SEP SES TecNM

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA

“IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LAS ANTOCIANINAS PROVENIENTES DE RESIDUOS DE ZANAHORIA COLOR PÚRPURA Y VALORACIÓN DE SU ESTABILIDAD PARA SU APLICACIÓN EN LA OBTENCIÓN DE UN YOGHURT FUNCIONAL”

TESIS DOCTORAL

PRESENTA:

EVELYN HERNANDEZ ACOSTA

No. CONTROL: 1928D0268

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. CLAUDIA MURO URISTA

CODIRECTOR DE TESIS:

DRA: ANDREA YAZMIN GUADARRAMA LEZAMA

METEPEC, ESTADO DE MÉXICO, DICIEMBRE DE 2022

RESUMEN

La zanahoria purpura es una fuente de antocianinas, vitaminas y otros compuestos fenólicos que le proporcionan un alto poder antioxidante e intensa coloración, lo que ha promovido su uso como fuente natural de diversos productos en la industria alimentaria. Entre esos productos, se encuentra la obtención de pigmentos naturales. En ese sector, una industria de giro alimentario se encuentra en la etapa de estudio de la industrialización de pigmentos naturales a partir de zanahoria purpura, también conocida como zanahoria negra por su color obscuro e intenso. Sin embargo, en la industrialización de pigmentos se generará una considerable cantidad de residuos sólidos consistentes en la corteza de los vegetales y biomasa utilizada durante la producción, los cuales pueden ser aprovechados, dada la pigmentación que se mantiene en los residuos, así como la posible conservación de antocianinas y polifenoles contenidos en los residuos.

En el presente trabajo se tuvo como objetivo valorar el aprovechamiento de los residuos mencionados para obtener productos antioxidantes de antocianinas que a su vez puedan ser útiles para obtener alimentos funcionales. En esta investigación se propone su adición en la preparación de un yoghurt para incrementar su funcionalidad. La primera etapa metodológica consistió en la obtención de extractos de pigmentos de antocianina de residuos de dos tipos de zanahoria, identificados por tipo I y II, en medio ácido utilizando, ácido cítrico, tartárico, láctico y ácido fosfórico. De cada extracto se le determinó contenido de antocianinas monoméricas, antocianinas poliméricas y antocianinas totales. También se determinó capacidad antioxidante y compuestos fenólicos. Los resultados fueron comparados con la fuente original de los residuos (utilizados como referentes), a fin de establecer la pertinencia del aprovechamiento de dichos residuos.

The results obtained showed that type I and II carrot residues maintain 70-80% of the mentioned properties, which means that both residues can be recovered for their use. However, the highest content of anthocyanins, antioxidant capacity and polyphenol content was found in residues from carrot type II, and using citric acid as extraction

agent; therefore, the following stages of the methodology were worked with said acid. The next stage of this study consisted of stabilizing the anthocyanins for their conservation on the shelf, using copigmentation and encapsulation in biopolymers with spray drying as a technique. Two methods were followed for copigmentation. 1) concentration of the extracts by evaporation of water at a temperature of 40°C and vacuum. 2) concentration of extracts similar to 1) but with the addition of a vehicle or carrier of the polysaccharide type such as maltodextrin, starch, gum arabic, carboxymethylcellulose, pectin and xyloglucan.

Los resultados obtenidos mostraron que los residuos de zanahoria tipo I y II mantienen el 70-80% de las propiedades mencionadas lo que significa que ambos residuos son valorizables para su aprovechamiento. Sin embargo, el mayor contenido de antocianinas, capacidad antioxidante y contenido de polifenoles fue encontrado en los residuos provenientes de zanahoria tipo II, y utilizando ácido cítrico como agente de extracción; por lo que las siguientes etapas de la metodología se trabajó con dicho ácido. La siguiente etapa de este estudio consistió en estabilizar las antocianinas para su conservación en anaquel, utilizando como técnica la copigmentación y el encapsulamiento en biopolímeros con secado por aspersión. En la copigmentación se siguieron dos métodos. 1) concentración de los extractos por evaporación de agua a temperatura de 40°C y vacío. 2) concentración de extractos de forma similar a 1) pero con la adición de un vehículo o un transportador de tipo polisacáridos como, maltodextrina,almidón, goma arábiga, carboximetilcelulosa, pectina y xiloglucano.

Para el encapsulamiento se utilizaron extractos no concentrados con maltodextrina y goma arábiga (seleccionados de la prueba 2) eliminando el agua mediante secado por aspersión para la obtención de polvos. El análisis de la estabilización se realizó mediante el seguimiento del contenido de antocianinas durante 15 meses a fin de establecer su conservación o degradación mediante cinéticas, a 4ºC y 20ºC.

El resultado de estas pruebas indicó que los extractos copigmentados por concentración, y los concentrados con polisacáridos conteniendo 20% de agua, mantuvieron el contenido de antocianinas a 4°C durante 455 días de almacenamiento; mostrando pérdida <10% a 20°C. Por lo que se concluyó en esta etapa que es suficiente concentrar un extracto de

antocianinas para su conservación en ese periodo. En el caso de los sedimentos granulares, se obtuvieron sedimentos granulares de coloración rosa y roja con un mínimo contenido de agua (3%), se presentó una pérdida de antocianinas de hasta el 30% (seguimiento por 455 días).

En la tercera etapa, se probaron los productos de antocianinas, extracto concentrado y polvos con transportador de maltodextrina y goma arábiga en la elaboración de un yoghurt funcional, analizando su conservación por 30 días. La funcionalidad del yoghurt elaborado con antocianinas de residuos de zanahoria purpura fue demostrada al incrementar su actividad antioxidante y contenido de polifenoles por la adición de antocianinas en todos los productos probados. En relación con los productos obtenidos, se requiere mayor cantidad de polvos para igualar el color del yoghurt, en comparación con extractos. A su vez, la apariencia, el contenido de azucares y la viscosidad del yoghurt no vió afectada por los productos de antocianinas obtenidos.

ABSTRACT

Purple carrot is a source of anthocyanins, vitamins and other phenolic compounds that provide high antioxidant power, and intense coloring, which has been used as a natural source in the elaboration of various industrial food products. Among these products, natural pigmentation is a potential use. In this sector, an actual food industry is in a study stage of industrialization of natural pigments from purple carrot, also known as the black carrot, for its dark and intense color. However, in the industrialization of pigments, a considerable amount of solid waste will be generated during the production, like biomass and vegetables' rinds, which can be reused as raw materials for new industrial products, especially by the remained pigmentation in the residues, as well as the possible conservation of anthocyanins and polyphenols contained in them. In the present work, the objective was to evaluate the use of similar residues to obtain antioxidant products of anthocyanins, which can be helpful in obtaining functional foods. In this research, its addition to the preparation of yoghurt is proposed to increase its functionality. The first methodological stage consisted of obtaining extracts of anthocyanin pigments from residues of two carrots, identified by type I and II, in an acid medium using citric, tartaric, lactic, and phosphoric acid. The content of monomeric anthocyanins, polymeric anthocyanins, and total anthocyanins will be extended for each extract. Antioxidant capacity and phenolic compounds will also be developed. The results were compared with the original source of the residues (used as references) to establish the relevance of the use of said residues.

The results obtained showed that carrot residues type I and II maintain 70-80% of the mentioned properties, which means that both residues can be valued for their use. However, the highest content of anthocyanins, antioxidant capacity, and polyphenol content was found in type II carrot residues and using citric acid as an extraction agent; Therefore, the following stages of the methodology were worked with said acid. The next phase of this study consisted in stabilizing the anthocyanins for their preservation on the shelf, using copigmentation and encapsulation in biopolymers with spray drying

as a technique. Two methods for co-pigmentation were followed. 1) concentration of the extracts by evaporation of water at a temperature of 40°C and vacuum. 2) concentration of extracts similar to 1) but with the addition of a polysaccharide type vehicle or carriers such as maltodextrin, starch, gum arabic, carboxymethyl cellulose, pectin, and xyloglucan.

The results obtained showed that carrot residues type I and II maintain 70-80% of the mentioned properties, which means that both residues can be recycled for their use. However, the highest content of anthocyanins, antioxidant capacity, and polyphenol content were found in residues from carrot type II, using citric acid as an extraction agent; therefore, the following stages of the methodology were worked with this mentioned acid. The next step of this study consisted of stabilizing the anthocyanins during their shelf life conservation, using copigmentation and encapsulation in biopolymers with spray drying as techniques. Two methods were followed for copigmentation. 1) concentration of the extracts by evaporation of water at a temperature of 40°C and vacuum. 2) concentration of extracts similar to 1) but with the addition of a vehicle or carrier of the polysaccharide type such as maltodextrin, starch, gum arabic, carboxymethylcellulose, pectin, and xyloglucan.

For encapsulation, non-concentrated extracts with maltodextrin and gum arabic (selected from test 2) were used, eliminating the water by spray drying to obtain powders. The stabilization analysis was carried out by monitoring the anthocyanin content for 15 months in order to establish its conservation or degradation through kinetics at 4ºC and 20ºC.

The results of these tests indicated that the extracts copigmented by concentration, and the concentrates with polysaccharides containing 20% water, maintained the anthocyanin content at 4°C during 455 days of storage, showing <10% loss at 20°C. Therefore, it was concluded that the concentration of anthocyanin extracts is enough to achieve its shelf life conservation during such a period. In the case of the granular sediments, pink and red colored granular sediments were obtained, with a minimum water content (3%) and a loss of anthocyanins of up to 30% (monitoring for 455 days).

In the third stage, the anthocyanin products, concentrated extract, and granular sediments with maltodextrin and gum arabic as transporter were tested in the preparation of a functional yoghurt, analyzing its conservation for 30 days. The functionality of yoghurt made with anthocyanins from purple carrot residues was demonstrated by increasing its antioxidant activity and polyphenol content by adding anthocyanins in all tested products. Concerning the outcomes obtained, a most significant amount of granular powders was required to match the color of the yoghurt, compared to extracts. Even though the appearance, sugar content, and viscosity of the yoghurt were not affected by the anthocyanin products obtained.

CONTENIDO

RESUMEN i
CONTENIDO vii
INTRODUCCIÓN i
1. FUNDAMENTOS 1
1.1. Residuos de la industria alimentaria y su aprovechamiento 4
1.2. Antioxidantes provenientes de compuestos fenólicos 5
1.2.1. Mecanismo de acción de los antioxidantes 7
1.2.2. Residuos de zanahoria púrpura como fuente de antioxidantes 8
1.3. Estructura química de las antocianinas 10
1.4. Factores que alteran la estabilidad de las antocianinas 13
1.5. Alternativas para mejorar la estabilidad de las antocianinas 17
1.6. Métodos para la cuantificación de antocianinas 21
1.6.1. Antocianinas monoméricas 21
1.6.2. Color polimérico. Método de blanqueamiento por sulfito 22
1.6.3. Antocianinas totales 23
1.6.4. Contenido de antocianinas (mg/L) 24
1.7. Métodos para la determinación de actividad antioxidante de antocianinas 24
1.7.1. Método por 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) 25
1.7.2. Método por 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico (ABTS) 26
1.7.3. Método Folin – Ciocalteu 28
1.7.4. Secado por aspersión 28
1.7.5. Yoghurt. Alimento funcional 29
2. MATERIALES Y MÉTODO 31
2.1. Recolección y almacenamiento de residuos de zanahoria púrpura (variedad tipo I y II) 32
2.2. Obtención de extractos de residuos de zanahoria púrpura 32
2.3. Determinación del contenido de antocianinas en extractos de residuos de zanahoria púrpura 32
2.3.1. Antocianinas monoméricas 33
2.3.2. Antocianinas poliméricas 34

2.3.3. Antocianinas totales 35
2.3.4. Contenido de pigmento de antocianinas (mg/L) 36
2.4. Determinación de actividad antioxidante de los extractos de residuos de zanahoria púrpura .. 36
2.4.1. Porcentaje de inhibición del radical DPPH 37
2.4.2. Porcentaje de inhibición del radical ABTS 38
2.5. Determinación de contenido de fenoles 39
2.6. Estabilización de antocianinas de extractos de residuos de zanahoria púrpura mediante copigmentación y encapsulamiento 40
2.7. Elaboración de un yoghurt con aplicación de concentrados y polvos de antocianinas de extractos de residuos de zanahoria púrpura 41
2.8. Estabilidad de antocianinas, DPPH y Folin en el yoghurt 42
3.1. Contenido de antocianinas en extractos de residuos de zanahoriapúrpura 44
3.1.1. Antocianinas monoméricas 44
3.1.2. Porcentaje de color polimérico 49
3.1.3. Porcentaje de Antocianinas totales 52
3.2. Determinación de la actividad antioxidante en residuos y en zanahorias de referencia tipo I y II 58
3.2.1. Actividad Antioxidante utilizando el radical – 2,2-Difenil-1- Picrilhidrazilo (DPPH) 58
3.2.2. Actividad Antioxidante 2,2-azinobis, 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico (ABTS) 62
3.2.3. Contenido de fenoles totales mediante el método Folin-Ciocalteu 66
3.3. Estabilización de antocianinas de extractos de residuos de zanahoria púrpura mediante copigmentación y encapsulamiento 71
3.4. Elaboración de yoghurt adicionado con antocianinas de zanahoria púrpura 88
3.5. Estabilidad de antocianinas, DPPH y Folin en el yoghurt 90
CONCLUSIONES 97
FUENTES CONSULTADAS 99
ANEXO I 110
ANEXO II 111
ANEXO III 117

