

## CAPÍTULO 7

### 7.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 7.1.1 Caracterización fisicoquímica

Se determinó el largo, ancho, peso, pH, acidez total, sólidos solubles e índice de madurez de la zarzamora (**Tabla 11**). Para cada una de las pruebas realizadas se utilizó zarzamora congelada, la materia prima fue descongelada y molida para poder realizar las pruebas mencionadas.

Todas las determinaciones se hicieron por triplicado. Los valores para cada una de las determinaciones se presentan en el Apéndice A.

**Tabla 11.** Caracterización fisicoquímica de zarzamora *Rubus fruticosus* (media  $\pm$  DE, n=3).

Largo (cm)	Ancho(cm)	Peso(g)	pH	%Acidez total	°Brix	Índice de madurez
1.99 $\pm$ 0.30	1.79 $\pm$ 0.14	4.39 $\pm$ 0.35	3.65 $\pm$ 0.11	4.27 $\pm$ 0.33	8.16 $\pm$ 0.28	1.88 $\pm$ 0.30

La caracterización fisicoquímica de este estudio concuerdan con los valores reportados por Cajuste *et al.* (2000) a la zarzamora. Este autor muestra valores, para zarzamora, de pH, %acidez, °Brix e índice de madurez de 3.1, 3.92, 8.0 y 2.04 respectivamente; como se puede observar, existen algunas diferencias en cuanto a los valores obtenidos y los reportados, esto se le puede atribuir a que las muestras analizadas no tienen el mismo grado de madurez que las estudiadas por Cajuste *et al* (2000). Además debe 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. Par el índice de madurez obtenido se puede decir que la zarzamora presenta un índice de madurez comercial, es decir, que se encuentra en condiciones óptimas para su consumo.

### 7.1.2 Extracción de antocianinas

Inicialmente, la extracción de antocianinas y otros compuestos fenólicos se realizó a 25°C. Se utilizaron cinco sistemas de extracción: agua, etanol (96%), mezcla de etanol-agua (70:30), mezcla de etanol-agua (50:50), mezcla de etanol:agua acidificados, etanol 96%:HCl 1.5N(85:15).

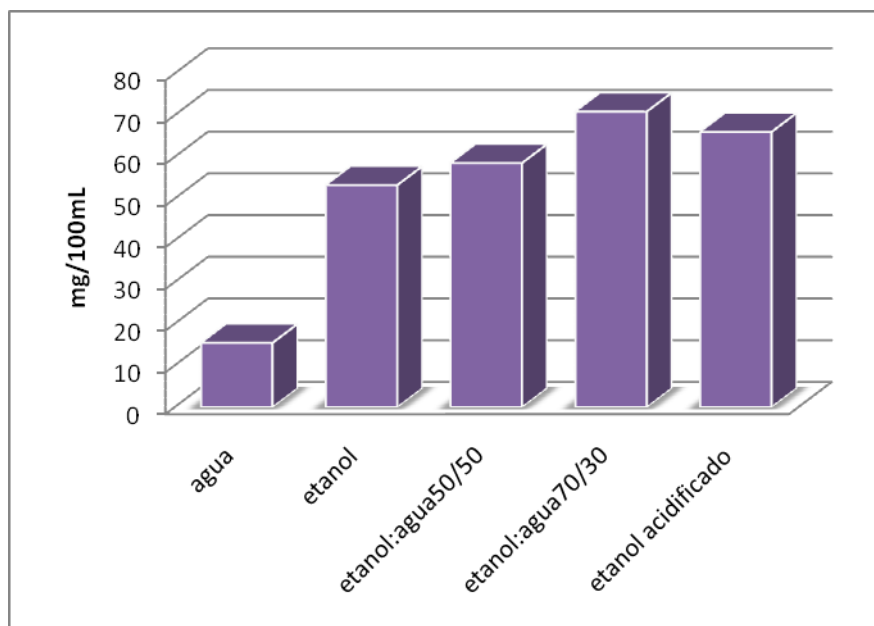
Se obtuvo que el sistema en el cual se utilizó etanol-agua 70:30 presentó mejores rendimientos en cuanto a la cantidad de AT, FT y capacidad antioxidante. En la **Tabla 12** se muestran los cinco sistemas de extracción utilizados en la investigación.

**Tabla 12.** Sistemas de extracción

Sistema	Disolvente
1	Agua
2	Etanol (96%)
3	Etanol-agua (50:50)
4	Etanol-agua (70:30)
5	Etanol HCl 1.5N (85:15)

### 7.1.3 Determinación de antocianinas y fenoles totales

La **Figura 10** muestra el contenido de antocianinas monoméricas totales (AT), para cada uno de los sistemas de extracción, obtenidos a partir de zarzamora congelada. Los datos para la elaboración del gráfico se muestran en el Apéndice C.



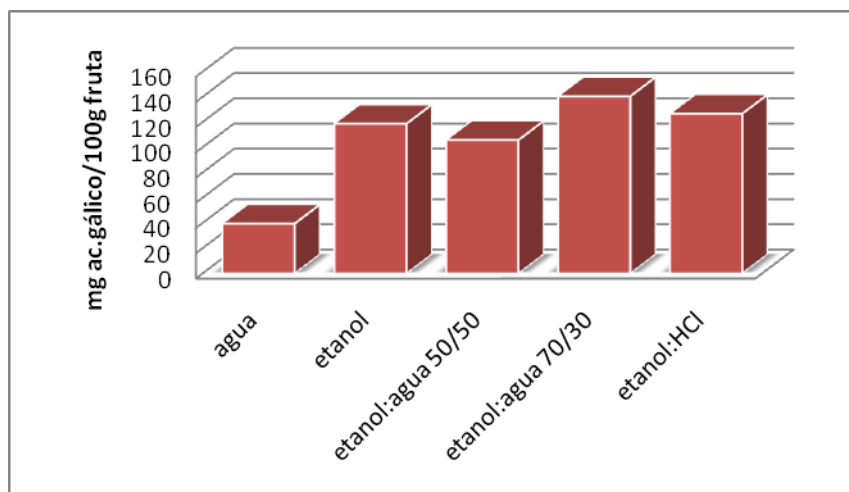
**Figura 10.** Antocianinas monoméricas totales (AT) contenidas en sistemas de extracción

A los resultados obtenidos para cada uno de los sistemas se les hizo un análisis de varianza (ANOVA) para saber si existe diferencia significativa o no entre los sistemas utilizados. Se trabajó con una prueba de confianza al 95% ( $p < 0.05$ ).

De acuerdo al ANOVA realizado, se puede decir que existe diferencia significativa entre el sistema 1 y el resto de los sistemas.

También se realizó una prueba de Tukey (95%) para saber si hay diferencia significativa entre sistemas. Existe una diferencia significativa entre el sistema 3 y el sistema 5 (Apéndice H).

La **Figura 11** muestra el contenido de fenoles totales (FT), para cada uno de los sistemas de extracción, obtenidos a partir de zarzamora congelada.



