

**UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE
APURÍMAC**

Facultad de Ingeniería

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA
AGROINDUSTRIAL**



**“EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS DEL FRUTO DE LA
SIRACA (*Rubus robustus* - P) POR LIXIVIACIÓN Y SECADAS
POR ATOMIZACIÓN”**

TESIS

**Tesis para optar el título profesional de
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**Presentado por:
FREDY FARFÁN DÁVALOS**

**Abancay, julio del 2011
PERU**



UNIVERSIDAD NACIONAL MICHAELA BASTIDAS DE APURIMAC	
CÓDIGO	MFN
T IAS F 2011	BIBLIOTECA CENTRAL 28 MAR 2012
FECHA DE INGRESO:	
Nº DE INGRESO:	00237



UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS
DE APURÍMAC

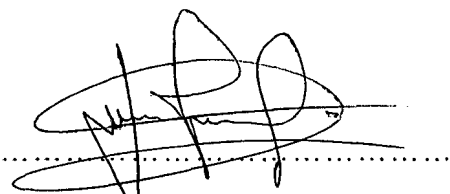
FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA
AGROINDUSTRIAL

El jurado calificador da constancia que el presente trabajo de tesis presentado por
Br. Fredy Farfán Dávalos.

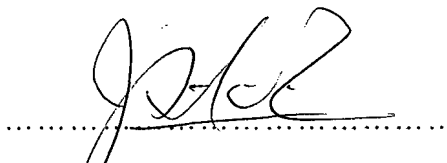
**“EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS DEL FRUTO DE LA
SIRACA (*Rubus robustus* - P) POR LIXIVIACIÓN Y SECADAS
POR ATOMIZACIÓN”**

Fue sustentado y aprobado en la Fecha 29 de Abril del 2011.



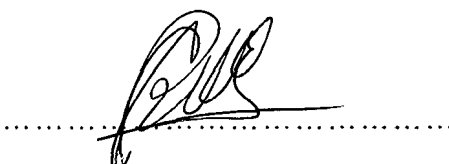
Ing. Didi Juan Flores Cruz

Presidente



Ing. Juan Silver Barreto Carbajal

1º Miembro del Jurado



Ing. José Gabriel Barazorda Carrillo

2º Miembro del Jurado

**“EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS DEL FRUTO DE LA
SIRACA (*Rubus robustus* - P) POR LIXIVIACIÓN Y SECADAS
POR ATOMIZACIÓN”**



DEDICATORIA

A mis padres Alipio y Jesús, por su respaldo permanente e incondicional, a mis hermanos, Lucho, Rocio y Karla, a todos ellos ejemplo de esfuerzo y sacrificio, como testimonio de mi eterna gratitud y por su apoyo invalorable en las decisiones importantes de mi vida personal y profesional.

Fredy Farfán Dávalos



AGRADECIMIENTO

A Dios por ser mi refugio y fortaleza para encaminar mi vida. A la Gran Unidad Escolar Emblemática Glorioso y Centenario, Colegio "Miguel Grau" de Abancay, por brindarme esas enseñanzas que fortalecieron mis conocimientos, modelaron mi personalidad.

Mi eterna gratitud a mi alma mater la "Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac", en cuyas aulas guardo mis mas gratos recuerdos y fue testigo de mi formación profesional.

A los docentes de la escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial, quienes con sus enseñanzas y consejos fueron la base fundamental en el desarrollo de mi vida profesional.

A mi asesor el M. Sc. Ing. Víctor Hugo Sarmiento Casavilca, quien compartió sus conocimientos y por su colaboración acertada y desinteresada como participe del presente proyecto de investigación para optar el título profesional.

A mi familia, amigos y personas que desinteresadamente me apoyaron para culminar con éxito este trabajo de investigación, a todos ellos mi agradecimiento, sincero profundo y eterno.



INDICE DE CONTENIDO

INDICE DE CUADROS

INDICE DE FIGURAS

INDICE DE GRAFICOS

RESUMEN

I INTRODUCCIÓN

1

II REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

4

2.1 La siraca

4

2.1.1 Clasificación botánica

5

2.1.2 Morfología de la planta

5

2.1.3 Ecología

6

2.1.4 Composición Nutricional

7

2.1.5 Usos y propiedades

8

2.1.6 Generalidades de cultivo

8

2.1.6.1 Suelo

8

2.1.6.2 Clima

9

2.2 Colorantes

9

2.2.1 Clasificación

9

2.2.2 Legislación

10

2.2.3 Colorantes Naturales

11

2.2.4 Colorantes Artificiales

15

2.2.5 Las Antocianinas

18

2.2.5.1 Distribución y concentración

18

2.2.5.2 Estructura y biosíntesis de las antocianinas.

21

2.2.5.3 Factores que afectan la estabilidad.

25

a. pH y transformación estructural

25

b. Temperatura.

26

c. Oxígeno y ácido ascórbico.

27

d. Luz.

28

e. Azúcares y productos de degradación.

28

f. Actividad de agua (a_w).

29

g. Enzimas.

29

h. Metales.

30

i. Copigmentación.

30



2.2.5.4 Métodos de extracción, purificación, identificación y cuantificación de antocianinas.	31
a. Extracción.	31
a.1 Lixiviación	32
a.1.1 Procesos de lixiviación para sustancias biológicas	33
b. Purificación	33
c. Identificación.	34
c.1 Cromatografía de papel	34
c.2 Métodos espectrales	34
d. Cuantificación por espectrofotometría	35
d.1 La ley de Bourguer-Lambert y Beer	37
d.2 Método del pH diferencial para antocianinas totales	39
2.2.5.5 Importancia y propiedades.	42
a. Propiedades anticancerígenos.	42
b. Actividad antioxidante.	42
c. Prevención de otras enfermedades.	42
d. Propiedades farmacológicas.	43
2.3 Atomización	44
2.3.1 Modos de contacto de la atomización con el gas de secado	45
• Co-corriente.	45
• Contracorriente.	45
• Flujo de mezclado	46
2.3.2 Ventajas y desventajas del secado por atomización	46
2.3.2.1 Ventajas.	46
2.3.2.2 Desventajas.	47
2.3.3 Aplicaciones del secado por atomización.	48
2.3.3.1 Químicos.	48
2.3.3.2 Cerámicas.	48
2.3.3.3 Alimentos.	49
2.3.3.4 Farmacéuticos.	49
2.3.3.5 Químicos para la agricultura	50
Fungicidas:	50
Herbicidas:	50
Insecticidas	50



2.4 Microencapsulación mediante el secado por aspersión.	51
III MATERIALES Y METODOS	53
3.1 Lugar de Ejecución	53
3.2 Materia prima	53
3.3 Materiales, equipos y reactivos	53
3.3.1 Materiales y equipos	53
A. Materiales	53
B. Equipos	55
3.3.2 Insumos y reactivos	56
A. Insumos	56
B. Reactivos	56
3.4 Metodología de análisis:	57
3.4.1 Determinación Rendimiento e índice de madurez de la siraca.	57
3.4.1.1 Determinación de rendimiento:	57
3.4.1.2 Determinación del índice de madurez	57
❖ Sólidos Solubles	57
❖ Acidez Total	57
➤ índice de madurez	57
3.4.2 Análisis fisicoquímicos de la siraca.	58
3.4.3 Proceso de obtención de antocianinas por lixiviación y secadas por atomización a partir del fruto de la siraca.	58
3.4.3.1 Diseño Experimental para la estandarización	58
3.4.3.2 Proceso de obtención de antocianinas por lixiviación y secadas por atomización.	59
3.4.3.3 Diagrama descriptivo del proceso de obtención de antocianinas por lixiviación y secadas por atomización.	63
3.4.4 Análisis de control de calidad del colorante en polvo.	64
3.4.4.1 Análisis de control de calidad realizado al producto final.	64
3.4.4.2 Determinación de la antocianina en polvo con mayor intensidad de color.	64
3.4.4.2.1 Análisis Sensorial	64
IV RESULTADOS Y DISCUSIONES	
4.1 Determinación Rendimiento e índice de madurez de la siraca.	65



4.1.1 Determinación de rendimiento:	65
4.1.2 Determinación de índice de madurez	66
4.1.2.1 Frutos de la siraca en sus estados de madurez	67
4.1.3 Cuantificación de antocianinas por el método del pH diferencial para el fruto de la siraca en estado maduro (color negro brillante).	69
4.1.4 Contenido de antocianinas en diferentes especies de bayas (mg/100 g de peso fresco)	70
4.2 Análisis fisicoquímico del fruto de la siraca.	71
4.2.1 Longitudes del fruto de la siraca	72
4.2.2 Comparaciones fisicoquímicas de la siraca con otras frutas	73
4.2.3 Composición nutricional de la siraca con respecto a otros frutos de la misma familia.	73
4.3 Proceso de obtención de antocianinas por lixiviación.	74
4.3.1 Absorbancias de las Antocianinas por Espectrofotometría Uv Visible	74
4.3.2 Resumen de las lecturas espectrofotométricas de la extracción de antocianinas por lixiviación.	81
4.3.2.1 Análisis estadístico para la etapa de lixiviación.	82
4.3.3 Proceso de concentración de las antocianinas	84
4.4 Análisis de control de la calidad de las antocianinas obtenidas por atomización.	85
4.4.1 Evaluaciones realizadas al producto final	85
54.4.2 Análisis químico proximal de antocianinas en polvo.	85
4.4.3 Rendimiento de las antocianinas en polvo.	86
4.4.4 Cuantificación de antocianinas en polvo.	87
4.4.4.1 Análisis estadístico para la etapa de atomización	89
4.4.5 Comparación del contenido de antocianinas	91
4.4.6 Parámetros adecuados de extracción de antocianinas por lixiviación.	91
4.4.7 Análisis sensorial de las antocianinas en polvo	92
4.4.7.1 Análisis de resultados	92
V CONCLUSIONES	97
VI RECOMENDACIONES	98
BIBLIOGRAFIA	
ANEXOS	



INDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1 Clasificación de los colorantes según su procedencia.	11
Cuadro 2.2 Colorantes Naturales permitidos en la C.E.	13
Cuadro 2.3 Clasificación de los colorantes Naturales según su naturaleza química.	14
Cuadro 2.4 Colorantes Sintéticos permitidos en la C.E.	17
Cuadro 2.5 Distribución de las antocianinas en el mundo vegetal	20
Cuadro 2.6 Estructura y substituyentes de las antocianinas.	23
Cuadro 2.7 Efecto de la actividad de agua sobre la estabilidad de las antocianinas durante el calentamiento medido por absorbancia.	29
Cuadro 3.1 Ejecuciones experimentales	59
Cuadro 4.1 Determinación de índice de madurez	66
Cuadro 4.2 Cuantificación de antocianinas del fruto maduro	69
Cuadro 4.3 Contenido de antocianinas en diferentes bayas	70
Cuadro 4.4 Análisis fisicoquímicos del fruto de la siraca	71
Cuadro 4.5 Comparaciones fisicoquímicas de la siraca con otras frutas	73
Cuadro 4.6 Composición nutricional de la siraca con respecto a otros frutos de la misma familia.	74
Cuadro 4.7 Reporte de datos promedio a pH 3.0, 3.5 y pH 4.5, a una temperatura de 15°C.	75
Cuadro 4.8 Reporte de datos promedio a pH 3.0, 3.5 y pH 4.5, a una temperatura de 30°C.	77
Cuadro 4.9 Reporte de datos promedio a pH 3.0, 3.5 y pH 4.5, a una temperatura de 40°C.	79



Cuadro 4.10 Reporte de datos de la cantidad de Antocianinas.	81
Cuadro 4.11 Análisis de varianza para datos de cantidad de Antocianinas	82
Cuadro 4.12 Pruebas de los efectos inter-sujetos	82
Cuadro 4.13 ANOVA de un factor	83
Cuadro 4.14 Subconjuntos homogéneos	83
Cuadro 4.15 Características fisicoquímicas de las antocianinas en polvo.	85
Cuadro 4.15 Cuantificación de antocianinas de la solución concentrada	84
Cuadro 4.16 Características fisicoquímicas de las antocianinas en polvo	85
Cuadro 4.17 Composición química porcentual de las antocianinas en polvo	85
Cuadro 4.18 Cuantificación de antocianinas en polvo.	88
Cuadro 4.19 Análisis de varianza para datos de cantidad de Antocianinas	89
Cuadro 4.20 Pruebas de los efectos inter-sujetos	89
Cuadro 4.21 ANOVA de un factor	90
Cuadro 4.22 Subconjuntos homogéneos	90
Cuadro 4.23 Comparación del contenido de antocianinas	91
Cuadro 4.24 Parámetros adecuados de extracción de antocianinas	91
Cuadro 4.25 Resultados de análisis sensorial por ordenación (ranking test)	93
Cuadro 4.26 Análisis de varianza para datos de color	94
Cuadro 4.27 Regresión de superficie de respuesta: Color vs. T°(°C), Encapsul(%)	94
Cuadro 4.28 Factores adecuados de atomización de antocianinas	96



INDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Fruto de la siraca (<i>Rubus robustus</i> – P)	4
Figura 2.2 Estructura general de una antocianina	21
Figura 2.3 Estructura de las antocianidinas más comunes.	22
Figura 2.4 Ruta general de biosíntesis de las antocianinas.	24
Figura 2.5 Relaciones de transmitancia	37
Figura 2.6 La estructura del catión flavilio A, y la estructura del forma quinoidal en B y sus sustituyentes en R=H en sustituyentes glicosidicos	40
Figura 2.7 Espectros de antocianina en uv visible en baffle de pH 1.0 y pH 4.5	41
Figura 3.1 Diagrama de flujo de operaciones para obtener antocianinas a partir de la siraca por lixiviación y secadas por atomización.	63
Figura 4.1 Frutos de la siraca en sus estados de madurez	68
Figura 4.2 Longitudes (cm), del fruto de la siraca	72

INDICE DE GRAFICOS

Grafico 4.1 Absorbancia de Antocianinas a 15°C.	76
Grafico 4.2 Absorbancia de Antocianinas a 30°C.	78
Grafico 4.3 Absorbancia de Antocianinas a 40°C.	80
Grafico 4.4 Contorno de color vs Encapsulante, Temperatura	95
Grafica 4.5 Superficie de color vs Encapsulante, Temperatura	95



GLOSARIO DE TERMINOS

Compuestos Fenólicos:

Los compuestos fenólicos están relacionados con la calidad sensorial de los alimentos de origen vegetal, tanto frescos como procesados. Su contribución en la pigmentación de los alimentos vegetales esta claramente reconocida, a través de las antocianinas responsables de los colores rojo, azul, violeta, naranja y púrpura de la mayoría de las plantas y de sus productos.

Encapsulación:

Llamada también microencapsulación, consiste en el recubrimiento de sustancias volátiles o inestables con una capa delgada de algún polímetro impermeable pero soluble. La mezcla de estas sustancias es secada por aspersión por lo que se forman pequeñas partículas en cuyo interior queda atrapado el material deseado.

Extracción:

Procedimiento por el cual se obtienen los principios químicos de una planta, al colocarla en contacto con un solvente apropiado.

Extracto seco:

Producto de la extracción de los principios químicos de una planta, libres de solvente

Flavonoides:

Los flavonoides están ampliamente distribuidos en el reino vegetal localizándose en la sabia vacuolar de las células como órganos aéreos, hojas, flore y raíces. Forman múltiples compuestos de bajo peso molecular en su mayor parte en forma de glucósidos como flavonoles, flavonas, flavanonas, antocianinas, isoflavonas, taninos condensados y no hidrolizados entre otras.

Grados Brix:

Es una forma de representar la densidad y concentraciones de solución de sacarosa. El grado brix representa el porcentaje en peso del azúcar en una disolución de agua y azúcar (jarabe), a 20°C. Cada grado brix corresponde a 1g de sacarosa en 100g, de jarabe. Los



brix representan el porcentaje de sólidos solubles, se miden mediante el refractómetro o mediante el pesajarabes o areómetro en grados brix.

Índice de refracción:

Es la medida de la refracción de la luz a través de una solución: Se utiliza para comprobar la pureza de productos, así como para medir la concentración de sólidos solubles en una solución. El índice de refracción es la relación entre el seno del ángulo de incidencia y el seno del ángulo de refracción de la luz monocromática al pasar en forma oblicua del aire a un medio ópticamente más denso.

Lixiviación:

Más conocido como extracción sólido – líquido, es una operación unitaria que consiste en disolver el material soluble contenido en una mezcla de dicho material soluble con un sólido insoluble, mediante el empleo de un disolvente líquido adecuado.

Maceración:

Operación que consiste en sumergir un sólido vegetal en un líquido para extraer de él sus partes solubles.

Secado por Atomización:

El secado por atomización o por rociada es la transformación de un producto en estado fluido a forma seca, por medio de la formación de gotitas del líquido en un medio de secado caliente. Se basa pues, en la evaporación rápida del disolvente por pulverización del producto a secar en el seno de una corriente de gas caliente.

RESUMEN

La siraca (*Rubus robustus* – P), es un arbusto cuyos frutos son apreciados por su color atractivo, aroma, sabor y la textura suave y crujiente que presenta, por sus propiedades antioxidantes, y por ser una fuente importante de pigmentos naturales, entre los principales compuestos se encuentran las antocianinas.

En este proyecto de investigación se determinaron las características fisicoquímicas del fruto de la siraca; Largo 1.4 cm, Ancho 1.1 cm, Brix 10.5, pH 2.92, acidez 3.21g ácido cítrico/100g de muestra, e índice de madurez 3.27, así mismo se realizó el análisis químico proximal del fruto de la siraca en estado maduro (color negro), dio como resultado, Humedad 87.52%, proteínas 0.64%, grasa 0.58%, Cenizas 0.49%, fibra 2.61% y carbohidratos de 9.41%.

La presente investigación pretende valorar la extracción y utilización de las antocianinas como aditivo alimentario, a partir de frutas nativas de la región de Apurímac, por lo que estuvo enmarcada en el objetivo de obtener dicho colorante y evaluar la influencia de la temperatura (15°C, 30°C y 40°C) y el pH (3.0, 3.5 y 4.5), sobre la cantidad de antocianinas en la etapa de extracción por lixiviación, el sistema de extracción que se utilizó fue agua/etanol (30:70), resultando la más óptima a una temperatura de 40°C y a un pH de 3.0. Además se evaluó la influencia de la temperatura (180°C y 190°C), y la concentración de encapsulante (3% y 5%), sobre la cantidad de antocianinas en la etapa del secado por atomización, resultando la más óptima a una temperatura de 180°C y a 3% de encapsulante (maltodextrina DE10), otorgando un rendimiento de 11.24% como producto final en polvo.



La concentración de antocianinas que presentaron los frutos de la siraca, como son en la etapa de lixiviación, maduro, la solución concentrada, así como el colorante en polvo fueron expresados en cianidina-3-glucósido/100 ml de muestra, llegando a concluir que el que tuvo mayor concentración de antocianinas fue el fruto maduro con 76.871 mg/ml de muestra, la solución concentrada con 70.358 mg/ml de muestra, las antocianinas en polvo con 67.964 mg/ml de muestra y 16.21 mg/ml de muestra la muestra producto de la lixiviación.



ABSTRACT

The Siraca (*Rubus robustus* - P) is a shrub whose fruits are prized for their attractive color, aroma, flavor and soft texture and crisp, featuring, for its antioxidant properties, and for being an important source of natural pigments, including main components are anthocyanins.

This research project determined the physicochemical characteristics of the fruit of sirac; length 1.4 cm, width 1.1 cm, Brix 10.5, pH 2.92, acidity 3.21g cítrico/100g acid sample, and maturity index 3.27, and the same was done proximal chemical analysis of the fruit of sirac in a mature state (black), resulted, Moisture 87.52%, 0.64% protein, fat 0.58%, 0.49% ash, fiber and carbohydrates 2.61% 9.41%. This research aims to evaluate the extraction and use of anthocyanins as a food additive from fruits native to the region of Apurímac, for which she was framed in order to obtain the dye and evaluate the influence of temperature (15 ° C, 30 ° C and 40 ° C) and pH (3.0, 3.5 and 4.5), the amount of anthocyanins in the extraction stage leaching, the extraction system used was water / ethanol (30:70), resulting in the most optimal to 40 ° C and pH 3.0. We also evaluated the influence of temperature (180 ° C and 190 ° C), and the concentration of encapsulant (3% and 5%), the amount of anthocyanins in the stage spray drying, resulting in the most optimal at a temperature of 180 ° C and 3% of encapsulant (maltodextrin DE10), giving a yield of 11.24% as the final product powder.

The anthocyanins present the fruits of Sirach, as they are in the leaching stage, ripe, concentrated solution and the dye powder were expressed in cianidina-3-glucósido/100 ml sample, reaching the conclusion that which had the highest concentration of anthocyanins was the ripe fruit with 76,871 mg / ml sample, the concentrated solution with 70,358 mg / ml sample, anthocyanins powder 67,964 mg / ml sample and 16.21 mg / ml of the sample product leaching.



I. INTRODUCCIÓN

La siraca (*Rubus robustus* – P), es una planta que se encuentra en los valles interandinos donde ha encontrado condiciones adecuadas para su establecimiento, sus frutos son consumidos en forma natural por los pobladores locales.

La siraca es un fruto que tiene un periodo de vida útil muy corto, cuando alcanza el índice de madurez óptimo se descomponen con facilidad, se entiende que tiene alta concentración de colorante como son las antocianinas que podrían ser utilizados en la industria alimentaria, debido a la tendencia mundial de consumir lo natural, los consumidores sienten mas confianza en los productos que contienen ingredientes naturales, el uso de colorantes sintéticos en alimentos ha sido cuestionado ya que todo indica que su consumo indiscriminado podría tener efectos cancerígenos. Debido a esto los colorantes naturales extraídos de plantas pueden ser utilizados con fines alimenticios.

En este estudio se determinaron los parámetros óptimos para el proceso de extracción del colorante antociánico, para posteriormente determinar la funcionabilidad del colorante.

El problema principal de este estudio fue ¿Cuál es la posibilidad de extraer antocianinas del fruto de la siraca (*Rubus robustus* – P) por lixiviación y secarlas por atomización?, y los problemas específicos fueron:

¿Cuál será la cantidad de antocianinas en función del pH y temperaturas de extracción óptima durante la etapa de lixiviación?

¿Cuál será la cantidad de antocianinas en función de la temperatura y concentración de encapsulante apropiados para obtener antocianinas por atomización?

¿Cuál es la variación de la calidad fisicoquímica y sensorial de la antocianina extraída por lixiviación y secada por atomización en función de los parámetros antes mencionados?

Entre los arbustos nativos de nuestra región se encuentra diversas especies del genero rubus, entre ellos (*Rubus robustus* – P), comúnmente conocido como siraca, que es un

fruto silvestre que crece en las zonas rurales, posee antocianinas que se podrían utilizar como aditivo alimentario, es por ello el interés de obtener antocianinas en polvo que es un producto poco difundido así como también limitado y que no es comúnmente obtenido en la industria alimentaria. Los frutos de la siraca por su color característico, pueden aportar antocianinas, este fruto por su potencial como colorante tiene una opción para la apertura de nuevos mercados. Se cuenta con materia prima disponible para dar valor agregado, por lo tanto se propone este estudio alternativo dada la gran perecibilidad de este recurso, se hace necesario obtener nuevos productos e incrementar el tiempo de vida útil del mismo. En consecuencia, el presente proyecto de investigación brindara a los procesadores, conocimientos tecnológicos sobre parámetros óptimos de extracción de antocianinas secadas por atomización. Con este trabajo se abre nuevos horizontes al uso del fruto de la siraca como fuente de antocianinas de enorme importancia en la industria alimentaria.

El objetivo general del presente estudio fue extraer antocianinas del fruto de la siraca (*Rubus robustus* – P), por lixiviación y secarlas por atomización, con la finalidad de su uso en la industria alimentaria como aditivo, los objetivos específicos fueron:

Determinar la cantidad de antocianinas en función del pH y temperaturas de extracción óptima durante la etapa de lixiviación.

Determinar la cantidad de antocianinas en función de la temperatura y concentración de encapsulante adecuados en la etapa del secado por atomización.

Determinar la variación de la calidad fisicoquímica y sensorial de la antocianina extraída por lixiviación y secada por atomización en función de los parámetros antes mencionados

Dentro de los antecedentes podemos citar a Rivas (2007) en su trabajo de investigación, obtención de colorantes en polvo a partir de la especie *Dioscorea trifida* (sachapapa morada) por atomización, determino que el rango de temperaturas para el proceso de atomizado está comprendida entre los límites de 165°C a 210°C y no influyen en la

estabilidad de esta. Cerón (2008) en su trabajo de investigación, Extracción, caracterización y estabilidad de antocianinas y otros compuestos antioxidantes obtenidos a partir de zarzamora, el sistema que utilizó como disolvente etanol/agua 70:30, fue el sistema que presentó mayores contenidos de antocianinas, observo que el efecto de la temperatura sobre la cantidad de antocianinas, fenoles, capacidad antioxidante y color, el cual trabajó con tres niveles de temperatura 25°C, 30°C y 35°C, dando mejores resultados de extracción a 35°C.