TABLAS

Tabla 3.1	ANOVA de antocianinas monoméricas de los extractos obtenidos a partir de los residuos de zanahoria (R).	3
Tabla 3.2	ANOVA de antocianinas monoméricas de los extractos obtenidos a partir de la zanahoria inicial de referencia (ZI).	4
Tabla 3.3	Antocianinas poliméricas de los extractos obtenidos a partir de los residuos de zanahoria (R).	8
Tabla 3.4	Antocianinas poliméricas de los extractos obtenidos a partir de lazanahoria púrpura inicial de referencia (ZI).	9
Tabla 3.5	Antocianinas totales de los extractos obtenidos a partir de los residuos de zanahoria (R).	13
Tabla 3.6	Antocianinas totales de los extractos obtenidos a partir de la zanahoria púrpura inicial de referencia (ZI).	14
Tabla 3.7	Actividad antioxidante de los extractos obtenidos a partir de los residuos de zanahoria ® utilizando el método DPPH.	19
Tabla 3.8	Actividad antioxidante de los extractos obtenidos a partir de la zanahoria púrpura inicial de referencia (ZI) utilizando el método DPPH.	19
Tabla 3.9	Actividad antioxidante de los extractos obtenidos a partir de los residuos de zanahoria (R) utilizando el método ABTS.	22
Tabla 3.10	Actividad antioxidante de los extractos obtenidos a partir de la zanahoria púrpura inicial de referencia (ZI) utilizando el método ABTS.	23
Tabla 3.11	Contenido de fenoles totales de los extractos obtenidos a partir de los residuos de zanahoria ® utilizando el método Folin – Ciocalteu.	26
Tabla 3.12	Contenido de fenoles totales de los extractos obtenidos a partir de la zanahoria púrpura inicial de referencia (ZI) utilizando el método Folin-Ciocalteu.	26
Tabla 3.13	Contenido de antocianinas (mg/L) para estudio de estabilidad a 4°C	37
Tabla 3.14	Contenido de antocianinas (mg/L) para estudio de estabilidad a 20°C	41
Tabla 3.15	Resultados obtenidos de los polvos secados por aspersión.	45
Tabla 3.16	Características de los yoghurts utilizados, yoghurt blanco elaborado en el presente estudio (yog blanco); las muestras aplicadas (Conc., MD8, GA8) y un yoghurt comercial con fresa.	47

FIGURAS

Figura 1.1	Estructura química de la quercetina	6
Figura 1.2	Estructura básica de la antocianina	12
Figura 1.3	Estructura de la antocianina a diferentes pH´s	15
Figura 1.4	Características espectrales de antocianinas a pH diferencial	22
Figura 1.5	Reacción de las antocianinas con bisulfito para formar antocianinas-sulfónicas incoloras	23
Figura 1.6	Estructura química de DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo)	25
Figura 1.7	Reacción del ABTS radical en presencia de un antioxidante	27
Figura 2.1	Diagrama general de la metodología de investigación	31
Figura 3.1	Espectro Uv-vis de una muestra de extracto proveniente de los residuos de zanahoria tipo I, utilizado para determinar antocianinas monoméricas	44
Figura 3.2	Contenido de antocianinas monoméricas (mg/L) en extractos de residuos de zanahoria tipo I y de zanahoria utilizada como referente.	45
Figura 3.3	Contenido de antocianinas monoméricas (mg/L) en extractos de residuos de zanahoria tipo II y de zanahoria utilizada como referente	45
Figura 3.4	Espectro Uv-vis de un extracto de residuos de zanahoria tipo I obtenido en la determinación de color polimérico.	49
Figura 3.5	Porcentaje de color polimérico en extractos de residuos y zanahoria tipo I	50
Figura 3.6	Porcentaje de color polimérico en extractos de residuos y zanahoria tipo II	50
Figura 3.7	Espectro Uv-vis de un extracto de residuos de zanahoria tipo I, utilizado en la determinación de antocianinas totales	53
Figura 3.8	Porcentaje de antocianinas totales en extractos de residuos y zanahoria tipo I.	54
Figura 3.9	Porcentaje de antocianinas totales en extractos de residuos y zanahoria Inicial tipo II	54
Figura 3.10	Espectro Uv-vis de una muestra de extracto de residuos de zanahoria tipo I obtenido en la determinación de inhibición del DPPH con dos tipos de ácidos.	58
Figura 3.11	Curva de calibración con trolox para la determinación de capacidad antioxidante utilizando el método DPPH.	59

Figura 3.12	Porcentaje de inhibición del DPPH como actividad antioxidante de los residuos tipo I y II.	60
Figura 3.13	Porcentaje de inhibición del DPPH como actividad antioxidante de los referentes zanahoria tipo I y II.	60
Figura 3.14	Curva de calibración con trolox para la determinación de capacidad antioxidante utilizando el método ABTS.	63
Figura 3.15	Porcentaje de inhibición del ABTS como actividad antioxidante de los residuos I y residuos II. Porcentaje de inhibición del ABTS como actividad antioxidante de la zanahoria de referencia tipo I y II.	63
Figura 3.16	Porcentaje de inhibición del ABTS como actividad antioxidante de la zanahoria de referencia tipo I y II.	64
Figura 3.17	Curva de calibración con ácido gálico para la determinación de fenoles totales utilizando el método Folin-Ciocalteu.	66
Figura 3.18	Contenido de fenoles totales de los residuos I y residuos II	67
Figura 3.19	Contenido de fenoles totales de las zanahorias iniciales de referencia I y II.	67
Figura 3.20	Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con maltodextrina (MD), maltodextina con xiloglucano (MD/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 4ºC.	72
Figura 3.21	Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con maltodextrina (MD), maltodextina con xiloglucano (MD/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 20ºC.	72
Figura 3.22	Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con almidón (Alm), almidón con xiloglucano (Alm/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 4ºC.	73
Figura 3.23	Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con almidón (Alm), almidón con xiloglucano (Alm/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 20ºC.	73
Figura 3.24	Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con goma arábiga (GA), goma arábiga con xiloglucano (GA/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 4ºC.	74
Figura 3.25	Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con goma arábiga (GA), goma arábiga con xiloglucano (GA/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 20ºC.	74

Figura 3.26	Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con carboximetilcelulosa (CMC), carboximetilcelulosa con xiloglucano (CMC/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 4ºC.	75
Figura 3.27	Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con carboximetilcelulosa (CMC), carboximetilcelulosa con xiloglucano (CMC/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 20ºC.	75
Figura 3.28	Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con pectina (Pec), pectina con xiloglucano (Pec/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 4ºC.	76
Figura 3.29	Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con pectina (Pec), pectina con xiloglucano (Pec/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 20ºC.	76
Figura 3.30	Imagen del yoghurt blanco elaborado y de las muestras aplicadas sobre dicho yoghurt: el concentrado (conc.), el polvo secado por aspersión con maltodextrina (MD8) y el polvo secado por aspersión con goma arábiga (GA8).	87
Figura 3.31	Imágenes del concentrado (Conc.); los polvos obtenidos por secado por aspersión (maltodextrina (MD8) y goma arábiga (GA8)) aplicados en yoghurt, junto con un yoghurt comercial con fresa y una muestra del yoghurt blanco; a 0 y 30 días de almacenamiento bajo condiciones de refrigeración.	91
Figura 3.32	Contenido de pigmento de antocianinas (mg/L) de las muestras aplicadas en yoghurt (Conc., MD8, GA8) y del yoghurt comercial con fresa; a los 0, 15 y 30 días de almacenamiento (4°C).	92
Figura 3.33	Capacidad antioxidante (µg/ml Trolox) de las muestras aplicadas al yoghurt (Conc., MD8, GA8), un yoghurt comercial con fresa y el yoghurt blanco; a los 0, 15 y 30 días de almacenamiento (4°C).	93
Figura 3.34	Contenido de fenoles (µg/ml Ac. gálico) de las muestras aplicadas al yoghurt (Conc., MD8, GA8), un yoghurt comercial con fresa y el yoghurt blanco; a los 0, 15 y 30 días de almacenamiento (4°C).	95

INTRODUCCIÓN

La presente investigación pretende dar respuesta a un problema de contaminación ambiental generado por residuos provenientes del procesamiento de zanahoria de color purpura (variedad tipo I y II) en una Industria en el Estado de México. Actualmente para la empresa, dichos residuos carecen de valor y por consiguiente, son dispuestos como relleno sanitario. Sin embargo, debido a su procedencia, los residuos contienen aún cantidades apreciables de antioxidantes y coloración derivados del contenido de antocianinas de la zanahoria. En este sentido, numerosos artículos demuestran los múltiples beneficios que tienen los antioxidantes sobre la salud, dichos beneficios se derivan de su alta capacidad antioxidante; es decir, son compuestos químicos de origen natural que al ser ingeridos protegen internamente contra factores contaminantes externos que provocan radicales libres. Como respuesta al problema anteriormente expuesto, se sugiere el aprovechamiento de los residuos para aumentar el valor agregado de un yoghurt comercial. De esta forma, la investigación planteada se justifica desde varios aspectos; puede minimizar la cantidad de residuos, y a su vez la contaminación derivada por su generación y disposición; puede reducir costos de traslado y disposición de residuos en la empresa que los genera; además proporciona un valor agregado a residuos que actualmente no tienen valor, ya que su aprovechamiento, va dirigido a la obtención de productos funcionales con interés comercial para industrias de alimentos.

El objetivo general de la presente tesis doctoral es determinar el aprovechamiento de dos diferentes tipos de residuos provenientes de dos variedades de zanahoria color púrpura (variedad tipo I y tipo II) mediante la identificación y cuantificación del contenido de antocianinas contenidas en los mismos y valorar su estabilidad para su aplicación en un yoghurt funcional.

El objetivo general se alcanzará con la consecución de los siguientes objetivos específicos.

Determinar la influencia de variables de proceso (ácido cítrico, tartárico, fosfóricoy láctico) en la extracción de antocianinas a partir de zanahorias color púrpura (variedad tipo I y tipo II) y residuos provenientes de zanahorias color púrpura (variedad tipo I y tipo II) mediante un proceso convencional de extracción sólido - líquido.

Establecer los valores de las variables del proceso de extracción sólido-líquido que maximicen la recuperación de antocianinas provenientes de dos residuos de zanahoria color púrpura (variedad tipo I y tipo II).

Caracterizar (cuantificar y determinar la capacidad antioxidante y contenido de fenoles) los extractos de antocianinas obtenidos en las mejores condiciones de extracción a partir de los dos tipos de residuos de zanahoria color púrpura (variedadtipo I y tipo II).

Determinar la estabilidad de los extractos de antocianinas contenidas en los residuos de zanahoria color púrpura (variedad tipo I y tipo II) con transportadores y evaluar la potencial aplicación en un yoghurt funcional.

La hipótesis de investigación es la siguiente. Los residuos de zanahoria color púrpura (variedad Tipo I y tipo II) aún contienen cantidades suficientes de antocianinas para poder ser aplicadas en la elaboración de un yoghurt funcional para su consu

1. FUNDAMENTOS

La industria alimentaria genera enormes cantidades de subproductos y residuos sólidos que contienen altas cantidades de materia orgánica, los cuales conducen a problemas relacionados con su eliminación, contaminación ambiental y sostenibilidad.

Los métodos tradicionales del uso de residuos incluyen alimento para animales o fertilizantes (Jayathilakan *et al.*, 2012); sin embargo, actualmente los esfuerzos se centran en su aprovechamiento para otras aplicaciones que conlleven métodos eficientes, económicos y ecológicos para su uso, minimizando los residuos y, por tanto, su exposición al ambiente y los riesgos para la salud (Anal, 2018).

Particularmente, cuando se trata de biomasa alimentaria, frecuentemente ésta contiene un gran valor nutrimental que se puede utilizar para desarrollar productos funcionales lo cual proporciona un valor agregado.

La evaluación de los residuos para su aprovechamiento recibe el nombre de valorización, el cual es un concepto nuevo e interesante que ofrece una gama de alternativas para su gestión, y que precisamente no es para su eliminación o el relleno del suelo.