**Figura 10.** Fenoles totales (FT) obtenidos para cada uno de los sistemas de extracción

Como se puede observar, el sistema de etanol-agua 70:30 presenta resultados más altos para antocianinas monoméricas totales y fenoles totales, 64.66mg/100mL y 104.43mg ácido gálico/100g fruta respectivamente, es decir utilizando este sistema se obtienen más antocianinas y fenoles totales zarzamora. El sistema de extracción menos eficiente fue el sistema etanol-agua 70:30, para AT se obtuvo 15.42 mg/100mL de extracto y para FT 39.46mg de ácido gálico/mL. Existe diferencia significativa entre el sistema 1 y el resto de los sistemas ( $p < 0.05$ ).

En la **Tabla 13** se muestran los contenidos de antocianinas monoméricas totales y fenoles totales reportados por Wang *et al.*, (2000) obtenidos para zarzamora variedad “black stain”.

**Tabla 13.** Valores reportados de antocianinas monoméricas totales y fenoles totales de zarzamora. (Wang, Lin, 2000)

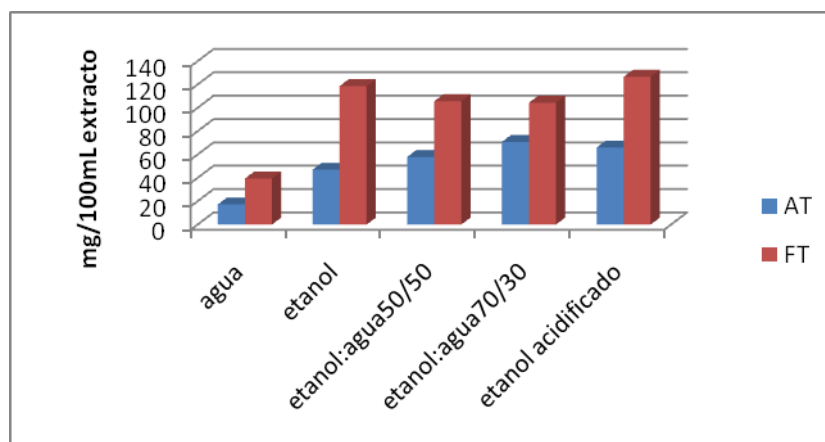
AT	FT
(mg/100ml)	(mg ácido gálico/100g)
152.8	226.1

Según Wang y Lin (2000), el contenido de fenoles totales en un híbrido de blackberry, de características similares a la utilizada en esta investigación, determinado mediante el método de Folin Ciocalteu, fue de 226.1mg de ácido gálico/100g fruta y

utilizando el método de pH diferencial para antocianinas fue de 152.8mg/100ml, 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 a partir de fruta fresca y utilizando como sistema de extracción 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.

Sin embargo, existen otros estudios en los cuales utilizan zarzamora congelada y el valor obtenido es de 180.5 mg ácido gálico/100g fruta (Aravena, N. y Solagne, G., 2000), este valor es más cercano al obtenido en este investigación. Se han reportado valores para mora azul, los valores reportados por Jiménez (2008) fueron obtenidos bajo las mismas condiciones de extracción, utilizando como disolvente etanol-agua 70:30 obtuvo 93.84mg/mL y 170.61mg ácido gálico/100g de fruto para antocianinas monoméricas totales y fenoles totales respectivamente. Por lo que se puede decir que la mora azul es una fruta rica en compuestos fenólicos, incluso más que la zarzamora.

En la **Figura 11** se puede observar de forma comparativa el contenido de antocianinas monoméricas totales y fenoles totales presentes en zarzamora congelada extraídos a 25°C.

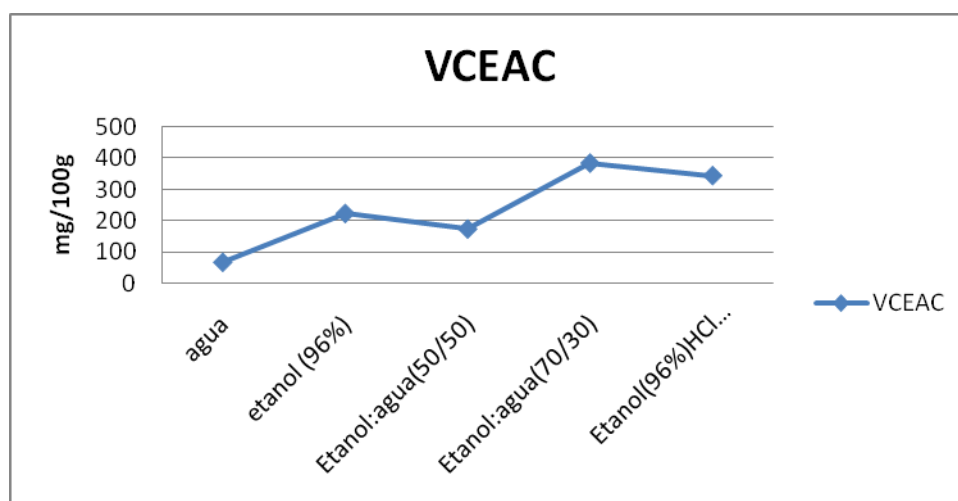


**Figura 11.** Antocianinas monoméricas totales y fenoles totales presentes en zarzamora obtenidos en diferentes sistemas de extracción

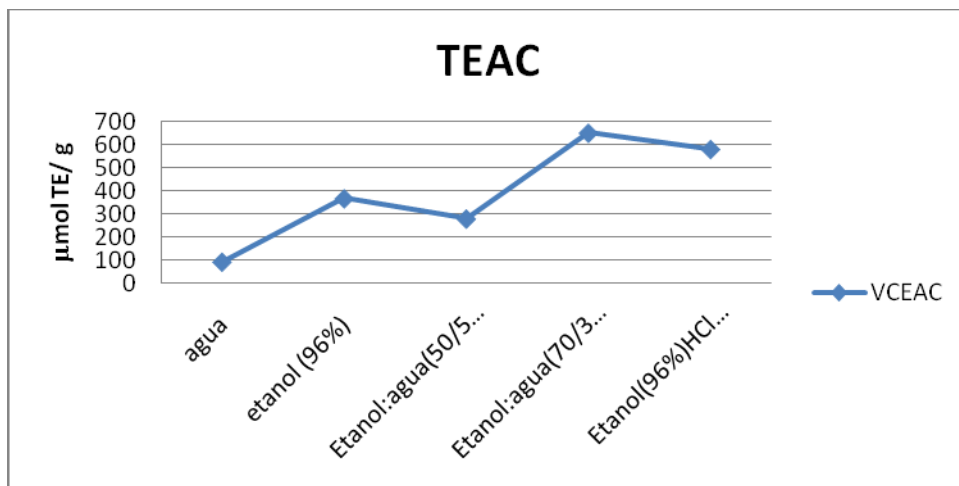
#### 7.1.4 Determinación de la capacidad antioxidante del extracto

Debido a la complejidad de los procesos de oxidación y antioxidación, es obvio que no existe un único método de prueba que refleje de forma completa el perfil antioxidante de las muestras estudiadas, sin embargo, se eligió el que se basa en la utilización del ABTS, debido a que presenta una excelente estabilidad química, reproducibilidad y viabilidad económica (Kuskoski,2005).