Fuentes (2005), en su trabajo de investigación, Extracción, cuantificación y estabilidad de colorantes naturales presentes en los frutos de *Prunus capuli* cav. (cereza), *Rubus urticaefolius* poir (mora) y *Sambucus canadensis* l. (saúco) como alternativas naturales de consumo de los colorantes artificiales rojo N° 40, rojo N° 3 y rojo N° 2, en bebidas en el rango de pH: 3, 4 y 5, determinó que únicamente los pigmentos presentes en los frutos de Cereza pH 4 y 5, Mora pH 5 y Saúco pH 5, presentan las características para ser utilizados como alternativas naturales del colorante artificial Rojo No.2 en bebidas comprendidas en el rango de pH 4 y 5, recomendando realizar otros estudios para determinar si los citados colorantes naturales satisfacen todas las exigencias que se demandan para hacer dicha sustitución. La hipótesis general de este estudio fue es posible extraer antocianinas a partir del fruto de la siraca (*Rubus robustus* – P) por lixiviación y secadas por atomización, y las hipótesis específicas fueron: Existen diferencias significativas en el rendimiento de las antocianinas obtenidas con pH de 3.0, 3.5 y 4.5 y temperaturas de 15°C, 30°C y 40°C, durante la etapa de lixiviación. Existen diferencias significativas entre las antocianinas obtenidas con temperaturas de 180°C y 190°C y concentración de encapsulante de 3% y 5% secadas por atomización. Existe diferencia significativa de la calidad física, sensorial, químico – proximal de la antocianina obtenida por atomización en función de los parámetros antes mencionados.

II REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

2.1 La siraca (*Rubus robustus* – P)

Es una planta vivaz y muy invasiva, con largos tallos flexibles llenos de espinas. Habita en forma silvestre en los valles de climas cálidos a fríos, formando parte de comunidades edáficas de ríos y arroyos.

Sus frutos son de color negro y son utilizados para la elaboración de dulces, bebidas y otros productos de interés para la industria alimentaria.

La planta presenta al mismo tiempo la floración y los diversos grados de maduración del fruto, hecho inusual en otras plantas (Brack, 1999).



Figura 2.1 Fruto de la siraca (*Rubus robustus* – P)

La siraca, la frambuesa y zarzamora conjuntamente con el arandano y la fresa, pertenecen al grupo de los llamados berries. Los berries comprenden especies de cuatro géneros y constituyen la mayor parte de los comúnmente llamados frutales menores. Estos géneros son: *Fragaria*, *Rubus*, *Ribes* y *Vaccinium* (Zueng, et al., 1993).

El género rubus pertenece a la familia de las rosáceas y sus especies son las llamadas Brambles o cane fruits en ingles y siraca, zarza o zarzamora en español (Juarez y Muñoz, 1995).

2.1.1 Clasificación botánica

Según el sistema de clasificación taxonómica de la siraca según Engler y Prantl, modificado por Melchior en 1904, y es como sigue:

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Rosales
Familia	: Rosaceae
Subfamilia	: Rosoideae
Tribu	: Rubeae
Género	: Rubus
Subgénero	: Rubus
Especie	: Robustus
Nombre Científico	: <i>Rubus robustus</i> – P
Nombre Común	: “Siraca”

2.1.2 Morfología de la planta

La siraca, perteneciente a la familia rosaceae, es un arbusto espinoso, ramificado que posee ramas arqueadas, tomentosas, hojas alternas pecioladas y espinosas, con flores en inflorescencia terminales blancas, numerosas, cinco sépalos y cinco pétalos, estambres

numerosos, con frutos en forma de bayas agregadas de rojos a muy oscuro cuando esta maduro, con drupas monospermas y tipo de fruta agregada (Brack, 1999).

2.1.3 Ecología

El género *Rubus* esta constituido por 500 especies, agrupa a especies de plantas pertenecientes a la familia de las rosáceas, subfamilia *Rosoideae*. Las especies cultivadas por la calidad de sus frutos son tres: *R. Idaeus*, *R. Occidentalis*, *R. strigosus*. Todas estas especies han sido profusamente cruzadas entre si, dando origen a variedades con características distintivas, por lo cual se han constituido grupos con sus respectivos nombres.

Los híbridos son producto del cruzamiento entre varios *Rubus* de frutos nativo de Norteamérica y de Europa con *Rubus Ideaus*, se les agrupa bajo el nombre de blackberries en inglés, Brombeeren en Alemán y zarzamora en México (Muratalla, 1993).

El grupo de la siraca y la zarzamora se caracteriza porque sus variedades tienden a desarrollarse arrastradas con el hábito agresivo y poseen espinas. Esta fruta crece en muchas zonas llanas, montañas, claros de bosques, y sobre todo en pendientes y márgenes soleados, en terrenos húmedos y maduran en los meses de verano (Sagarpa, 2004).

Los frutos del género *Rubus* tienen distintas características cualitativas que las distinguen de otras frutas, son apreciadas por su color, aroma, sabor y textura suave y/o crujiente que presentan (Charley, 1989).

Los frutos de la siraca constituyen en un material comestible, pulposo, carnosos o jugosos que se desarrolla al rededor y se adhiere a la semilla después de que la planta ha florecido. Estas frutas maduran de forma lenta y no tienen cambios bruscos en su aspecto y composición, su contenido de almidón es mayor, la recolección se hace después de la

maduración, porque si se hace cuando estén verdes después no maduran y se ponen blandas (Green, 1971).

Los frutos del genero *Rubus*, poseen un alto contenido de agua, es por eso que tiende a ser más jugosa que carnosa, dentro del jugo celular se encuentran disueltos un gran contenido de sustancias, siendo los mas principales los azucares y los ácidos orgánicos. Los azucares constituyen uno de los componentes solubles de mayor predominancia y el segundo componente de mayor presencia lo constituyen los ácidos, dentro de estos podemos mencionar al málico y al isocitríco (Green, 1971).

Las especies del género *Rubus* se caracterizan por poseer tallos espinosos como los rosales y a menudo se les llama zarzas; aunque el nombre es más frecuentemente utilizado para la zarzamora y especies similares que tienen hábitos trepadores, y no para la frambuesa que posee tallos erectos. Sus frutos aunque similares a bayas, no lo son. Los frutos son carnosos y están formados por numerosas drupas muy pequeñas (polidrupa) unidas entre sí.

Es la planta dominante, las especies del genero rubus se encuentran en América del sur especialmente en los andes, así como también en el mediterráneo (Weber, 1989).

En el Perú se encuentra localizado entre los limites altitudinales de 1800 a 2500 m.s.n.m, tanto en el este como en el oeste de los andes, crece en forma silvestre floreciendo y fructificando entre los meses de febrero a abril.

2.1.4 Composición Nutricional

La siraca es una fruta con escaso contenido de carbohidratos, es por eso que se describe como una fruta de bajo valor calórico, es una excelente fuente de vitaminas

especialmente la vitamina C y A (Charley, 1989). Estas dos vitaminas convierten a este fruto en un buen antioxidante, además de la abundancia de antocianinas (Green, 1971).

En la alimentación humana la fruta se ha apreciado mucho desde tiempos muy remotos a causa de su atractivo aspecto, variedad y utilidad nutritiva.

2.1.5 Usos y propiedades

Se utilizan las hojas, los botones florales, los frutos y, en menor medida, la raíz. Por su alto contenido de taninos, su principal efecto es el astringente, la decocción de hojas secas se recomienda en el tratamiento de la diarrea. Con las hojas y flores se prepara una infusión utilizada para gargarismos contra la irritación de garganta, es útil en las úlceras aftosas de la mucosa bucal y como tratamiento complementario de la amigdalitis y la faringitis. Los frutos se emplean en la elaboración mermeladas y bebidas con propiedades ligeramente astringentes. Posee vitaminas, se encuentran en los frutos y son la vitamina C y el ácido fólico y pigmentos que se encuentran en los frutos, son antocianinas (Green, 1971).

2.1.6 Generalidades de cultivo

2.1.6.1 Suelo

No toleran encharcamiento ni suelos pesados, pero tampoco requieren alta fertilidad. Es ideal un suelo arenoso o limoso con pH 4,5 a 7,0. Los frutos del género *Rubus* son tolerantes a la sequía pero los rendimientos se incrementan bajo riego. En cambio las frambuesas no toleran la sequía y el exceso de calor. Las raíces de frambueso no requieren un suelo profundo ya que ocupan unos 25 cm. Es deseable un buen contenido de materia orgánica en los suelos (Fisher, 2003).

2.1.6.2 Clima

Los frutos del genero Rubus en general poseen mayor requerimiento de horas de frío. La resistencia al frío no es en general un problema, salvo en cultivares adaptados a zonas templadas. Las heladas en general no son un problema debido a que la floración es tardía (Fisher, 2003).

2.2 Colorantes

De acuerdo con la FDA, colorante es cualquier pigmento o cualquier otra sustancia obtenida por síntesis o artificio similar o extraída, aislada y derivada, con o sin intermediarios del cambio final de identidad a partir de un vegetal, animal o mineral u otra fuente, que cuando es añadida o aplicada a los alimentos, medicamentos, cosméticos, al cuerpo humano o a cualquier otra parte, por sí misma es capaz de impartir color.

Los colorantes son aditivos que se utilizan para dar color y embellecer los alimentos o sus superficies. Su objetivo es simplemente el de proporcionar un aspecto agradable a la vista, que llame la atención, que abra el apetito, estimulando así la venta.

Esta función psicológica de atracción es el único móvil para el empleo de colorantes en alimentación, por lo que no está justificado su uso, bajo ningún concepto, si no es de forma totalmente inocua (Coultate, 1998).

2.2.1 Clasificación

La clasificación de los colorantes puede hacerse de diferentes formas: la más simple es la que se hace a partir de su característica fundamental, lo que lleva a establecer una clasificación según color. Pero se puede también tener en cuenta la naturaleza química, lo que permite agruparlos en función de su solubilidad o de su reactividad; se tendrán así, por ejemplo, los colorantes azoicos, los derivados polifenólicos, las estructuras tetrapirrólicas,

etc. En fin, se puede considerar su origen y distinguir los colorantes naturales y los colorantes sintéticos o artificiales.

La calidad de un alimento se basa por lo general en el color, gusto, textura y valor nutritivo. Sin embargo uno de los factores sensoriales mas importantes es el color, debido a que un alimento, por muy nutritivo, aromático o bien texturizado que sea, sólo se comerá cuando posea su color característico (Lock, 1997).

En los diversos países industrializados, están autorizados alrededor de 125 colorantes diferentes. Sin embargo, en la CE., su número ha sido reducido a una veintena y puede modificarse regularmente, de acuerdo con los progresos de los estudios toxicológicos y clínicos.

2.2.2 Legislación

Al igual que el origen de los colorantes es muy antiguo, también lo es el uso incorrecto de sustancias colorantes perjudiciales para la salud y su denuncia pública. Ya en 1820, F. Accum publicó en Londres un libro denunciando el uso de compuestos de cobre, plomo y arsénico, que son evidentemente tóxicos, para colorear fraudulentamente los alimentos.

Dada la toxicidad de algunas de las sustancias que se utilizaban y el poder cancerígeno de otras, se ha desarrollado, en la actualidad, una legislación muy estricta que regula los colorantes autorizados para su uso en alimentos, lo que ha hecho desaparecer, por motivos de seguridad, muchos colorantes utilizados anteriormente. Esto abarca tanto a los colorantes naturales como a los artificiales, ya que no por ser natural un producto es inofensivo, no hay que asociar natural a bueno y artificial a malo. Muchos productos de la naturaleza son dañinos para el hombre, pues la extracción de colorantes de productos naturales deja algunas impurezas que han de tenerse en cuenta. Por esto existen unas normas de pureza, para los colorantes autorizados, que se utilizan en la elaboración de

diversos productos alimenticios, además de la obligación de respetar las dosis establecidas para cada colorante, como en el resto de los aditivos. Existen varios criterios de clasificación los colorantes, estos se basan en su procedencia o fuente de origen, en su certificación, o por su grupo cromóforo. De acuerdo con su procedencia, los colorantes son obtenidos de fuentes naturales (microorganismos, vegetales y/o animales) ó producidos por síntesis química (sintéticos).

Cuadro 2.1 Clasificación de los colorantes según su procedencia.

Colorantes			
Naturales			Químicos
Orgánicos		Inoricos	Orgánicos
Vegetales	Animales	Minerales	Azo Compuestos Antraquinonas Otros.
Antocianinas Betalainas Carotenoides Flavonoides Clorofilas Otros	Ac. Carminico Ac. Kermesico Otros	Azul ultravioleta Dióxido de titanio Negro carbon	

Fuente: García, 1993.

2.2.3 Colorantes Naturales

Son los colorantes presentes de forma espontánea en los alimentos y extraíbles de ellos. También se consideran naturales los colorantes obtenidos de materiales biológicos no alimentarios, insectos por ejemplo, y aquellos que pueden añadirse o bien formarse espontáneamente al calentar un alimento, como en el caso del caramelo.

Hasta mediados del siglo pasado, todos los colorantes añadidos eran de origen natural: azafrán (obtenido de la planta del azafrán), orceína (extraído de ciertos líquenes), cochinilla (obtenido de ciertos insectos de la familia Coccidae, parásito de algunos cactus), caramelo (pasta de azúcar hecho almíbar), curcuma (extraído del rizoma, llamado curcuma, procedente de La India), rojo de remolacha (extracto acuoso de la raíz de la remolacha roja), la alizarina (obtenida a partir de maderas tropicales) y el índigo (de la planta del índigo o del glasto, arbusto europeo) (Lock, 1997).

Los colorantes naturales permitidos son considerados, en general, como inofensivos puesto que, al ser su uso tan antiguo, se han ido eliminando los colorantes que causaban trastornos, permaneciendo solamente los inocuos o los que tenían bajo índice de toxicidad. Consecuentemente, las limitaciones específicas, en su utilización, son menores que las que afectan a los colorantes artificiales, mucho más modernos y, por lo tanto, sus efectos están menos experimentados. Las industrias alimentarias que utilizan los colorantes son, principalmente: la confitería, la pastelería, la industria de las bebidas, la industria lechera, la chacinería y los salazones (Lock, 1997).

Cuadro 2.2 Colorantes Naturales permitidos en la C.E.

Nº DE LA C.E	NOMBRE DEL COLORANTE	COLOR
E-100 E-101	Curcumina Rivoflavina	Amarillo Amarillo
E-120	Cochinilla, Acido Carminico	Rojo
E-140 E-141	Clorofila Complejos de clorofilas y clorofilinas	Verde Verde
E-150 E-153	Caramelo Carbón medicinal vegetal	Marrón Negro
E-160 E-160a E-160b E-160c E-160d E-160e E-160f	Carotenoides Alfa, beta y gamma caroteno Bixina, norbixina (rocou y annato) Capsantina, capsorrubina Licopeno Beta-apo-8' - carotenol Ester etílico del acido Beta-apo-8' - carotenoico	Amarillo anaranjado Amarillo anaranjado Amarillo anaranjado Amarillo anaranjado Amarillo anaranjado Amarillo anaranjado Amarillo anaranjado
E-161 E-161a E-161b E-161c E-161d E-161e E-161f E-161g	Xantofilas ⁴³ Flavoxantina Luteina Criptoxantina Rubixantina Violoixantina Rodoxantina Cantaxantina	Amarillo anaranjado Amarillo anaranjado Amarillo anaranjado Amarillo anaranjado Amarillo anaranjado Amarillo anaranjado Amarillo anaranjado Amarillo anaranjado
E-162	Rojo de remolacha, betanina y betalaina	Rojo
E-163	Antocianos	Rojo azulado o violeta

Fuente: Lock, 1997

Cuadro 2.3 Clasificación de los colorantes Naturales según su naturaleza química.

NATURALEZA QUÍMICA	EJEMPLOS	COLOR PREDOMINANTE
Tetrapirroles	Ficobilinas Clorofila	Azul-verde Verde
Carotenoides	Carotenoides	Amarillo-Anaranjado
Flavonoides	Flavonas Flavonales Charconas Auronas Antocianinas	Blanco-Crema Amarillo-Blanco Amarillo Amarillo Rojo-Azul
Xantonas	Xantonas	Amarillo
Quinonas	Naftoquinonas	Rojo-Azul-Verde
Derivados indigoides e indoles	Índigo Betalainas	Azul-Rosado Amarillo-Rojo
<i>Pirimidinas sustituidas</i>	<i>Perinas</i> Flavinas Fenoxanizinas Fenazinas	<i>Blanco-Amarillo</i> Amarillo Amarillo-Rojo Amarillo-Púrpura

Fuente: Lock, 1997

2.2.4 Colorantes Artificiales

El coloreado artificial de los alimentos es una práctica que data de la Antigüedad, pero alcanzó su apogeo con el desarrollo, en el siglo XIX, de la industria de los colorantes orgánicos de síntesis.

Como se señaló en el apartado sobre colorantes alimentarios, en el siglo XIX se descubren moléculas colorantes: la primera fue la anilina, hallada en 1826 por el químico alemán Unverdorben entre los productos de descomposición del índigo. Iba a servir como base para la creación de toda una serie de colorantes artificiales (fucsina, rosalina o magenta), y fue inicialmente explotada de forma comercial por William Perkins hacia 1856. En 1869 se coloreaba el vino en Francia con fucsina; más adelante se colorearon los macarrones y la mantequilla con dinitroceso.

A pesar de esto, a mediados del siglo pasado, prácticamente todos los colorantes añadidos eran de origen natural, pero en la actualidad, el 90% de los colorantes son sintéticos, aunque la presión de los consumidores ha llevado a muchas empresas a sustituir, cuando es tecnológicamente factible, los colorantes artificiales por otros naturales llevados por la creencia de que lo natural es más sano que lo artificial y, como se vio con anterioridad, generalmente un producto natural solamente es más caro que su correspondiente sintético, puesto que la composición química de los colorantes natural y sintético es similar.

Precisamente, la preocupación por la seguridad ha hecho, que los colorantes artificiales, hayan sido estudiados en forma exhaustiva, por lo que respecta a su efecto sobre la salud, mucho más que la mayoría de los colorantes naturales. Ello ha llevado a reducir cada vez más el número de colorantes utilizables, aunque al contrario de lo que sucede en los otros grupos de aditivos, existen grandes variaciones de un país a otro. Por ejemplo, en los Países Nórdicos, están prohibidos prácticamente todos los artificiales, mientras que en Estados Unidos, no están autorizados algunos de los que se usan en Europa, pero sí están

otros que no se utilizan en España, la cantidad total de colorantes artificiales está limitada, en general, entre 100 y 300 mg/Kg. en cualquier producto alimentario sólido, dependiendo de cual sea, y a 70 mg/l en bebidas refrescantes. Además, cada colorante tiene por sí mismo un límite que varía, según la sustancia de que se trate y del alimento en que se utilice. La tendencia actual es a limitar, más aún, tanto los productos utilizables, como las cantidades que pueden añadirse.

Dentro de los colorantes artificiales, los colorantes azoicos, forman parte de una familia de sustancias orgánicas, caracterizadas por la presencia de un grupo peculiar, que contiene nitrógeno unido a anillos aromáticos. Todos se obtienen por síntesis química, no existiendo ninguno en la naturaleza.

El número de colorantes, autorizado, de este grupo, actualmente es pequeño en comparación con los existentes, muchos de los cuales se utilizaron antiguamente y luego se prohibieron, por su efecto potencialmente perjudicial para la salud. Los colorantes azoicos, que se utilizan actualmente, tienen como característica general la de absorberse muy poco en el intestino, siendo destruidos en su mayoría por la flora bacteriana intestinal. Los fragmentos de colorante que son asimilados se eliminan por la vía urinaria y/o biliar. Esta familia comprende alrededor de 600 colorantes diferentes, fabricados por la industria, algunos de los cuales están actualmente autorizados en la alimentación. Algunos de estos colorantes: la tartracina y la eritrosina, en particular, ocasionan alergias. (Lock, 1997).

Cuadro 2.4 Colorantes Sintéticos permitidos en la C.E.

N° DE LA C.E.	NOMBRE DEL COLORANTE	COLOR
E-102 E-104	Tartracina Amarillo de quinoleina	Amarillo Amarillo
E-110	Amarillo anaranjado S	Naranja
E-122 E-123 E-124 E-127	Azorrubina Amaranto ⁽¹⁾ Rojo cochinilla A Eritrosina	Rojo Rojo Rojo Rojo
E-131 E-132	Azul patentado V Indigotina	Azul Azul
E-142	Verde acido brillante B5 ⁽²⁾	Verde
E-151	Negro brillante BN	Negro

Fuente: Lock, 1997

2.2.5 Las Antocianinas

Los colores rosa, rojo, malva, violeta de las flores, frutas y diversas hortalizas se debe a la presencia de antocianinas, las cuales se presentan en la naturaleza en forma de glucósidos, a las agliconas de los mismos se les denomina antocianidinas. Existen en la naturaleza seis antocianidinas diferentes de las que deriva una infinidad de antocianos, con diversas pautas de glicosilación. Los monosacáridos más frecuentes encontrados son la glucosa, galactosa, ramnosa y la arabinosa, también existen otros monosacáridos que son menos frecuentes como la rutinosa y la soforosa.

Las antocianinas están basadas químicamente en una única estructura aromática, aquella de la cianidina, y todas se consideran derivadas de ella por adición, sustracción de grupos hidroxilo, por metilación o glicosidación. Ellas son intensamente coloreadas y solubles en agua. Se consideran que tienen función en la planta el ser atractores de insectos y pájaros para los procesos de polinización y disseminación de las semillas (Markakis, 1982).

2.2.5.1 Distribución y concentración.

El vocablo antocianina, deriva dos palabras griegas: anthos (flor) y kianos azul oscuro; el término antocianina fue propuesto por Marquart en 1835 para describir el pigmento azul de la col lombarda (Coultate, 1984).

Las antocianinas confieren color a flores, frutos, hojas y tallos; su distribución es a nivel celular o en los tejidos finos, principalmente en vacuolas de las células epidérmicas y subepidérmicas que en el tejido interno (mesocarpio y pulpa), se localizan en organelos esféricos conocidos como antocianoplastos (Wagner, 1982). Pueden aparecer durante la ontogenia de la planta o pueden acumular como resultado del estrés. A medida que aumenta la madurez se incrementa el contenido de antocianinas (Loyola y Keymer, 1997).

La concentración de antocianinas presente en los alimentos es variable, depende del cultivar y la madurez (Fenenma, 200). La mayor fuente lo constituyen las familias Vitaceae, Rosaceae, Oleaceae, Cruciferae y Solanaceae (Lock, 1997).

El cuadro 2.5 detalla la distribución y contenido de antocianinas en el mundo vegetal.

Cuadro 2.5 Distribución de las antocianinas en el mundo vegetal.

Ubicación en la planta	Alimento	Cantidad en mg/100g bh.	Color	Distribución
Fruto	Airampu ¹	552,00	Morado	Piel y pulpa
	Arándano ¹	300,00 – 648,00	Morado	Piel
	Camote morado ²	101,00 – 137,00	Morado	Piel
	Cerezas dulces ³	350,00 – 450,00	Rojo	Piel y pulpa
	Ciruelo ^{4 y 1}	5,00 – 92,67	Rojo	Piel
	Frambuesa negra ⁵	213,00 – 428,00	Morado	Piel
	Frambuesa roja ³	77,00	Rojo	Piel
	Fresa ⁶	15,00 – 35,00	Rojo	Piel
	Frijol negro ⁷	10,00 – 213,00	Morado	Piel
	Guinda ¹	199,98	Rojo	Piel
	Granada ¹	110,06	Rojo	Pulpa
	Grosella ³	229,00	Rojo	Piel
	Higo ¹	64,98	Morado	Pulpa
	Maíz morado ⁴	232,91 – 246,21	Morado	Epidermis
	Manzana y pera roja ³	1,00 – 10,00	Rojo	Piel
	Melocotón	1,00 – 12,00	Rojo	Piel
	Mora ³	25,00 – 495,00	Morado	Piel
	Papas nativas ⁴	0,70 – 174,00	Rojo y morado	Piel y pulpa
	Rábano rojo ⁶	0,56 – 1,95	Rojo	
	Sauco ^{1 y 7}	234,07 – 542,23	Morado	Piel y pulpa
	Uva ³	30,00 – 750,00	Morado	
	Zarzamora ³	82,00 – 325,00	Rojo	Piel
Raíz	Col roja ⁸	25,00	Rojo	Piel
	Cebolla morada ³	9,00 – 21,00	Morado	Piel

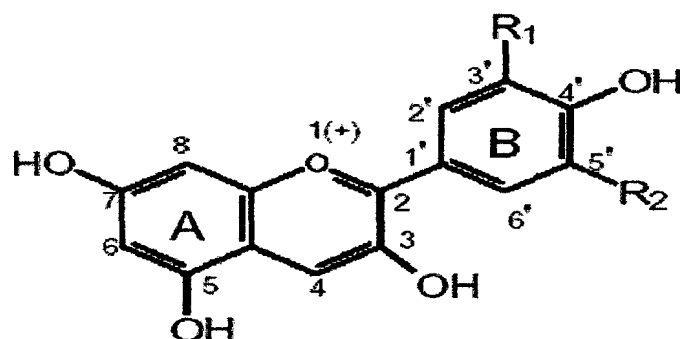
Fuente: ¹Quispe (2007), ²Ojeda et al., ³Mazza y Miniati (1993), ⁴Segura (2004), ⁵Lachman et al (2008), ⁶Giusti y Wrolstad (2003), ⁷Salina et al. (2005), ⁸Timberlake (1988).



2.2.5.2 Estructura y biosíntesis de las antocianinas.

Las antocianinas se consideran flavonoides porque tienen el esqueleto carbonado $C_6C_3C_6$ característico, con un anillo-A benziloil y un anillo-B hidroxicinamoil (badui, 2006). La estructura de la antocianina (Figura 2.2) es el 2-fenilbenzopirilo de la sal de flavilio, existen como glucósidos de polihidroxi/polimetoxi derivados de la sal (Fennema, 2000).