Específicamente, en las industrias de colorantes naturales, se generan residuos de hortalizas, granos, flores, frutas, verduras y otras fuentes naturales, después de la extracción de pigmentos. La mayoría de estos residuos contienen fibra, harinas, proteínas y antioxidantes entre otros, los cuales pueden ser aprovechados para varios fines, entre ellos, la elaboración de diferentes productos alimenticios. Sin embargo, pese al gran volumen que se genera, la mayoría de los residuos son dispuestos en rellenos sanitarios, y pocos trabajos se han enfocado en el aprovechamiento de estos, resaltado la viabilidad de esta alternativa para crear nuevos productos con valor agregado y de interés para su comercialización y consumo. Algunos reportes sobre el aprovechamiento de residuos indican el uso de los que provienen de caña, avena,

salvado de trigo, residuos de cebada y cáscaras de yuca. En la mayoría de los casos son propuestos como sustrato microbiano para obtener enzimas. En este caso se ha reportado la producción de enzimas de Penicillium janczewskii, las cuales son utilizadas para la fabricación de pastas, harina de trigo, de aditivos en alimentos de aves de corral y también para procesos de blanqueo en la industria química (Mejias-Brizuela *et al.*, 2016). En procesos de remoción de metales, se han utilizado residuos de bagazo de caña de azúcar como adsorbentes y como soporte junto a una fuente microbiana y nutrientes que aceleran la degradación de hidrocarburos. También se ha reportado que el grano verde de café ha sido utilizado como soporte y como fuente de nutrientes en la biodegradación de plaguicidas organoclorados (Velasco-Velasco *et al.*, 2018).

Arrazola *et al.*, (2014) estudio los residuos de cáscara de berenjena (Solanum melongena L.) para la extracción de antocianinas. Los extractos de antocianinas se microencapsularon evaluando la influencia de las condiciones de secado por aspersión en las propiedades fisicoquímicas de los polvos.

En el caso de residuos de zanahoria, entre los trabajos que han descrito su aprovechamiento se encuentran el uso de la cáscara para la producción de fibra dietética en polvo; donde sus resultados mostraron que el efecto del escaldado y secado con aire caliente (60-80ºC) tuvo efectos significativos en el contenido de fibra y composición, retención de agua y capacidades de hidratación de la fibra en polvo (Vargas y Vargas *et al.*, 2019).

Por otro lado, Singh *et al.* (2010) reportó la utilización de residuos obtenidos de la extracción de jugo de zanahoria para la preparación de un producto de valor agregado llamado gazrella (un dulce indio). El producto terminado preparado con sacarosa fue el que tuvo una aceptación excelente después del tiempo de 6 meses de almacenamiento.

Assous *et al.*(2014) también estudió la extracción de antocianinas derivadas de residuos de zanahorias púrpuras y las identificó mediante el uso de HPLC. Los pigmentos extraídos de zanahorias púrpuras los utilizó como colorantes rojos naturales alternativos en la preparación de caramelos duros, gelatinas y también como antioxidante natural en el aceite de girasol. Las actividades antioxidantes de la antocianina de zanahorias púrpura se evaluaron determinando el valor de peróxido en el aceite de girasol durante 7 días a 60ºC. El aceite de girasol que contenía 1000 ppm de extracto de zanahoria mostró un valor de peróxido inferior (7.90) que el uso de 200 ppm de antioxidante sintético (BHT) (8,38) meq / kg.

Estudios como los de Kamiloglu *et al.* (2016), investigaron la estabilidad digestiva de los polifenoles de la pulpa de zanahoria púrpura en el enriquecimiento de harinas para pasteles; monitorearon los cambios en su capacidad antioxidante usando un modelo estandarizado de digestión in vitro estática. Como resultado obtuvieron que la capacidad antioxidante total y los polifenoles totales incrementaron significativamente como resultado de la digestión; sin embargo, se observaron grandes pérdidas de antocianinas y ácidos fenólicos.

También se reportan varios estudios relacionados a la aplicación de dichas antocianinas u otros nutrimentos contenidos en residuos orgánicos para formar parte de productos alimenticios, tales como el reportado por Ekici *et al.* (2015), en el cual reporta haber estudiado la estabilidad del β-caroteno en productos tipo snack. En este caso se investigó el encapsulamiento del β-caroteno (0.05% p/p en aceite de girasol) usando una y dos capas de emulsiones como ingrediente.

En este trabajo se aborda el residuo de zanahoria de color púrpura. Este vegetal es recientemente utilizado como materia prima para la obtención de pigmentos naturales, resaltando su alto contenido de antocianinas y su pigmentación roja- púrpura. Sin embargo, en la obtención de dichos pigmentos se producen residuos que son dispuestos como basura. Los residuos aún contienen una alta concentración antocianinas y coloración, que puede ser aprovechados para diferentes fines. Por

tanto, ambas características resultan atractivas para diversas aplicaciones. Las antocianinas tienen un alto efecto antioxidante, siendo de interés para la industria de alimentos debido a su capacidad de impartir colores naturales y también para la elaboración de productos con beneficios funcionales.

1.1. Residuos de la industria alimentaria y su aprovechamiento

En la agroindustria mexicana los productos que se industrializan son frutas, verduras, tubérculos, vainas, semillas, raíces, hojas; algunos comercializados en fresco y otros son transformados en harinas, aceites, néctares, jugos, vinos, mermeladas, ensaladas, concentrados en polvo, entre otros, por lo que es notable la generación de residuos, desde la cosecha misma, pasando por los centros de concentración, distribución, industrialización, comercialización y consumo (Mejias- Brizuela *et al.*, 2018). Durante el procesamiento de los productos mencionados, los residuos generados se componen principalmente. de semillas, piel, cáscara y orujo. Sin embargo, debido a su procedencia, pueden contener compuestos bioactivos potencialmente valiosos, como los carotenoides, polifenoles, fibras dietéticas, vitaminas, enzimas y aceites, entre otros. Estos fitoquímicos pueden ser utilizados en diferentes industrias como la industria alimentaria, para el desarrollo de alimentos funcionales o enriquecidos, la industria de la salud para medicamentos y productos farmacéuticos, y la industria textil, entre otros. Por tanto, el uso de residuos para la producción de diversos componentes bioactivos son un paso importante hacia el desarrollo sostenible.

Especialmente, el bagazo que actualmente es considerado un residuo puede utilizarse como fibra insoluble y soluble. Las fibras insolubles incluyen celulosa, hemicelulosa y lignina; las fibras solubles incluyen los oligosacáridos, pectinas, β- glucanos, gomas

galactomananos; pero también puede contener otro tipo de componentes de gran interés industrial, como son pigmentos y/o sustancias activas, azúcares, minerales, ácidos orgánicos, y fenoles, los cuales tienen una gran gama de beneficios.

Al respecto, en los últimos años ha habido numerosas publicaciones que han puesto mucha atención en la utilización de los subproductos y residuos generados durante el procesamiento de alimentos, ya que aún contienen diversas características que pueden ser aprovechados para la obtención de productos de interés para industrias cosmética, farmacéutica y alimenticia (Anal, 2018). En este nivel se sitúan los residuos de zanahoria color purpura, la cual es utilizada como materia prima para la obtención de antocianinas, producto comercial que se identifica como aditivo en la industria alimentaria. Sin embargo, la extracción de antocianinas de este producto produce gran cantidad de bagazo, que a la fecha se desconoce su aprovechamiento.

1.2. Antioxidantes provenientes de compuestos fenólicos

El concepto de antioxidante se define como compuestos capaces de retrasar o inhibir el proceso de oxidación que ocurre en presencia del oxígeno atmosférico o especies de oxígeno/nitrógeno reactivo; de esta manera forman parte de la defensa más importante del organismo ante el ataque los radicales libres. Existen dos tipos de antioxidantes; exógenos, que como su nombre lo dice, son aquellos que no forman parte del organismo mismo y que su fuente es externa; los cuales se encuentran en la naturaleza y son integrados a nuestro organismo a través de la dieta y los endógenos, que son aquellos que son producidos por el propio organismo, tales como las enzimas o coenzimas. Cuando los antioxidantes endógenos no pueden asegurar un control riguroso o una completa protección del organismo ante las especies de oxígenos

reactivos es necesario entonces, de antioxidantes exógenos, tales como suplementos nutricionales o productos farmacéuticos.

Los antioxidantes exógenos más importantes son la vitamina E, vitamina C, vitamina K, vitamina D, betacaroteno, flavonoides, minerales.

Los antioxidantes exógenos pueden venir de fuentes naturales o de compuestos sintéticos, tales como el BHT o Butil hidroxitolueno (Pisoschi *et al.*, 2011). Dentro de los flavonoides, se ha demostrado que en estudios in vivo, la quercitina (Figura 1.1) es la que mejor actividad antioxidante presenta, debido a que muestra efectos sinérgicos con la vitamina C, permitiéndole mantener las funciones antioxidantes del flavonoide por más tiempo al reducir la oxidación del mismo y, por otro lado, la quercitina protege la oxidación de la vitamina E, presentándose también sinergia entre ellas (Martínez-Flores *et al.*, 2002).

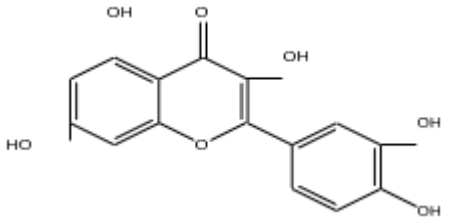


Figura 1.1 Estructura química de la quercetina

Dentro de los antioxidantes naturales también se encuentran los compuestos fenólicos, los que, a su vez, se conforman por dos grupos de sustancias, los flavonoides y los no-flavonoides.

Los flavonoides se dividen en tres grupos: las antocianinas, los flavan-3-ol, y los flavonoles. Dentro del grupo de los flavan-3-ol se encuentran las procianidinas (polímeros de catequinas o taninos condensados) y las catequinas. Las “procianidinas”

también son llamadas proantocianidinas, debido a que éstas producen antocianidinas coloridas cuando son calentadas en condiciones ácidas (Rauf *et al.*, 2019).

A su vez, los no-flavonoides son ácidos fenólicos, los cuales se subdividen en tres grupos: ácidos hidroxibenzóicos, ácidos hidroxicinámicos y taninos hidrolizables.

1.2.1. Mecanismo de acción de los antioxidantes

La acción antioxidante de los compuestos que poseen esta propiedad se debe a dos mecanismos.

a) Son captadores de radicales libres. Actúan como donantes de hidrógeno o electrones en reacciones de terminación que rompen el ciclo de generación de nuevos radicales libres, deteniendo las reacciones en cadena en las que están implicados los radicales libres. El radical fenoxilo generado es menos reactivo dado que se estabiliza por resonancia con los electrones del anillo aromático.

b) Son quelantes de metales. Esta acción requiere de la presencia de grupos hidroxilos cercanos al anillo aromático, los cuales son secuestradores efectivos de iones metálicos e inhiben la generación de radicales libres (Martin *et al.*, 2017).

Específicamente, se conoce que el mecanismo de acción antioxidante de los flavonoides incluye (1) quelación de radicales libres, (2) quelación de metales, (3) inhibición de enzimas asociadas con la generación de radicales libres, y (4) simulación de enzimas antioxidantes internas (Banjarnahor *et al.*, 2015).

El grado de polimerización de los compuestos fenólicos tiene un marcado efecto sobre la actividad antioxidante. Así, los compuestos poliméricos son más potentes como antioxidantes que los monómeros; éstos inhiben las reacciones de iniciación y propagación que se producen durante los fenómenos de oxidación.

Se representa a continuación una ejemplificación de la acción antioxidante (A) frente a los lípidos o radicales libres (L).

Las ecuaciones (1) a (3) representan la formación de radicales libres sin la presencia de antioxidantes y las reacciones (4) a (7) son la representación de las reacciones con la presencia de un antioxidante (Ruiz *et al.*, 2010).

Existen otros factores que afectan la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos, determinando sus propiedades como solubilidad y su tendencia a ceder electrones o átomos de hidrógeno, tales como el número y posición de los grupos hidroxilo, la presencia de azúcares unidos y el grado de polimerización.

$LH \rightarrow L\bullet$ (1)

$L\bullet + O2 \rightarrow LOO\bullet$ (2)

$LOO\bullet + LH \rightarrow LOOH + L\bullet$ (3)

$LOO\bullet + AH \leftrightarrow LOOH + A\bullet$ (4)

$L\bullet + AH \rightarrow LH + A\bullet$ (5)

$A\bullet + LOO\bullet \rightarrow LOOA$ (6)

$A\bullet + A\bullet \rightarrow A\text{-}A$ (7)

1.2.2. Residuos de zanahoria púrpura como fuente de antioxidantes

Las zanahorias cuyo nombre científico es identificado como Daucus carota subsp. Sativus, son las verduras más populares después de las papas; aunque las variedades de zanahoria naranja son más comunes, el consumo de zanahorias negras o púrpuras

(Daucus carota ssp. sativus var. atrorubens Alef.) es aún desconocido muchos; sin embargo, en Europa Oriental su consumo ha ido en aumento en los últimos años.

La zanahoria púrpura tiene su origen en Asia Central y fueron introducidas y cultivadas en Europa por los holandeses, este tipo de zanahoria se cultivó durante más de 2000 años, y originalmente se usaba solo como planta medicinal debido a alto contenido de antocianinas. Actualmente, la zanahoria púrpura pertenece a un importante cultivo mundial, el cual cuenta con cerca de 250 géneros y más de 2.500 especies (Barba-Espín *et al.*, 2017).

Principalmente, los trabajos relativos a zanahoria púrpura empezaron en Alemania, Turquía, y Australia (Montilla *et al.*, 2011); distribuyéndose poco a poco por el mundo a países como España, Italia, Egipto, Singapur, Sudáfrica, Canadá, Corea, Japón, Perú y Colombia.