Como se observa en la **Figura 13** el sistema etanol-agua 70:30 es que presenta mejores resultados en actividad antioxidante equivalente al ácido ascórbico (VCEAC). Además, también presenta mejores resultados en cuanto a la actividad antioxidante equivalente al Trolox **Figura 14**.



**Figura 13.** Actividad antioxidante equivalente al ácido ascórbico (VCEAC) en los sistemas de extracción



**Figura 14.** Actividad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) en los sistemas de extracción

La evaluación de la capacidad antioxidante de antocianinas usando el método ABTS y expresando los resultados como TEAC y VCEAC es un método de primera (Miller, *et al.*, 1993). Muchos compuestos fenólicos son responsables de la capacidad antioxidante de frutas y hortalizas (Rice, *et al.*, 1996). De los sistemas de extracción utilizados el sistema etanol-agua (70:30) fue el que presentó mejores resultados dando valores para VCEAC de 383.46mg/100g y para TROLOX 651.83mmol TE/g.

La capacidad antioxidante puede estar relacionada con el contenido de compuestos fenólicos presentes en las muestras. De acuerdo a Sellappan *et al* (2002), a mayor contenido de polifenoles se tienen valores más altos para TEAC, y la reducción de polifenoles disminuye el valor de TEAC.

Es por esto que se puede decir que los resultados obtenidos para TEAC y VCEAC son adecuados, debido a que la cantidad de antocianinas y fenoles totales presentes en el sistema elegido dieron los resultados más altos, por lo tanto a mayor cantidad de fenoles mayor será la actividad antioxidante del fruto utilizado en este estudio.

### 7.1.5 Color

Se puede hablar de la calidad de un producto por su apariencia, si bien el aspecto es uno de los papeles más importantes en la calidad de un alimento no siempre constituye un indicador del estado interno y tampoco de los cambios que sufran durante la maduración.

En la **Tabla 14** se presentan los valores para parámetros colorimétricos L\*, a\* y b\* obtenidos de los extractos utilizados en esta investigación.

**Tabla 14.** Parámetros de color de los sistemas de extracción a 25°C (media ± DE, n=3).

Sistema	Extractante	L	a*	b*
1	Agua	16.80±0.48a	36.64±3.02c	8.93±0.54a
2	Etanol	21.61±1.01c	47.43±1.44b	11.74±0.70b
3	Etanol:agua 50/50	11.15±1.05b	24.25±1.82a	6.086±0.74a
4	Etanol:agua 70/30	19.70±2.17c	42.04±2.09c	11.19±1.37b
5	Etanol acidificado	22.22±0.68c	49.03±1.06b	12.66±0.53c

Los parámetros presentados en la con anterioridad muestran que el sistema en el cual se utilizó agua como disolvente, tiene el valor más bajo de L\* (luminosidad) esto quiere decir que fue el extracto más oscuro de todos los sistemas, ya que el valor de L\* este más cercano a 100 implica que el pigmento es muy claro por el contrario a valores de L\* alejados de 100 el pigmento es más oscuro.

También, se puede decir que existe diferencia significativa entre el sistema 1 y el 2, estos sistemas muestran diferencias significativas en comparación con el resto de los sistemas (p<0.05).



Ryall y Pentzer (1974), señalan que la zarzamora en estado para el consumo en fresco debe presentar características que son atribuibles a la calidad de un fruto, como el brillo del fruto.

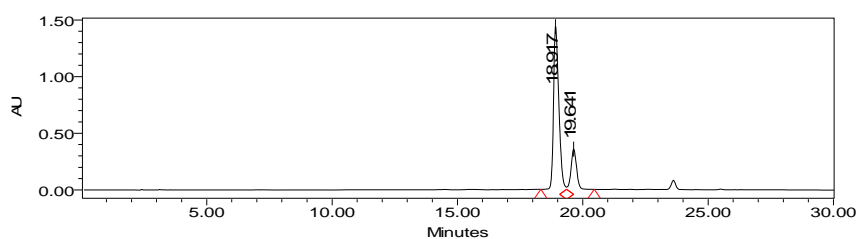
Cajuste *et al* (1994) trabajó con diferentes cultivares de zarzamora: Shawnee, Cheyenne y Cherokee, estos cultivares presentaron un promedio de  $L^*$  de 14 a 17 medidos en la escala Hunter, estos valores dependieron de el cultivo y maduración.

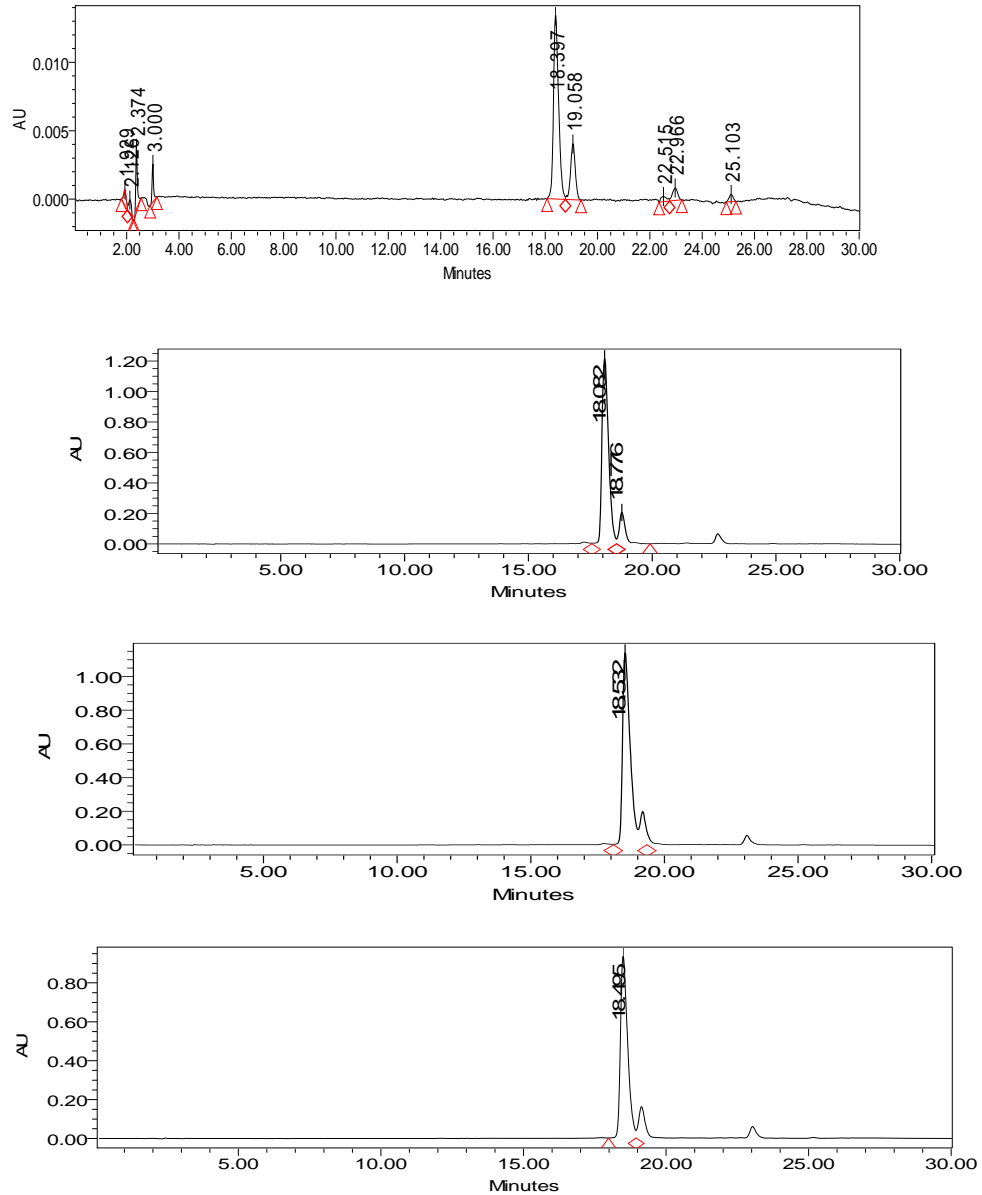
Es por eso que se puede tomar como referencia el valor para  $L^*$  presentado por Cajuste y se puede observar que el sistema en el que se utilizó agua como solvente se encuentra dentro del rango de valores mencionados por dicho autor.