Figura 2.2 Estructura general de una antocianina



Fuente: Rodríguez-Saona y Wrolstad, 2001.

Las antocianinas están formadas por una molécula de antocianidina llamada también aglicona que se unen a una fracción de carbohidrato a través de un enlace B-glicosídico (Fennema, 2000).

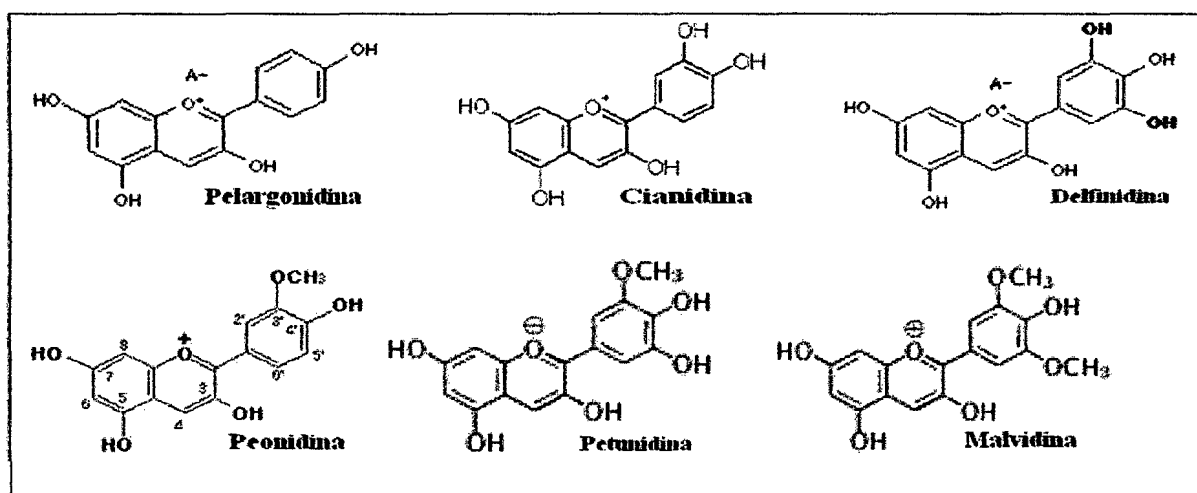
Las diferencias individuales entre las antocianinas dependen de aspectos como: el número de grupos hidroxilo, la naturaleza y número de azúcares que están unidos a la molécula, la posición de esa unión de los azúcares, a la naturaleza y número de ácidos aromáticos unidos al azúcar en la molécula.

Es común que las antocianidinas interaccione con más de una clase de carbohidrato para formar diversas antocianinas (Badui, 2006). Los azúcares más comúnmente encontrados

son glucosa, galactosa, arabinosa, xilosa, di y trisacáridos homogéneos o heterogéneos formados por combinación de estos azúcares, el azúcar presente en la molécula otorga mayor estabilidad y solubilidad (Gross, 1987).

Los ácidos que participan más comúnmente en la acilación de los azúcares son el cafeico, p-cumárico, sinápico, p-hidroxibenzoico, ferúlico, malónico, málico, succínico y acético (Fennema, 2000). En la naturaleza existen más de 250 antocianinas identificadas (lock, 2000), pero en los alimentos ordinariamente sólo existen seis: pelargononidina, cianidina, delfinidina, peonidina, petunidina y malvidina (Figura 2.3).

Figura 2.3 Estructura de las antocianidinas más comunes.



Fuente: Fennema, 2000.

Debe tenerse en cuenta que el aumento de substituyentes en la molécula da como resultado un color más profundo y esta profundidad de color es el resultado de un cambio batocrómico (mayor longitud de onda), lo que significa que la banda de absorción de la luz en el espectro visible se desplaza de violeta hacia el rojo.

Cuadro 2.6 Estructura y substituyentes de las antocianinas.

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

Fuente: Rodríguez-Saona y Wrolstad, 2001.

Las antocianidinas son menos solubles en agua que sus correspondientes glicósidos (antocianinas) y por tanto no se encuentran libres en la naturaleza (Fennema, 2000).

En la biosíntesis de antocianinas (Figura 2.4), los precursores de los mismos son bien conocidos (Timberlake, 1986), se ha establecido experimentalmente que al anillo A de las antocianinas se sintetiza por la ruta de ácido malónico, por la condensación de tres moléculas de malonil-CoA, mientras que el anillo B se sintetiza por la ruta del ácido shikímico.

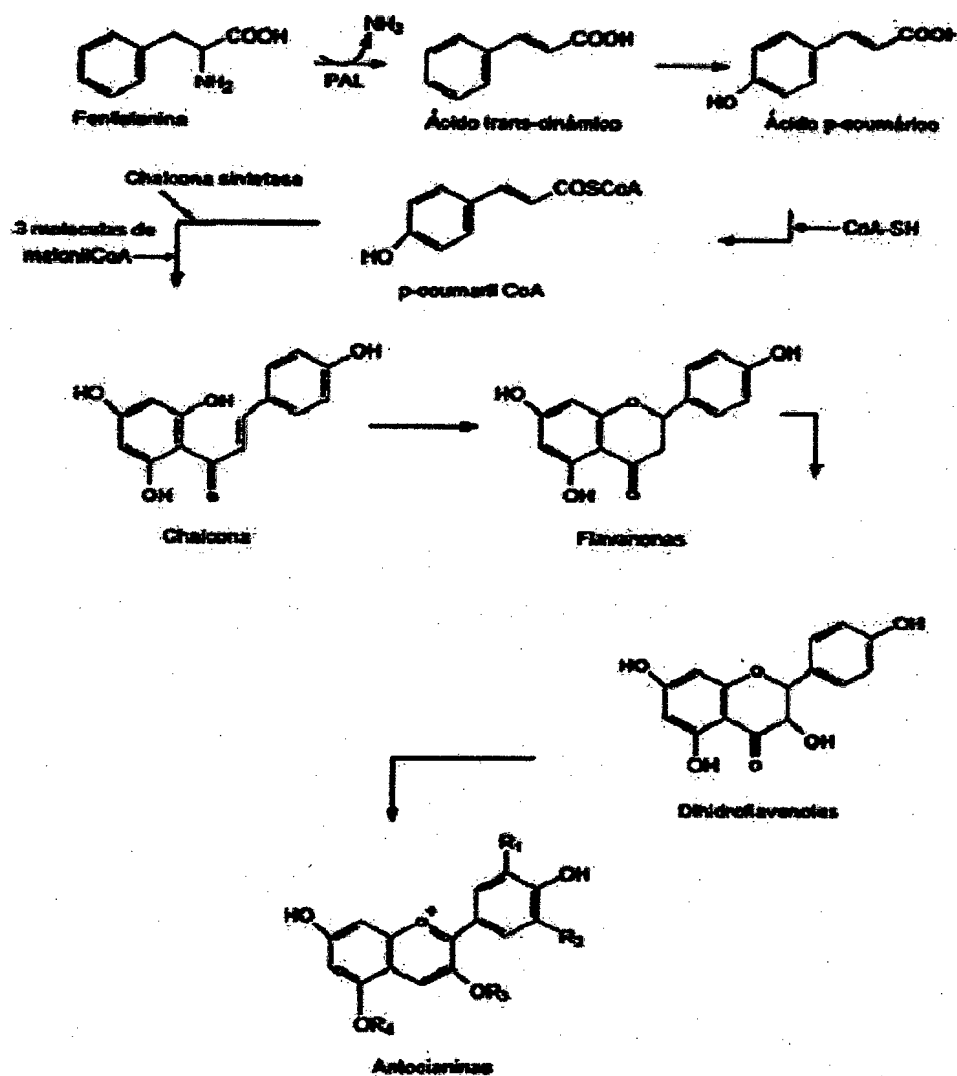


Figura 2.4 Ruta general de biosíntesis de las antocianinas.

Fuente: Delgado-Vargas, 2000.

2.2.5.3 Factores que afectan la estabilidad.

Debido a su alta reactividad natural las antocianinas son degradadas rápidamente por interacciones con otros componentes existentes en el medio, no sólo durante extracción del tejido vegetal, sino también durante el procesado y almacenamiento de los tejidos alimentarios (Fennema, 2000).

Los principales factores que gobiernan la degradación del color y estabilidad de las antocianinas son el pH, la temperatura y la luz (Fuleki y Francis, 1968). Los factores que ordinariamente tiene menos importancia son la presencia de enzimas degradativas, ácido ascórbico, dióxido de azufre, iones metálicos y azúcares. La copigmentación puede afectar la velocidad de degradación (Fennema, 2000).

a. pH y transformación estructural.

El color de las antocianinas es sensible al pH, son más estables en un medio ácido que en un medio neutro o alcalino. En medio ácido la forma predominante es la del ión flavilio, el cual da el color rojo; cuando está sometida a pH básico o alcalino, el ión flavilio es susceptible al ataque nucleofílico por parte del agua, produciéndose la pseudobase carbinol, esto es a pH 4,5 y seguido se forma la chalcona, las dos formas incoloras; debido a esta característica se utilizan a las antocianinas a pH ácido o ligeramente neutro en la industria alimenticia (Fuleki y Francis, 1968).

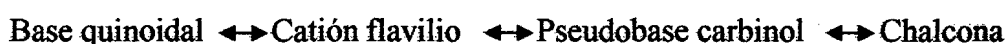
La velocidad de degradación varían ampliamente entre las antocianinas debido a sus diversas estructuras, generalmente el aumento de la hidroxilación disminuye la estabilidad, en tanto que la metilación la incrementa. En las soluciones acuosas, inclusive los alimentos, las antocianinas pueden existir en cuatro formas estructurales, dependiendo del pH: la base quinoidal azul, el catión flavilio rojo, la base pseudocarbinol incolora y la

chalcona incolora. En el intervalo de 0-6 el color se torna de roja a azul a medida que aumenta el pH, cuando se incrementa a seis la disolución se torna incolora. En general los cambios de pH son los principales causantes de los cambios de color (Fennema, 2000).

b. Temperatura.

Los pigmentos antocianínicos son notoriamente afectados por el calor durante el procesamiento y almacenamiento de los alimentos; influye en gran medida el tipo de antocianina participante y la temperatura de degradación tipo de antocianina participante y la temperatura de degradación El tipo de antocianina participante y la temperatura de degradación. Las características estructurales que conducen a un aumento de la estabilidad del pH también llevan a la estabilidad térmica (Fennema, 2000).

Se observó que el equilibrio entre las estructuras es endotérmico, en una dirección de izquierda a derecha. A altas temperaturas desplaza el equilibrio hacia la chalconas; siendo el retorno de chalconas a flavilio lento (Timberlake, 1980).



El mecanismo para la degradación de antocianinas no se ha esclarecido totalmente, se han sugerido tres rutas. El cumarín 3,5-diglicósido es el producto común de la degradación de las antocianidinas (cianidina, peonidina, delfinidina, petunidina y malvidina) 3,5-diglucósido.

En la ruta (a), el catión flavilio primero se transforma en la base quinoidal, después en diversos intermediarios y finalmente en el derivado cumarínico y un compuesto correspondiente al anillo B. En la ruta (b) el catión flavilio primero se transforma en la

base carbinol incolora, después en chalcona finalmente en productos de degradación pardos. La ruta (c) es similar, excepto en que los productos de degradación de la chalcona se intercalan primero. Estos tres mecanismos propuestos sugieren que la degradación térmica de antocianinas depende del tipo de antocianina participante y de la temperatura de degradación (Fennema, 2000).

Las antocianidinas altamente hidrolizadas son menos estables que las metiladas, glicosiladas o acetiladas, a pH 2.8 la semivida del cianidín-3- rutósido es de 65 días comparado con 12 horas para la cianidina (Fennema, 2000).

Cuando las soluciones de antocianinas se secan por aspersión a temperaturas mayores de 100°C, ocurre una degradación del color, mientras que a temperaturas por debajo de los 90°C resulta de una degradación mínima. El pigmento antociánico de la cáscara de oca disminuye a medida que se da un aumento en la temperatura y pH, a 40°C la degradación se produce en un 4.37% a velocidad acelerada, pasado los 30 minutos la degradación es más lenta, perdiéndose un total de 15,72% para un pH 2.5. En general, un incremento logarítmico en la destrucción de la antocianina ocurre con un incremento aritmético en la temperatura, por tanto, para mejorar la retención de pigmentos hay que aplicar tratamientos térmicos de alta temperatura y corto tiempo considerando también un almacenamiento a bajas temperaturas (Muñoz y Loyola, 2003).

c. Oxígeno y ácido ascórbico.

La presencia de oxígeno y ácido ascórbico contribuye en la degradación de antocianinas, la naturaleza insaturada de las estructuras de antocianidina las convierte en susceptibles al oxígeno molecular. El ácido ascórbico y las antocianinas desaparecen simultáneamente de los zumos de frutas (Fuleki y Francis, 1968).

La presencia de oxígeno acelera la destrucción de la pelargonina-3-glucósido a pH entre 2 - 4 en el jugo de fresa a 45°C. La retención de color es mejorada cuando el oxígeno es removido por calentamiento, puede ser por vacío o por flujo de nitrógeno (Kuskoski y Asuero, 2004).

Pueden efectuarse ataque en la posición tres como mecanismo de reacción de peróxido de hidrógeno, como consecuencia de esto existe en una alta tasa de destrucción de antocianinas, incluso a pH 1 donde las antocianinas son más estables.

d. Luz.

Este factor acelera la degradación de las antocianinas, el efecto adverso se ha demostrado en diversos zumos de frutas y en el vino tinto. Otras formas de energía radiante, como la radiación ionizante, pueden producir la degradación de antocianinas (Fennema, 2000).

e. Azúcares y productos de degradación.

Los azúcares a altas concentraciones, como ocurre en las conservas de frutas, estabilizan las antocianinas, este efecto se cree que es debido a la disminución de agua. A concentraciones bajas la fructosa, arabinosa, lactosa y sorbosa tienen efecto degradativo mayor sobre las antocianinas que la glucosa, sacarosa y maltosa, debido a que pueden tener poco efecto sobre el a_w (Fennema, 2000).

f. Actividad de agua (a_w).

Aunque existe limitada información de la relación entre la a_w y la estabilidad de las antocianinas, se ha observado que es mayor a valores de 0,63 a 0,79 (Fennema, 2000). El cuadro 2.7 detalla el efecto del a_w sobre la estabilidad de antocianinas.

Cuadro 2.7 Efecto de la actividad de agua sobre la estabilidad de las antocianinas durante el calentamiento medido por absorbancia.

Tiempo de mantenimiento a 43°C (min)	Absorbancia a actividades de agua de						
	1,00	0,95	0,87	0,74	0,63	0,47	0,37
0,00	0,84	0,85	0,86	0,91	0,92	0,96	1,03
60,00	0,78	0,82	0,82	0,88	0,88	0,89	0,90
90,00	0,76	0,81	0,81	0,85	0,86	0,87	0,89
160,00	0,74	0,76	0,78	0,84	0,85	0,86	0,87
Porcentaje de cambio de la absorbancia (0-160 min)	11,90	10,50	9,30	7,60	7,60	10,40	15,50
A concentración 700mg/100ml (1g de polvo desecado de pigmento comercial)							

Fuente: Fennema, 2000.

g. Enzimas.

Existe un número de enzimas, endógenas en la mayoría de los tejidos vegetales, los cuales se relacionan con la decoloración de las antocianinas. Generalmente han sido identificadas como glucosidasas o fenolasas las cuales catalizan la oxidación de compuestos fenólicos (Fennema, 2000).

h. Metales.

Los complejos de antocianinas con metales son muy comunes en el mundo vegetal y amplían el espectro del color de las flores. Según algunos estudios, la formación de complejos con metales estabiliza el color de los alimentos que contiene antocianina, se ha observado que el Ca, Fe, Al y Sn ofrecen cierta protección a las antocianinas de los zumos de arándanos americanos; sin embargo, la decoloración azul y parda producida por los complejos metal-tanino contrarresta cualquier efecto beneficioso (Fennema, 2000).

i. Copigmentación.

Se sabe que las antocianinas se condensan consigo mismas (autoasociación) y con compuestos orgánicos (copigmentación) formando complejos débiles con proteínas, taninos, otros flavonoides y polisacáridos. Estos complejos tienden a ser más estables durante el procesado y el almacenamiento; se cree que el color estable del vino resulta de la autoasociación de antocianinas (Fuleki y Francis, 1968).

Como se ha descrito, la degradación de antocianinas depende de muchos factores, existen cuatro mecanismos de estabilización de antocianinas:

- Una auto-asociación de antocianinas, ocurre a altas concentraciones y conduciendo a un marcado incremento en la absorbancia de la luz (Timberlake, 1980)
- Una copigmentación intermolecular con una asociación no covalente con otras sustancias (Ejm. Flavonol o glucósidos flavonoides).

- Una copigmentación intramolecular con grupos acilo aromáticos (llamados hidroxicinámicos) el cual es parte de la molécula de antocianina (tipo de sándwich intramolecular).
- La formación de un complejo con metal.
- El manejo de factores permiten evitar una degradación mayor de las antocianinas.

2.2.5.4 Métodos de extracción, purificación, identificación y cuantificación de antocianinas.

El énfasis en la identificación de antocianinas en las plantas y en órganos de plantas ha sido desarrollado por su rol como marcadores químicos en la taxonomía o sistemas bioquímicos. El contenido de antocianinas es también usado para determinar la madurez y señal de la madurez de las frutas. Para el especialista en alimentos las antocianinas son responsables de la calidad de los alimentos así como su adulteración. Para la sistemática identificación de antocianinas involucran tres etapas principales o importantes; la extracción, purificación y la identificación (Giusti y wrolstad, 2001).

a. Extracción.

Existen dos métodos de extracción, alcohólica y acuosa, la extracción alcohólica es usualmente realizada por maceración de unos cuantos gramos de muestra vegetal en metanol o etanol conteniendo 1% de ácido clorhídrico concentrado (Extracción sólido líquido). Debido a la naturaleza oxonio de estos compuestos se utiliza un medio ácido para la extracción; puede utilizarse además del ácido clorhídrico, ácidos orgánicos débiles como el ácido fórmico y ácido tartárico. El metanol a diferencia del etanol, presenta ventajas para la extracción, puesto que no forma mezclas azeotrópicas con agua y tiene bajo punto de ebullición. De este modo, los compuestos son fácilmente concentrados (Wong, 1995).

La extracción acuosa fue reportada por Wong, 1995, que permite extraer el colorante mediante una solución de extracción, indica que una extracción en medio acuoso es muy ineficiente porque el agua o medios mecánicos en general no son tan eficientes en penetrar en los compartimiento donde el pigmento se encuentra depositado de los tejidos, además favorece o permite la acción de enzimas degradativas que puedan estar presentes.

Además se indica que el etanol es un solvente no tóxico, más económico y su poder extracción es casi tan bueno como el metanol. El agua ayuda a la recuperación de las antocianinas más hidrofílicas. Cabe recalcar que la extracción en frío puede realizarse con disolventes no acidificados como el metano 60%, n-butanol, etilenglicol, propilenglicol, acetona, mezcla acetona-metanol-agua; en todos los casos se espera que las antocianinas sean extraídas en el estado más natural posible (Fuleky y Francis, 1968).

El método de extracción debe tener como objetivo recuperar la mayor cantidad de antocianinas y de mayor pérdida de éstas debido a cambios enzimáticos y no enzimáticos. En los últimos años la extracción de antocianinas aciladas se ha realizado con ácido clorhídrico al 1% en metanol a temperatura ambiente por 5 horas.

a.1 Lixiviación.

Esta operación unitaria (extracción líquido-sólido) es la principal dentro del proceso de extracción pues mediante este se extrae el colorante de los sólidos. Muchas sustancias biológicas, así como compuestos inorgánicos y orgánicos, se encuentran como mezclas de diferentes componentes en un sólido. Para separar el soluto deseado o eliminar un soluto indeseable de la fase sólida, ésta se pone en contacto con una fase líquida.

Ambas fases entran en contacto íntimo y el soluto o los solutos se difunden desde el sólido a la fase líquida, lo que permite una separación de los componentes originales del sólido.

Este proceso se llama lixiviación líquido-sólido o simplemente, lixiviación.

La operación unitaria se puede considerar como una extracción, aunque el término también se refiere a la extracción líquido-líquido.

Cuando la lixiviación tiene por objeto eliminar con agua un componente indeseable de un sólido, el proceso recibe el nombre de lavado (Fernarolis, 1975).

a.1.1 Procesos de lixiviación para sustancias biológicas.

En la industria de procesos biológicos y alimenticios, muchos productos se separan de su estructura natural original por medio de una lixiviación líquido-sólido. Un proceso importante es la lixiviación de azúcar de las remolachas con agua caliente. En la producción de aceites vegetales, se emplean disolventes orgánicos como hexano, acetona y éter, para extraer aceite de cacahuete, soya, semillas de lino, semillas de ricino, semillas de girasol, semillas de algodón, harina, pasta de palo e hígado de hipogloso.

En la industria farmacéutica se obtiene una gran diversidad de productos por lixiviación de raíces, hojas y tallos de plantas.

b. Purificación.

Un paso importante en la examinación detallada de las antocianinas es el aislamiento en su forma pura. Esto es necesario para separarlas de otros compuestos los cuales son extraídos de la planta al mismo tiempo como otras antocianinas, flavonoides y sustancias solubles en agua como los azúcares, ácidos y otros minerales. La separación de antocianinas puede ser realizada con solventes convencionales-solventes de partición o cromatografía.

La Cromatografía en columna se realiza utilizando resinas de intercambio catiónico como Amberlita CG-50, así como Poliamida o PVPP (Polivinil-poli-pirrolidona). El HPLC en fase reversa tiene buenos resultados utilizando columnas de u-Bondapak (C18) y disolventes.

c. Identificación.

Existen diferentes métodos de identificación de antocianinas dentro de ellos podemos mencionar los siguientes:

c.1 Cromatografía de papel. Ha sido utilizada para distinguir diferentes clases de glucósidos de acuerdo a su distribución entre los alcoholes hidroxilados. Se exploró satisfactoriamente el uso de la cromatografía de papel y la purificación de los pigmentos antocianínicos de las plantas. Desde entonces esta técnica ha sido ampliamente utilizada para la separación, purificación e identificación de antocianinas y otros flavonoides de las plantas.

c.2 Métodos espectrales. Una antocianina pura en metanol tiene dos absorciones máximas importantes, una en el espectro visible en el rango de 465 a 550 nm y una pequeña en la región ultravioleta cerca de los 275nm. La absorción máxima en el espectro visible da una clara indicación de su patrón hidroxilado de una antocianidina derivada de una antocianina. Por ejemplo, la pelargonidina tiene un máximo en 520 nm, la cianidina de 535nm y la delfinidina a 546 nm. La introducción de una molécula de azúcar en la posición 3 de la antocianidina tiene un cambio hipsocrómico en el espectro.

Las dos clases más comunes de antocianinas, la -3- y 3,5-diglucósido, tienen similar espectro de absorción máximo pero muestra diferencias de intensidad en el rango de los 400 a 460nm. De este modo, -5- y 3,5-glucosídeos tienen solo un 50% de absorción a 440nm cuando se compara con su correspondiente -3-glucósido. Los pigmentos que contienen azúcares en las posiciones 5,7 y 3,7 tienen diferentes absorciones máximas y pueden ser fácilmente distinguidos. El espectro de una antocianina acilada muestra dos picos en la región ultravioleta debido a la superposición de la absorción del grupo acilado. La presencia de un nuevo pico entre los 310 a 350 nm indica la acilación aromática (Fuleky y Francis, 1968). Los métodos espectrales no son considerados suficientes para la absoluta caracterización de la naturaleza de las antocianinas y la posición de la glicosilación. Otros análisis químicos son necesarios para establecer la estructura de la antocianina.

d. Cuantificación por espectrofotometría.

La concentración de antocianina monomérica es cuantificado por el método de pH diferencial, debido a que las antocianinas pueden estar en diferentes estructuras reversibles cambiando su concentración de pH, también pueden tener cambios en sus espectros de absorción. La forma oxonium predomina a pH 1 y el hemiacetal a pH 4,5. El método permite una rápida y precisa medición de antocianinas aún en presencia de pigmento degradado polimerizado o en presencia de cualquier otro compuesto interferente (Wong, 1995).

La espectrofotometría o también llamada espectrometría es la medición de la absorción (se refiere a tomar algo) y emisión (significa desprender algo) de luz de distintas sustancias. La espectrofotometría es una técnica bioquímica se usa para poder encontrar la concentración de determinadas sustancias. La espectrofotometría es el método de análisis

óptico más usado en las investigaciones biológicas. El espectrofotómetro es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto, y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia.

Todas las sustancias pueden absorber energía radiante, aun el vidrio que parece ser completamente transparente absorbe longitud de ondas que pertenecen al espectro visible; el agua absorbe fuertemente en la región del infrarrojo. La absorción de las radiaciones ultravioleta, visibles e infrarrojas depende de la estructura de las moléculas, y es característica para cada sustancia química.

Cuando la luz atraviesa una sustancia, parte de la energía es absorbida; la energía radiante no puede producir ningún efecto sin ser absorbida. El color de las sustancias se debe a que éstas absorben ciertas longitudes de onda de la luz blanca que incide sobre ellas y solo dejan pasar a nuestros ojos aquellas longitudes de onda no absorbida. La espectrofotometría usa haces de luz del espectro electromagnético y usa radiaciones del campo UV de 80 a 400 nm principalmente de 200 a 400 nm y usa haces de luz visible de 400 a 800 nm , por lo que es de gran utilidad para caracterizar las soluciones en la región ultravioleta visible del espectro.