La zanahoria púrpura contiene alta concentración de antocianinas, vitaminas C y E, alto contenido de compuestos fenólicos y otras sustancias que le proveen alto poder antioxidante; lo que ha conducido a que su cultivo se haya expandido en varios países, y el estudio de aplicación vaya en crecimiento.

Las ventajas sensoriales, a diferencia de otros cultivos de zanahoria han sido reportados, siendo éstas el de impartir un buen sabor, un tono brillante y una estabilidad considerable (Alasalvar *et al*., 2001).

La zanahoria púrpura también tiene ventajas sensoriales, imparte un buen sabor, un tono brillante y una estabilidad considerable (Alasalvar *et al.*, 2001), por lo cual es considerada como alimento agradable para el consumo. Otros estudios también han demostrado que las antocianinas de la zanahoria púrpura poseen propiedad anti-obesidad. Khoo *et al.*, (2017) realizó un estudio que se basó en alimentar a ratones obesos con una dieta rica en cianidina-3-glucósido, contenido en el maíz y zanahoria púrpura; como resultado obtuvieron una reducción en peso y tejido adiposo de los ratones evaluados.

Las diversas aplicaciones y consumo de la zanahoria púrpura han conducido a la generación de residuos de este vegetal por lo que se ha considerado la posibilidad de su aprovechamiento, dado que dichos residuos aún contienen sustancias que proveen propiedades antioxidantes, tales como antocianinas y compuestos fenólicos.

1.3. Estructura química de las antocianinas

Las antocianinas que se encuentran en los vegetales o frutas poseen diferentes funciones en la planta, entre ellas están la atracción de polinizadores para la posterior dispersión de semillas, la protección de la planta contra los efectos de la radiación ultravioleta y funcionan contra la contaminación viral y microbiana. Las antocianinas se encuentran dentro de la vacuola y forman parte de los compuestos fenólicos de la planta.

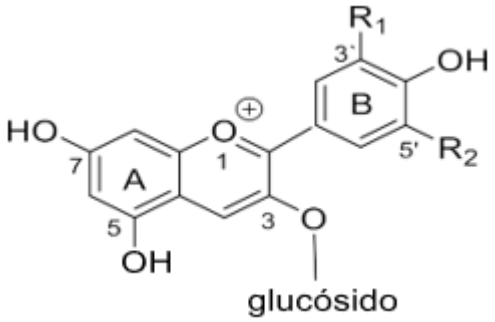
Dado que las antocianinas forman parte de los compuestos fenólicos, una de las características más significativa de las antocianinas es su capacidad antioxidante, la cual es debida a su estructura perfecta para poder disponer de electrones que puede compartir sin que la molécula se vuelva inestable; el desapareamiento de un electrón en su molécula le confiere la habilidad de "reprimir" radicales libres donando átomos de hidrógeno.

En este sentido, la estructura química de las antocianinas actúa como antioxidante debido a que puede donar hidrógenos o electrones al radical libre o atraparlos y deslocalizarlos en su estructura aromática. Los grupos hidroxilos en la posición 3’ y 4’ proveen una gran estabilidad hacia el radical, atrapándolo y desplazando los electrones en el anillo B, así como liberando grupos hidroxilos en la posición 3 del anillo C, y en posición 5 del anillo A, juntos con el grupo carbonilo en la posición 4.

Se ha encontrado que en estudios in vitro son antioxidantes más efectivos que el tocoferol y los ascorbatos. Por otro lado, hay estudios que indican que los flavonoides, a dosis muy altas, pueden actuar como prooxidantes, los cuales pueden provocar efectos mutagénicos y genotóxicos mediante mecanismos como la reducción temporal del Cu (II) a Cu (I), la producción de especies reactivas del oxígeno y la alteración de las funciones de defensa de algunos antioxidantes endógenos como el glutatión y glutatión -S-transferasa (Carocho *et al.*, 2019).

Químicamente las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace glucosídico (Figura 1.1).

La figura 1.2 (Timberlake, 1980) muestra la estructura química básica de estas agliconas es el ion flavilio, también llamado 2-fenil-benzopirilio que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B); el flavilio normalmente funciona como un catión; son derivados del catión 2-fenilbenzopirilio y debido a la poca solubilidad de éstas en agua, no se encuentran de manera libre en la naturaleza, sino en su forma glucosilada siendo una de las más abundantes la cianidina-3-glucósido.



Antocianidina	R1	R2	λmax (nm)
Pelargonidina	H	H	520 (naranja)
Cianidina	OH	H	535 (naranja

			– rojo)
Peonidina	OCH3	H	532 (naranja – rojo)
Delfinidina	OH	OH	546 (azul – rojo)
Petunidina	OCH3	OH	543 (azul – rojo)
Malvidina	OCH3	OCH3	542 (azul – rojo)

Figura 1.2. Estructura básica de la antocianina

Los azúcares le confieren estabilidad y solubilidad a la aglicona, y aunque tienen muy poco efecto dentro de la misma, la posición que ellos ocupan dentro de la molécula puede influenciar profundamente en su reactividad y en su efecto antioxidante; por ejemplo, se sabe que para la cianidina; la glucosilación en la posición 3 con glucosa o ramnosa incrementa la capacidad antioxidante; pero la galactosa la disminuye (Kuskoski *et al.*, 2017); en general la aglicona o flavonoide respectivo es menos soluble en agua y más reactivo frente a radicales libres que sus glicósidos respectivos. Todas las antocianinas presentan dos bandas distintivas de absorción, una en la región UV (260 -280nm) y la otra en la región visible (490– 550 nm) (Giusti, 2001).

Las antocianinas se encuentran en diferentes formas y presentan colores diversos dependiendo del pH del medio. En medio ácido las antocianinas se encuentran en la forma de catión flavilio (oxonium), y son generalmente de color rojo brillante. Con el aumento del pH de las soluciones, las antocianinas pasan a tener una estructura quinodial y presentan una coloración púrpura o azulada.

Considerando lo anterior, se podría decir que el poder de coloración de las antocianinas en alimentos y bebidas no se podría lograr a valores de pH superiores a 4; sin embargo, existen mecanismos mediante los cuales el catión y la base quinoidal

podrían ser aumentadas y estabilizadas de manera tal que, en ciertas condiciones, el color puede estar presente aún a valores de pH superiores a 4 (Timberlake *et al.*, 1980).

El color de las antocianinas depende del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula. Incrementos en la hidroxilación producen desplazamientos hacia tonalidades azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas.

En la naturaleza, las antocianinas siempre presentan sustituciones glicosídicas en las posiciones 3 y/o 5 con mono, di o trisacáridos que incrementan su solubilidad. Dentro de los sacáridos glicosilantes de las antocianinas se encuentran la glucosa, galactosa, xilosa, ramnosa, arabinosa, rutinosa, soforosa, sambubiosa y gentobiosa.

Otra posible variación en la estructura es la acilación de los residuos de azúcares de la molécula con ácidos orgánicos. Los ácidos orgánicos pueden ser alifáticos, tales como: malónico, acético, málico, succínico u oxálico; o aromáticos: p- cumárico, caféico, ferúlico, sinápico, gálico, o p-hidroxibenzóico. Stintzing *et al.* (2002), demostró que el tipo de sustitución glicosídica y de acilación producen efectos en el tono de las antocianinas; es así como sustituciones glicosídicas en la posición 5 al igual que acilaciones aromáticas, producen un desplazamiento hacia las tonalidades púrpura.

1.4. Factores que alteran la estabilidad de las antocianinas

El pH es uno de los factores más importantes debido a que las antocianinas son más estables en medio ácido que en medio neutro o alcalino. La forma predominante de la antocianina que se encuentra en medio ácido es la de ion flavilio, de coloración roja. Cuando la antocianina está sometida a pH básico o alcalino, el ion flavilio es

susceptible al ataque nucleofílico por parte del agua, produciéndose la pseudobase carbinol a pH 4.5, seguido de forma la chalcona, ambas incoloras (Khoo *et al.*, 2017).

La figura 1.3 (Kallam *et al.*, 2017) muestra el comportamiento de la antocianina a diferentes pH's.

Bordignon *et al.* (2009) estudió la extracción de antocianinas provenientes de fresas en el rango de pH de 1.0 a 13.0 y concluyó que la extracción de antocianinas de diversos frutos es más eficiente a bajos valores de pH. Por su parte Moldovan *et al.* (2012) estudió la cinética de degradación de antocianinas provenientes de extractos de arándanos (Viburnum opulus L.) a pH 3 y 7 y obtuvo como resultado una menor degradación a valores de pH más bajos.

El oxígeno es un factor que provoca la pérdida de antocianinas, éstas pueden oxidarse por reacción directa con el oxígeno, o también a través de oxidación indirecta, reaccionando con compuestos que han sido previamente oxidados, generando un cambio de color a marrón o incoloro; sin embargo, pueden también reaccionar con radicales de oxígeno actuando como antioxidantes.

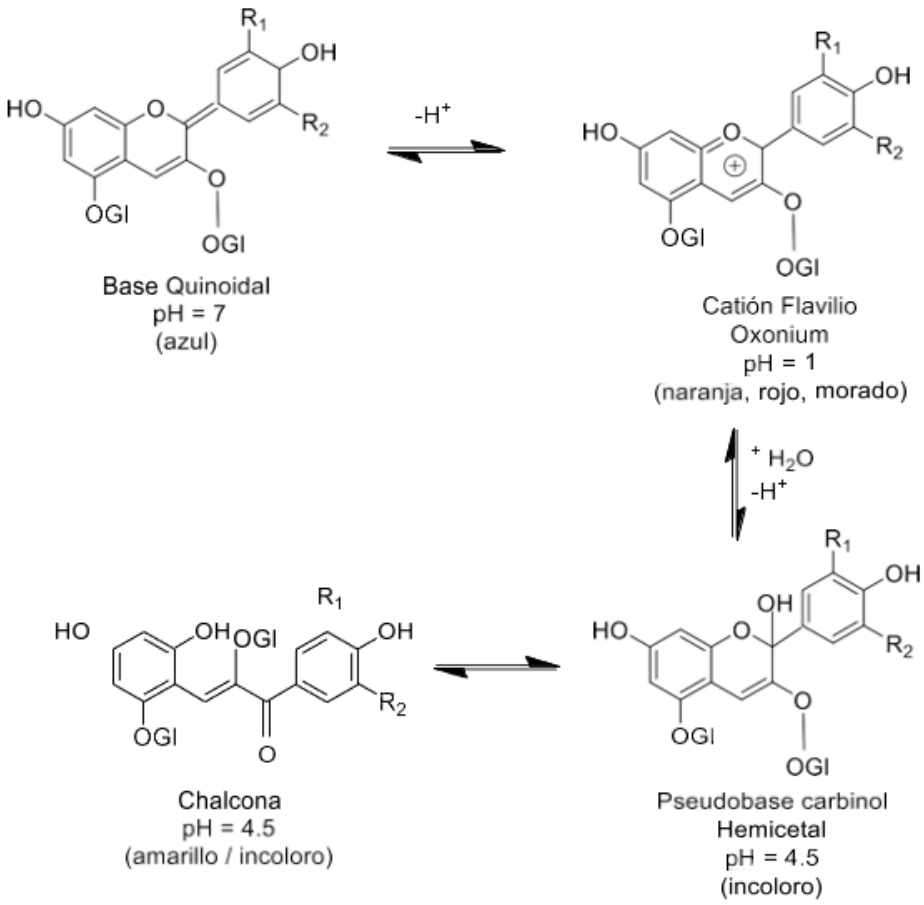


Figura 1.3. Estructura de la antocianina a diferentes pH´s

Los mecanismos de oxidación se ven favorecidos cuando se eleva la temperatura y la retención de color es mejorada cuando el oxígeno es removido por calentamiento

También se ha reportado que en presencia de oxígeno el ácido ascórbico destruye a las antocianinas, formando peróxido de hidrógeno, acelerándose esta reacción en presencia de metales tales como el cobre, a su vez inhibida en presencia de flavonoles como la quercetina.

El peróxido de hidrógeno rompe el anillo de pirilio de la antocianina a través de un ataque nucleofílico en C-2 produciendo ésteres incoloros derivados de la cumarina. Los productos degradados forman precipitados de color café (Castañeda *et al.*, 2009).

La temperatura influye también en la estabilización de la antocianina. La antocianina es destruida por el calor durante el procesamiento y almacenamiento. Un incremento logarítmico en la destrucción de la antocianina ocurre con un incremento en la temperatura, Timberlake *et al.* (1980) observó que el equilibrio entre las estructuras es endotérmico, en una dirección de izquierda a derecha: Base quinoidal <-> Catión flavilio <-> Pseudobase carbinol <-> Chalcona. A altas temperaturas el equilibrio cambia hacia chalconas. El retorno de chalconas a flavilio es lento, resistiendo bien procesos térmicos a altas temperaturas durante periodos de tiempo cortos. Las características estructurales que generan a una mayor estabilidad térmica son las mismas que las que generan mayor estabilidad al pH; es decir, las antocianinas más hidroxiladas son menos estables térmicamente que las metiladas, glicosidadas o acetiladas. Aumentos de temperatura provocan pérdida del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula y la consecuente apertura del anillo C, con la consecuente producción de chalconas incoloras (Garzón *et al.*, 2008). Por otro lado, Gorriti *et al.* (2009) estudió la extracción de antocianinas provenientes del maíz morado a temperaturas de 25 - 90ºC, concluyendo que el mayor rendimiento de antocianinas de obtuvo a temperaturas entre 75 y 90ºC, considerando las diferentes condiciones.