#### 7.1.6 Determinación de antocianinas por HPLC

Se realizó un análisis cualitativo de los extractos, este análisis se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en un cromatógrafo Waters con detector de multidiodos siguiendo la metodología descrita por (Wrolstad *et al.*, 1994). Se obtuvieron los cromatogramas de todos los sistemas con los que trabajó, sin embargo solo se presenta el perfil del sistema que presentó mejores resultados, etanol: agua 70/30, (Apéndice F).

En la **Figura 15** se muestran los cromatogramas obtenidos los sistemas con los que se trabajo en la investigación.





**Figura 15.** Cromatogramas de sistemas: agua, etanol (96%), etanol-agua (50:50) (70:30), etanol (96%) HCl 1.5N (85:15).

La identificación de las antocianinas se basa principalmente en la comparación de su tiempo de retención (Huopalahti, 2000).

Se han hecho diversos análisis por cromatografía para la identificación de antocianinas presentes en berries, como ya se mencionó con anterioridad, la zarzamora pertenece a este grupo.

La zarzamora es un fruto perteneciente al género *Rubus*, en este tipo de especies la antocianina que se encuentra en mayor cantidad es cianidin-3- glucósido (Versari, *et al.*, 1997).

En un estudio realizado por Dugo *et al.* (2001), se identificaron, a parte de cianidin-3-glucósido, cianidin-3-O-galactosido, cianidin-3-O-arabinosa y malvidin-3-O-glucósido en menor proporción.

El la **Figura 15** se muestran los cromatogramas de los extractos utilizados en la investigación, en estos se puede observar que hay dos picos que sobresalen de todos los demás esto se puede interpretar como que son los componentes principales en la zarzamora. De acuerdo al la longitud de onda a la que se realizó la prueba (520nm) y los tiempos de retención se puede decir que el componente principal ha sido identificado como cianidin-3-glucósido (Wu, *et al.*, 2005).

En la **Tabla 15** se muestran los tiempos de retención, el área y el porcentaje de área bajo la curva obtenida de los cromatogramas de cada sistema para los picos principales. Stintzing *et al.*, (2002) obtuvo un área bajo el pico a 520nm de 82.6% para cianidin-3-glucosido, compuesto principal en zarzamora, se puede observar que los porcentajes obtenidos para cada sistema son cercanos a los valores reportados en la literatura.

**Tabla 15.** Área bajo la curva y tiempos de retención para sistemas de extracción

Sistema	TR	% área pico a 520nm	Proporción de área relativa
AGUA	18.01	83.37	1:6
	18.72	16.63	
ETANOL (96%)	18.027	81.65	1:4
	18.775	18.35	

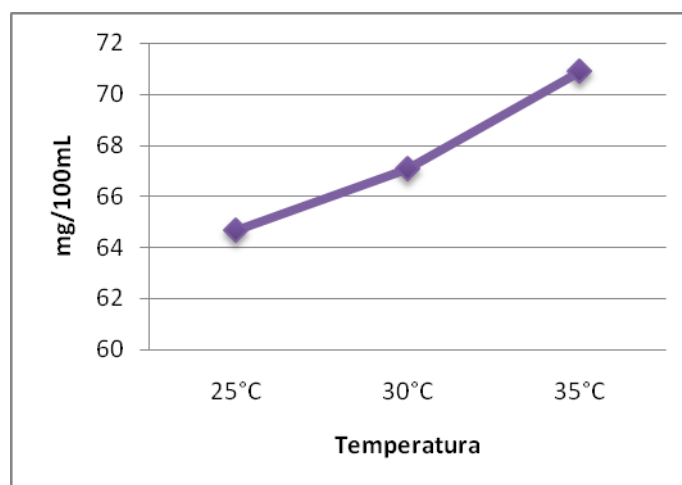
ETANOL-AGUA (50:50)	18.115	82.64	1:5
	18.791	17.36	
ETANOL-AGUA (70:30)	18.17	82.57	1:5
	18.814	17.43	
ETANOL ÁCIDO	18.236	84.91	1:6
	18.888	15.09	

TR: tiempos de retención

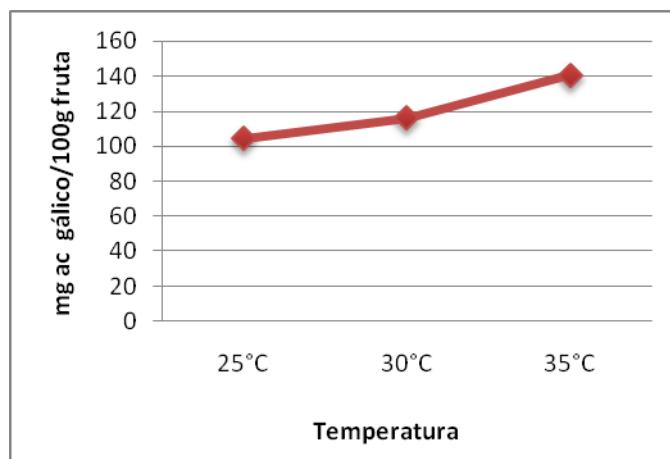
El sistema etanol-agua 70:30 presenta las mayores área bajo la curva, es decir este es el sistema que presenta mayor eficiencia en la investigación.

### 7.1.7 Efecto de la temperatura de extracción

Se eligió el sistema etanol-agua 70:30 para extraer a 30° y 35°C ya que fue el sistema que presentó mejores rendimientos en las pruebas realizadas a lo largo de este trabajo; los resultados de estas extracciones se muestran en las **Figura 16 y 17**.