Para la evaluación del contenido de antocianinas un método el cual es utilizado es la espectrofotometría sabemos que desde Newton, que la luz blanca se descompone en los colores que la integran si la hacemos pasar a través de un prisma. Es el efecto que se repite, por ejemplo en el arco iris, el cual se dice es el espectro de la luz visible procedente del sol, son las gotas de lluvia y el aire atmosférico lo que hacen de espectroscopio. La principal emisión de radiación de los cuerpos es la radiación electromagnética en forma de luz visible, de la misma manera cada elemento químico absorbe y emite luz de colores que componen su espectro (Pasotti, 2006).

d.1 La ley de Bourguer-Lambert y Beer

La ley de Bourguer, Lambert y Beer, a través de sus observaciones establecieron relaciones de la variación de la intensidad de luz transmitida por una muestra con el espesor de ella o con la concentración de la sustancia, para materiales translúcidos. Estas relaciones se conocen como la ley de Bourguer-Lambert-Beer o ley general de la espectrofotometría que permite hallar la concentración de una especie química a partir de la medida de la intensidad de luz absorbida por la muestra. Esta ley se puede expresar en términos de potencia de luz o de intensidad de luz, asumiendo luz monocromática, como se puede observar en la Fig. 2.5 (Pasotti, 2006).

$$I_t / I_0 = 10^{-\epsilon bc} \dots\dots\dots(1)$$

Donde:

I_t , es la intensidad de la luz transmitida por la muestra.

I_0 , es la intensidad de la luz que incide sobre la muestra y que proviene de la Ref..

ϵ , es el coeficiente de absortividad molar en unidades de $M^{-3} \cdot cm^{-1}$

b , es la longitud de la trayectoria del haz de luz a través de la muestra o el espesor de la celda en cm o lo que se conoce como paso óptico (Pasotti, 2006).

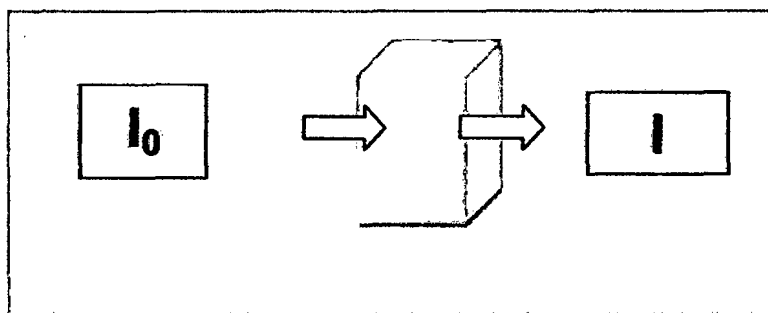


Fig. 2.5 Relaciones de transmitancia

La relación I_t / I_0 se conoce como transmitancia, T , y es la medida primaria que se realiza en los instrumentos para medir la absorción de luz por parte de una muestra. Si la relación se expresa en forma porcentual, entonces se llama porcentaje de transmitancia en la formula N° 02.

$$\% T = 100 \cdot I_t / I_0, \dots\dots\dots(2)$$

La luz absorbida sería $I_0 - I_t$, es decir, la diferencia entre la intensidad de la luz incidente y la intensidad transmitida después de pasar a través de la muestra. A veces se expresa en forma porcentual, en función de la transmitancia medida como:

$$\text{Porcentaje de absorción} = (T_{\text{blanco}} - T_{\text{muestra}}) \times 100 \text{ o absorbancia.}$$

Cuando se toma el logaritmo decimal negativo de la relación I_t / I_0 , entonces:

$$-\log I_t / I_0 = -\log T \quad \text{ó} \quad \log I_0 / I_t = \log I_0 - \log I_t \dots\dots\dots(3)$$

La relación que representa *la cantidad de luz absorbida por la muestra* es $-\log I_t / I_0 = -\log T$, y recibe el nombre de *Absorbancia*, y se designa con la letra A . La ley de Bourguer-Lambert-Beer se puede entonces escribir de las siguientes formas:

$$I_t / I_0 = 10^{-\epsilon bc} : -\log T = \epsilon \cdot b \cdot c = -\log T = A = \epsilon \cdot b \cdot c \dots\dots\dots(4)$$

Donde:

C , es la concentración del soluto en moles / litro de solución.

ϵ , es una constante denominada coeficiente de absortividad molar cuyas unidades son: $\text{cm}^{-1} \text{ litro} / \text{mol}$.

b , es la longitud de la trayectoria en cm .

Se llega, entonces, a que la absorbancia es adimensional y que el coeficiente de absorptividad molar “*e*” es función de la longitud de onda, del índice de Refracción de la solución y es característico de cada sistema soluto-solvente. Es una propiedad intensiva, que no depende de la concentración de la sustancia y representa la absorción de luz por parte de un mol de soluto para una longitud de onda dada, Si no se conoce el peso molecular de la sustancia la ley de Beer se puede expresar como: $A = a \cdot b \cdot c$ “*a*” se denomina coeficiente de absorptividad y sus unidades dependen de las unidades de concentración utilizadas, que pueden estar en g/L o g/100mL (Pasotti, 2006).

d.2 Método del pH diferencial para antocianinas totales

Este método es descrito originalmente en el año de 1957 por Francis y posteriormente (Servadio, 1963) por luego de otras investigaciones realizadas en el año de 1968 los investigadores (Fuleky y Francis, 1968), modificaron el método de pH diferencial por de métodos descrito a continuación.

Se diluyen las Muestras con el buffer de pH 1.0 y 4.5 una vez diluidas se mide las absorbancias a las longitudes de ondas de 520 nm y 700 nm, se realiza una diferencia entre las absorbancias de los pH 1.0 y 4.5, las soluciones de los pH 1.0 y 4.5 dará una variación de color esto debido a la existencia de antocianinas monoméricas, las antocianinas al ser sometidas a pH 1.0 son convertidas en cationes o sales de flavilo de color (rojo), y al ser sometidas a pH 4.5 forma la base quinoidal (anhidra) de color azulada.

Las antocianinas polimerizadas pigmentan mientras que las antocianinas monomerizadas broncean los pigmentos no exhiben la conducta reversible con el pH, y se excluye así del cálculo de la absorbancia con la (Formula. N° 06) (Fuleky y Francis, 1968).

$$A = (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 4.5} \dots \dots \dots (5)$$

$$\left[\frac{\text{mg}}{100 \text{ g muestra}} \right] = \frac{A \times PM \times FD \times 10^{-3}}{(\epsilon \times l)} \dots \dots \dots (6)$$

Donde:

A : Absorbancia

PM : Peso molecular

FD : Factor de dilución establecido previamente

l : Espesor de la celda del espectrofotómetro UV visible (1 cm)

E : Coeficiente de extinción molar en $\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ para la cianidina-3-glucosido.

10^3 : conversión de g a mg.

De acuerdo a las investigaciones realizadas por Francis, F. el contenido de antocianinas es calculado con el peso molecular y el coeficiente de extinción molar de la antocianina que existe en mayor cantidad y se encuentra en la matriz de la muestra como principal componente. La diferenciación de las estructuras de las antocianinas las cuales son sometidas a pH 1.0 y 4.5 se puede observar en el siguiente Fig. 2.6 (Wong, 1995).

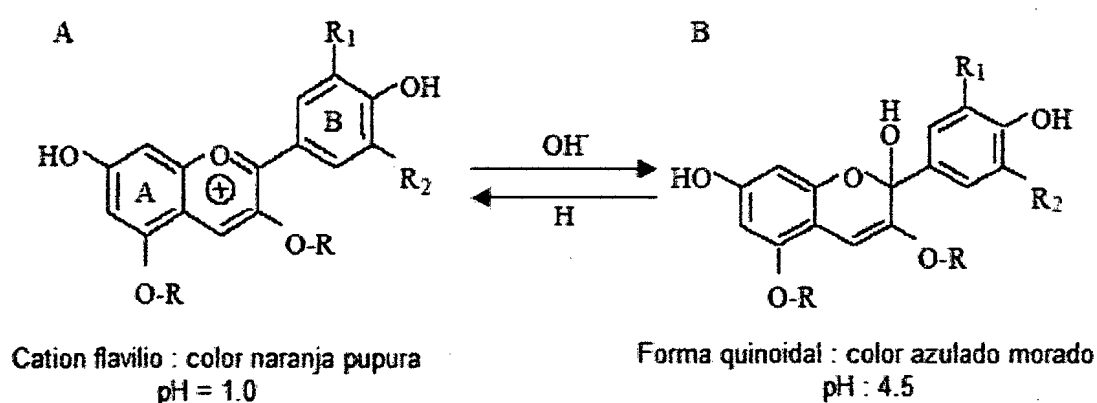
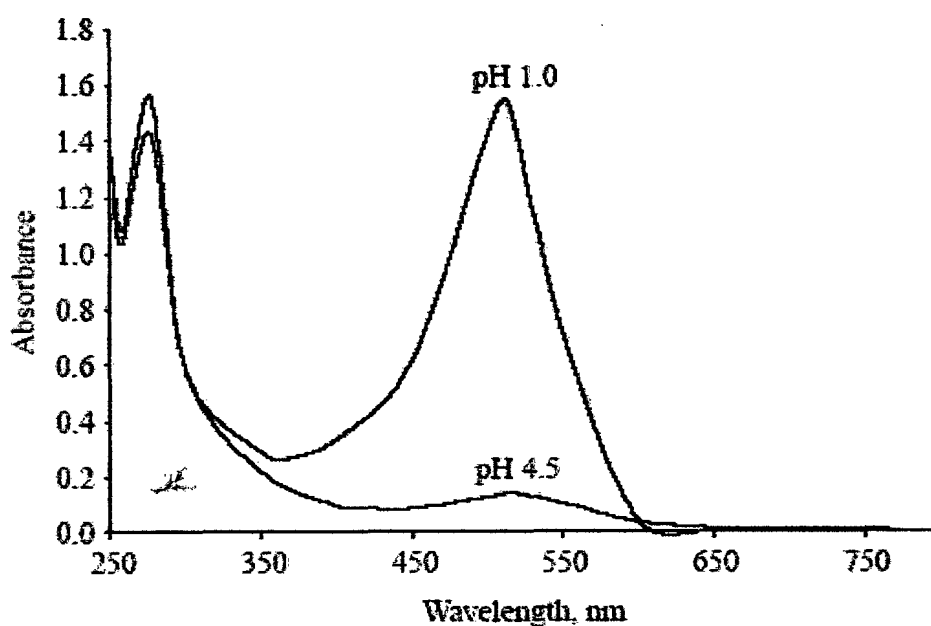


Fig. 2.6: La estructura del catión flavilio A, y la estructura del forma quinoidal en B y sus sustituyentes en R=H en sustituyentes glicosidicos Ref: (Wrolstad Ronald E., et al. 2005).

Según (Pasotti, 2006), mediante el método de espectrofotometría UV visible se observa la variación de las longitudes de ondas de las antocianinas las cuales son sometidas a pH 1.0 y a pH 4.5 los cuales fueron evaluados con un rango de 0.3 a 1.33 de los pH originales de los cuales se puede observar la degradación de las antocianinas a pH 4.5 en la cual se degradan otros compuestos intervinientes los cuales aparecen en el proceso de extracción de las antocianinas, mientras que a pH 1.0 las antocianinas tienden a concentrarse en sales de flavilio y predominan, es de esta manera que se puede observar mediante la diferenciación de pH en la Fig. 2.7.

Fig. 2.7 Espectros de antocianina en UV visible en baffle de pH 1.0 y pH 4.5.



Fuente: Wrolstad Ronald E., et al. 2005.

2.2.5.5 Importancia y propiedades.

Las antocianinas son compuestos considerados fisiológicamente activos y/o promotores de la salud desde que su contribución a la buena salud y a la reducción de enfermedades crónicas ha sido científicamente documentada. Entre las principales propiedades destacan:

a. Propiedades anticancerígenos.

Según estudios de la Universidad del Estado de Ohio (EE. UU.), la antocianina juega un rol importante en la prevención de la degeneración de células de órganos en mamíferos y humanos. En combinación con el ácido elágico desarrolla una potencia preventiva contra ciertos tipos de cáncer.

b. Actividad antioxidante.

Es evidente que las antocianinas encontradas en frutas y verduras, tienen propiedades antioxidantes potentes en el combate de los radicales libres (Kuskoski y Asuero, 2004), compararon las propiedades antioxidantes de las antocianinas con antioxidantes ampliamente conocidos y encontraron mayor capacidad en comparación a la vitamina E, ácido ascórbico y B-caroteno. El tipo y pigmentación de la papa tiene gran influencia en contenido actividad antioxidante (Wong, 1995).

c. Prevención de otras enfermedades.

Su labor fundamental es la protección de los capilares de la retina, desempeñando un papel fundamental en la conservación de la buena vista, facilitan la regeneración de la púrpura retiniana, mejora la visión nocturna y la agudeza visual. Además parecen tener propiedades antivirales, hemostáticas, por lo que pueden desempeñar un papel positivo en

las infecciones y en la detección del sangrado. Protegen el corazón de las enfermedades cardiovasculares.

d. Propiedades farmacológicas.

Las antocianinas poseen conocidas propiedades farmacológicas utilizadas para la terapia de un amplio espectro de enfermedades. Las investigaciones realizadas con extractos de *Vitis vinifera* ricos en antocianinas, han mostrado que efectos antiinflamatorios y actividad antiedema (Timberlake, 1988).

En la actualidad no se ha reportado toxicidad de antocianinas, por lo que se consideran inofensivas para la salud, siendo una alternativa potencial como un aditivo seguro y efectivo además de su poder terapéutico (Lock, 1997).

Las antocianinas son consideradas como colorante potenciales en la industria alimentaria, sin embargo, no han sido extensivamente usadas por su inestabilidad inherente, baja fuerza tintorial, propiedades organolépticas de material vegetal, así como también la dificultad de la purificación, su limitada disponibilidad comercial y la posible precipitación de condensación de antocianinas con proteínas (Timberlake, 1988).

Son útiles como colorantes atóxicos, admitidos en alimentación y preparación de medicamentos, en líquido, polvo o pasta de color rojo púrpura, con olor ligero característico; para alimentos ácidos como mermeladas, bebidas refrescantes, zumos de frutas, confitería, etc.

2.3 Atomización

El secador por atomización, como su nombre lo señala es un equipo para secado, utiliza un dispositivo que atomiza o dispersa el fluido en pequeñas gotas.

Es la única unidad de operación que produce productos en polvo a partir de una alimentación líquida en un proceso simple de una etapa.

Los componentes claves son los atomizadores los cuales rompen el líquido en finas gotas y la cámara de secado en el cual las gotas son mezcladas con gas (aire caliente o vapor sobrecalentado), evaporándose la humedad por contacto directo en un proceso adiabático, obteniéndose las partículas secas. Este secador es usado para obtener sustancias en polvo, cuyas partículas son de forma esférica y de tamaño aproximado de 10 a 140 μm (micrones), es usado en procesamientos químicos y alimenticios (Nonhebel, 1979).

Consta de una cámara cilíndrica grande, casi siempre vertical en la que el material que se va secar se atomiza en forma de pequeñas gotas, la transferencia de calor y masa se logra mediante el contacto directo del gas (aire caliente), con las gotas dispersas en la cámara. (Pare, 1984).

Un secador por atomización consta de las siguientes partes:

- Cámara de secado
- Forma de atomizar el material dentro de la cámara de secado, con el fin de que las pequeñas gotas logren la transferencia de masa y calor por contacto directo con el gas caliente.
- Forma de introducir el aire caliente dentro de la cámara de secado, es importante que el dispersor del aire caliente este diseñado de acuerdo con el sistema de atomización y propiedades del producto (tamaño de partícula, resistencia al calor)
- Forma de separar el producto del aire caliente, en algunos diseños todo el producto abandona la cámara de secado junto con el aire para ser recogido en separadores.

Para este propósito se emplean los ciclones, ayudado de un extractor que saca el aire.

- Forma de extraer el aire de la cámara de secado en algún punto alejado de la zona de alimentación y de la entrada del aire caliente, para lo cual se emplea un extractor.

2.3.1 Modos de contacto de la atomización con el gas de secado

El flujo de líquido y el gas pueden ser en corriente paralela, en contracorriente o una combinación de los dos en el mismo equipo. Concluido el secado, las partículas solidas deben de ser separadas del aire.

- **Co-corriente.**

El movimiento del aire caliente y de las partículas a través de la cámara de secado ocurre en la misma dirección, la temperatura del producto en la descarga del secador es más baja que la temperatura del aire en la salida del extractor, por lo que es ideal para los productos sensibles al calor de secado. Al funcionar con el atomizador rotatorio, el dispersor del aire crea un alto grado de rotación, dando temperaturas uniformes a través de la cámara. Sin embargo con igual éxito, se utiliza a menudo una circulación de aire que no rota en secadores por atomización, usando los dispositivos de atomización llamados toberas. (Pare, 1984).

- **Contracorriente.**

El aire y las partículas a secar se mueven a través de la cámara de secado en direcciones opuestas. Este modo es conveniente para los productos que requieren un grado de tratamiento de calor durante el secado. La temperatura del polvo que

sale del secador es generalmente más alta que la temperatura del aire del extractor. (Pare, 1984).

- **Flujo de mezclado**

El movimiento de la partícula a través de la cámara de secado experimenta fases co-corriente y contracorriente. Aquí una tobera es ubicada hacia arriba en la parte inferior medio de la cámara, dentro de flujo de aire caliente que proviene de la parte superior. No es adecuado para materiales sensibles al calor. Sin embargo este modo de contacto tiene la ventaja de que las gotas tienen un largo curso dentro de la cámara, y es un buen método para obtener partículas gruesas en una cámara pequeña. (Pare, 1984).

2.3.2 Ventajas y desventajas del secado por atomización

2.3.2.1 Ventajas.

- La calidad del producto son controladas de forma eficiente
- Los alimentos sensibles al calor, productos biológicos y farmacéuticos pueden ser secados a presiones atmosféricas y a bajas temperaturas. A veces se utiliza un medio inerte (nitrógeno).
- Como los tiempos de secado son muy cortos (de 2 a 30 segundos), muchos materiales termosensibles pueden secarse satisfactoriamente quedando listos para secar.
- En este secado el material no esta en contacto con las paredes del equipo hasta que este seco y además, las paredes se encuentran aproximadamente a la temperatura del aire de salida, por lo tanto se reducen los problemas de adherencia y corrosión en el equipo.

- El producto es obtenido como un polvo fluido finamente dividido y en forma fácilmente soluble en un disolvente apropiado.
- El tamaño de partículas de algunos productos es ajustable dentro de ciertos límites, variando las condiciones de atomización.
- El proceso es adecuado para el secado continuo de cantidades relativamente grandes del material.

2.3.2.2 Desventajas.

- El calor requerido por unidad de peso del producto es alto, pues el contenido de la humedad en la alimentación puede ser grande comparado con la mayoría de otros secadores. Además el rendimiento térmico es bajo, debido a las restricciones en la temperatura de entrada y a la temperatura relativamente alta del aire de salida.
- El costo del equipo es alto con respecto al tonelaje anual del producto secado, particularmente en el caso del equipo de pequeña capacidad.
- El equipo requiere mucho espacio.
- La recuperación en los gases de salida de productos que forman polvo pueden ser problemática o puede necesitar un equipo auxiliar costoso.
- No se pueden utilizar un secador por atomización con productos tóxicos, a menos que se tomen precauciones especiales.
- Todas las impurezas de la alimentación quedan retenidas en el producto.
- Desde el punto de vista exclusivo del secado, los secadores por atomización no son muy eficaces, pues se pierde mucho calor en los gases de escape.
- En este equipo el material a secar tiende a pegarse en las paredes.

2.3.3 Aplicaciones del secado por atomización.

Este tipo de secado tiene una aplicación en una gran variedad de productos que se detallan a continuación.

2.3.3.1 Químicos.

- Aglutinantes
- Absorbentes
- Adhesivos
- Lubricantes
- Metales
- Minerales
- Pigmentos
- Resinas
- Sales
- Ceras
- Zeolitas
- Detergentes
- Recubrimientos

2.3.3.2 Cerámicas.

- Bentonita
- Carburos
- Esmaltes
- Ferrita
- Polvo de vidrio
- Polvo de metal

- Nitruros
- Esteatita
- Oxido de zinc
- Materia de mosaicos de papel
- Zilicato de zirconio

2.3.3.3 Alimentos.

- Colorantes alimenticios
- Quesos
- Café
- Leches
- Crema para café
- Jugos de fruta
- Mezclas para sopa y helados
- Huevos
- Especias
- Saborizantes alimenticios

2.3.3.4 Farmacéuticos.

- Antibióticos
- Plasma
- Proteínas
- Sueros
- Vacunas
- Levaduras

- Enzimas
- Vitaminas
- Analgésicos
- Gomas farmacéuticas

2.3.3.5 Químicos para la agricultura

Fungicidas:

- Disulfuros de thiuram
- Ditiocarbonatos
- Compuestos de cobre
- Sulfuro coloidal

Herbicidas:

- Derivados del fenoxil
- Derivados del ácido halogenado
- Cloratos
- Derivados del ácido benzoico

Insecticidas

- Tiofosfatos
- Compuestos con fluoruros
- Compuestos con cloruros
- Arseniatos

2.4 Microencapsulación mediante el secado por aspersión.

La Microencapsulación se puede considerar como una forma especial de empacar, en la que un material en particular puede ser cubierto de manera individual para protegerlo del ambiente y de influencias deletéreas (Temperatura, humedad, radiaciones Uv, microorganismos, etc.)

El secado por aspersión es un método físico ampliamente usado para encapsular ingredientes alimenticios y es el más económico. Este proceso en si es uno de deshidratación pero también de encapsulación ya que puede producir partículas que atrapan al material a cubrir. Por definición corresponde a la transformación de un fluido en material sólido, atomizándolo en forma de gotas minúsculas en un medio de secado en caliente. La distribución del tamaño de las partículas obtenidas por este método es en general menor a 100 μm , destacando que depende de las condiciones del proceso.

El proceso consiste de la preparación de la emulsión o disolución del material a encapsular en una solución de encapsulante, la atomización y la deshidratación de las partículas atomizadas. Dentro de los parámetros mas importantes a considerar en el secado se encuentran la temperatura de entrada y de salida del aire de secado, el flujo de alimentación, el producto a secar el tiempo de residencia y acondicionamiento de la materia prima, una de las ventajas de este proceso además de su simplicidad es que es apropiado para materiales sensibles al calor ya que el tiempo de exposición a temperaturas elevadas es muy corto.

Los encapsulantes (biopolímero), o materiales formadores de pares mas utilizados para este método han sido los siguientes: Carbohidratos (almidón y derivados, maltodextrinas, jarabes de maíz, ciclodextrinas, carboximetilcelulosa y derivados.), gomas (arabiga,

mezquite, alginato de sodio), lípidos (ceras, parafinas y grasas), proteínas (gelatinas, proteínas de soya, caseinatos, suero de leche, zeína), desde luego que el tipo de material encapsulante tendrá influencia en la estabilidad de la disolución antes de secar, en el tamaño de partícula, en las propiedades y en la vida útil del material deshidratado.

III MATERIALES Y METODOS

3.1 Lugar De Ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de Biotecnología, Química General y de Procesos de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial y de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, así como también se usó el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, para la etapa del atomizado.

3.2 Materia prima

El fruto de la siraca, se adquirió de la comunidad de León Pampa, perteneciente al Centro poblado de las Américas, provincia de Abancay, departamento de Apurímac, las cuales fueron mantenidas bajo condiciones de refrigeración para su mantenimiento y conservación y posterior realización de los análisis respectivos.

3.3 Materiales, equipos y reactivos

3.3.1 Materiales y equipos

A. Materiales

- Vasos de precipitado 50 ml, 150 ml, 200 ml y 1l.
- Fiolas 25 ml, 50 ml, 100 ml y 250 ml.
- Matraz 125 ml y 250 ml.
- Erlenmeyer 50 ml, 125 ml y 250 ml.
- Probeta 5 ml, 10 ml, 50 ml y 100 ml.
- Bureta 10 ml.
- Pipeta 1mL y 10 ml.

- Tubos de centrífuga 15mL.
- Tubos de ensayo.
- Mortero y pilón.
- Viales de vidrio de 10 ml.
- Viales de plástico de 1 cm de paso.
- Termómetros
- Papel filtro.
- Espátula.
- Embudo.
- Pizeta.
- Vernier.
- Soporte universal.
- Coladoras de metal
- Recipientes de acero inoxidable
- Placas petri
- Crisoles
- Medidores (capacidades de $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ y 1 lt)
- Materiales descartables para la evaluación sensorial
- Papel tisú
- Papel aluminio
- Bolsas ziplo

B. Equipos

- Atomizador, A/S Niro Atomizer
- Equipo de extracción de grasa.
- Equipo de destilación kjeldahl.
- Espectrofotómetro, Espectrofotómetro UV visible de marca JENWAY modelo 6405 de procedencia Inglesa con un margen de error de 0.2 nm.