Otro factor que afecta la estabilidad de las antocianinas es el agua, ésta puede actuar como nucleófilo al reaccionar con el catión flavilio en la posición C-2, formando así la base carbinol y volverse incolora, reacción que depende de ciertas condiciones tales como el contenido de azúcares o con otros fenómenos tales como la copigmentación y la polimerización.

La actividad del agua es baja cuando los azúcares se encuentran en altas concentraciones, por lo que las moléculas de agua tienen menos posibilidad de reaccionar con el catión flavilio para formar la base carbinol; sin embargo, a bajas concentraciones de azúcares, la actividad del agua no se afecta y puede entonces reaccionar con el flavilio y generar productos de degradación de las antocianinas.

La adición de ácidos orgánicos a soluciones con antocianinas es otro factor que afecta la estabilidad de las antocianinas, éstos retardan el cambio de color cuando la solución

incrementa de 4.0 a 6.0. En este sentido, Hosseini *et al.* (2016) concluyó que el ácido cítrico en diferentes soluciones resultó ser uno de los mejores solventes para la extracción de antocianinas y fenoles provenientes de col púrpura, berenjena y agracejo a temperaturas de 7 y 20ºC, demostrando que la estabilidad de las antocianinas depende de la temperatura y el pH siguiendo una reacción cinética de primer orden; los extractos sin presencia de ácidos se degradaron más rápidamente.

1.5. Alternativas para mejorar la estabilidad de las antocianinas

Dentro de las alternativas para mejorar la estabilidad de las antocianinas se encuentran la copigmentación y el encapsulamiento.

La copigmentación se obtiene mediante un cambio en el equilibrio de hidratación de las antocianinas en el medio; las cuales se pueden auto asociar o formar complejos con copigmentos tales como los fenoles, iones metálicos y biopolímeros. La copigmentación forma complejos por interacción de componentes inter e intramoleculares que se unen a través de puentes de hidrógeno, apilamiento e interacciones hidrofóbicas débiles. Específicamente en las antocianinas, estas interacciones intermoleculares pueden ocurrir entre las formas del catión flavilium y la base quinoidal, así como con el grupo acilo que está unido covalentemente a un resto de glucósido y la carga positiva del catión flavilium, logrando una formación apilada tipo sándwich, lo cual obstaculiza el ataque nucleofílico de la antocianina en la posición C-2 y C-4; es por esta razón que las antocianinas copigmentadas son más estables que las antocianinas monoaciladas (Rein *et al.*, 2005). Lo anterior explica la gran estabilidad de las antocianinas provenientes de zanahoria púrpura en comparación con otras fuentes como son el maíz morado, uva roja, dado a que éstas últimas consisten básicamente de antocianinas no aciladas.

La polimerización se logra mediante la unión de las moléculas de flavan-3-ols de las antocianinas con polímeros, dando lugar a la formación de moléculas llamadas piroantocianinas (el término “piro” significa que tiene un anillo extra añadido).

El encapsulamiento de antocianinas que ha sido reportado incluye procesos como el secado por aspersión, secado en frío, emulsificación, encapsulamiento liposomal y gelación, las cuales, dentro de sus desventajas, pueden perjudicar la calidad del color de las antocianinas debido a las capas gruesas en las paredes encapsuladas; incrementar la turbidez derivada de la emulsión del sistema y las interacciones de los cromóforos de las antocianinas y los agentes encapsulantes (Tan *et al.*, 2022).

Según el origen de los polímeros encapsulantes, éstos pueden ser naturales o sintéticos. Entre los polímeros naturales o biopolímeros, se encuentran los polisacáridos, mismos que son muy utilizados en la formación de encapsulados, dado a su excelente biocompatibilidad y disponibilidad a partir de fuentes renovables y a bajo costo. (Buwalda *et al*., 2014).

El xiloglucano es un polisacárido derivado de las semillas de tamarindo (Tamarindus indica, Leguminosae), compuesto por una cadena principal de (1-4)-α-D-glucano con ramificaciones de (1-6)-α-D-xilosa parcialmente sustituida por (1-2)-β-D- galactoxilosa (Miyazaki et al., 1998); la estructura detallada del xiloglucano depende de la planta de procedencia. El xiloglucano proveniente de las semillas de tamarindo se compone de principalmente 4 tipos de oligosacáridos como unidades de repetición: heptasacáridos, octasacáridos, y nanosacáridos. Se sabe que los octámeros y heptámeros que tienen residuos de galactosa en las terminales de su cadena, inhiben la absorción de la D-glucosa (Nishinari *et al*., 2020); lo que significa que no aumenta el índice glucémico dentro del organismo. El xiloglucano posee propiedades como alta viscosidad, tolerancia a una amplia gama de pH, adherencia, espesante, agente gelante, además de sus propiedades como agente no- carcinogénico, mucoadhesivo, biocompatibilidad, alta estabilidad térmica, entre otros (Mahajan *et al.*,2015), por otro lado, este transportador es muy utilizado en la encapsulación de compuestos biológicos y médicos, debido a que tiene una temperatura de transición sol-gel de 22-27ºC, por lo

que se puede administrar de forma líquida y gelifica dentro del recto, lo que sugiere un efecto potencial como vehículo para la liberación de fármacos directamente en el colon (Miyazaki *et al.*, 1998).

A diferencia de la maltodextrina, el almidón, la goma arábiga, carboximetil celulosa y pectina, el xiloglucano tienen ningún estudio relacionado a la encapsulación de antocianinas, por lo que el presente estudio propone su aplicación como estabilizador principal y en combinación con los transportadores anteriormente mencionados.

Las maltodextrinas son oligosacáridos (3-9 monómeros de glucosa) obtenidos como resultado de la hidrólisis de la amilosa (lineal) y la amilopectina (ramificado), por lo que se consideran polímeros de D-glucosa unidos por enlaces α-(1,4) y α-(1,6). El almidón, principalmente de maíz (aunque también puede provenir del trigo, centeno, arroz, amaranto, papa, plátano, entre otros) ha sido comúnmente considerado como la fuente comercial para la producción de dichas maltodextrinas; las cuales una vez dentro del organismo son rápidamente metabolizados por el mismo, aumentando exponencialmente la insulina en sangre; situación que debería ser considerada al ser tan utilizada en la industria alimentaria para proporcionar consistencia, reemplazar grasas, controlar el dulzor, encapsular olores y/ò sustancias activas, formar películas, reducir la cristalización, controlar el punto de congelación de los productos, aumentar la vida media, prevenir el derretimiento, retardar la granulación, reducir la pérdida de valor nutrimental de los productos al ser carbohidratos no dulces y solubles en agua fría (Antonio-Estrada *et al.*, 2009).

El almidón es una mezcla de polímeros de glucosa (amilosa y amilopectina) que son producidas por todas las plantas verdes y es el carbohidrato más abundante encontrado en la naturaleza. La amilopectina consta de cadenas lineales de unidades de glucosa unidas por enlaces α1-4 glicosídicos; mientras que la amilosa es una cadena linear de enlaces α1,4 glucanos. La amilosa y amilopectina pueden formar una estructura semicristalina formando una matriz de gránulos amorfos (amilosa) y cristalinos (amilopectina) (Alcázar-Alay, 2015).

La goma arábiga es un hidrocoloide natural de cadena ramificada multifuncional, con un complejo de proteína arabino-galactano conteniendo calcio, magnesio y potasio; su cadena principal se compone de unidades de 1,3-ß-D-galactopiranosilo, mientras que las cadenas adyacentes se componen de dos a cinco unidades de 1,3-ß-D-galactopiranosilos unidos a la cadena principal mediante enlaces 1, 6. Ambas cadenas contienen unidades de α-L-arabinofuranos, α-L-ramnopiranosilos, ß-D-glucopiranosilos, y 4-O-metil- ß-D-glucopiranosilo, éstos dos últimos como unidades de terminación. La estructura de la goma arábiga varía ligeramente dependiendo de su origen, clima, temporada de cosecha, edad del árbol proveniente, y de las condiciones de proceso, tales como su secado por aspersión. La goma arábiga tiene una alta solubilidad en agua y una relativamente baja viscosidad, comparando con otras gomas, formando soluciones incoloras, sin sabor, y además no interacciona fácilmente con otros componentes (Musa *et al.*, 2018).

La carboximetilcelulosa es un compuesto orgánico, derivado de la celulosa, la cual contiene una cadena principal de polisacáridos hidrofóbicos y muchos grupos carboxilos hidrofílicos, razón por la cual presenta característica amfifílicas su contenido de grupos carboximetilos, enlazados a algunos grupos hidroxilos están presentes en polímeros de la glucopiranosa. La carboximetilcelulosa es soluble en agua a cualquier temperatura, gracias a su naturaleza higroscópica, se hidrata rápidamente y es muy utilizada para estabilizar proteínas y aportar textura en matrices alimenticias (Corkovic et al. 2021).

La pectina es un polisacárido constituido de enlaces de cadenas (α1-4) D-ácidos galacturónicos, también llamados homogalacturanos, interrumpidos por unidades de ramnosa (1,2). A partir de las unidades de ramnosa, se ramifican diferentes cadenas de azúcares neutros. Los grupos carboxílicos de las unidades de los ácidos galacturónicos se encuentran, en cierta medida, esterificados con metanol; lo cual es comúnmente usado para clasificar las pectinas en pectinas de alto metoxilo (contienen más del 50% de grupos carboxílicos esterificados) y en pectinas de bajo metoxilo (esterificación menor del 50%). Las pectinas de bajo metoxilo tienen un alto número

de ácidos carboxílicos libres, los cuales interactúan con iones divalentes formando fuertes enlaces que permiten la creación de una estructura de gelificación. Por otro lado, las pectinas de alto metoxilo se caracterizan por tener un alto número de grupos éster-metilados, por lo que la gelificación está dada por la reticulación de los polímeros en las zonas de unión, en donde se llevan a cabo, además de puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas entre los grupos metil- éster, requiriéndose para la formación de un gel, en este caso, un medio ácido debido a que las cargas negativas de las cadenas de pectina provocan rechazo entre ellas (De Cindio *et al.,* 2016).

1.6. Métodos para la cuantificación de antocianinas

1.6.1. Antocianinas monoméricas

El método de pH diferencial es un método espectrofotométrico que se basa en la transformación estructural de las antocianinas con el cambio de pH, manifestando, antocianinas con color a pH 1 y antocianinas incoloras a pH 4.5.

De acuerdo con la figura 1.4 (Giusti *et al.,* 2001), la forma oxonium predomina a pH 1 y la hemiacetal a pH 4.5, mostrando el espectro de absorbancias de antocianinas a pH diferencial.

El método de pH diferencial permite obtener la medida del contenido de antocianinas, incluso en la presencia de pigmentos degradados polimerizados y de otros compuestos interferentes.

El contenido de antocianinas medido por pH diferencial se determina con la lectura de absorbancias a pH diferencial indicado en el método. Los resultados se expresan en

unidades de concentración de antocianinas monoméricas, generalmente expresados como cianidina-3-glucósido, la cual es una antocianina del tipo oxonium, presente de forma mayoritaria en antocianinas a pH 1 (Giusti *et al.,* 2001).