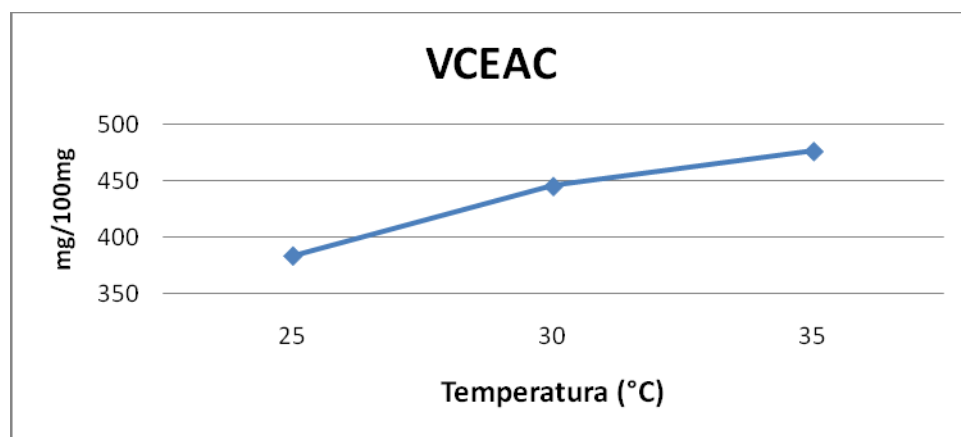
**Figura 15.** Efecto de la temperatura de extracción sobre el contenido de AT



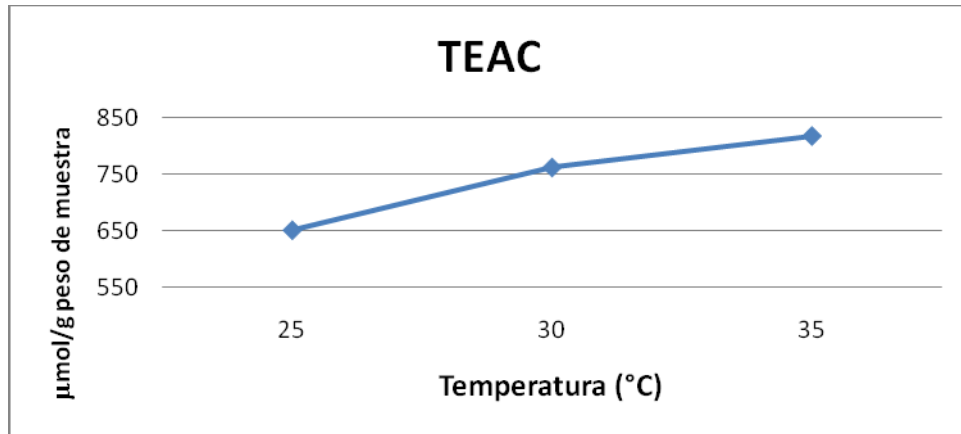
**Figura 16.** Efecto de la temperatura de extracción sobre el contenido de FT

Los valores de antocianinas monoméricas totales y fenoles totales aumentan conforme se aumenta la temperatura de extracción. Esto es debido a que a mayores temperaturas se obtiene una extracción más eficiente; 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 trabajó no degradan a las antocianinas ya que no excede los 40°C.

Para la capacidad antioxidante se obtuvo el mismo comportamiento, es decir, la capacidad antioxidante aumento con respecto al aumento de la temperatura de extracción.



**Figura 18.** Efecto de la temperatura sobre la actividad antioxidante equivalente al ácido ascórbico (mg/100g peso muestra)



**Figura 19.** Efecto de la temperatura sobre la capacidad antioxidante equivalente al Trolox ( $\mu\text{mol TE/g}$  peso muestra).

Los figuras anteriores muestran que los compuestos antociánicos probados presentan actividad antioxidante equiparable o mayor que Trolox. Se puede observar que las pruebas realizadas con el método ABTS en longitud de onda a 754nm, presentan actividad antioxidante en VCEAC (**Figura18, 19**) cerca de dos veces menor al Trolox. Por lo tanto, las antocianinas poseen potente propiedad antioxidante. Además se puede observar que al incrementar la temperatura de extracción aumenta la capacidad antioxidante de las antocianinas, y como ya se mencionó, esto es deseable ya el sistema de extracción se vuelve más eficiente.

Para el caso de actividad antioxidante, los sistemas utilizados presentaron diferencia significativa entre el sistema 1 y el resto de los sistemas a un nivel de confianza del 95%. Entre los sistemas a diferente temperatura, 25, 30 y 35°C, existe diferencia significativa entre cada uno de los sistemas ( $p < 0.05$ ) de acuerdo a la prueba de Tukey realizada.

En la **Tabla 16** se presentan los resultados para los parámetros de color para los sistemas obtenidos a diferentes temperaturas, también se presenta el cambio neto de color entre ellos.

**Tabla 16.** Parámetros y diferencias de color en el sistema etanol:agua 70:30° a 30 y 35°C

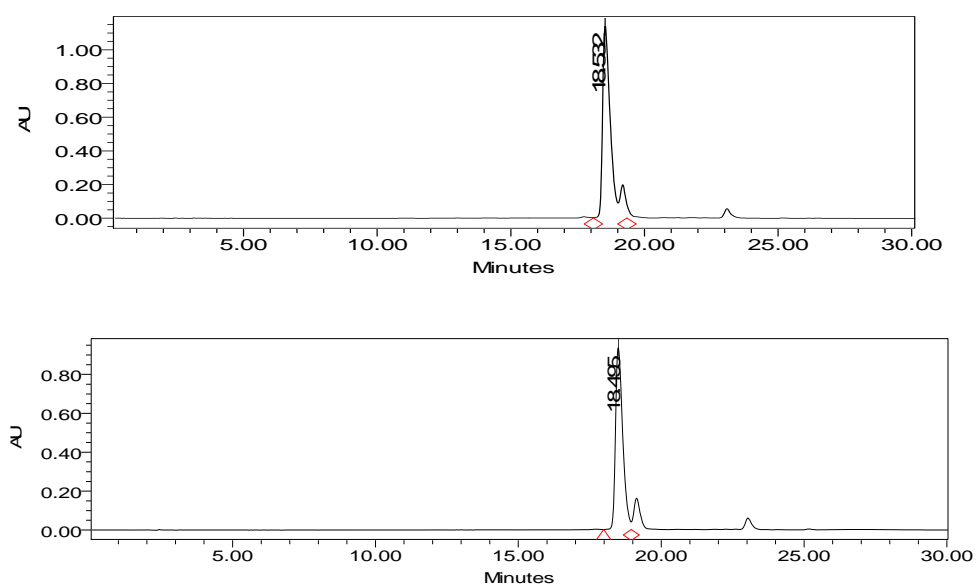
Etanol:agua	L	a*	b*	$\Delta E^1$
70/30				

25°C	20.98±2.97	46.38±3.21	11.51±2.06	0
30°C	22.65±2.09	47.59±2.86	12.78±1.38	6.48
35°C	20.69±1.41	44.42±2.54	11.62±0.97	2.61

<sup>1</sup>calculada con respecto a sistemas 70/30 a 25°C

Como se puede observar, los valores de L\*, a\* y b\* no se ven afectados en gran manera por la temperatura, es decir los valores parecen tener un comportamiento constante. Al obtener el cambio neto de color, se utilizaron como referencia los valores de la extracción hecha a 25°C; al hacer la diferencia neta de color los valores son menores a 10 por lo tanto no existe una diferencia de color significativa entre los extractos.