❖ Rotavapor, Buchi

- Rotavapor
 - Marca: Büchi
 - Modelo: R-200
 - Voltaje: 120 V
 - Frecuencia: 50/60 Hz.
 - Potencia: 120 W
 - Hecho en Flawil, Suiza.
-
- Estufa, MENMERT Aleman Wester Germant
 - Horno mufla.
 - Balanza analítica de marca ADVENTURER modelo OHAAS-TM de sensibilidad de 0.0001 gr. con una capacidad máxima de 210 gr.
- Balanza
 - Marca: Adventurer
 - Voltaje: 8 -14.5 V
 - Frecuencia: 50/60 Hz.
 - Máxima Capacidad: 210 g.
 - Lectura Mínima: 0.001 g

- Precisión: 0.0005 g
- Hecha en USA
- Balanza digital de marca ACU modelo JR de sensibilidad de 0.01 gr. Con una capacidad de 3000 gr.
- pH digital, pH metro marca SCHOTT modelo HANDYLAB pH11 con resolución 0.005 en condiciones de 15 a 35 C°.
- Brixometro
- Cocina a gas
- Cocina eléctrica
- Cronometro
- Mechero
- Baño maria

2.3.2 Insumos y reactivos

A. Insumos

- Encapsulante maltodextrina DE 10

B. Reactivos

- Agua destilada
- Etanol de 99.99 %
- Acetato de sodio
- Cloruro de potasio
- Acido cítrico
- Sulfato de cobre

- Sulfato de sodio
- Acido sulfúrico
- Acido cloridrico
- Hidroxido de sodio
- Indicador fenolftaleína
- Indicador rojo de metilo
- Acetato de sodio.

3.4 Metodología de análisis:

El desarrollo de la investigación se dividió en cuatro etapas para facilitar el estudio, recolección y el reporte de los datos.

3.4.1 Determinación Rendimiento e índice de madurez de la siraca.

3.4.1.1 Determinación de rendimiento: El rendimiento se determino para la siraca en fruto fresco.

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Kg Zumo de Siraca}}{\text{Kg Siraca fresca}} \times 100$$

3.4.1.2 Determinación del índice de madurez

❖ Sólidos Solubles

Se utilizo el refractómetro a 20 °C, expresado en brix

❖ Acidez Total

Se determino la acidez mediante la titulación (acidez total), en g de acido cítrico /100g de muestra.

➤ **ÍNDICE DE MADUREZ** = Grados Brix / Acidez titulable

3.4.2 Análisis fisicoquímicos de la siraca. (100gr)

- Humedad por el método de la A.O.A.C. (1995)
- pH método potenciométrico A.O.A.C. (1995)
- Fibra por el método de la A.O.A.C. (1995)
- Proteína cruda por el método de la A.O.A.C. (1995)
- Grasa total por el método de la A.O.A.C. (1995)
- Cenizas por el método de la A.O.A.C. (1995)
- Carbohidratos, por la resta a 100 de los porcentajes de humedad, Grasa, Ceniza, Fibra y Proteína Cruda.

3.4.2 Proceso de obtención de antocianinas por lixiviación y secadas por atomización a partir del fruto de la siraca.

3.4.3.1 Diseño Experimental para la estandarización

Se utilizó un diseño de investigación del tipo experimental.

El diseño planteado es un Diseño Completamente al Azar (D.C.A.) con un arreglo factorial de 3x3 (tres temperaturas y tres pH) con 3 repeticiones ($r=3$); es decir 9 tratamientos, sumando un total de 27 experimentos, para la etapa de lixiviación, y para la etapa del secado por atomización un arreglo factorial de 2x2 (dos temperaturas y dos concentraciones de encapsulante) cuyos resultados sensoriales fueron evaluados por un panel de jueces y luego fueron procesados estadísticamente con el programa STATGRAPHICS Plus Versión 5.1. para ver si existen diferencias significativas.

Cuadro 3.1 Ejecuciones experimentales

Tratamientos	Temperaturas (°C)	pHs
1	15	3.0
2	15	3.5
3	15	4.5
4	30	3.0
5	30	3.5
6	30	4.5
7	40	3.0
8	40	3.5
9	40	4.5

3.4.3.2 Proceso de obtención de antocianinas por lixiviación y secadas por atomización.

a) Recepción

La materia prima se recepciono en envases de plástico para su posterior determinación del índice de madurez apropiado.

b) Selección y Clasificación

Se realizo en forma manual, escogiendo los frutos de siraca que presenten las mejores condiciones para el estudio, los frutos fueron clasificadas y seleccionadas, comprobando de esta manera que se cumpla con la especificaciones de la materia prima que corresponden a una buena frescura.

c) Lavado

Se realizo para retirar cualquier tipo de materia extraña (polvo, paja, tierra etc.), que pudieran estar presentes en los frutos, para lo cual se empleo agua potable, luego se

sumergio en una solución de hipoclorito de sodio a 5 p.p.m. de cloro residual por 5 minutos, a fin de reducir la posible carga microbiana.

d) Prensado

Se realizo para la extracción de jugo, el líquido que se obtuvo en esta operación fue envasado en un frasco de vidrio oscuro para su posterior congelación, y además se determino el rendimiento, la torta resultante paso a la operación de lixiviación, en esta etapa se calculo el rendimiento.

e) Lixiviación

La extracción se hizo para extraer las antocianinas retenidas en la torta, se realizo con la relación de soluto / solvente de (1/1).

Cabe mencionar que se efectuó una maceración de la torta en agua (30) destilada y etanol (70), y ácido clorhídrico a pH con valores de 3.0, 3.5 y 4.5, y temperaturas de 15°C, 30°C y 40°C, para mantener la estabilidad de las antocianinas, en las proporciones antes mencionadas.

f) Filtración

Esta etapa se realizo con un tamiz para separar las partículas sólidas que impurifican el extracto o restos de materia prima que hayan podido traspasarse a la solución que contiene el colorante, la filtración se realizo con la ayuda de tamices y coladores.

g) Concentración

En esta etapa de mezcló el zumo obtenido con unos 10.5 °Brix, con la solución extraída por lixiviación hasta llegar a 12 °Brix de sólidos solubles se pueda efectuar el secado del colorante por rociada, se efectuó en el rotavapor a una temperatura de 70°C.

En esta operación también se controló la temperatura de trabajo con la ayuda de un termómetro graduado, se controlaron los grados Brix con la ayuda de un brixometro.

h) Acondicionamiento

Se efectuó para llevar el producto al secador por rociada, se añadieron sustancias matrices, al líquido concentrado, se emplearon para tal efecto encapsulante (Maltodextrina 10DE), esta sustancia se añadió al concentrado en proporciones de 3% y 5%, se homogenizó con la ayuda de una licuadora durante un tiempo de 3 minutos, luego del cual se filtraron con la ayuda de una gasa para evitar quede algún grumo que dificulte la formación de rociada en el secado, se controlaron los grados Brix con la ayuda de un refractómetro.

i) Secado por atomización

Se realizó esta operación con la finalidad de obtener el colorante en polvo, así como la concentración de encapsulante y temperatura de trabajo apropiados de entrada de aire al atomizador para los cuales se tomaron las temperaturas de 180 °C y 190°C, obteniéndose de este proceso el método más adecuado por rociada para este tipo de colorante, las temperaturas de salida fueron de 80 °C y 90°C.

El proceso de secado se llevó a cabo colocando el extracto acondicionado obtenido, en el alimentador de la cámara de secado, el cual posee un alimentador por gravedad y regulada manualmente. Se midió la temperatura de salida de aire del atomizador. Así mismo de

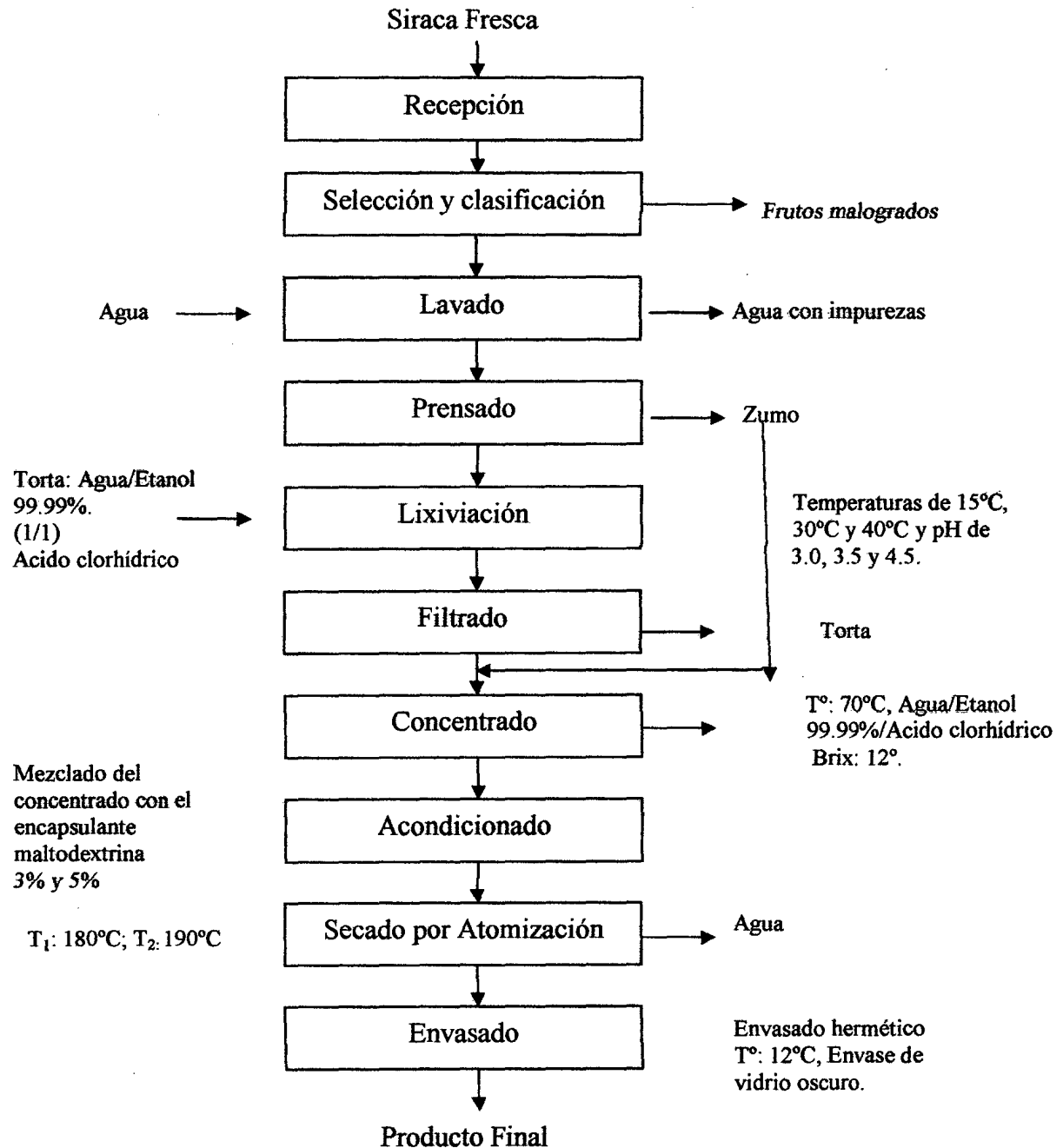
determino la densidad aparente del producto, la humedad, se calculo el rendimiento del producto obtenido.

j) Envasado

Se realizo con la finalidad de guardar y mantener estable los polvos obtenidos, estos fueron envasados en frascos de vidrio de color rojo oscuro, con tapa hermética para los respectivos análisis. El producto obtenido fue caracterizado efectuando análisis fisicoquímicos, se determinara el contenido de antocianinas.

Se efectuó también pruebas de análisis sensorial con un ordenamiento del producto según la intensidad de color, se utilizo un panel de 09 integrantes.

Figura 3.1 Diagrama de flujo de operaciones para extraer antocianinas del fruto de la siraca por lixiviación y secadas por atomización.



3.4.4 Análisis de control de calidad del colorante en polvo.

3.4.4.1 Análisis de control de calidad realizado al producto final.

Se analizo mediante los métodos de análisis fisicoquímico y análisis químico proximal, así como se de la cuantificación de antocianinas por espectrofotometría Uv.

3.4.4.2 Determinación de la antocianina en polvo con mayor intensidad de color.

3.4.4.2.1 Análisis Sensorial

En este punto se determino la antocianina en polvo con mayor intensidad de color en polvo mediante la prueba de ordenación (Ranking test).

IV RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Determinación Rendimiento e índice de madurez del fruto de la siraca.

4.1.1 Determinación de rendimiento:

Para esta etapa se realizó la operación de prensado, luego se extrajo el zumo del fruto de la siraca, separando de la torta, se utilizó como base un kilogramo de fruta fresca.

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Kg Zumo de Siraca}}{\text{Kg Fruto fresco}} \times 100$$

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{0.4 \text{ Kg}}{1 \text{ Kg}} \times 100 = 40\%$$

Como se observa el rendimiento en zumo del fruto de la siraca es considerable, esto se debe a su alto contenido de humedad, tal como lo menciona (Eroski, 1982), que los frutos de la familia rosaceae como son la fresa, la frambuesa, la zarzamora, la mora y la frutilla, en cuanto se refiere al rendimiento alcanzan valores altos, esto es debido a que el 87.52% de su composición es agua.

El agua es el componente más abundante de los frutos de la familia rosaceae, encontrándose en niveles comprendidos entre 89 y 94%. Los frutos son altamente sensibles a la deshidratación, lo que determina que sea recomendable realizar el almacenamiento post cosecha a 90-95% de humedad relativa y evitar cualquier tipo de daños ya que facilitarían la deshidratación (Olías y col., 1998).

4.1.2 Determinación de índice de madurez

En esta etapa se realizó tomando como materia prima el fruto de la siraca en estado maduro (color negro), los resultados se muestran en el cuadro 4.1.

El índice de madurez es la relación simple entre acidez (g ácido cítrico/100 g muestra), y el porcentaje de sólidos solubles disueltos, es decir acidez/grados brix, este parámetro suele ser un índice muy usado para evaluar la madurez de los frutos, pues a medida que maduran los frutos, la acidez baja, entre tanto que el porcentaje de azúcares (sólidos solubles), aumenta (Ospina, 1993).

Cuadro 4.1 Determinación de índice de madurez

Índice de madurez	
°Brix	10.5
Acidez titulable (g ácido cítrico/100 g muestra)	3.21
Grados Brix / Acidez titulable	3.27

Un cambio bioquímico muy importante son los que sufren los hidratos de carbono, la degradación de los polisacáridos de las membranas celulares, ejercen una contribución importante sobre el aumento en contenido de azúcares, la cantidad de estos sólidos solubles se expresan en grados brix (Ospina, 1993).

Los grados Brix y la acidez titulable de este estudio concuerdan con los valores reportados por cajuste et al, 2000, en un estudio sobre “La Caracterización fisicoquímica de tres cultivares introducidos de zarzamora erecta (*Rubus sp.*).”, el autor muestra valores de 8.0 y 2.4, respectivamente, cabe mencionar que existe algunas diferencias en cuanto a los valores obtenidos y reportados por lo que se puede considerar que el tipo de suelo y el clima en que son cultivadas no son las mismas, lo que puede hacer variar estas características mencionadas.

Durante la maduración la acidez disminuye, siendo las variaciones en los ácidos málico y cítrico las responsables de las diferencias de acidez entre frutos en estado de madurez pintón y maduro.

4.1.2.1 Frutos de la siraca en sus estados de madurez

La figura 4.1 nos muestra los diferentes estados de madurez del fruto de la siraca, de los cuales la que se utilizó fue la de color negro brillante por estar maduro y óptimo para el consumo.

El fruto de la siraca, al igual que todas las frutillas (frambuesa, fresa, arándano), es una fruta considerada como no climatérica, ya que no tiene la capacidad de madurar después de la cosecha, por lo cual debe ser cosechada justo en el momento en el que ha adquirido su madurez de consumo (color homogéneo y característico de siraca madura, lo que corresponde a unos 10.5 °Brix y una acidez de 3.21g ácido cítrico/ 100 g de muestra. Por esta razón es indispensable un manejo adecuado, tanto mecánico como físico (Ejm: evitar magulladuras, vibraciones fuertes, altas temperaturas etc.) para evitar el deterioro de la fruta, y un extremo cuidado de no mantenerla o almacenarla junto a productos que produzcan altas cantidades de etileno ya que esto acelerará más el proceso de envejecimiento y deterioro de la fruta mencionada.

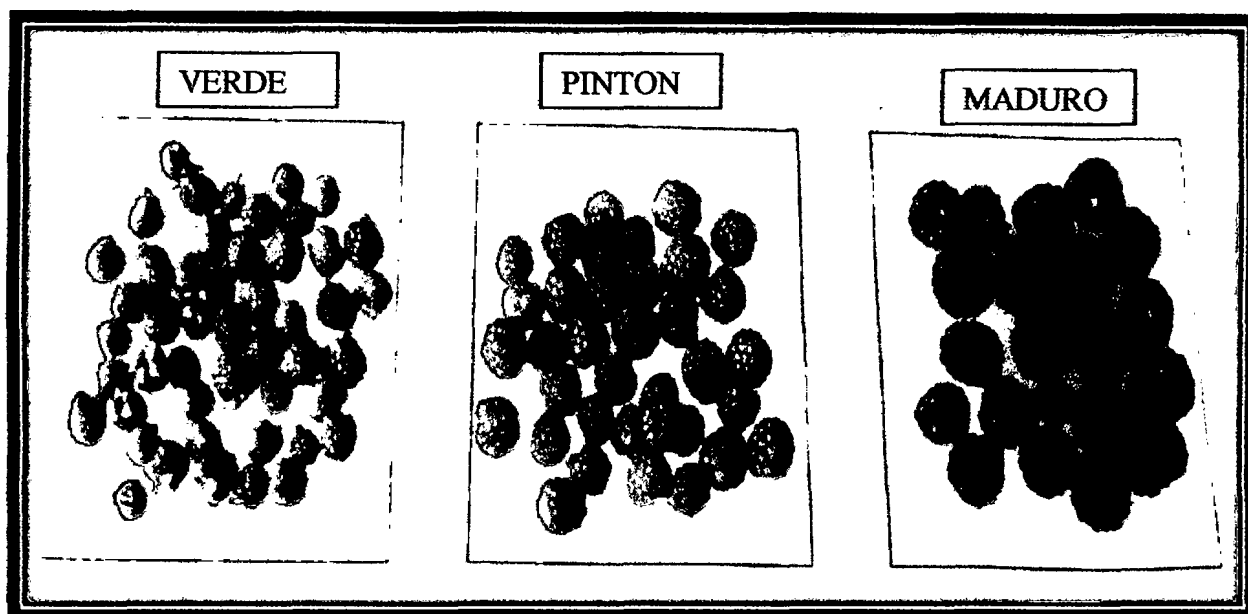


Figura 4.1 Frutos de la siraca en sus estados de madurez

La figura nos ilustra que el fruto de la siraca primero es de color verde, después rojo y cuando están maduras adquieren un color negro brillante, la maduración de frutos se caracteriza por cambios en el color, ablandamiento de la pulpa, e incrementos en la relación entre azúcares y ácidos, tal como lo menciona (Sagarpa, 2004).

Los frutos de la familia rosaceae son considerados como frutos no-climatéricos debido a la ausencia de un pico respiratorio durante el proceso de maduración (Olías y col., 1998). No obstante, el etileno muestra algunos efectos sobre el proceso de maduración de frutillas acelerando el desarrollo de color.

El tiempo necesario para que los frutos se desarrollen totalmente depende de la temperatura (Perkins-Veazie y Huber, 1987) y puede variar entre 20 y 60 días. El proceso de maduración ocurre rápidamente y las condiciones de calidad del fruto se mantienen por un corto tiempo. Este proceso involucra cambios en el color, sabor y textura (Manning, 1993).

Los ácidos constituyen los componentes más abundantes de los sólidos solubles, los ácidos orgánicos poseen importancia desde el punto de vista de la calidad organoléptica (Hulme,

1971). Por otra parte pueden regular el pH a nivel vacuolar y con ello afectar la coloración de los frutos. La acidez se incrementa hasta el estadio verde y luego se observa un descenso en la medida que progresa el proceso de maduración. El ácido más abundante en los frutos de la familia rosaceae es el ácido cítrico aunque también se encuentran cantidades considerables de ácido málico y en menor medida, ácido ascórbico, isocítrico, succínico, oxalacético, glicérico y glicólico.

4.1.3 Cuantificación de antocianinas por el método del pH diferencial para el fruto de la siraca en estado maduro (color negrobrillante).

Reporte de los datos de cuantificación de antocianinas del fruto en estado maduro, el cuadro 3.3 muestra la lectura en el espectrofotómetro UV visible, a un pH de 1.0 y 4.5 del fruto de la siraca en estado maduro (color negro).

Cuadro 4.2 Cuantificación de antocianinas del fruto maduro

	pH	Absorbancia a 520 nm (X±S)	Absorbancia a 700 nm (X±S)	Antocianinas mg / 100 g. (X±S)
	1.0	1,130 ± 0.004	0,611 ± 0.003	76,871 ± 0.840
	4.5	0,549 ± 0.002	0,490 ± 0.002	

X: Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

Según (Wang y Lin, 2000), en un híbrido de blackberry utilizando el método del pH diferencial para antocianinas fue de 152.8 mg/ 100 ml, lo que implica un mayor contenido a lo determinado en el presente estudio. Esto se puede atribuir a que los resultados presentados por (Wang y Lin, 2000), fueron obtenidos utilizando blackberry que es una fruta de la familia de la siraca y como sistema de extracción utilizaron metanol, y como se sabe el metanol es más eficiente que el etanol disolvente, para la extracción, pero debido a

que se trata de un producto alimenticio no se puede utilizar dicho disolvente por su alta toxicidad. Los frutos de la siraca en estado pintón y en estado maduro, presentan diferencias en cuanto a la concentración de antocianinas, esto se debe a que los frutos en estado pintón no han desarrollado por completo el contenido de antocianinas y los frutos en estado maduro (color negro), ya han alcanzado la madurez óptima.

Contenido de antocianinas en diferentes especies de bayas (mg/100 g de peso fresco)

El cuadro 4.3 muestra la cuantificación de antocianinas de diferentes tipos de bayas, en donde se puede observar que el fruto de la siraca muestra valores cercanos a los del género *Rubus*.

Cuadro 4.3 Contenido de antocianinas en diferentes bayas

Bayas	Género	Antocianinas mg/100 g muestra
Zarzamora	<i>Rubus spp</i>	131 - 256 ¹
Grosella Negra	<i>Ribes nigrum, L.</i>	80 - 810 ²
Mora Azul	<i>Vaccinium</i>	60 - 480 ²
Arandano	<i>Vaccinium oxycoccus</i>	20 - 360 ²
Arandano Americano	<i>Vaccinium myrtillus, L.</i>	300 - 600 ²
Arandano Rojo	<i>Vaccinium vitisidaea, L.</i>	35 - 170 ²
Frambuesa	<i>Rubus idaeus, L.</i>	20 - 220 ²
Fresa	<i>Fragaria ananassa</i>	10 - 80 ²
Siraca	<i>Rubus robustus - P</i>	76

¹Siriwoharn et al., 2006

²Rein, 2005

4.2 Análisis fisicoquímico del fruto de la siraca.

El fruto de la siraca posee ciertas características organolépticas llamativas como es el color además de su forma del fruto. En el cuadro 4.4 se muestra los resultados de los análisis fisicoquímicos.

Cuadro 4.4 Análisis fisicoquímicos y organolepticos del fruto de la siraca

Características	Resultados
Color	Característico a la fruta
Olor	Característico a la fruta
Sabor	Característico a la fruta
pH	2.92
Índice de madurez (acidez/°Brix)	3.27
Largo	1.4 cm
Ancho	1.1 cm

La caracterización fisicoquímica de este estudio concuerdan con los valores reportados por cajuste et al, 2000, a la zarzamora, familia del fruto de la siraca, este autor muestra valores de pH, acidez, Brix e índice de madurez de 3.1, 3.92, 8.0, 2.4, respectivamente, como se puede observar existen algunas diferencias en cuanto a los valores obtenidos y reportados esto se le puede atribuir a que la muestras analizadas posiblemente no tengan el mismo grado de madurez que las estudiadas por el autor, además debe de considerarse el tipo de suelo y el clima en que son cultivadas no son las mismas, lo que puede hacer variar las características fisicoquímicas del fruto. Para el índice de madurez del fruto con el que se

trabajo fue de 3.27, se considera que se encuentra en condiciones óptimas para su utilización a nivel de contenido de colorante.

4.2.1 Longitudes del fruto de la siraca

El tamaño es considerado un factor de calidad ya que presentan mejores rendimientos, el tamaño es un indicador de un desarrollo óptimo del fruto, pero no siempre el fruto más grande es de mejor calidad.

La figura 4.2 nos muestra la longitud del fruto de la siraca, la cual se utilizo para la obtención de antocianinas por lixiviación y secada por atomización.

