del 95.0% del EPJA.

Error Est.					
TEMPERATURA	Casos	Media	(s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
30	3	0.00240	0.00005	0.00232	0.00248
40	3	0.00743	0.00005	0.00735	0.00751
50	3	0.01137	0.00005	0.01129	0.01145
60	3	0.02377	0.00005	0.02369	0.02385
Total	12	0.01124			

Tabla 27. Tabla de Medias para Constante de velocidad por Temperatura con intervalos de confianza del 95.0% del ECMM.

Error Est.					
TEMPERATURA	Casos	Media	(s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
30	3	0.00160	4.0825E-05	0.00153	0.00167
40	3	0.00243	4.0825E-05	0.00237	0.00250
50	3	0.00417	4.0825E-05	0.00410	0.00423
60	3	0.00953	4.0825E-05	0.00947	0.00960
Total	12	0.00443			

Tabla 28. Pruebas de Múltiple Rangos para constante de velocidad por Temperatura del EPJA. Método: 95.0 porcentaje LSD

TEMPERATURA	Casos	Media	Grupos Homogéneos
30	3	0.00240	X
40	3	0.00743	X
50	3	0.01137	X
60	3	0.02377	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
30 - 40	*	-0.00503	0.00016
30 - 50	*	-0.00897	0.00016
30 - 60	*	-0.02137	0.00016
40 - 50	*	-0.00393	0.00016
40 - 60	*	-0.01633	0.00016
50 - 60	*	-0.01240	0.00016

* indica una diferencia significativa.

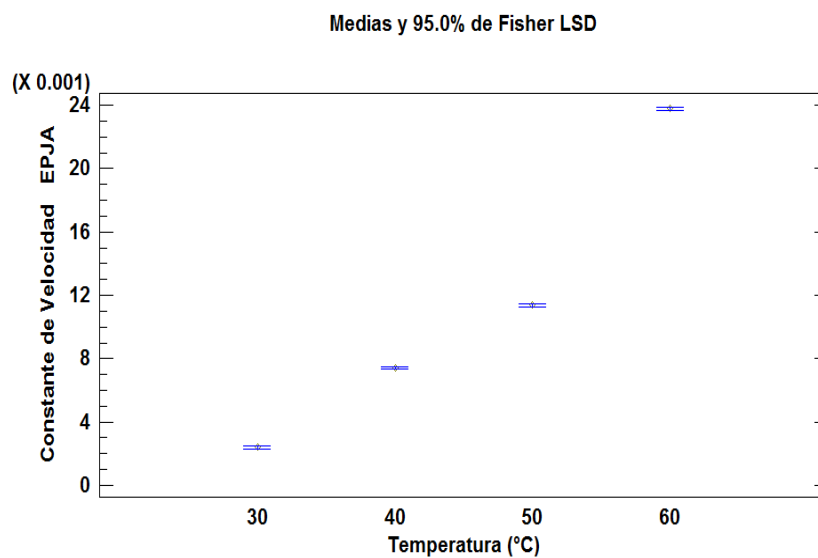


Figura 20. Gráfico de Medias del EPJA

Tabla 29. Pruebas de Múltiple Rangos para constante de velocidad por Temperatura del ECMM. Método: 95.0 porcentaje LSD.

TEMPERATURA	Casos	Media	Grupos Homogéneos
30	3	0.00160	X
40	3	0.00243	X
50	3	0.00417	X
60	3	0.00953	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
30 - 40	*	-0.00083	0.00013
30 - 50	*	-0.00257	0.00013
30 - 60	*	-0.00793	0.00013
40 - 50	*	-0.00173	0.00013
40 - 60	*	-0.00710	0.00013
50 - 60	*	-0.00537	0.00013

* indica una diferencia significativa.

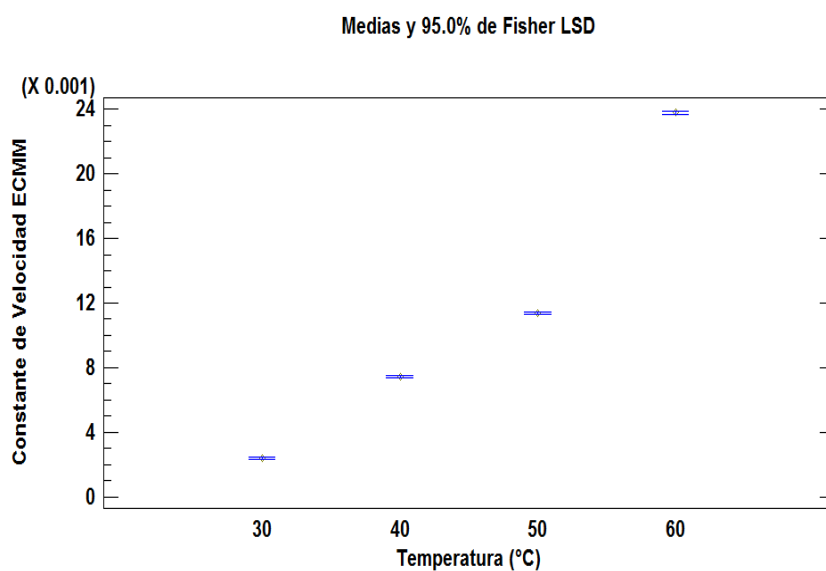


Figura 21. Gráfico de Medias del ECMM

Anexo 5. Imágenes



Figura 22. Lectura de absorbancia en el



Figura 23. Dilución de muestras



Figura 24. Medición del pH para la solución de los



Figura 25. Maíz morado desgranado



Figura 26. Preparación del extracto



Figura 27. Extracto concentrado



Figura 28. Determinación de antocianinas



Figura 29. Solución pH 4.5



Figura 30. Muestras listas para ser medidas.



Figura 31. Molienda de la coronta maíz morado

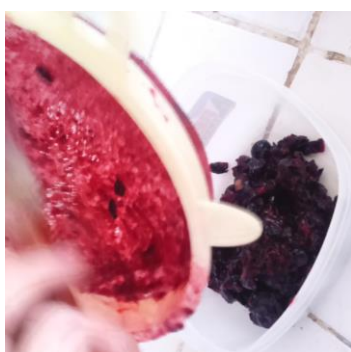


Figura 32. Obtención del desecho de arándano



Figura 33. Desecho de arándano