La temperatura de extracción no tiene efecto significativo sobre las antocianinas presentes en la zarzamora. Es decir que no importando la temperatura a la cual se obtuvo el extracto, los cromatogramas obtenidos mostraron el mismo comportamiento. Se presentaron dos picos principales, el más grande siendo Cyanidin-3-glucósido (**Figura 20**).



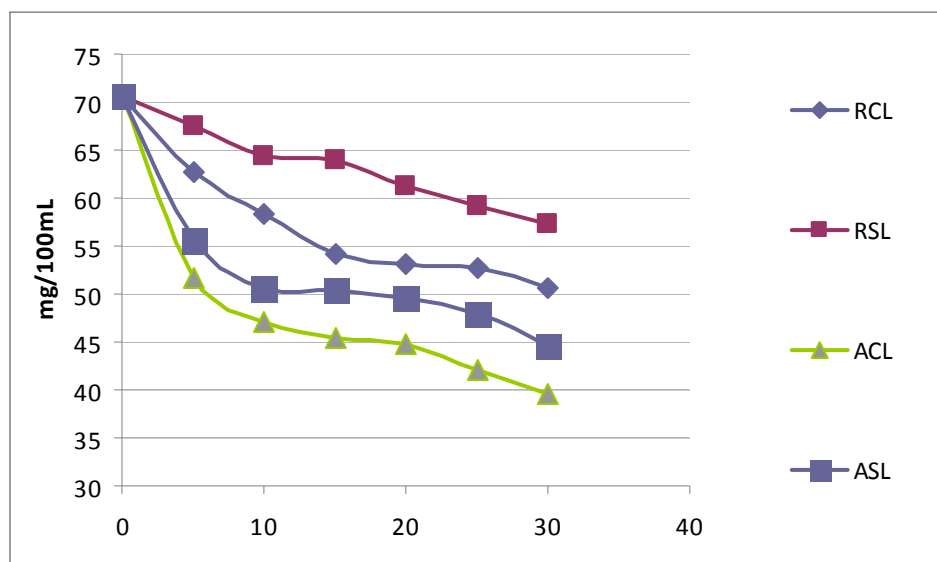
**Figura 20.** Cromatogramas de sistema etanol-agua 70:30 a 30° y 35°C

### 7.1.8 Estabilidad

El extracto obtenido del sistema etanol-agua 70:30 a 35°C se almacenó y se realizaron pruebas cada cinco días.

#### Antocianinas monoméricas totales y fenoles totales

En la **Figura 21** se muestra el efecto de la temperatura y la luz con respecto al tiempo sobre las antocianinas monoméricas del extracto.



**Figura 21.** Efecto de la temperatura y la luz sobre la cantidad de antocianinas en el extracto.  
RCL: 4°C con luz, RSL: 4°C sin luz, ACL: 25°C con luz, ASL: 25°C sin luz

La **Figura 21** muestra que de las antocianinas monoméricas totales, en cada una de las condiciones de almacenamiento, disminuye con respecto al tiempo. De acuerdo a los valores presentados se puede decir que los extractos almacenados, en condiciones 25°C y



con presencia de luz muestran los valores más pequeños de AT; esto se puede atribuir a la luz que acelera el proceso de degradación de las antocianinas (Delgado-Vargas, 2000).

También se puede observar que la temperatura de almacenamiento influye en la cantidad de antocianinas, el extracto almacenado a temperatura ambiente y en presencia de luz fue el que contiene la menor cantidad de antocianinas después de 30 días de almacenamiento por el contrario el pigmento almacenado en condiciones de refrigeración (4°C) y en ausencia de luz presenta los mejores resultados, son resultados esperados debido a que se sabe que las antocianinas son inestables ante factores como la luz y la temperatura (Chandra, 1992; Wesche-Ebeling *et al*, 1996).

Las condiciones de almacenamiento utilizadas en la investigación sobre la cantidad de antocianinas monoméricas totales presentan un comportamiento de cinética de reacción de orden cero. Esto quiere decir que la cantidad de antocianinas monoméricas totales disminuye con respecto al tiempo, y en condiciones de almacenamiento a 4°C y ausencia de luz se presenta la menor degradación de antocianinas.

El comportamiento de cinética de primer orden se dedujo debido a que se realizaron las regresiones lineales de cada una de las curvas obtenidas para antocianinas monoméricas totales, obteniendo para 4°C y ausencia de luz, 4°C y presencia de luz, 25°C:

$$y = -0.426x + 69.85 \quad R^2 = 0.9808 \dots \text{Ec. 7}$$

$$y = -0.528x + 64.88 \quad R^2 = 0.9756 \dots \text{Ec. 8}$$

$$y = -0.344x + 55.72 \quad R^2 = 0.9345 \dots \text{Ec. 9}$$

$$y = -0.467x + 53.40 \quad R^2 = 0.9281 \dots \text{Ec. 10}$$

En donde  $x$  es el tiempo de almacenamiento y  $y$  es la cantidad de antocianinas. Con las ecuaciones anteriores se puede comprobar que el mejor sistema de almacenamiento es a 4°C y ausencia de luz, ya que la constante sumada es mayor. Por lo tanto, al despejar  $x$  la cantidad de antocianinas será mayor en este sistema.

En la **Tabla 17** se muestran los contenidos de AT el almacenamiento.

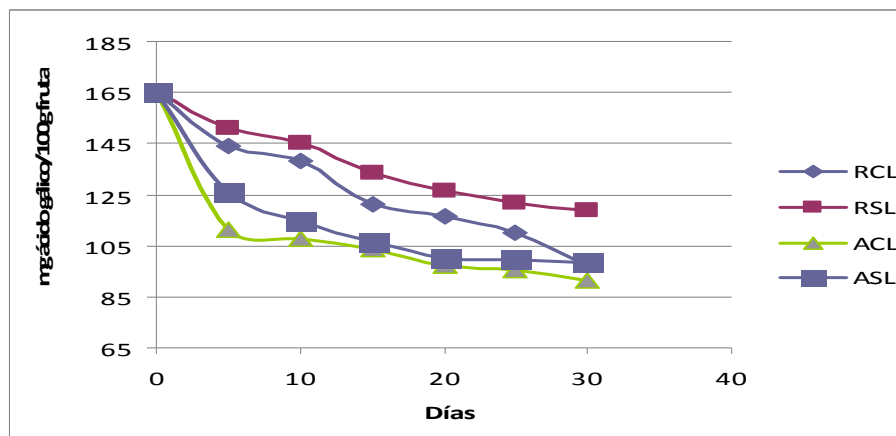
**Tabla 17.** Valores comparativos de AT en almacenamiento

	AT(mg/100mL)			
	RCL	RSL	ACL	ASL
<b>Inicial</b>	70.65±1.31	70.65±1.26	70.65±0.71	70.65±2.12
<b>Final</b>	50.58±1.96	57.31±0.78	39.52±0.89	44.49±1.35

Se puede observar que el contenido de antocianinas monoméricas totales disminuye en todas las condiciones de almacenamiento, sin embargo las condiciones de almacenamiento que presentan menor degradación de las antocianinas son a temperaturas de refrigeración y ausencia de luz. Se obtuvieron los gráficos para cada una de las condiciones de almacenamiento (Apéndice G).