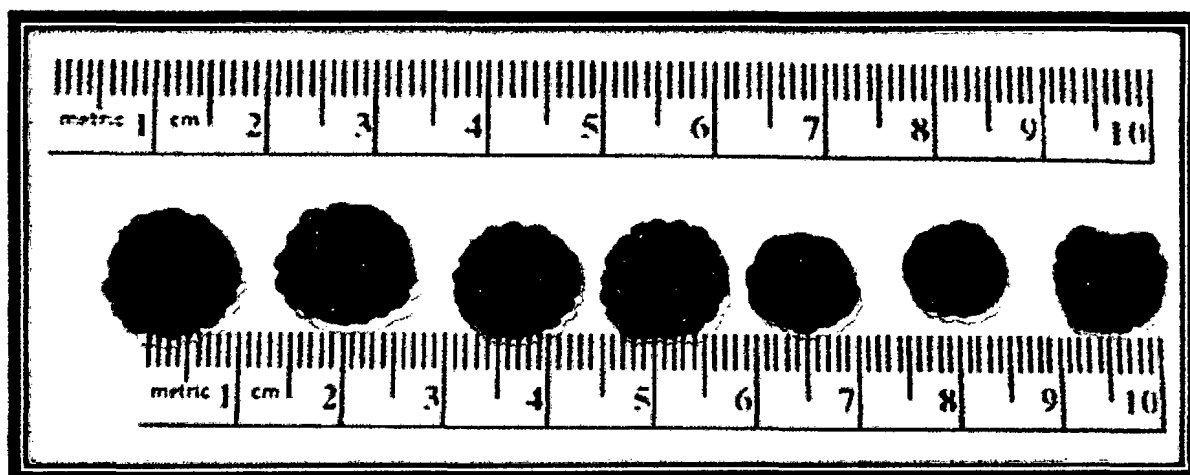


Figura 4.2 Longitudes (cm), del fruto de la siraca

Según Juárez y Muñoz, 1995, reportaron que el promedio de la longitud de fruto de la zarzamora varia de 1.9 cm a 2.2 cm y en cuanto se refiere al ancho varia de entre 1.8 y 2.0 cm, del cual se puede observar que los frutos en estudio presentan similares características por pertenecer a misma familia.

4.2.2 Comparaciones fisicoquímicas del fruto de la siraca con otras frutas

En el cuadro 4.5 se observa las comparaciones de las características fisicoquímicas de la siraca frente a otras bayas como la uva negra, guinda, zarzamora, sauco, airampu o tankar como son la acidez, sólidos totales y pH.

Cuadro 4.5 Comparaciones fisicoquímicas del fruto de la siraca con otras frutas

Frutas	Acidez (g/100 ml)	°Brix	pH
Siraca	3.21	10.5	2.92
Uva negra ¹	0.57	7	3.25
Guinda ¹	0.33	7	3.48
Zarzamora ¹	4.27	8.16	3.65
Sauco ¹	0.52	8.5	3.35
Airampu ¹	2.24	19	2.60

Fuente: ¹FAO, 2002.

Del cuadro se puede observar que el fruto de la siraca no es tan ácido en comparación con las otras bayas, y que tiene sólidos solubles por debajo del fruto airampu y que es el más adecuado para su consumo. Estos datos de los sólidos solubles y la acidez titulable, son indicadores de que la fruta está lista para la cosecha y su posterior consumo.

4.2.3 Composición nutricional de la siraca con respecto a otros frutos de la misma familia.

El cuadro 4.6 muestra la composición nutricional del fruto de la siraca en estado maduro (color negro), en el cual se puede observar presenta valores semejantes a las demás

bayas, esto debido a que son frutos de la misma familia por lo tanto no existe mucha diferencia en cuanto a la composición nutricional de estas bayas.

Cuadro 4.6 Composición nutricional de la siraca con respecto a otros frutos de la misma familia.

Valores	Frutos de la familia rosaceae en 100 g.				
	Siraca	Fresa ¹	Zarzamora ¹	Mora ¹	Frutilla ¹
Humedad	86.83	87.6	84.9	86.6	89.94
Proteína	0.64	0.7	0.7	0.68	0.9
Grasa	0.58	0.5	0.6	0.7	0.4
Ceniza	0.49	2	0.5	0.5	1.3
Fibra	2.25	2.2	2.7	2.2	2.1
Carbohidratos	9.41	7	10.6	9.33	5.36

Fuente. ¹FAO, 2002.

El análisis proximal de este estudio concuerdan con los valores reportados en el cuadro 3.7, por la (F.A.O, 2002), esta entidad mundial, muestra valores de Humedad, Proteína, Grasa, Ceniza, Fibra y Carbohidratos de 85.6, 0.7, 0.6, 0.5, 2.7 y 9.53, para la zarzamora, existiendo diferencias en cuanto a los valores obtenidos y los reportados, esto se debe atribuir a que las muestras no son las mismas y son de diferentes lugares.

4.3 Proceso de extracción de antocianinas por lixiviación.

4.3.1 Absorbancias de las Antocianinas por Espectrofotometría Uv Visible

En la etapa de lixiviación se controló el tamaño de partícula que fue de 01 um, solvente apropiado (etanol/agua), y la agitación constante, hasta llegar a la saturación de la solución, llegando a un tiempo adecuado de extracción de 3 horas.

Los resultados de las absorbancias de antocianinas de los frutos de la siraca en estado maduro (color negro), se observa en el cuadro 4.7, donde en la etapa de lixiviación se realizo las siguientes lecturas en el espectrofotómetro a pH de 3.0, 3.5 y 4.5 y a una temperatura de 15 °C.

Cuadro 4.7 Reporte de datos promedio a pH 3.0, 3.5 y pH 4.5, a una temperatura de 15°C.

Tiempo (hr)	Absorbancias de Antocianinas a 550 nm.		
	Muestra pH 3.0 (X±S)	Muestra pH 3.5 (X±S)	Muestra pH 4.5 (X±S)
0	0,533±0.012	0,116±0.004	0,090±0.001
1	0,584±0.006	0,225±0.004	0,099±0.002
2	0,625±0.010	0,337±0.006	0,107±0.002
3	0,734±0.013	0,446±0.004	0,114±0.002
4	0,740±0.008	0,445±0.003	0,114±0.003

X: Promedio de 3 repeticiones

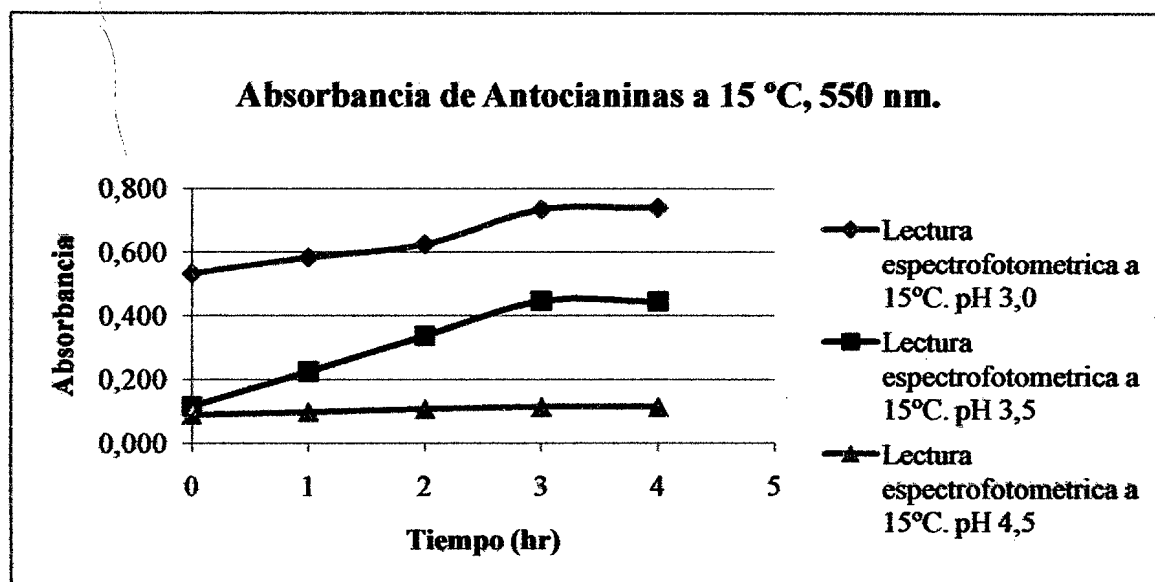
S: Desviación estándar

Las antocianinas son compuestos lábiles y su estabilidad es muy variable en función de su estructura y la composición de la matriz en la que se encuentran (wrolstad, 2000).

El grafico 4.1 muestra los datos del presente estudio muestra que el color de las antocianinas es sensible al pH, son más estables en un medio ácido que en un medio neutro o alcalino. En medio ácido la forma predominante es la del ión flavilio, el cual da el color rojo; cuando está sometida a pH básico o alcalino, el ión flavilio es susceptible al ataque nucleofílico por parte del agua, produciéndose la pseudobase carbinol, esto es a pH 4,5 y

seguido se forma la chalcona, las dos formas incoloras; debido a esta característica se utilizan a las antocianinas a pH ácido en la industria alimenticia (Hutchings, 1999).

Grafico 4.1 Absorbancia de Antocianinas a 15°C.



Del grafico se puede visualizar que a un pH de 3.0 la absorbancia es mayor en comparación con las extraídas a pH de 3.5 y 4.5, tal como lo menciona (Chandra et al, 1992), que las antocianinas son mas estables en un medio acido que en un medio alcalino, en condiciones acidas se conserva un color intenso de la antocianina, ya que existirá un equilibrio entre las cuatro estructuras de la misma.

El cuadro 4.8, muestra las lecturas en el espectrofotómetro a pH de 3.0, 3.5 y 4.5 a 30 °C, observando que a pH de 3.0 se tiene mayor absorción de antocianinas, en comparación con los de pH de 3.5 y 4.5.

En la etapa de lixiviación se tuvo en cuenta parámetros como son tamaño de partícula, solvente y la agitación, hasta llegar a la saturación de la solución, llegando a un tiempo adecuado de extracción de 3 horas.

Cuadro 4.8 Reporte de datos promedio a pH 3.0, 3.5 y pH 4.5, a una temperatura de 30°C.

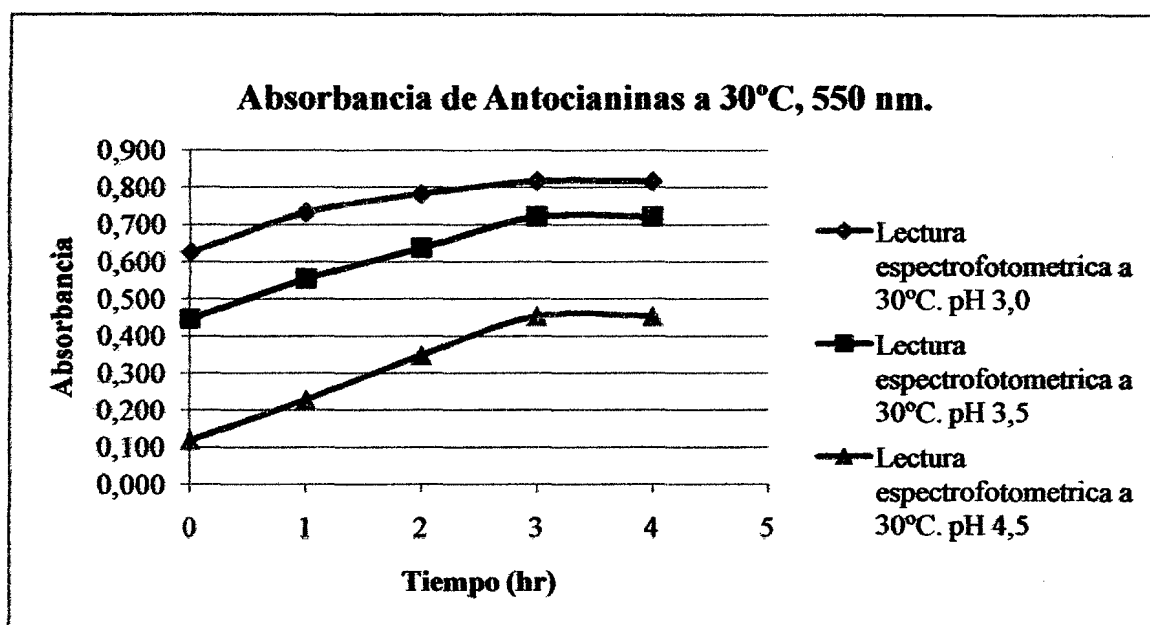
Tiempo (hr)	Absorbancia de Antocianinas a 30°C, 550 nm.		
	Muestra pH 3.0 (X±S)	Muestra pH 3.5 (X±S)	Muestra pH 4.5 (X±S)
0	0,626±0.005	0,446±0.004	0,119±0.003
1	0,733±0.005	0,555±0.003	0,229±0.005
2	0,783±0.004	0,638±0.010	0,349±0.002
3	0,818±0.007	0,722±0.007	0,453±0.005
4	0,817±0.006	0,721±0.004	0,454±0.006

X: Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

El grafico 4.2 muestra los resultados de este estudio reflejan que en el intervalo de 0-6 el color se torna de roja a azul a medida que aumenta el pH, cuando se incrementa a seis la disolución se torna incolora, a medida que disminuye el pH, es decir la muestra es mas acida se puede obtener mayor concentración de antocianinas, tal como se muestra en el grafico a pH de 3.0 la absorbancia es mayor durante la extracción. En general los cambios de pH son los principales causantes de los cambios de color (Fennema, 2000).

Grafico 4.2 Absorbancia de Antocianinas a 30°C.



El cuadro 4.9, muestra las lecturas en el espectrofotómetro a pH de 3.0, 3.5 y 4.5 a 30 °C, observando que a pH de 3.0 se tiene mayor absorción de antocianinas, en comparación con los de pH de 3.5 y 4.5.

En la etapa de lixiviación se tuvo en cuenta parámetros como son tamaño de partícula y la agitación, hasta llegar a la saturación de la solución, llegando a un tiempo adecuado de extracción de 3 horas.

Cuadro 4.9 Reporte de datos promedio a pH 3.0, 3.5 y pH 4.5, a una temperatura de 40°C.

Tiempo(hr)	Absorbancia de Antocianinas a 40°C, 550 nm.		
	Muestra pH 3.0 (X±S)	Muestra pH 3.5 (X±S)	Muestra pH 4.5 (X±S)
0	0,742±0.002	0,552±0.025	0,348±0.003
1	0,810±0.007	0,679±0.003	0,453±0.006
2	0,889±0.009	0,715±0.012	0,547±0.005
3	0,967±0.005	0,737±0.004	0,657±0.006
4	0,971±0.002	0,737±0.003	0,656±0.004

X: Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

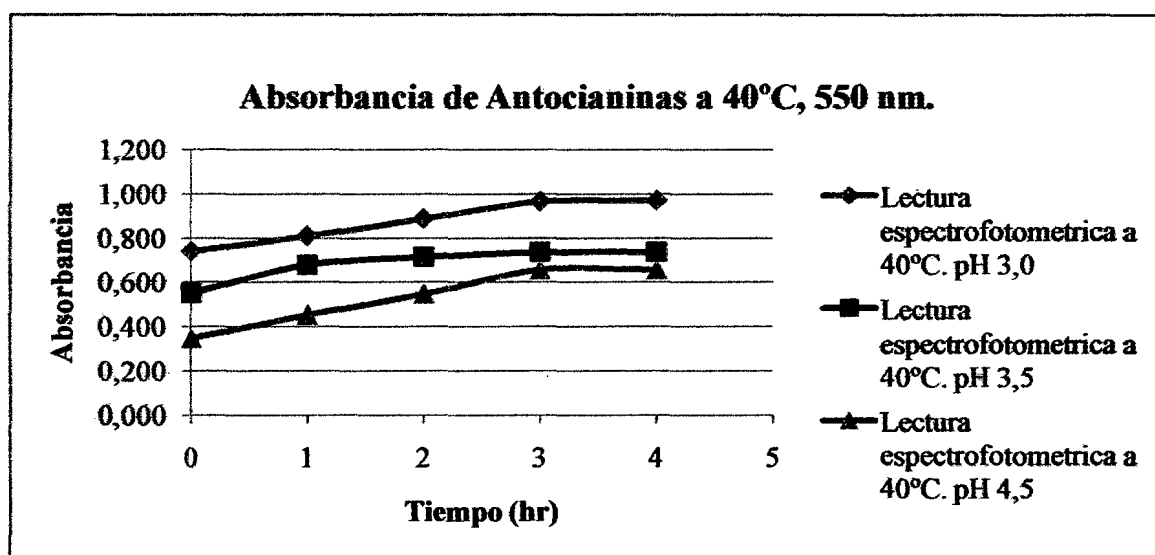
Del cuadro se puede observar que las coloraciones variadas de las antocianinas se deben a que tiene su máxima expresión de colores a pH ácidos y su forma incolora se produce a pH neutros o alcalinos tal como lo menciona (Chandra et al, 1992), debido a esta característica se utilizan las antocianinas a pH ácido o ligeramente neutro en la industria alimentaria.

El grafico 4.3 nos muestra que el comportamiento de la concentración de antocianinas difiere significativamente en función de la temperatura y el pH, observando que a mayor temperatura y a menor pH, se puede obtener mejores resultados del contenido de antocianinas en la etapa de extracción por lixiviación, observando que a la temperatura de 40°C y a pH de 3.0 se obtiene mejores resultados, es importante mencionar que las antocianinas son muy inestables y se degradan, ante algunos factores como la temperatura. Sin embargo las temperaturas de extracción con las cuales se trabajo no degradan a las

antocianinas ya que no exceden los 40°C, y en la etapa de concentración no excede de los 70°C.

Cuando las soluciones de antocianinas se secan por aspersión a temperaturas mayores de 100°C, ocurre una degradación del color, mientras que a temperaturas por debajo de los 90°C resulta de una degradación mínima. (Reyes *et al.*, 2005).

Gráfico 4.3 Absorbancia de Antocianinas a 40°C.



4.3.2 Resumen de la extracción de antocianinas por lixiviación.

A continuación se detalla el reporte de datos, tomando como parámetros las temperaturas de T_1 15 °C, T_2 30°C y T_3 40°C; pH_1 3.0, pH_2 3.5, pH_3 4.5.

Cuadro 4.10 Reporte de datos de la cantidad de Antocianinas.

N° Tratamientos	Parámetros		Cantidad de antocianinas (mg/100g) ($\bar{X} \pm S$)
	T(°C)	pH	
1	15	4.5	6.9±0.003
2	30	4.5	7.58±0.006
3	40	4.5	10.95±0.004
4	15	3.5	7.43±0.003
5	30	3.5	12.04±0.004
6	40	3.5	12.31±0.003
7	15	3.0	12.36±0.008
8	30	3.0	13.64±0.006
9	40	3.0	16.21±0.002

X: Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

Se puede observar que la absorción de las antocianinas aumenta conforme se aumenta la temperatura de extracción y mientras mas ácido es el pH. Se puede decir entonces que a mayores temperaturas se obtiene una extracción más eficiente.

Para la extracción se utilizó como solventes etanol y agua (70: 30), siendo el método mas utilizado para la extracción de antocianinas (Wrolstad, 2001), en este método el fruto fue acidificado con ácido clorhídrico, para ajustar el pH a valores 3.0, 3.5, y 4.5, y con la

finalidad de desnaturalizar a la membrana del tejido celular, mientras las antocianinas se disuelven en el disolvente.

Cabe mencionar que por otro lado (Metivier, et al. 1980), encontró que la extracción con metanol es 20% más efectiva que con etanol y 73% más efectiva que con agua, para la extracción de antocianinas.

4.3.2.1 Análisis estadístico para la etapa de lixiviación.

Se realiza con la finalidad de analizar la variabilidad de los resultados para la etapa de lixiviación con respecto a los factores independientes (Temperatura y pH).

Cuadro 4.11 Análisis de varianza para datos de cantidad de Antocianinas

Factores inter-sujetos		
		N
Temperatura	15,00	9
	30,00	9
	40,00	9
pH	3,00	9
	3,50	9
	4,50	9

Cuadro 4.12 Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Antocianinas

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	239,986 ^a	8	29,998	1356702,513	,000
Intersección	3294,779	1	3294,779	1,490E8	,000
Temperatura	81,686	2	40,843	1847166,332	,000
pH	143,559	2	71,779	3246300,000	,000
Temperatura * pH	14,741	4	3,685	166671,859	,000
Error	,000	18	2,211E-5		
Total	3534,765	27			
Total corregida	239,986	26			

a. R cuadrado = 1.000 (R cuadrado corregida = 1.000)

Del cuadro 4.12 se observa que son valores p inferiores a 0.05, estos resultados indican que son significativamente diferentes de cero al 95% del nivel de confianza.

Cuadro 4.13 ANOVA de un factor

ANOVA

Antocianinas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	370,527	9	41,170	2068830,151	,000
Intra-grupos	,000	20	,000		
Total	370,528	29			

Cuadro 4.14 Subconjuntos homogéneos

Antocianinas

HSD de Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1,00	3	6,900									
4,00	3		7,430								
2,00	3			7,580							
3,00	3				10,950						
5,00	3					12,040					
6,00	3						12,310				
7,00	3							12,360			
8,00	3								13,640		
9,00	3									16,210	
V.R	3										18,000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

Del cuadro 4.14 se observa que los tratamientos 1, 4 y 2 se rechazan, por no encontrarse dentro de los parámetros que oscilan entre 8 a 18 mg/100g de antocianinas, mencionados por Ceron (2008), y que los tratamientos 3, 5, 6, 7, 8 son los aceptados y el tratamiento 9 es el más apropiado por encontrarse sus valores más cercanos a la variable respuesta.

4.3.3 Proceso de concentración de las antocianinas

Después de determinar el tiempo adecuado de extracción de antocianinas por lixiviación usando como solvente agua/etanol y ácido clorhídrico (30:70), que fue de 3 horas, resultando el más óptimo la extracción a pH de 3.0 y a una temperatura de 40°C, se mezcló el zumo extraído por prensado con el colorante extraído por lixiviación, la resultante de esta mezcla resultó 6°Brix, luego se procedió a concentrar en el rotavapor a una temperatura de 70°C, hasta llegar a 12°Brix, posteriormente se realizó la cuantificación de las antocianinas, el cuadro 4.15 muestra los datos a pH de 1.0 y 4.5.

Cuadro 4.15 Cuantificación de antocianinas de la solución concentrada.

pH	Absorbancia a 520 nm ($\bar{X} \pm S$)	Absorbancia a 700 nm ($\bar{X} \pm S$)	Antocianinas Mg/L soln. ($\bar{X} \pm S$)
1.0	$0,989 \pm 0.003$	$0,485 \pm 0.004$	70.358 ± 0.695
4.5	$0,425 \pm 0.002$	$0,342 \pm 0.004$	

X: Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

Estudios realizados por (Jiménez, 2008), reportaron valores para mora azul obtenidos bajo las mismas condiciones de extracción, utilizando como disolvente etanol agua (70:30), la concentración antocianinas de 93.84 mg/100 ml, por lo que se puede decir que la mora azul es una fruta rica en compuestos antocianicos.

4.4 Análisis de control de la calidad de las antocianinas obtenidas por atomización.

4.4.1 Evaluaciones realizadas al producto final

En el cuadro 4.16, se presentan los resultados obtenidos en el análisis fisicoquímico que tuvo mayor aceptación, vale decir el producto atomizado 180°C y con 3% de encapsulante.

Cuadro 4.16 Características fisicoquímicas de las antocianinas en polvo.

Características	Resultados
Color	Rojo cianidina 3- glucósido.
Olor	Característico a la fruta
Sabor	Característico a la fruta
pH	2.63
Acidez (g/100 ml)	0.47

4.4.2 Análisis químico proximal de antocianinas en polvo.

El cuadro 4.17 muestra el ensayo que tuvo mayor aceptación, se presenta los resultados químico proximal de dicho ensayo.

Cuadro 4.17 Composición química porcentual de las antocianinas en polvo.

Análisis Proximal	Resultados (%)
Humedad	7.86
Proteína	1.71
Grasa	0.05
Ceniza	3.03
Fibra	0.00
Carbohidratos	87.35

4.4.3 Rendimiento de las antocianinas en polvo.

Las soluciones concentradas conjuntamente con los zumos del fruto de la siraca se mezclan, ambas muestras tienen 12 grados Brix, luego se añadió el encapsulante a concentraciones de 3% y 5%, para posteriormente ser atomizadas.

Para determinar el rendimiento de las antocianinas en polvo se recurre a la siguiente formula:

$$R = \frac{Kg.Polvo}{Kg.Solución} \times 100$$

En la muestra R₁, ingreso al atomizador a una temperatura de 180°C, con una concentración de encapsulante de 3%, obteniéndose un rendimiento de:

$$R_1 = \frac{0.109 Kg}{1.03 Kg} \times 100 = 10.58\%.$$

En la muestra R₂, ingreso al atomizador a una temperatura de 190°C, con una concentración de encapsulante de 3%, obteniéndose un rendimiento de:

$$R_2 = \frac{0.108 Kg}{1.03 Kg} \times 100 = 10.49\%.$$

En la muestra R₃, ingreso al atomizador a una temperatura de 180°C, con una concentración de encapsulante de 5%, obteniéndose un rendimiento de:

$$R_3 = \frac{0.118 Kg}{1.05 Kg} \times 100 = 11.24\%.$$

En la muestra R₄, ingreso al atomizador a una temperatura de 190°C, con una concentración de encapsulante de 5%, obteniéndose un rendimiento de:

$$R_4 = \frac{0.115 \text{ Kg}}{1.05 \text{ Kg}} \times 100 = 10.95\%.$$

De todos los resultados mostrados se puede afirmar que la muestra que tuvo mejores resultados en cuanto se refiere al rendimiento fue R₃, con 11.24% de antocianinas en polvo.

4.4.4 Cuantificación de antocianinas en polvo.

El cuadro 4.18 muestra los datos de las antocianinas secadas por atomización y sus respectivas cuantificaciones en el espectrofotómetro UV visible.