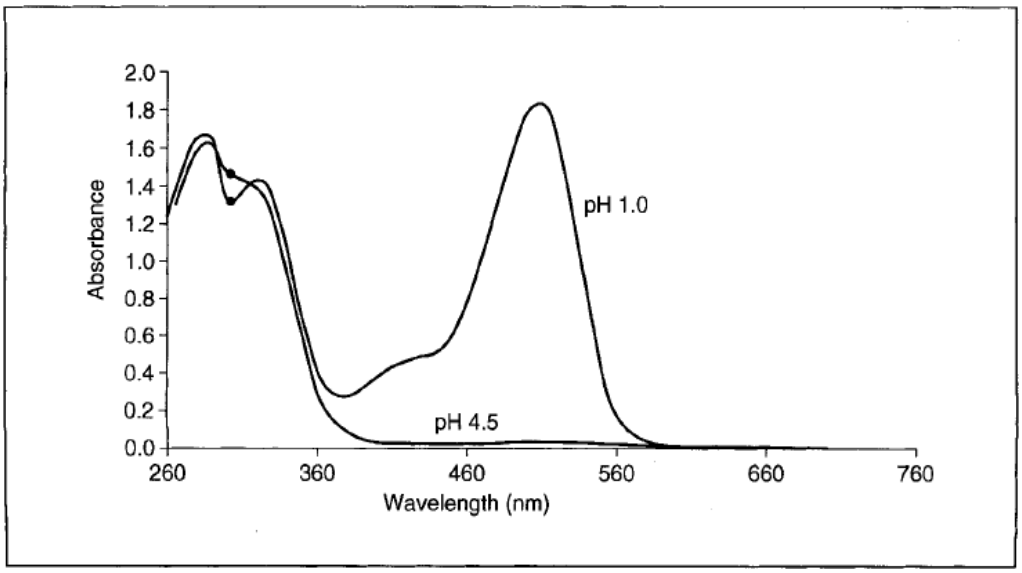


Figura 1.4. Características espectrales de antocianinas a pH diferencial

1.6.2. Color polimérico. Método de blanqueamiento por sulfito

El método para la determinación del color polimérico se basa en la detección espectrofotométrica de complejos coloridos, antocianina-taninos que son resistentes al blanqueamiento por el sulfito. El porcentaje de color polimérico es un índice del grado de polimerización de las antocianinas que se acumulan como productos degradados incrementando la absorción dentro del rango de 400 – 440 nm. Estos compuestos en general son afectados por la adición del bisulfito. De esta forma, se obtienen una lectura de absorbancia a 420 nm con la detección de antocianinas

decoloradas con bisulfito, la cual sirve como un índice de pardeamiento, indicando la presencia de antocianina-taninos. El contenido de color polimérico se obtiene de la suma de las absorbancias a la λmax y a 420 nm.

Los pigmentos de antocianinas poliméricas no muestran un cambio pronunciado reversible del color con los cambios de pH que es característico de las antocianinas monoméricas. En la Figura 1.5 (Giusti *et al.,* 2001) se muestra la reacción de las antocianinas con bisulfito.

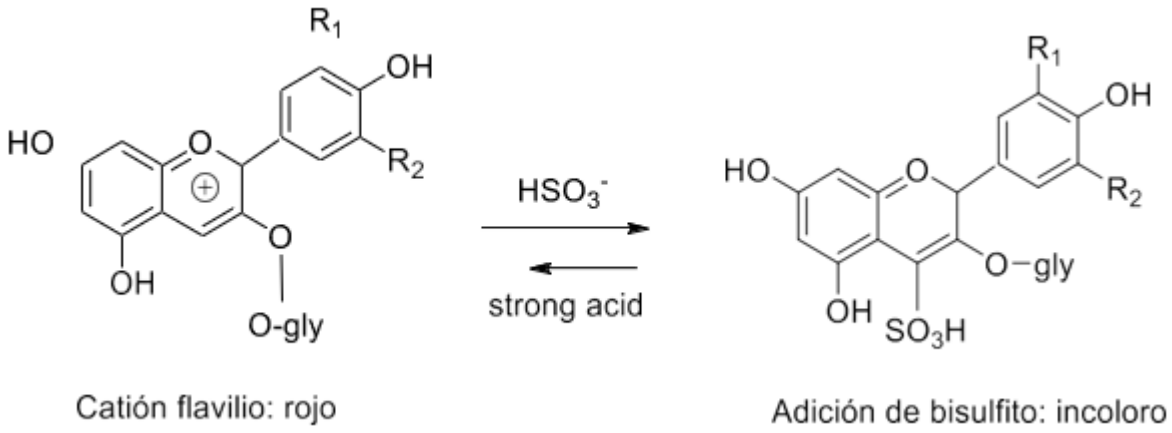


Figura 1.5. Reacción de las antocianinas con bisulfito para formar antocianinas-sulfónicas incoloras

Otra información muy importante que indica Giusti *et al.* (2001) es que las frutas y vegetales frescos, así como los jugos, deberían tener un bajo porcentaje de color polimérico (<10%), mientras que los productos procesados y los productos que han estado demasiado tiempo almacenados tienen un porcentaje de color polimérico mayor (>30%) aunque dichos valores son muy variables.

1.6.3. Antocianinas totales

El contenido total de antocianinas en extractos crudos que contienen otros fenoles presentes se puede determinar midiendo la absorbancia de la solución mediante la banda de absorción de 490 a 550 nm (región del espectro visible).

Djordjevic *et al.* (2013) reporta la obtención del contenido total de antocianinas basado en la Farmacopea Europea 6.0, con ligeras modificaciones. El método de antocianinas totales es un método espectrofotométrico que consiste en la obtención de la absorbancia de la muestra a 528 nm en donde la antocianina se encuentra en su forma predominante de oxonium en un medio ácido. Este método permite obtener la medida del contenido de antocianinas totales, sin considerar los pigmentos degradados polimerizados y de otros compuestos interferentes. El resultado se expresa en porcentaje de antocianinas totales.

1.6.4. Contenido de antocianinas (mg/L)

La medición del contenido de antocianinas permite la cuantificación de extractos biológicos complejos mediante la cuantificación de la concentración de las antocianinas predominantes responsables del color, principalmente usando cianidina-3-O-ß-glucósido (crisantemina) como equivalente de antocianinas monoméricas totales midiendo la absorbancia de la solución mediante la banda de absorción de 490 a 550 nm (región del espectro visible), tal como lo reporta Wang *et al.* (2013).

1.7. Métodos para la determinación de actividad antioxidante de antocianinas

1.7.1. Método por 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH)

Este método fue introducido originalmente por Blois *et al.* (1958), usando cisteína como antioxidante; sin embargo, la reacción originada era compleja estequiométricamente hablando y además por la interferencia del ácido ascórbico, lo que provocaba reacciones secundaras a la original. Posteriormente fue Brand-Williams *et al.* (1995) quien simplificó el método y su fundamento consiste en que el radical libre que contiene el DPPH tiene un electrón desapareado y provee a este reactivo un color azul- violeta, el cual se decolora hacia amarillo pálido debido a la reducción que sufre por la presencia de una sustancia antioxidante. La figura 1.6 (Pisoschi *et al.*, 2011) muestra la estructura química del DPPH. El DPPH es uno de los pocos radicales orgánicos con nitrógeno que es estable y comercialmente disponible; tiene una absorción en el Uv-vis en 515nm y tras su reducción presenta una decoloración; es por esta razón que la disminución en la absorbancia depende linealmente de la concentración de antioxidantes presentes en la muestra (Pisoschi *et al.*, 2011).

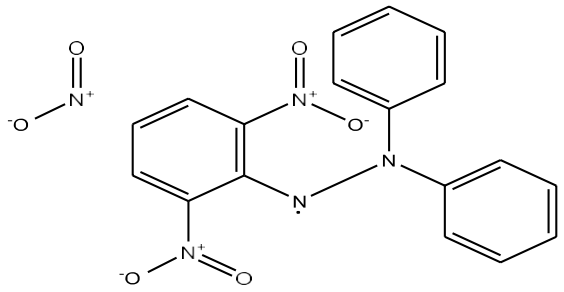


Figura 1.6. Estructura química de DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo)

Algunas de las desventajas de este método son, la curva del tiempo de reacción para alcanzar la estabilidad no es lineal; el DPPH es soluble solamente en solventes orgánicos; la interferencia en la absorbancia debido a los componentes de la muestra puede ser un problema para el análisis cuantitativo (Kedare *et al.*, 2011); diferencias

en los términos para reportar resultados. Brand-Williams *et al.* (1995) y Bondet *et al.* (1997) propusieron el término EC50 (concentración eficiente) refiriéndose a que, a mayor actividad antioxidante, menor el valor de EC50; Sánchez-Moreno *et al.* (1998) introdujo el término AE (Eficiencia antirradical), indicando que a mayor AE, mayor actividad antioxidante sin embargo, Molyneux (2004) propuso que la concentración eficiente debería incluir el uso de ácido ascórbico como estándar debido a las dudas con respecto a la determinación directa del DPPH obtenido de la curva de calibración y propusieron el término ARP (poder antirradical), lo contrario a EC50 indicando que, a mayor ARP, mayor eficiencia antioxidante del radical. La luz, el pH y el O_2 influyen en la absorbancia, compuestos con absorbancia en 515 nm como los carotenoides interfieren con la absorción máxima del DPPH, los antioxidantes poliméricos pueden ser subestimados debido a la estructura estérica.

Por otro lado, Guija-Poma *et al.* (2015) realizó un estudio mediante el cual analizó la capacidad antioxidante de la catequina y epicatequina utilizando diferentes concentraciones iniciales de DPPH encontradas actualmente en la bibliografía, obteniendo diferencias en los resultados para los mismos extractos, demostrando que a concentraciones mayores de DPPH, la sensibilidad de la técnica disminuye, concluyendo que es necesario también adoptar una concentración determinada de DPPH para todas las determinaciones analíticas para evitar tantas variaciones.

1.7.2. Método por 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico (ABTS)

El método TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity o capacidad antioxidante de equivalentes al Trolox) es una de las diversas variaciones que han surgido a partir de la técnica espectrofotométrica reportada por Miller *et al.* (1993) para medir actividad

antioxidante; la cual se basa en la inhibición de la absorbancia del catión radical ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)) que realiza el agente oxidante persulfato de potasio. La figura 1.7 (Shahidi *et al.*, 2015) muestra la reacción del ABTS con el persulfato de potasio. Posteriormente los antioxidantes neutralizan estos cationes mediante la transferencia de electrones u átomos de hidrogeno, lo cual hace que el cromóforo vaya perdiendo coloración y por lo tanto la disminución de la absorción espectrofotométrica. El cromóforo tiene 3 bandas de absorción máxima a 645, 734 y 815 nm, mostrando un color azul; siendo la banda 734 nm la que se toma en consideración para este método.

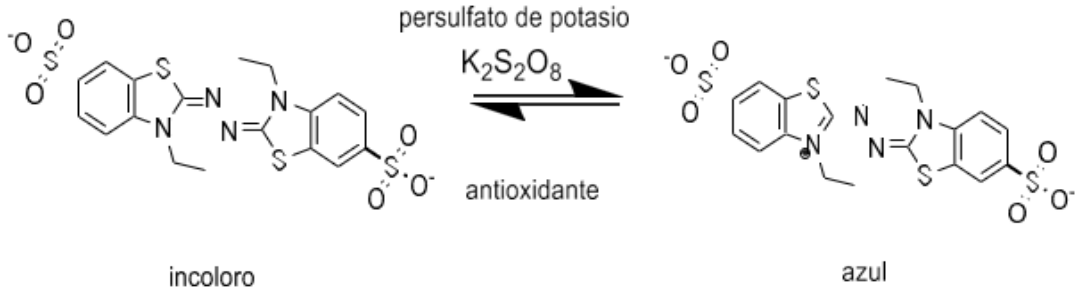


Figura 1.7. Reacción del ABTS radical en presencia de un antioxidante

Algunas de las desventajas de este método es que el radical ABTS tiene que ser generado tras una reacción química (dióxido de magnesio, persulfato de potasio), enzimática o electroquímica; el ABTS no es un radical fisiológico; los polifenoles están impedidos estéricamente, por lo que la reacción puede ser lenta; la luz y el pH influyen en la reducción del ABTS. Los valores de actividad antioxidante pueden depender del tiempo elegido para efectuar la medida: La absorbancia medida por el método ABTS se determina al minuto 1 y 7; sin embargo algunos investigadores indican que la reacción con el radical ABTS•+ no se completa hasta pasado 1 minuto, aunque según Re (1999) el tiempo de 4 minutos es el más apropiado, habiendo otros autores que sugieren tiempos de medida de 6 minutos para los patrones de referencia y de 7

minutos para los compuestos puros, extractos de plantas o de alimentos. Kuskoski *et al.* (2005) demostró que, para pulpas de frutos congelados, el tiempo de medida de la absorbancia entre 1 y 7 minutos no es significativo (95% de confianza); por lo que propone hacer las lecturas al minuto.

1.7.3. Método Folin – Ciocalteu

El método Folin-Ciocalteu se utiliza para medir la cantidad de compuestos fenólicos totales en productos vegetales, dado que estos compuestos son las moléculas con el mayor potencial para neutralizar los radicales libres. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que se mide espectrofotométricamente a 765 nm para su determinación de contenido polifenólico utilizando una curva patrón de ácido gálico. Este reactivo es una mezcla de ácidos, fosfowolfrámico y fosfomolíbdico en medio básico, que se reduce al oxidar los compuestos fenólicos de la muestra originando óxidos azules de wolframio (W8O23) y molibdeno (Mo8O23).

1.7.4. Secado por aspersión

Es un proceso industrial de deshidratación capaz de convertir un producto líquido a polvo a través de un atomizador, mediante el cual se forma una nube de pequeñas gotas que con el contacto con el medio caliente ocasiona la evaporación de la humedad, formándose partículas finas que son separadas mediante un ciclón. El

principio consiste en: 1) alimentación continua de la muestra a secar a la torre de secado, ésta debe ser homogénea, puede ser una dispersión o emulsión con su respectivo material encapsulante. 2) Se pone en contacto con una corriente de aire caliente en contraflujo o co-corriente, comenzando así la eliminación rápida de la humedad, formándose pequeñas partículas de forma esférica, no porosa. 3) al salir las microcápsulas de la cámara de la cámara de secado, atraviesan un ciclón y se depositan en el colector donde pueden ser recogidas (Murali, 2015). El proceso es continuo y controlado, maneja tiempos cortos de secado, lo que permite secar materiales termosensibles a bajo costo.