#### Fenoles totales

Para el caso de la determinación de fenoles totales (FT), se muestran los resultados en la **Figura 22**. Los valores obtenidos para esta prueba para las mismas condiciones de almacenamiento presentó el mismo comportamiento que para antocianinas. Se obtuvieron los gráficos para cada uno de las condiciones de almacenamiento (Apéndice G).



**Figura 22.** Efecto de la temperatura y la luz sobre la cantidad de fenoles totales en el extracto. RCL: 4°C con luz, RSL: 4°C sin luz, ACL: 25°C con luz, ASL: 25°C sin luz

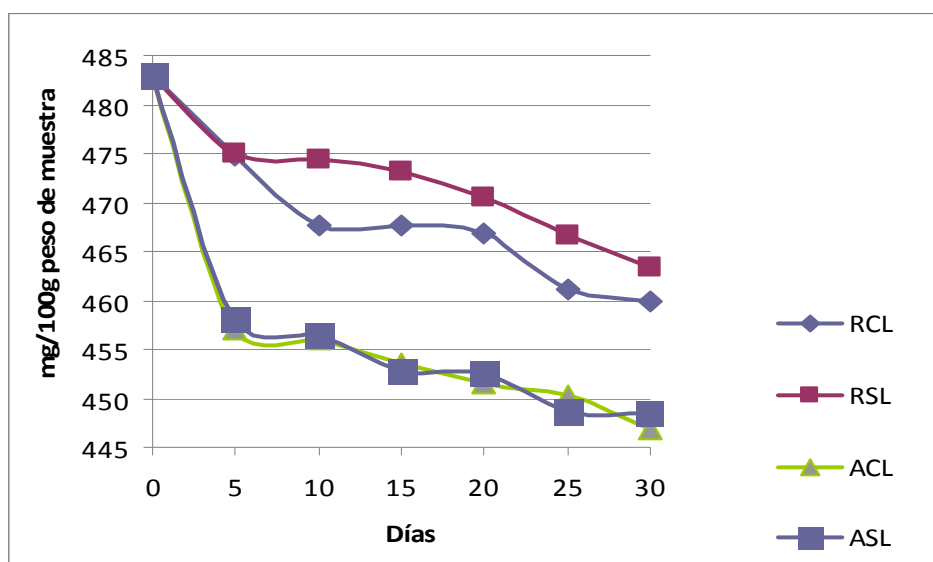
**Tabla 18.** Contenidos iniciales y finales de fenoles totales (FT)

FT (mg ácido gálico/100g fruta)			
RCL	RSL	ACL	ASL
165.36±0.78	165.36±0.99	165.36±2.10	165.36±0.96
97.45±1.23	119.08±0.56	91.06±1.98	98.25±0.79

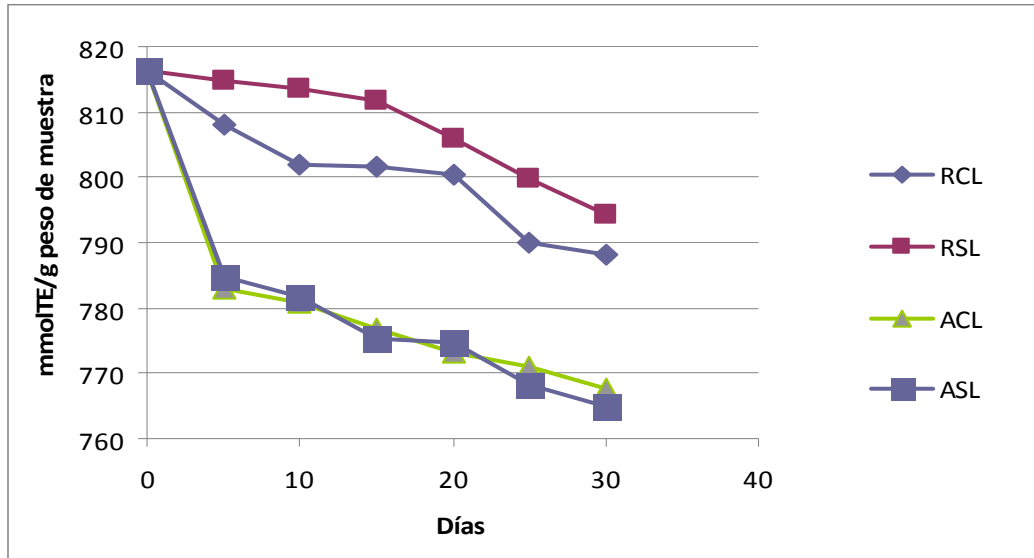
### Capacidad antioxidante

La **Figura 23** muestra el comportamiento de la capacidad antioxidante de cada una de las condiciones de almacenamiento. Para poder obtener la capacidad antioxidante se obtuvieron datos de almacenamiento a lo largo de un mes (Apéndice G).

Se puede observar que la capacidad antioxidante disminuye con respecto al tiempo, la temperatura y ausencia y presencia de luz. Como ya se mencionó las antocianinas son muy inestables ante los factores antes mencionados; los resultados obtenidos



**Figura 23.** Comportamiento de la capacidad antioxidante equivalente a ácido ascórbico (VCEAC) con respecto al tiempo, luz y temperatura de almacenamiento



**Figura 24.** Comportamiento de la capacidad antioxidante equivalente a Trolox con respecto al tiempo, luz y temperatura de almacenamiento.

Como se puede observar la capacidad antioxidante también presenta el mismo comportamiento que las otras pruebas; disminuye con respecto al tiempo; además de que el factor de luz y temperatura sigue afectando los resultados, teniendo así los mejores resultados para el almacenamiento a temperatura de refrigeración y ausencia de luz.

Se encontraron diferencias significativas en la actividad antioxidante de las antocianinas entre las condiciones de almacenamiento utilizadas en esta investigación ( $p < 0.05$ ).

El sistema almacenado a temperatura de refrigeración ( $4^{\circ}\text{C}$ ) y ausencia de luz mostró una actividad antioxidante mayor, tanto en equivalente de ácido ascórbico (VCEAC) como en equivalente de antioxidante sintético trolox (TEAC).

Moyer *et al.*, (2002), hicieron un estudio para determinar la capacidad antioxidante de diversos tipos de berries, entre ellos la zarzamora. Moyer, utilizó el método de ORAC y FRAP, para determinar la capacidad antioxidante. Los resultados obtenidos por este autor muestran que factores como la luz y la temperatura afectan la capacidad antioxidante de las antocianinas presentes en la zarzamora.

En las **Figuras 23 y 24** se puede observar el comportamiento de la capacidad antioxidante con respecto al almacenamiento. Al igual que para antocianinas monoméricas totales y fenoles totales, la capacidad antioxidante tiene el mismo comportamiento, es mayor en el sistema de almacenamiento 4°C y ausencia de luz.