Cuadro 4.18 Cuantificación de antocianinas en polvo.

	Encapsulante	Temperatura	pH	Absorbancia a 520 nm	Absorbancia a 700 nm	Antocianinas mg/100 g muestra
Antocianinas en polvo	180 °C	3%	1.0	0,881	0.401	67.964±0.02
	190°C	3%		0.879	0.394	66.630±0.03
	180°C	5%		0.875	0.398	66.963±0.01
	190°C	5%		0.878	0.403	65.629±0.02
	180 °C	3%	4.5	0.414	0.341	67.964±0.02
	190°C	3%		0.419	0.339	66.630±0.03
	180°C	5%		0.411	0.335	66.963±0.01
	190°C	5%		0.413	0.337	65.629±0.02

Fuente: Elaboración Propia

Del cuadro se puede decir que la mayor concentración de antocianinas se obtuvo en la muestra atomizada a 180°C, con un contenido de encapsulante de 3%, esto se debe a que a menor temperatura de atomización las antocianinas son más estables y no se degradan considerablemente, por lo que se considera a la temperatura un factor degradante muy importante.

4.4.4.1 Análisis estadístico para la etapa de atomización

Se realiza con la finalidad de analizar la variabilidad de los resultados para la etapa de atomización con respecto a los factores independientes (Temperatura y Encapsulante.).

Cuadro 4.19 Análisis de varianza para datos de cantidad de Antocianinas

Factores inter-sujetos		
		N
Temperatura	180,00	6
	190,00	6
Encapsulante	3,00	6
	5,00	6

Cuadro 4.20 Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Antocianinas

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	8,345 ^a	3	2,782	6181,238	,000
Intersección	53541,269	1	53541,269	1,190E8	,000
Temperatura	5,339	1	5,339	11863,707	,000
Encapsulante	3,006	1	3,006	6680,007	,000
Temperatura *	,000	1	,000	,000	1,000
Encapsulante					
Error	,004	8	,000		
Total	53549,617	12			
Total corregida	8,348	11			

a. R cuadrado = 1.000 (R cuadrado corregida = .999)

Del cuadro 4.20 se observa que son valores p inferiores a 0.05, estos resultados indican que son significativamente diferentes de cero al 95% del nivel de confianza.

Cuadro 4.21 ANOVA de un factor

ANOVA

Antocianinas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	32,974	4	8,244	22898,931	,000
Intra-grupos	,004	10	,000		
Total	32,978	14			

4.22 Subconjuntos homogéneos

Antocianinas

HSD de Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
4,00	3	65,6290				
2,00	3		66,6300			
3,00	3			66,9630		
1,00	3				67,9640	
V.R	3					70,0000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

Del cuadro 4.22 se observa que los tratamiento 4, 2 y 3 tienen valores inferiores con respecto al valor referencial, y que el tratamiento 1 es el más recomendado por ser el más cercano al valor referencial que de 70 mg/100g de muestra, mencionados por Ceron (2008).

4.4.5 Comparación del contenido de antocianinas

El cuadro 4.23 presenta resultados en cuanto se refiere al contenido de antocianinas en el fruto de la siraca, pintón, maduro, en la solución resultante de la mezcla del zumo con las antocianinas extraídas por lixiviación y su posterior concentración y en el colorante en polvo.

Cuadro 4.23 Comparación del contenido de antocianinas

Determinación de las concentraciones de las antocianinas	Antocianinas mg/ 100 ml muestra.
Fruto Maduro	76.871
Solución concentrada	70.358
Antocianinas en polvo (Optimo) (g)	67.964

4.4.6 Parámetros adecuados de extracción de antocianinas por lixiviación.

El cuadro 4.24 presenta el resumen de los valores óptimos de los diferentes parámetros de extracción de antocianinas por lixiviación.

Cuadro 4.24 Parámetros adecuados de extracción de antocianinas

Absorbancia 550 nm	Temperatura (°T)	pH
	40°C	3.0

4.4.7 Análisis sensorial de las antocianinas en polvo

El producto resultado de la atomización no recibió tratamiento posterior, la característica organoléptica que se evalúa es el color.

Las evaluaciones han sido realizadas por un panel conformado por nueve jueces no entrenados y el promedio de los resultados de sus apreciaciones se muestran en el Cuadro 4.25.

Para el análisis sensorial se utilizó el método analítico cuantitativo, que por ordenación (rankig test), Comparar diversas muestras con relación a un determinado atributo (color), y colocarlas a las muestras en orden creciente o decreciente. Este orden representa una escala ordinal, para verificar si algunas de ellas difieren entre sí.

Al presentar las muestras a los jueces, deben estar ordenadas y codificadas al azar. El juez es solicitado a ordenar las muestras en orden creciente o decreciente del atributo sensorial en cuestión.

No hay necesidad de un gran entrenamiento, desde que los jueces entiendan el significado del atributo que están midiendo.

3.4.7.1 Análisis de resultados

Se colocó en orden decreciente de color (el más intenso es el primero), a las 4 muestras de antocianinas atomizadas.

C = 825: 67.964 mg/100 g de muestra

B = 694: 66.830 mg/100 g de muestra

D = 537: 66.963 mg/100 g de muestra

A = 462: 65.629 mg/100 g de muestra

Rango:

1= Poco intenso

2= Regular intenso

3= Intenso

4= Muy intenso

A continuación se detalla los resultados reportados por los jueces del análisis sensorial sobre la intensidad del color.

Cuadro 4.25 Resultados de análisis sensorial por ordenación (ranking test)

JUECES	MUESTRAS			
	A	B	C	D
1	1	3	4	2
2	1	2	4	3
3	2	4	4	1
4	2	3	3	1
5	2	4	4	2
6	1	2	3	2
7	1	2	4	3
8	1	3	3	3
9	2	3	4	2
Total	13	26	33	19

Del cuadro se puede observar que la muestra C, es significativamente más intensa en color que las otras muestras, A es la menos intensa en color que las otras. Entre B y D no existe diferencia significativa.

Por lo tanto se puede decir que la muestra C, es la que tiene mayor concentración de antocianinas, tal como se observa en el cuadro.

Cuadro 4.26 Análisis de varianza para datos de color

Análisis de varianza de Color

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Regresión	3	24.9722	24.9722	8.3241	19.03	0.000
Lineal	2	24.9444	24.9444	12.4722	28.51	0.000
T° (°C)	1	4.6944	4.6944	4.6944	10.73	0.003
Encapsul (%)	1	20.2500	20.2500	20.2500	46.29	0.000
interacción	1	0.0278	0.0278	0.0278	0.06	0.803
T° (°C) * Encapsul (%)	1	0.0278	0.0278	0.0278	0.06	0.803
Error residual	32	14.0000	14.0000	0.4375		
Error puro	32	14.0000	14.0000	0.4375		
Total	35	38.9722				

Cuadro 4.27 Regresión de superficie de respuesta: Color vs. T°(°C), Encapsul(%)

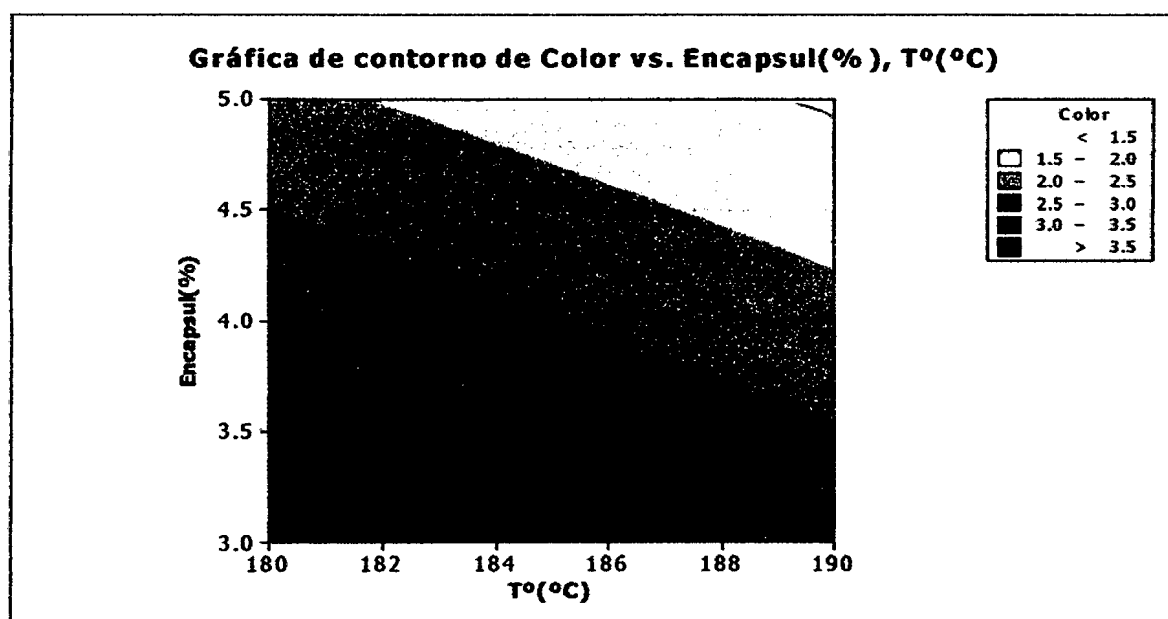
El análisis se realizó utilizando unidades codificadas.

Coefficientes de regresión estimados de Color

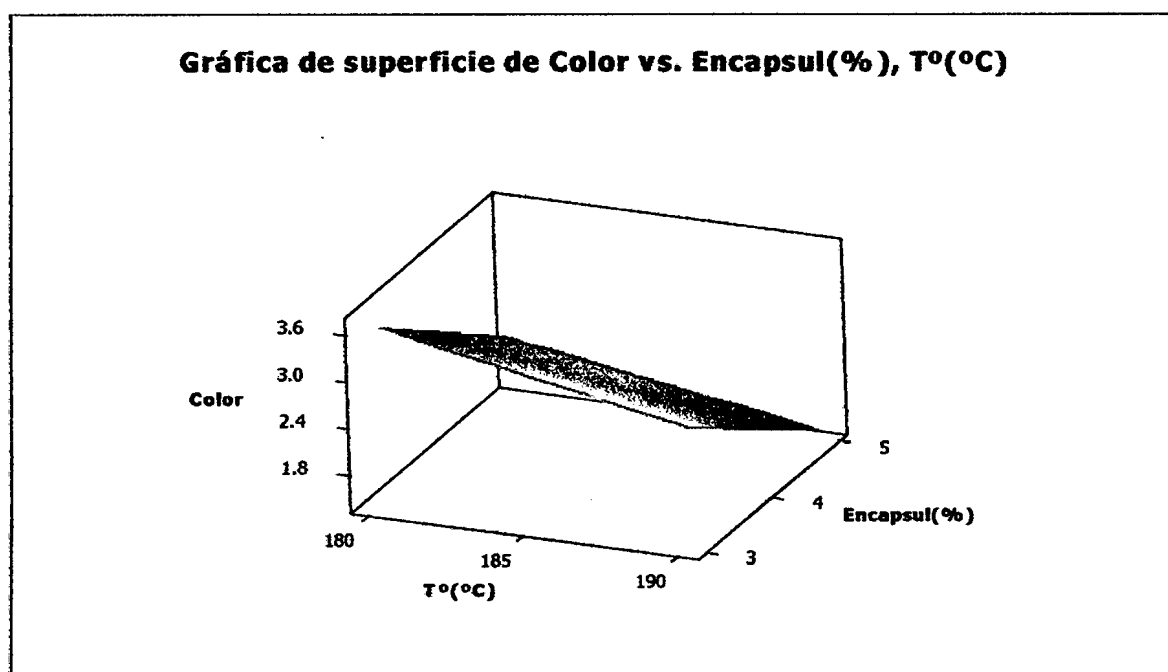
Término	Coef	EE del coef.	T	P
Constante	2.52778	0.1102	22.930	0.000
T° (°C)	-0.36111	0.1102	-3.276	0.003
Encapsul (%)	-0.75000	0.1102	-6.803	0.000
T° (°C) * Encapsul (%)	0.02778	0.1102	0.252	0.803

Del cuadro 4.27 se observa que tienen valores p inferiores a 0.05, estos resultados indican que son significativamente diferentes de cero al 95% del nivel de confianza, por lo tanto son altamente significativos.

Grafica 4.4 Contorno de color vs Encapsulante, Temperatura.



Grafica 4.5 Superficie de color vs Encapsulante, Temperatura.



De la graficas 4.4 y 4.5 se puede observar que la temperatura y el encapsulante juegan un papel importante sobre la cantidad de antocianinas y estos parámetros son influyentes en la variación del color.

Por lo tanto se puede afirmar en cuanto al color, los cuatro tratamientos en la obtención de antocianinas por atomización, la mayor intensidad se observa en el tratamiento 180°C y 3% de encapsulante registrando un valor de 67.964 mg/100g de muestra y un mínimo alcanzado en el tratamiento a 190°C y 5% de encapsulante registrando un valor de 65.629 mg/100g de muestra, esta diferencia está relacionada con la temperatura y la concentración de encapsulante, sin embargo el color está más influenciado por las temperaturas de la atomización ya que las antocianinas sufren una degradación. Las respuestas sensoriales de los jueces para la intensidad de color se encuentran en el anexo 05, cuadro 4.25.

A continuación el cuadro 4.28 presenta el resumen de los valores adecuados de los diferentes factores en la etapa de atomización.

Cuadro 4.28 Factores adecuados de atomización de antocianinas

Atomización	Temperatura (°T)	Encapsulante Matodextrina DE 10
	180°C	3%

V CONCLUSIONES

- El análisis químico proximal del fruto de la siraca en estado maduro (color negro), dio como resultado, Humedad 87.52%, proteínas 0.64%, grasa 0.58%, Cenizas 0.49%, fibra 2.61% y carbohidratos de 9.41%, así mismo el análisis fisicoquímico dio como resultado, Largo 1.4 cm, Ancho 1.1 cm, Brix 10.5, pH 2.92, Acidez 3.21, Índice de madurez de 3.27.
- Las antocianinas extraídas por lixiviación, reporto datos óptimos a una temperatura de 40 °C y a un pH de 3.0, con un tiempo de saturación de la solución extraída de 3 horas.
- La concentración de antocianinas que presentaron los frutos de la siraca, como son en la etapa de lixiviación, maduro, la solución concentrada, así como el colorante en polvo fueron expresados en cianidina-3-glucósido/100 ml de muestra, llegando a concluir que el que tuvo mayor concentración de antocianinas fue el fruto maduro con 76.871 mg/ml de muestra, la solución concentrada con 70.358 mg/ml de muestra, las antocianinas en polvo con 67.964 mg/ml de muestra y 16.21 mg/ml de muestra la muestra producto de la lixiviación.
- El rendimiento de las antocianinas en polvo que dio mejores resultados fue la solución atomizada a 190°C, con una concentración de 5% de encapsulante (maltodextrina De10), la cual fue de 11.24%, pero mas no el contenido de antocianinas que fue de 66.963 mg/100g muestra, y la muestra atomizada a 180°C con una concentración de encapsulante de 3% obtuvo un rendimiento de 10.58% y obtuvo mayor contenido de antocianinas que fue de 67.964 mg/100g de muestra.

VI RECOMENDACIONES

- Es necesario continuar con esta investigación en el sentido de determinar e identificar tipos de fenoles y antocianinas.
- Realizar estudios de estabilidad de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en productos y bebidas obtenidas en diferentes tiempos, temperaturas y condiciones de almacenamiento.
- Realizar estudios que permitan establecer el tiempo de vida útil del producto para su consumo.
- Elaborar productos como mermeladas, néctares y jugos como una manera de incentivar el consumo de esta fruta nativa.
- Se sugiere realizar extracciones de antocianinas de diversos frutos pertenecientes al género *Rubus* y así poder determinar los beneficios de cada uno de ellos, lo cual permitirá promocionar a dichos productos vegetales como excelentes fuentes de antioxidantes y así incentivar su consumo, otorgándole valor agregado a estos cultivos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Badui, S. Química de los alimentos, México, Ed. Alambra, SA., 2006.
2. Belitz y Grosch., “Química de los alimentos”. Ed. Acrivia-España: Zaragoza., 1988.
3. Cajuste, J., López, L., Rodríguez, A., Reyes, S. 2000. Caracterización fisicoquímica de tres cultivares introducidos de zarzamora erecta (*Rubus sp.*). Fundación Salvador Sánchez Colín, CICTAMEX. México.
4. Contribución al conocimiento del género *Rubus* (Rosaceae) en la Península Ibérica.. H. Weber. 1989. Anales del Real Jardín Botánico de Madrid. 47(2): 327-338.
5. Coultate, T. 1984. Alimentos: química de sus componentes. Acribia. Zaragoza, España, 111 – 115 pp.
6. Coultate, T.1998. Manual de química y Bioquímica de los Alimentos. 2da Ed. Zaragoza, 366 pp.
7. Davies, D. (1987). The Biochemistry of Plants. Physiologi of Metabolism. Academic Press. San Diego. P. 260.
8. Davis, J. and Mazza, G. 1993. Copigmentation of Simple and Acylated Anthocyanins with Colorless Phenolic Compounds. J. Agric. Food Chem. (41). EE.UU.
9. Delgado Espinoza J. (1987), “Ensayos sobre uso de microencapsulantes en secado por atomización de concentrados de maíz morado (*Zea mays L.*)”. Tesis de la Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima (Perú). Facultad de Industrias Alimentarias P. 67, 84.
10. Del Valle, G. Gonzales, A y Báez, R. Antocianinas en uva (*Vitis vinifera*) y su relación con el color. Revista de Fitotecnología. 359 – 368 pp.
11. Delgado-Vargas, F.; Jiménez A. y Paredes, O. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains; Characteristics, Biosynthesis, Processing and Stability. Crit Rev Food Sci Nutr., 40(3):173-289., 2000.
12. FAO. 2006. Tabla de composición de alimentos de América Latina.



13. Francis, F. Food colorants: Anthocyanins. Crit. Rev. Food Sci. Nut., 28, 273-314., 1989.
14. Fennema, O. 1996. Food Chemistry. Marcel Dekker, Inc. 557 – 563.
15. Fennema, O. 2000. Química de los alimentos, 2da ed. Zaragoza, 1258 pp.
16. Fossen, T.; Slimestad R. y Andersen, O. Anthocyanins from Maize (*Zea mays*) and Reed Canarygrass (*Phalaris arundinacea*). J. Agr. Food Chem., 49, 2318-2321., 2001.
17. Fuleki, T Y Francis, F. (1968) “Quantitative methods for anthocyanins. , II. Determination of food anthocyanins and degradation. Index for cranberry juice ”. Journal food science. Vol 33(1). P. 79.
18. García, M. 1993. Biotecnología Alimentaria. Editorial Limusa. 1era. Edición. México.
19. Giusti Mónica Y Wrolstad Ronald E., (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy, Department of Food Science and Technology, Wiegand Hall, Oregon State University, Protocol básico (1). F1.2.1-F1.2.13.
20. Gross, J. 1987. Pigments in fruits. Academic Press. London
21. Giusti, M. et. al. 1999. Molar Absorptivity and Color Characteristics of Acylated and Non-Acylated Pelargonidin-Based Anthocyanins. Journal Agric. Food Chem. (47). EE.UU.
22. Harborne, J. The chromatographic identification of anthocyanin pigments. J. B. Chromatography, 1:473, 1958.
23. Hoshino, T. et. al. 1980. The stabilizing effect of the acyl group, on the co-pigmentation of acylated anthocyanins with c-glucosylflavones. Phytochemistry. (19). England.
24. Juárez, R. Muñoz, M. 1995. El Mercado mundial de la frambuesa y la zarzamora. Chapingo, México.
25. Kong, J.; Chia, L.; Goh, N. y otros. Analysis and biological activities of antocyanins. Phytochemistry 64:923-933, 2003.



26. Kuklindki, C. 2000. Farmacognosia, Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Ediciones Omega S.A. 2da. Edición. España.
27. Kuskoski, M. Asuero, A. Parrilla, M. Troncoso, A. Fett, R. 2004. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. Ciencia y Tecnología de los Alimentos. 691 – 693 pp.
28. Linden, Guy. Bioquímica agroindustrial, Zaragoza: Editorial Acribia, 1994.
29. Lock Sing De Ugaz Olga, (1997). “Colorantes Naturales”, primera edición, editado por La Pontificia Universidad Católica del Perú, p. 208, 210.
30. Loyola, N.; Keymer, E.; Teixidó, E. y otros. Influencia del Tiempo entre Cosecha y Enfriamiento, entre la Vida Util de Berries Frescos. Alimentos 22 (3,4): 27-46. 1997.
31. Lukton, A.; Chichester, O.; y Mackinmey, G. The breakdown of strawberry anthocyanin pigment, 1956. EN Acevedo Castillo, A. Efecto de la temperatura y un copigmento en la estabilidad de antocianinas de la col morada en una bebida. México, 2003. Tesis Br. Facultad de Ingeniería Química y de Alimentos, Universidad de la Américas de Puebla.
32. Macheix, J.-J.; Fleurut, A.; Billot, J.; (1990) Fruit Phenolics; CRC Press; Boca Raton, Florida.
33. Malien-Aubert, C. et. al. 2001. Color Stability of Comercial Anthocyanin-Based Extract in relation to the Phenolic Composition. Protective Effects by Intra- and Intermolecular Copigmentation. J. Am. Chem. Soc. (49). EE.UU.
34. Markakis P. (1982). Stability of anthocyanins in foods. In: Anthocyanins as Food Colors. Markakis P (ed.), Academic Press Inc., New York, P.163-178.
35. Martines P. Miguel y Tico R. Luis, (1974) Agricultura Practica, Editado por editorial Ramón Sopena S.A., Barcelona- España, p. 74-77, 128, 277-289.
36. Martínez – Valverde, I. Periago MJ. Ros G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenolicos en la dieta. Arch. Latinoam Nutr. 5-18.
37. Matissek, reinhard, y Otros 1998. Analisis de los Alimentos,. Zaragoza.416 pp.



38. Mazza, G. 1995. Anthocyanin in grapes and grape products. Critical reviews in food science and nutrition. 35, 341.
39. Miller, Dennis D. 2001. Química de los Alimentos, Manual de Laboratorio. México, 173 pp.
40. Muñoz, O.; Schwartz, M. y Loyola, E. Antocianos, colorantes naturales de aplicación industrial. Revista de Fitoterapia 3 (2), 147-152, 2003.
41. Muratalla, L. 1993. El cultivo de la zarzamora y frambuesa en México. Fundación Salvador Sánchez Colín, CICTAMEX. México. S.C. Coatepec de harinas. México.
42. Oakley David E. de AEA Technology, "PRODUCE UNIFORM PARTICLES BY SPRAY DRYNG", energy Transfer/Conversion – Chemical Engineering Progress. October 1997, pp. 48-54.
43. Ojeda, D.; Campos, D.; Chirinos, R. y otros. Antocianinas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en cáscaras de tres variedades de camote morado (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). Universidad Nacional Agraria La Molina. 1p.
44. Ortega, A. 2006. Antocianos, taninos y composición de la pared celular en distintas variedades de uva. Evolución durante la maduración e implicaciones tecnológicas. Tesis Doctoral. Departamento de bioquímica y biología molecular –A, Universidad de Murcia, Murcia, 280 pp.
45. Quispe, L. Actividad antioxidante, fenoles totales y antocianinas en el fruto y néctar de Airampu (*Berberis weberbaueri* C. scheneider). Ayacucho, 2007, Tesis Br. Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia, Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, 160p.
46. Pare José; "SECADO: EQUIPOS DE PROCESO", Departamento de Ingeniería Química – universidad de Concepción, Chile – 1984.
47. Pasotti, Natalia S. (2006). "Espectrofotometría Visible – Ultravioleta" Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agrimensura (consulta 05 de junio del 2008) <http://www.prof.uniandes.edu.co/~infquimi/ANALISIS/espectrofotometria/espectrofoto.htm>



48. The Brack-egg A. (1999). Encyclopedic Dictionary of Useful Plants Peru. Cuzco, Perú,: de Printing Centers Bartolomé de las Casas; P. :537-538.
49. Timberlake, C. y Henry, B. Plant pigments as natural food colours. Endeavour NS 10:31-36, 1986.
50. Turkey, N. et. al. 2004. Effect of storage temperature on the stability of anthocyanins of a fermented black carrot (*Daucus carota* var. L.) Beverage: shalgam. (52). EE.UU.
51. Ugaz, O. 1994. Investigación Fitoquímica. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica de] Perú. 2da. Edición. Perú.
52. Wang H., G.Cao, R. L. Pior (1996) "Total antioxidant capacity of fruits." J. Agric. Food Chera 44.701, 705.
53. Wong, Dominic W.S. 1995. Química de los Alimentos mecanismos y teoría, Zaragoza 476 pp.
54. Wrolstad Ronald E., Robert W. Durst y Jungmin Lee (2005) "Tracking color and pigment changes in Anthocyanin products " Department of Food Science and Technology, Wiegand Hall, Oregon State University Vol 16(1).P 423–428.
55. Wrolstad, R. Extraction, Isolation, and Purification of Anthocyanins. Current Protocols in Food Analytical Chemistry, 2001.
56. Treybal, Robert E. Operaciones de Transferencia de Masa. Segunda Edición, Editorial McGraw-Hill, México 1994, 792 - 822 pp.