1.7.5. Yoghurt. Alimento funcional

El yoghurt es un derivado lácteo obtenido por la fermentación de las bacterias Lactobacillus bulgaricus y Streptococcus thermophilus, quienes convierten la lactosa de la leche en ácido láctico, provocando una disminución del pH y una consecuente precipitación de las proteínas, formándose una textura y sabor característico.

El proceso general para la obtención del yoghurt se describe a continuación; 1) se ajusta la composición de la leche hacia la cantidad de grasa y sólidos deseados; 2) la leche se pasteuriza a 85ºC (30 min) o a 95ºC (10 minutos); 3) se homogeniza (2000 – 2500 psi); 4) se enfría hacia 42ºC; 5) se inocula el cultivo; 6) se mantiene la temperatura por horas hasta llegar a un pH de 4.5; 7) se enfría la mezcla a 7ºC para detener la fermentación; 8) Se le agregan los ingredientes deseados (sabor/fruta/color/azúcar…); 9) se empaca y se mantiene en refrigeración.

Entre los principales beneficios que tiene el yoghurt hacia la salud humana y que lo describe como alimento funcional, destaca la presencia de lactasa en lugar de la lactosa; los microorganismos que contiene, ayudan a reestablecer la flora intestinal

sana; y por la cantidad de péptidos lácteos, puede fortalecer el sistema inmunológico; disminuir los niveles de colesterol en sangre, y provee de aporte de calcio absorbible.

MATERIALES Y MÉTODO

2. MATERIALES Y MÉTODO

La figura 2.1 muestra el diagrama general de la metodología utilizada en esta investigación.

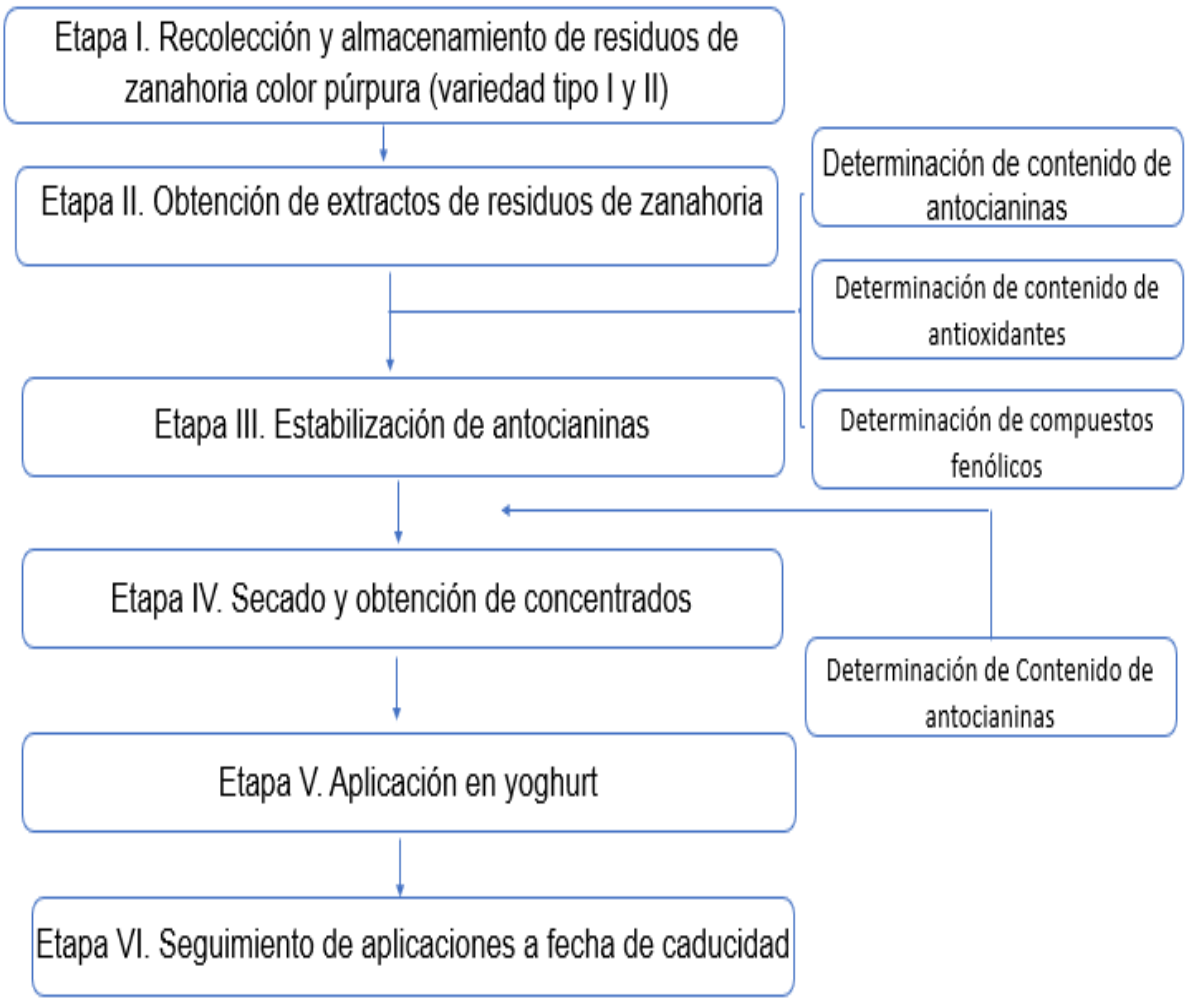

Etapa I. Recolección y almacenamiento de residuos de zanahoria color púrpura (variedad tipo I y II)
Etapa II. Obtención de extractos de residuos de zanahoria
Etapa III. Estabilización de antocianinas
Etapa IV. Secado y obtención de concentrados
Etapa V. Aplicación en yoghurt
Etapa VI. Seguimiento de aplicaciones a fecha de caducidad
Determinación de contenido de antocianinas
Determinación de contenido de antioxidantes
Determinación de compuestos fenólicos
Determinación de Contenido de antocianinas

Figura 2.1. Diagrama general de la metodología de investigación

31

2.1. Recolección y almacenamiento de residuos de zanahoria púrpura (variedad tipo I y II)

Los residuos de zanahoria púrpura fueron proporcionados por una empresa de pigmentos ubicada en el Estado de México y corresponden a dos lotes de producción, cada uno de 10 kg, los cuales fueron identificados como residuos de zanahoria, variedad tipo I y II. Los residuos fueron almacenados en muestras de 5 g en bolsas de polietileno a una temperatura entre 0 y 5ºC.

Los residuos provenientes de la variedad tipo I muestran una coloración roja y los residuos provenientes de la variedad Tipo II muestran una coloración roja-púrpura. Ambos residuos presentan un tamaño de partícula homogéneo y una consistencia fibrosa. Sin embargo, se destaca que los residuos de zanahoria tipo II presentan una textura al tacto más blanda. Ambos residuos presentan un porcentaje de humedad del 80%.

2.2. Obtención de extractos de residuos de zanahoria púrpura

La extracción de antocianinas a partir de los residuos de zanahoria color púrpura provenientes de dos variedades (tipo I y II) se realizaron mediante la molienda de los residuos con solución ácida a pH de 1-2 utilizando ácidos cítrico, tartárico, fosfórico y láctico.

2.3. Determinación del contenido de antocianinas en extractos de residuos de zanahoria púrpura

2.3.1. Antocianinas monoméricas

Para determinar la cantidad de antocianinas monoméricas se utilizó el método de pH diferencial, de acuerdo con lo reportado por Guisti *et al.* (2001) con algunas modificaciones.

Se prepararon dos diluciones buffer, cloruro de potasio y HCl (pH=1.0) y acetato de sodio y HCl (pH=4.5); posteriormente las muestras de extractos a analizar se disolvieron con las diluciones buffer a un factor de dilución previamente determinado, cada una por separado.

Posteriormente se midió la absorbancia de las muestras en el espectrofotómetro (PerkinElmer, Lambda 35, EUA) a la 520 (λmax) y 700 nm, usando como blanco agua destilada. El cálculo de la absorbancia (A) de la muestra diluida se realizó utilizando la ecuación (1)

$$A = (A_{\lambda vis-max} - A_{700})pH1.0 - (A_{\lambda vis-max} - A_{700})pH4.5 \quad (1)$$

El cálculo de la concentración de antocianinas monoméricas se realizó utilizando la ecuación 2

$$Antocianinas\ monoméricas\ \left(\frac{mg}{L}\right) = (A\ x\ PM\ x\ FD\ x\ 1000)/(\varepsilon x 1) \quad (2)$$

Donde,

PM = Peso molecular de la cianidina-3-glucósido, 449.2 g/mol; FD = Factor de dilución (Vf/Vi), ε = Coeficiente de extinción molar para la cianindina-3-glucósido, 26900 Lcm-

1mol-1, l = longitud de celda, 1 cm; 1000 = Factor de conversión de gramos a miligramos.

2.3.2. Antocianinas poliméricas

Para determinar el porcentaje de antocianinas o color poliméricos se utilizó el método de Guisti (2001), con algunas modificaciones.

Se preparó una solución de bisulfito como solución blanqueadora, se diluyó la muestra de extracto con agua destilada usando un factor de dilución previamente determinado; posteriormente se transfirieron 2.8 ml de la muestra diluida a la celda del espectrofotómetro (PerkinElmer, Lambda 35, EUA) y se agregaron 0.2 ml de la solución de bisulfito a una celda y 0.2 ml de agua destilada a otra celda para determinar las antocianinas que se blanquean o decoloran con bisulfito. Las celdas se dejaron en reposo durante 15 minutos y luego se midieron las absorbancias de ambas muestras, a 420 nm, λmax, y 700 nm. Para la lectura se utilizó agua destilada como blanco.

La densidad de color de la muestra control (agua destilada) se realizó utilizando la ecuación (3)

$$[\![Densidad\ de\ color = [(A_{420nm} - A_{700nm}) + (A_{\lambda max} - A_{700nm})]\ x\ FD \quad]\!] \qquad (3)$$

Posteriormente se calculó el color polimérico de la muestra blanqueada con el bisulfito utilizando la ecuación (4)

$$Color\ polimérico\ =\ [(A_{420nm}\ -\ A_{700nm})\ +\ (A_{\lambda max}\ -\ A_{700nm})]\ x\ FD \quad (4)$$

Finalmente se calculó el porcentaje de color polimérico utilizando la ecuación 5

$$\%\ Color\ polimérico\ =\ (color\ polimérico\ /\ densidad\ de\ color)\ x\ 100 \quad (5)$$

2.3.3. Antocianinas totales

El contenido total de antocianinas presentes en los extractos se determinó de acuerdo con el procedimiento descrito por Djordjevic *et al.*, (2013).

El contenido total de antocianinas se obtuvo midiendo la absorbancia de la muestra a 528 nm y se utilizó la ecuación 6 para la determinación del porcentaje de antocianinas.

$$\%\ Antocianinas = \left(\frac{A\ x\ FD}{718\ \mathrm{x\ m}}\right) x\ 100 \quad (6)$$

Donde A es la absorbancia obtenida de la muestra en la λmax y m es la masa de la muestra utilizada en gramos, el peso molecular de la cianidina-3-glucósido a 528 nm es 718 y FD = Factor de dilución (Vf/Vi), 100 es el factor de conversión para obtener el porcentaje.

2.3.4. Contenido de pigmento de antocianinas (mg/L)

El contenido de antocianinas presentes en los extractos y concentrados evaluados se determinó de acuerdo con el procedimiento descrito por Wang (2013). Se obtuvo midiendo la absorbancia de la muestra a 525nm y se utilizó la ecuación 7 para la determinación de mismo.

$$Contenido\ de\ antocianinas\ (mg/L)\ =\ (A\ x\ PM\ x\ FD\ x\ 1000)\ /\ (\varepsilon\ x\ 1) \qquad (7)$$

Donde A es la absorbancia obtenida de la muestra a la λmax, PM = Peso molecular (449.2 Daltons), FD = Factor de dilución, ε= Absortividad molar (29, 900). El contenido de pigmento de antocianina se calculó como equivalentes de cianidina-3-glucósido.

2.4. Determinación de actividad antioxidante de los extractos de residuos de zanahoria púrpura

Los métodos utilizados para la determinación de la actividad antioxidante fueron el método de inhibición del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), 2,2-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)) (ABTS) y contenido de fenoles totales. Los métodos se describen a continuación.

2.4.1. Porcentaje de inhibición del radical DPPH

Se preparó una solución de DPPH (Sigma-Aldrich, STBF6566) al 0.1mM en metanol acuoso al 80% y se mantuvo en la obscuridad durante 24h (Roy *et al.*, 2015).

Para la determinación de actividad antioxidante, se adicionaron 0.1 ml de extracto de muestra a 2.9 ml de la solución de DPPH metanóica, y se midió la absorbancia de esta solución a 520 nm, la cual fue identificada como absorbancia control. Posteriormente, la solución DPPH-extracto se dejó en agitación en la obscuridad por 16 minutos, y se midió nuevamente la absorbancia, indicada como absorbancia del antioxidante.