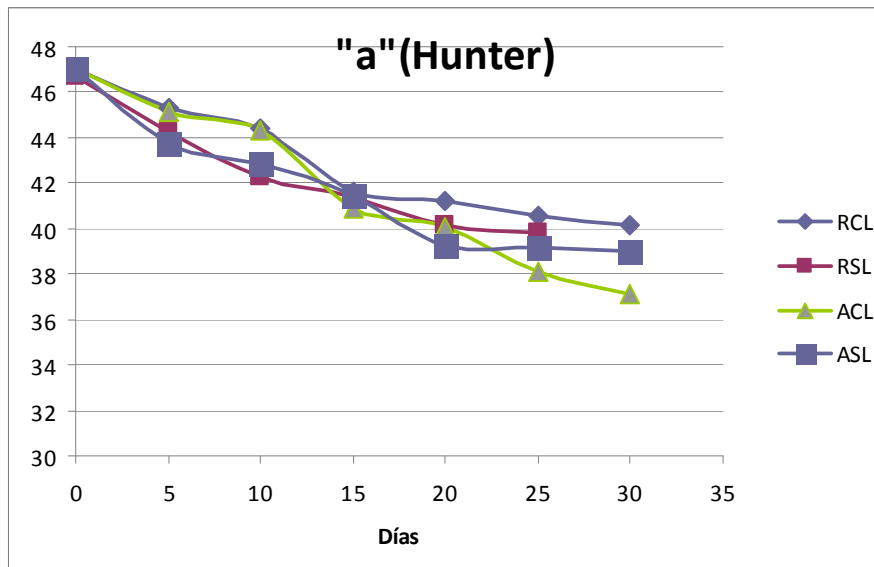
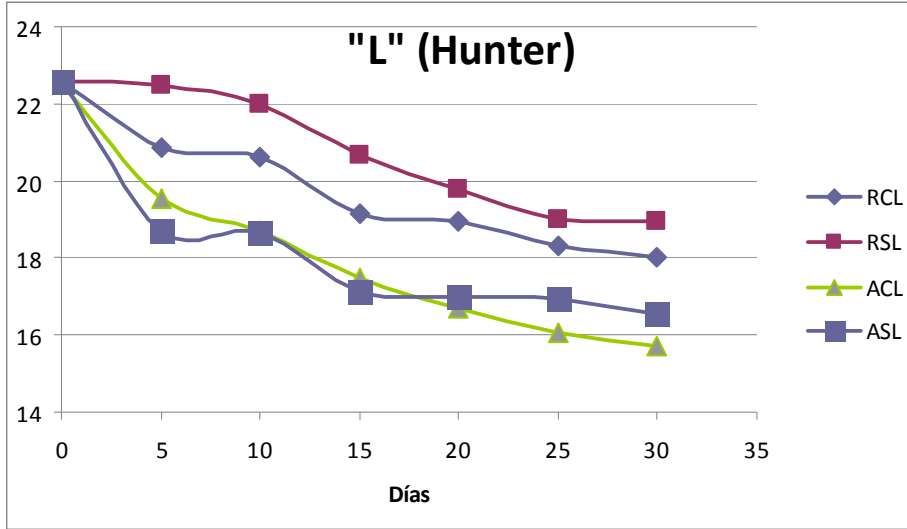
Se puede señalar que la reacción de oxidación del extracto sigue una cinética de orden cero, esto quiere decir que el valor de la constante depende de las condiciones de almacenamiento.

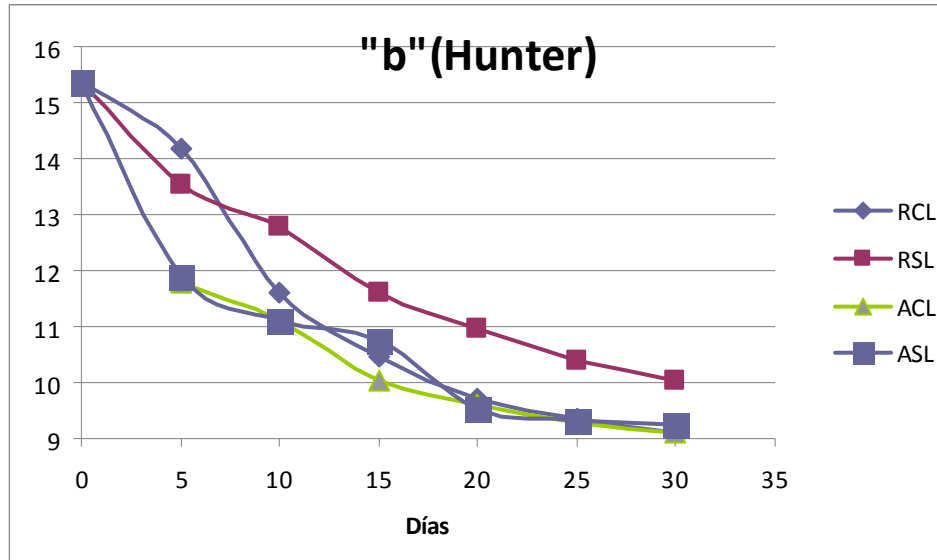
### Color

Las diferentes condiciones de almacenamiento presentan valores distintos para los parámetros de color L\*, a\* y b\*. Existe diferencia significativa para el valor L\* y b\* para el almacenamiento en refrigeración con y sin luz ( $p < 0.05$ ); para los sistemas a temperatura ambiente hay diferencia significativa entre los valores de b\* ( $p < 0.05$ ).

Se muestra en la **Figura 25** el comportamiento del parámetro L\*, a\* y b\* en los sistemas de almacenamiento. Los valores de L\* más altos los presenta a condiciones de almacenamiento de refrigeración y ausencia de luz y el de menor es el almacenamiento a temperatura ambiente y presencia de luz. Como ya se mencionó con anterioridad, tanto la luz como la temperatura afectan a las antocianinas y así a los pigmentos.

Durante el almacenamiento de los pigmentos pueden ocurrir reacciones de copolimerización natural entre antocianinas monoméricas. La copigmentación actúa produciendo un efecto hiperocrómico en las antocianinas: es un mecanismo de interacción molecular que previene el ataque nucleofílico del agua previniendo la decoloración del pigmento.





**Figura 25.** Parámetros L\*, a\*, b\* de la escala de Hunter para extracto

El cambio de color en los extractos no tuvo mucha variación, se puede observar que el color se degrada conforme transcurre el tiempo pero la temperatura de almacenamiento no influye de gran manera en la degradación de color; al igual que la presencia o ausencia de luz no tiene efectos sobre el color (**Tabla 19**).

**Tabla 19.** Cambio neto de color del extracto con respecto al sistema a 4°C y ausencia de luz

	RCL	ACL	ASL
5	2.20	3.28	5.06
10	1.78	3.47	3.98
15	2.04	3.45	3.75
20	1.49	3.31	3.76
25	1.33	3.18	2.50
30	1.35	3.38	2.64

Para el parámetro L, existe diferencia significativa entre el sistema de almacenamiento a 4°C y ausencia de luz con el resto de los sistemas ( $p < 0.05$ ), el extracto almacenado a dichas condiciones, presentó menor degradación con respecto al resto, esto quiere decir que fue el extracto que mantuvo el color oscuro que caracteriza al extracto. Para el parámetro a, existe diferencia significativa entre el sistema almacenado a 25°C y

presencia de luz ( $p < 0.05$ ) con respecto a los otros sistemas y para el caso del parámetro  $b$  no existe diferencia significativa entre los sistemas de almacenamiento.