Fuentes de Internet

57. www.botanical-online.com.
58. www.geocities.com/chemforum/SpryDrying.htm
59. www.niroinc.com (de Niro Atomizer S.A)
60. www.oc-sd.co.jp (ohkawara Estandar Spray Dryer)
61. [www. Spraydrys.com](http://www.Spraydrys.com)



ANEXO N° 01

ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL

1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD (METODO DE LA ESTUFA DE AIRE:

El método es aplicable a todos los productos alimenticios excepto los que puedan contener compuestos volátiles distintos al agua ó los que son susceptibles a la descomposición a 100 °C cómo es el caso de vegetales frescos.

Materiales y equipos de laboratorio:

- Vaso de Precipitado de 50 mL.
- Estufa
- Balanza

Procedimiento:

Pesar un vaso de 50 mL y agregarle 5 g. de muestra, colocarlos en una estufa a 110 °C por 2 horas. Por la diferencia de peso se obtiene la humedad de la muestra y luego se lleva a porcentaje. La determinación de materia seca se hace por diferencia de peso entre el peso inicial de la muestra (100%) Y el porcentaje de humedad hallada, obteniéndose de esta manera y en forma directa el porcentaje de materia seca.

Cálculos:

1. Peso del Vaso
2. Peso Total = Peso de vaso + Peso de la muestra
3. Peso Final = después que sale de la estufa

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso Total} - \text{peso final}}{\text{peso muestra}} \times 100$$

2. DETERMINACIÓN DE CENIZA

La muestra se incinera a 650 °C para quemar todo el material orgánico. El material inorgánico, que no se destruye a esta temperatura se la llama ceniza.

Reactivos y equipos de laboratorio:

- Ácido Sulfúrico concentrado.
- Catalizador (sulfato de potasio (1g.)) + sulfato de cobre (0.25gr)
- Ácido Bórico + indicador de pH
- Ácido Clorhídrico, aprox. 0.05N
- Balones de digestión.
- Erlemeyer.
- Cocina de digestión
- Aparato de destilación de Kjeldahl
- Bureta

Procedimiento:

Pesar 0.2 –0.3 gramos de muestra, luego agregar 1 gramo de catalizador de oxidación (mezcla de sulfato de potasio y sulfato de cobre). Para acelerar la reacción limpiar con un poco de agua el cuello del balón de digestión. Agregar 3 mL de ácido sulfúrico concentrado y colocar el balón en la cocina de digestión. La digestión termina cuando el contenido del balón esta completamente cristalino (si es necesario añadir gtss de peróxido) esto es cuando la digestión es muy lenta y difícil.

Colocar la muestra digerida en el aparato de destilación, agregar 5 mL de hidróxido de sodio concentrado e inmediatamente conectar el vapor para que se produzca la destilación. Conectar el refrigerante y recibir el destilado en un erlemeyer de 125 mL conteniendo 5mL de la mezcla de ácido bórico más indicadores de pH. La destilación termina cuando ya no pasa más amoníaco y hay viraje con ácido clorhídrico valorado.(aprox. 0.05N). Anotar el gasto.

Cálculos:

La cantidad de nitrógeno de la muestra se obtiene por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de nitrógeno} = \frac{\text{mL HCl} \times \text{Normalidad} \times \text{Meq. del N} \times 100}{\text{Gramos de muestra}}$$

Para obtener la cantidad de proteína bruta, se multiplica por el factor 6.25

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno} \times 6.25$$

El proceso dura 3 horas. El matraz debe sacarse del aparato cuando contiene poco hexano o éter (momentos antes de que este sea sifoneado desde el cuerpo).

Evaporar el hexano remanente en el balón en una estufa y enfriarla en una campana que contenga sustancias deshidratantes.

Cálculos:

$$\% \text{ Extracto Etéreo: } \frac{\text{peso balón con EE} - \text{peso balón vacío}}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$

5. DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA

Determinar el porcentaje de fibra cruda. La fibra cruda se determina eliminando los carbohidratos solubles por hidrólisis a compuestos más simples (azúcares) mediante la acción de los ácidos y álcalis débiles en caliente, y las cenizas (por diferencia de peso después de la ignición de la materia fibrosa obtenida).

Reactivos y Equipos de laboratorio:

- Ácido sulfúrico 1.25%
- Hidróxido de sodio 1.25%
- Etanol
- Agua destilada
- Vasos de 600 mL.
- Papel de filtro
- Cápsula de porcelana
- Bomba de vacío
- Estufa
- Estufa
- Mufla
- Cocina eléctrica

DETERMINACIÓN DEL pH Y SÓLIDOS SOLUBLES

1. **DETERMINACIÓN DE pH:** Estas dos letras significan: “potencial de hidrogeniones”, y son el símbolo convencional utilizado como medida del grado de acidez o alcalinidad de la muestra. El rango de pH va desde cero a catorce; un valor por debajo de 7 representa una disolución ácida, 7 una disolución neutra y por encima de 7 una disolución alcalina.

El pH de una disolución puede ser medido con mayor exactitud usando un **pHmetro**, un aparato electrónico, que consta de un electrodo que se introduce en la disolución de pH desconocida. En líneas generales, el funcionamiento del pHmetro se basa en que el electrodo contiene una disolución ácida encerrada en una membrana de vidrio especial que permite la migración de los iones H_3O^+ . Si la disolución desconocida tiene un pH diferente a la disolución dentro del electrodo, se establece una diferencia de potencial, la cual se registra en la escala de pH que presenta el equipo. El pHmetro permite medir el pH con una precisión de 2 cifras decimales.

Procedimiento:

1. Encender el equipo y calibrarlo (soluciones buffer), considerar la temperatura.
2. En un recipiente limpio colocar la solución a muestrear.
3. Introducir el electrodo del pHmetro en la solución y leer el pH de la muestra. Anotar.
4. Repetir el procedimiento y luego limpiar el electrodo con agua destilada, secarlo después de terminar con papel tisú para volver a guardarlo.

2. **DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES:** El contenido de sólidos solubles se determina con el índice de refracción. Este método se emplea mucho en la elaboración de frutas y hortalizas, para determinar la concentración

Anexo III. Método de pH diferencial

El principio del método se basa en el cambio reversible del color con el pH, de los pigmentos monoméricos antocianina. La forma coloreada oxonium (catión flavilium) existe a pH 1,0 y la forma hemiacetal incolora (pseudo-base carbinol) predomina a pH 4,5. La diferencia de absorbancia de estos pigmentos a 520 nm es proporcional a la concentración del pigmento en la solución.

Las antocianinas degradadas son resistentes al cambio de color con el pH, por lo que no serán incluidas en la medición, puesto que absorben la misma cantidad de luz a pH 4,5 que a pH 1,0.

A. Procesos para la preparación de los reactivos:

a. **Buffer pH 1,0** (cloruro de potasio 0,025 M).- Pesar 1,86 g de KCl en un beaker, agregar agua hasta los 980 ml. Medir el pH y ajustar a 1,0 con HCl concentrado (toma alrededor de 6,3 mL). Transferir a una probeta de 1 L y enrasar con agua destilada.

b. **Buffer pH 4,5** (acetato de sodio 0,4 M).- Pesar 54,43 g de $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en un beaker, agregar 960 mL de agua destilada. Medir el pH y ajustar a 4,5 con HCl concentrado (toma alrededor de 20 mL). Transferir a una probeta de 1 L y enrasar con agua destilada.

B. Procesos para la preparación de las muestras:

a. Realizar las diluciones en un beaker de 50 mL usando pipetas volumétricas. El volumen máximo de muestra a agregar no debe ser mayor de 10 mL (1 parte de muestra, 4 partes de buffer), de tal forma que no se exceda la capacidad tampón del buffer.

b. Determinar el factor de dilución apropiado para la muestra al diluir con el buffer pH 1,0 hasta que la absorbancia a 520 nm de la muestra diluida este en el rango lineal del espectrofotómetro (para la mayoría de espectrofotómetros, la absorbancia

Recomendaciones en el uso del método:

- El pH de los buffers debe ser revisado y ajustado siempre antes de usarlo. El uso de los buffers con menores o mayores valores de pH resultará en una sobre o subestimación del contenido de pigmentos.
- La precisión de los resultados estará fuertemente ligada a la precisión de las medidas volumétricas. Asegurar que toda pipeta o frasco volumétrico usado para las diluciones apropiadas esté calibrado correctamente.
- Todas las mediciones espectrales deben ser hechas entre los 15 min y 1 hora luego de que las diluciones han sido preparadas. Las lecturas observadas tienden a incrementarse con el tiempo.
- Cuando se trabaja con muchas muestras diferentes, es aceptado el uso de una longitud de onda máxima aproximada que es típica para todas las muestras (por ejemplo 520 nm).
- Una serie de diluciones es recomendada para asegurar medidas precisas para muestras concentradas, de alta densidad o secas. Los factores de dilución deben ser considerados al momento de los cálculos.
- Algunos materiales de interferencia pueden ser otros pigmentos rojos: FD&C® Red No 40, FD&C® Red No 3, cochinilla y betalainas. Se puede sospechar de la presencia de colorantes alternativos cuando la $\lambda_{vis-max}$ a pH 1,0 es alta (550 nm, típica de los pigmentos betalaina), o si una coloración rojo brillante se encuentra a pH 4,5 (potencial presencia de colorantes artificiales).

Anexo 04

Ordenación ("Ranking Test")

FICHA N° 11

PRUEBA DE ORDENACIÓN

NOMBRE:.....

FECHA:.....

Observe las 4 muestras de izquierda a derecha ordénelas en relación a la intensidad de color de acuerdo con los valores:

1 = Poco intenso y 4 = Muy intenso

MUESTRA	NÚMERO DE LA ORDENACIÓN
A	_____
B	_____
C	_____
D	_____

COMENTARIOS:.....

.....

Anexo 05

Resultados de análisis sensorial por ordenación (ranking test)

JUECES	MUESTRAS			
	A	B	C	D
1	1	3	4	2
2	1	2	4	3
3	2	4	4	1
4	2	3	3	1
5	2	4	4	2
6	1	2	3	2
7	1	2	4	3
8	1	3	3	3
9	2	3	4	2
Total	13	26	33	19

ANEXO 06

Análisis de varianza univariante

Factores inter-sujetos		
		N
Temperatura	15,00	9
	30,00	9
	40,00	9
pH	3,00	9
	3,50	9
	4,50	9

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Antocianinas

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	239,986 ^a	8	29,998	1356702,513	,000
Intersección	3294,779	1	3294,779	1,490E8	,000
Temperatura	81,686	2	40,843	1847166,332	,000
pH	143,559	2	71,779	3246300,000	,000
Temperatura * pH	14,741	4	3,685	166671,859	,000
Error	,000	18	2,211E-5		
Total	3534,765	27			
Total corregida	239,986	26			

a. R cuadrado = 1.000 (R cuadrado corregida = 1.000)

ANOVA de un factor

ANOVA

Antocianinas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	370,527	9	41,170	2068830,151	,000
Intra-grupos	,000	20	,000		
Total	370,528	29			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Antocianinas

HSD de Tukey

(I) Tratamientos	(J) Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1,00	2,00	-,68000*	,00364	,000	-,6929	-,6671
	3,00	-4,05000*	,00364	,000	-4,0629	-4,0371
	4,00	-,53000*	,00364	,000	-,5429	-,5171
	5,00	-5,14000*	,00364	,000	-5,1529	-5,1271
	6,00	-5,41000*	,00364	,000	-5,4229	-5,3971
	7,00	-5,46000*	,00364	,000	-5,4729	-5,4471
	8,00	-6,74000*	,00364	,000	-6,7529	-6,7271
	9,00	-9,31000*	,00364	,000	-9,3229	-9,2971
	10,00	-11,10000*	,00364	,000	-11,1129	-11,0871
2,00	1,00	,68000*	,00364	,000	,6671	,6929
	3,00	-3,37000*	,00364	,000	-3,3829	-3,3571
	4,00	,15000*	,00364	,000	,1371	,1629
	5,00	-4,46000*	,00364	,000	-4,4729	-4,4471
	6,00	-4,73000*	,00364	,000	-4,7429	-4,7171
	7,00	-4,78000*	,00364	,000	-4,7929	-4,7671
	8,00	-6,06000*	,00364	,000	-6,0729	-6,0471
	9,00	-8,63000*	,00364	,000	-8,6429	-8,6171
	10,00	-10,42000*	,00364	,000	-10,4329	-10,4071
3,00	1,00	4,05000*	,00364	,000	4,0371	4,0629
	2,00	3,37000*	,00364	,000	3,3571	3,3829
	4,00	3,52000*	,00364	,000	3,5071	3,5329

	5,00	-1,09000*	,00364	,000	-1,1029	-1,0771
	6,00	-1,36000*	,00364	,000	-1,3729	-1,3471
	7,00	-1,41000*	,00364	,000	-1,4229	-1,3971
	8,00	-2,69000*	,00364	,000	-2,7029	-2,6771
	9,00	-5,26000*	,00364	,000	-5,2729	-5,2471
	10,00	-7,05000*	,00364	,000	-7,0629	-7,0371
4,00	1,00	,53000*	,00364	,000	,5171	,5429
	2,00	-,15000*	,00364	,000	-,1629	-,1371
	3,00	-3,52000*	,00364	,000	-3,5329	-3,5071
	5,00	-4,61000*	,00364	,000	-4,6229	-4,5971
	6,00	-4,88000*	,00364	,000	-4,8929	-4,8671
	7,00	-4,93000*	,00364	,000	-4,9429	-4,9171
	8,00	-6,21000*	,00364	,000	-6,2229	-6,1971
	9,00	-8,78000*	,00364	,000	-8,7929	-8,7671
	10,00	-10,57000*	,00364	,000	-10,5829	-10,5571
5,00	1,00	5,14000*	,00364	,000	5,1271	5,1529
	2,00	4,46000*	,00364	,000	4,4471	4,4729
	3,00	1,09000*	,00364	,000	1,0771	1,1029
	4,00	4,61000*	,00364	,000	4,5971	4,6229
	6,00	-,27000*	,00364	,000	-,2829	-,2571
	7,00	-,32000*	,00364	,000	-,3329	-,3071
	8,00	-1,60000*	,00364	,000	-1,6129	-1,5871
	9,00	-4,17000*	,00364	,000	-4,1829	-4,1571
	10,00	-5,96000*	,00364	,000	-5,9729	-5,9471
6,00	1,00	5,41000*	,00364	,000	5,3971	5,4229
	2,00	4,73000*	,00364	,000	4,7171	4,7429
	3,00	1,36000*	,00364	,000	1,3471	1,3729
	4,00	4,88000*	,00364	,000	4,8671	4,8929
	5,00	,27000*	,00364	,000	,2571	,2829
	7,00	-,05000*	,00364	,000	-,0629	-,0371
	8,00	-1,33000*	,00364	,000	-1,3429	-1,3171
	9,00	-3,90000*	,00364	,000	-3,9129	-3,8871
	10,00	-5,69000*	,00364	,000	-5,7029	-5,6771
7,00	1,00	5,46000*	,00364	,000	5,4471	5,4729
	2,00	4,78000*	,00364	,000	4,7671	4,7929
	3,00	1,41000*	,00364	,000	1,3971	1,4229
	4,00	4,93000*	,00364	,000	4,9171	4,9429
	5,00	,32000*	,00364	,000	,3071	,3329

	6,00	,05000*	,00364	,000	,0371	,0629
	8,00	-1,28000*	,00364	,000	-1,2929	-1,2671
	9,00	-3,85000*	,00364	,000	-3,8629	-3,8371
	10,00	-5,64000*	,00364	,000	-5,6529	-5,6271
8,00	1,00	6,74000*	,00364	,000	6,7271	6,7529
	2,00	6,06000*	,00364	,000	6,0471	6,0729
	3,00	2,69000*	,00364	,000	2,6771	2,7029
	4,00	6,21000*	,00364	,000	6,1971	6,2229
	5,00	1,60000*	,00364	,000	1,5871	1,6129
	6,00	1,33000*	,00364	,000	1,3171	1,3429
	7,00	1,28000*	,00364	,000	1,2671	1,2929
	9,00	-2,57000*	,00364	,000	-2,5829	-2,5571
	10,00	-4,36000*	,00364	,000	-4,3729	-4,3471
9,00	1,00	9,31000*	,00364	,000	9,2971	9,3229
	2,00	8,63000*	,00364	,000	8,6171	8,6429
	3,00	5,26000*	,00364	,000	5,2471	5,2729
	4,00	8,78000*	,00364	,000	8,7671	8,7929
	5,00	4,17000*	,00364	,000	4,1571	4,1829
	6,00	3,90000*	,00364	,000	3,8871	3,9129
	7,00	3,85000*	,00364	,000	3,8371	3,8629
	8,00	2,57000*	,00364	,000	2,5571	2,5829
	10,00	-1,79000*	,00364	,000	-1,8029	-1,7771
V.R	1,00	11,10000*	,00364	,000	11,0871	11,1129
	2,00	10,42000*	,00364	,000	10,4071	10,4329
	3,00	7,05000*	,00364	,000	7,0371	7,0629
	4,00	10,57000*	,00364	,000	10,5571	10,5829
	5,00	5,96000*	,00364	,000	5,9471	5,9729
	6,00	5,69000*	,00364	,000	5,6771	5,7029
	7,00	5,64000*	,00364	,000	5,6271	5,6529
	8,00	4,36000*	,00364	,000	4,3471	4,3729
	9,00	1,79000*	,00364	,000	1,7771	1,8029

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Subconjuntos homogéneos

Antocianinas

HSD de Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1,00	3	6,9000									
4,00	3		7,4300								
2,00	3			7,5800							
3,00	3				10,9500						
5,00	3					12,0400					
6,00	3						12,3100				
7,00	3							12,3600			
8,00	3								13,6400		
9,00	3									16,2100	
V.R	3										18,0000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

Anexo 07

Análisis de varianza univariante

Factores inter-sujetos		
		N
Temperatura	180,00	6
	190,00	6
Encapsulante	3,00	6
	5,00	6

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Antocianinas

Origen	Suma de cuadrados III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	8,345 ^a	3	2,782	6181,238	,000
Intersección	53541,269	1	53541,269	1,190E8	,000
Temperatura	5,339	1	5,339	11863,707	,000
Encapsulante	3,006	1	3,006	6680,007	,000
Temperatura *	,000	1	,000	,000	1,000
Encapsulante					
Error	,004	8	,000		
Total	53549,617	12			
Total corregida	8,348	11			

a. R cuadrado = 1.000 (R cuadrado corregida = .999)

ANOVA de un factor

ANOVA

Antocianinas

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	32,974	4	8,244	22898,931	,000
Intra-grupos	,004	10	,000		
Total	32,978	14			

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Antocianinas

HSD de Tukey

(I) Tratamientos	(J) Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1,00	2,00	1,33400*	,01549	,000	1,2830	1,3850
	3,00	1,00100*	,01549	,000	,9500	1,0520
	4,00	2,33500*	,01549	,000	2,2840	2,3860
	5,00	-2,03600*	,01549	,000	-2,0870	-1,9850
2,00	1,00	-1,33400*	,01549	,000	-1,3850	-1,2830
	3,00	-,33300*	,01549	,000	-,3840	-,2820
	4,00	1,00100*	,01549	,000	,9500	1,0520
	5,00	-3,37000*	,01549	,000	-3,4210	-3,3190
3,00	1,00	-1,00100*	,01549	,000	-1,0520	-,9500
	2,00	,33300*	,01549	,000	,2820	,3840
	4,00	1,33400*	,01549	,000	1,2830	1,3850
	5,00	-3,03700*	,01549	,000	-3,0880	-2,9860
4,00	1,00	-2,33500*	,01549	,000	-2,3860	-2,2840
	2,00	-1,00100*	,01549	,000	-1,0520	-,9500
	3,00	-1,33400*	,01549	,000	-1,3850	-1,2830
	5,00	-4,37100*	,01549	,000	-4,4220	-4,3200
V.R	1,00	2,03600*	,01549	,000	1,9850	2,0870
	2,00	3,37000*	,01549	,000	3,3190	3,4210
	3,00	3,03700*	,01549	,000	2,9860	3,0880
	4,00	4,37100*	,01549	,000	4,3200	4,4220

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Subconjuntos homogéneos

Antocianinas

HSD de Tukey^a

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
4,00	3	65,6290				
2,00	3		66,6300			
3,00	3			66,9630		
1,00	3				67,9640	
V.R	3					70,0000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

Anexo 08

ANOVA unidireccional: Color vs. T°(°C)

Fuente	GL	SC	CM	F	P
T°(°C)	1	4.69	4.69	4.66	0.038
Error	34	34.28	1.01		
Total	35	38.97			

S = 1.004 R-cuad. = 12.05% R-cuad.(ajustado) = 9.46%

ANOVA unidireccional: Color vs. Encapsul(%)

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Encapsul(%)	1	20.250	20.250	36.77	0.000
Error	34	18.722	0.551		
Total	35	38.972			

S = 0.7421 R-cuad. = 51.96% R-cuad.(ajustado) = 50.55%

Análisis de varianza de Color

Fuente	GL	SC	Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Regresión	3	24.9722		24.9722	8.3241	19.03	0.000
Lineal	2	24.9444		24.9444	12.4722	28.51	0.000
T°(°C)	1	4.6944		4.6944	4.6944	10.73	0.003
Encapsul(%)	1	20.2500		20.2500	20.2500	46.29	0.000
interacción	1	0.0278		0.0278	0.0278	0.06	0.803
T°(°C)*Encapsul(%)	1	0.0278		0.0278	0.0278	0.06	0.803
Error residual	32	14.0000		14.0000	0.4375		
Error puro	32	14.0000		14.0000	0.4375		
Total	35	38.9722					

Regresión de superficie de respuesta: Color vs. T°(°C), Encapsul(%)

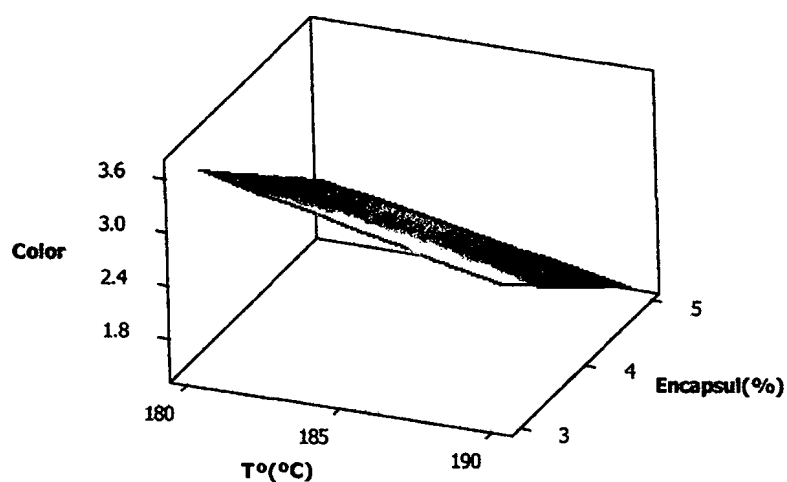
El análisis se realizó utilizando unidades codificadas.

Coefficientes de regresión estimados de Color

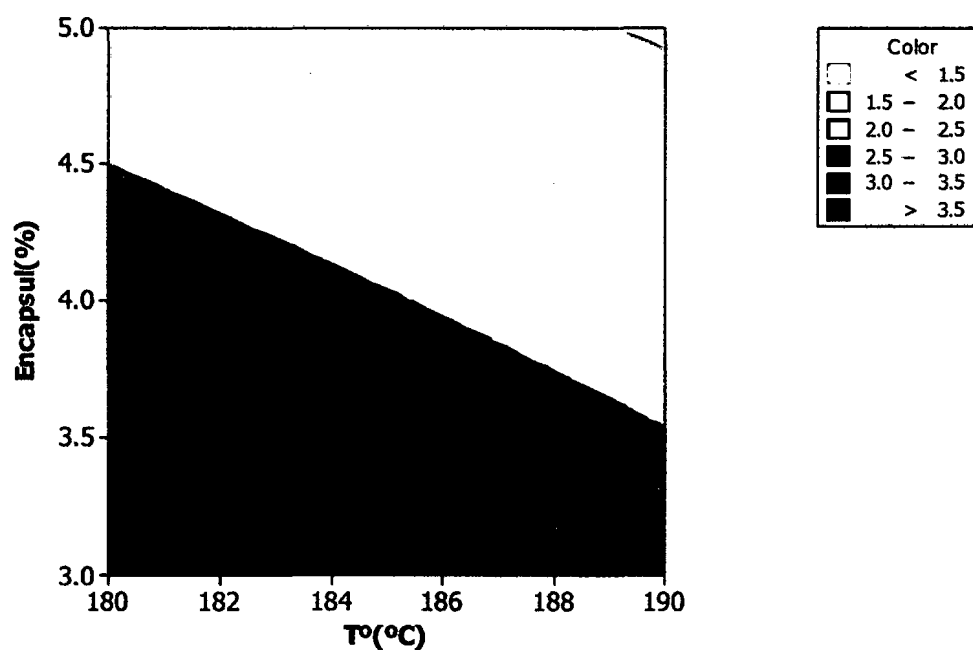
Término	Coef	EE del coef.	T	P
Constante	2.52778	0.1102	22.930	0.000
T°(°C)	-0.36111	0.1102	-3.276	0.003
Encapsul(%)	-0.75000	0.1102	-6.803	0.000
T°(°C)*Encapsul(%)	0.02778	0.1102	0.252	0.803



Gráfica de superficie de Color vs. Encapsul(%), $T^{\circ}(\text{°C})$



Gráfica de contorno de Color vs. Encapsul(%), $T^{\circ}(\text{°C})$



Anexo 09