El porcentaje de inhibición del radical DPPH se calculó mediante la ecuación 8.

$$\%\ Inhibición\ de\ DPPH\ =\ \left(\frac{(A_{C(0)} - A_{A(t)})}{A_{C(0)}}\right) x\ 100 \qquad (8)$$

Donde,

$A_{C(0)}$ = Absorbancia del control a tiempo 0, t=0 min

$A_{C(t)}$ = Absorbancia del antioxidante al tiempo t, t= 16 min

Los resultados de inhibición de DPPH, se complementaron con la determinación de la capacidad antioxidante de los extractos, tomando como referencia los equivalentes de trolox (Ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico). Para ello se utilizó una

ecuación de correlación en la cual se extrapola la correspondiente equivalencia de trolox según el porcentaje de actividad antioxidante obtenido (Zhang *et al.*, 2014).

Los resultados obtenidos representan la capacidad de los extractos para capturar los radicales libres del trolox, indicando la habilidad de la muestra a atrapar el radical DPPH, en relación con una solución estándar de trolox como compuesto de referencia. La curva de calibración se construyó con cinco puntos a las concentraciones 0.09, 0.18, 0.36, 0.72, 1.44 mM trolox.

2.4.2. Porcentaje de inhibición del radical ABTS

Para la determinación el porcentaje de inhibición del radical ABTS (AMRESCO – 2723C188, CAS: 30931-67-0) se preparó una solución de persulfato de potasio a

2.45 mM y por otro lado se preparó una solución de 7 mM de ABTS; posteriormente se mezclaron cantidades iguales de ambas soluciones en un vial ámbar, la cual se dejó reposar 24 horas a temperatura de refrigeración (5-10°C). Posteriormente diluyó la solución de ABTS radical con 90% de metanol hasta obtener una absorbancia de 0.7 ($\pm$0.02) a 734 nm (diluyendo 1:71.8 (v/v) de metanol 90%); a esta solución se le dio el nombre de solución madre.

De la solución madre se tomaron 2 ml y se colocaron en una celda de cuarzo y se tomó una alícuota de extracto de 20 microlitros para su posterior lectura de la absorbancia a 734 nm en un espectrofotómetro UV-VIS (PerkinElmer, Lambda 35, EUA).

El % de inhibición del radical ABTS· se calculó mediante la ecuación 9.

$$\%\ Inhibición\ ABTS = \left(\frac{A_{st0} - A_{stf}}{A_{st0} - \left(\frac{A_{dt0} - A_{dtf}}{A_{dt0}}\right)}\right) x\ 100 \quad (9)$$

Donde:

A_{st0} y A_{stf} = Absorbancia de la muestra a tiempo inicial y final respectivamente

A_{dt0} y A_{dtf} = Absorbancia del disolvente a tiempo inicial y final.

Igualmente, en el método DPPH, también se calculó la capacidad antioxidante de los extractos de antocianinas mediante equivalentes de trolox - Ácido-6-hidroxi- 2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Sigma-Aldrich BCBW5446, CAS: 53188- 07). La curva de calibración se construyó con cinco puntos a las concentraciones 0.09, 0.18, 0.36, 0.72, 1.44 mM trolox.

2.5. Determinación de contenido de fenoles

La metodología aplicada para este análisis se realizó con base en la metodología propuesta por Folin et al. (Folin, 1927). Se tomaron 2ml de reactivo Folin (Merck KGaA Darmstadt – HC57024401) y se llevó a un volumen de 10 ml con agua destilada, dando como resultado una solución diluida (SD). Se tomó una alícuota de cada extracto utilizado y se le adicionaron 0.75 ml de NaHCO3, posteriormente se agitó y se dejó reposar durante 20 minutos para asegurarse que la reacción se lleve a cabo. Se midió la absorbancia de las muestras a 750 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (PerkinElmer, Lambda 35, EUA). Los datos obtenidos se ajustaron a una curva de

calibración utilizando ácido gálico (Sigma-Aldrich, SLBQO358V) como referencia, utilizándose 5 puntos a las concentraciones de 62.5, 125, 250, 500, 750 µg/ml.

2.6. Estabilización de antocianinas de extractos de residuos de zanahoria púrpura mediante copigmentación y encapsulamiento

En esta etapa se utilizaron la copigmentación y el encapsulamiento en biopolímeros como estrategias para estabilizar las antocianinas provenientes de extractos de residuos de zanahoria púrpura.

1) En la copigmentación se utilizaron dos técnicas, i) la reducción de agua de los extractos de zanahoria mediante evaporación y concentración, utilizando un rotaevaporador marca IKA (modelo RV10B1, Alemania), en condiciones de 60 rpm, 50ºC, 425 mmHg de presión por aproximadamente 5 horas, obteniendo una cantidad de concentrado de 22 g en promedio. ii) Adición de polímeros a los extractos concentrados usados como agentes de copigmentación o transportadores. Los polímeros utilizados fueron los carbohidratos, maltodextrina – Aldrich Chemistry, dextrosa equivalente 4.0 – 7.0 lote. MKCG1572, CAS: 9050-36-6; almidón soluble – Analytyka, lote: 970214, CAT: A3500; goma arábiga de árbol de acacia – Sigma-Aldrich, lote: SLBL3988V, CAS: 9000-01-5; carboximetilcelulosa – Sigma, lote: 066K0157, CAS: 9004-32-4; pectina de bajo metoxilo – producto de trabajos anteriores en el laboratorio; xiloglucano – producto de trabajo de laboratorio. El porcentaje de polímero adicionado a los extractos concentrados de antocianinas se muestra en el Anexo I.

Los polímeros fueron adicionados por separado a los extractos, mezclando en una sonicador, marca Branson 1800 por 1 hora, con el fin de lograr disoluciones homogéneas.

Los extractos concentrados y los extractos concentrados con polímeros se almacenaron en obscuridad, a 4ºC y 20ºC para dar seguimiento a la estabilización de las antocianinas por efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento.

En cada caso se consideró una repetición por cada experimento y se midió el contenido de antocianinas totales mensual durante un año.

2) La otra técnica utilizada para la estabilización de antocianinas fue el encapsulamiento. Para llevarlo a cabo, se tomaron los extractos de antocianinas provenientes de los residuos de zanahoria púrpura y se adicionó maltodextrina al 8% (muestra llamada MD8); a la segunda se le adicionó goma arábiga al 8% (muestra llamada GA8). Posteriormente las muestras se llevaron a las instalaciones de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM) en donde se sometieron a secado mediante un secador por aspersión marca TURBO-SPRAY a temperatura de 180°C para obtener polvos de antocianinas.

Los polvos fueron almacenados en obscuridad a 20 °C para dar seguimiento a la estabilización de las antocianinas por efecto del tiempo de almacenamiento. En cada caso se midió el contenido de antocianinas totales, considerando una repetición por cada experimento.

2.7. Elaboración de un yoghurt con aplicación de concentrados y polvos de antocianinas de extractos de residuos de zanahoria púrpura

El yoghurt se preparó con una mezcla de leche entera pasteurizada y leche en polvo; dicha mezcla se pasteurizó a 85°C (5min) y posteriormente se enfrió a 50°C. Posteriormente se adicionó un cultivo de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* por inoculación directa con agitación.

La preparación se incubó a 50ºC por 8 horas hasta alcanzar un pH de 4.5. Se consideraron las especificaciones citadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-181-SCFI-2010, Yoghurt, denominación, especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas, información comercial y métodos de prueba. La composición del yoghurt fue de 13.6% de proteína, 5% de grasa y 5.74% de carbohidratos.

El yoghurt experimental fue enriquecido individualmente con el concentrado de antocianinas (conc.); el polvo secado por aspersión con maltodextrina al 8% (MD8) y el polvo secado por aspersión con goma arábiga al 8% (GA8) respetando la Norma Oficial Mexicana (NOM-218-SSA1-2011); donde establece como límite máximo de antocianinas en un producto listo para consumo, 300 mg/L; y a la goma arábiga como aditivo permitido mientras se sigan las Buenas Prácticas de Fabricación (BPF).

Se determinó pH, °Bx y viscosidad. El pH se midió con un potenciómetro digital OHAUS – Starter 300 siguiendo la metodología definida en la Norma Oficial Mexicana NMX-F-317-S-1978. La determinación de °Bx se midió con un refractómetro digital portátil OPTi de Bellingham + Stanley siguiendo la metodología definida en la Norma Oficial Mexicana NMX-F-436-SCF-2011.

La viscosidad del yoghurt se determinó por medio del reómetro rotacional Brookfield (Engneering Laboratories, Inc, Synchro-Lectric modelo RVF-110) a 20 rpm utilizando el dispositivo spindle No.2. La temperatura de lectura fue de 20°C. Los resultados se reportan en centipoise (cps), equivalente a mPa*seg. La determinación de la muestra de yoghurt blanco se sometió a la misma agitación a la que se sometió el yoghurt con la aplicación de las muestras (conc. MD8, GA8).

2.8. Estabilidad de antocianinas, DPPH y Folin en el yoghurt

Al yoghurt elaborado se le dio seguimiento durante su almacenamiento (30 días) en términos del contenido de antocianinas por el método descrito en el apartado 2.3.4 y actividad antioxidante por el método descrito en el apartado 2.4.1 y 2.5.

Como blanco se utilizó un producto comercial sin color y sabor y uno con sabor fresa.

Para la determinación de antocianinas y antioxidantes a partir del yoghurt, se tomó como referencia la metodología publicada por Benchikh *et al.* (2020), con ciertas modificaciones. Se tomaron 0.5 g de muestra y se colocaron en un tubo de ensayo. Se añadieron 20 ml de agua acidificada (50:50 v/v, pH=2). Los tubos se agitaron a velocidad constante durante 15 min con barras magnéticas. Se centrifugaron a 2500 rpm durante 10 minutos y se recuperó el sobrenadante para su correspondiente medición, manteniéndose a 4°C.

3. RESULTADOS

3.1. Contenido de antocianinas en extractos de residuos de zanahoria púrpura

3.1.1. Antocianinas monoméricas

La figura 3.1 muestra un ejemplo del espectro Uv-vis obtenido de un extracto de residuos de zanahoria tipo I en la determinación de antocianinas monoméricas.

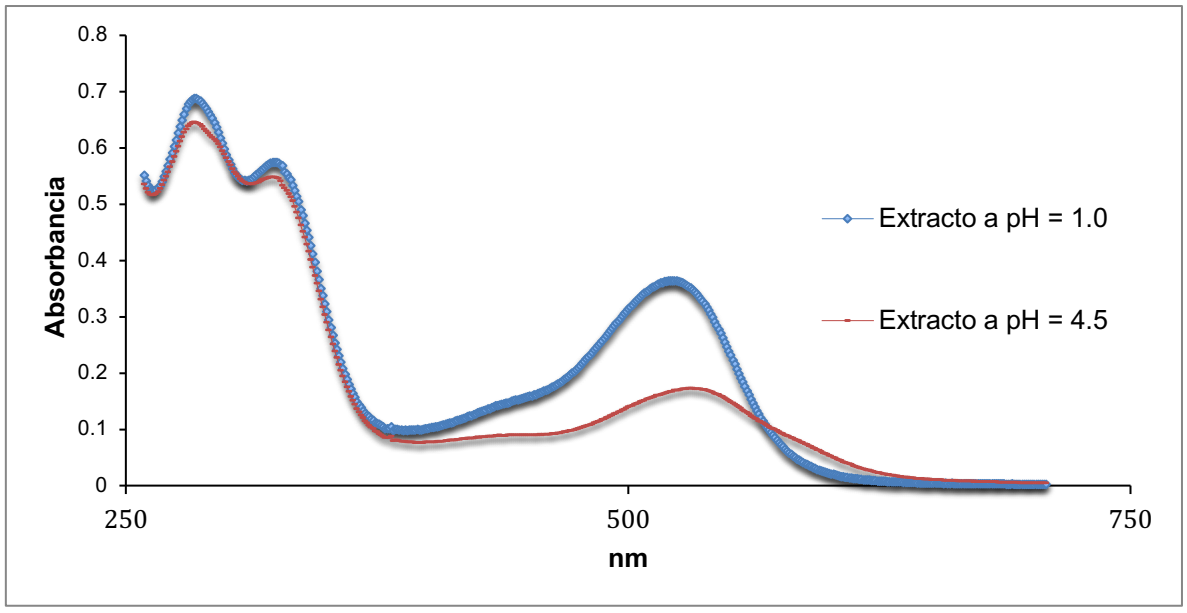


Figura 3.1. Espectro Uv-vis de una muestra de extracto proveniente de los residuos de zanahoria tipo I, utilizado para determinar antocianinas monoméricas.

La figura 3.2 y 3.3 muestran los resultados de antocianinas monoméricas (mg/L) contenidas en extractos de residuos zanahoria tipo I y II, utilizando 4 soluciones ácidas para la extracción de antocianinas.

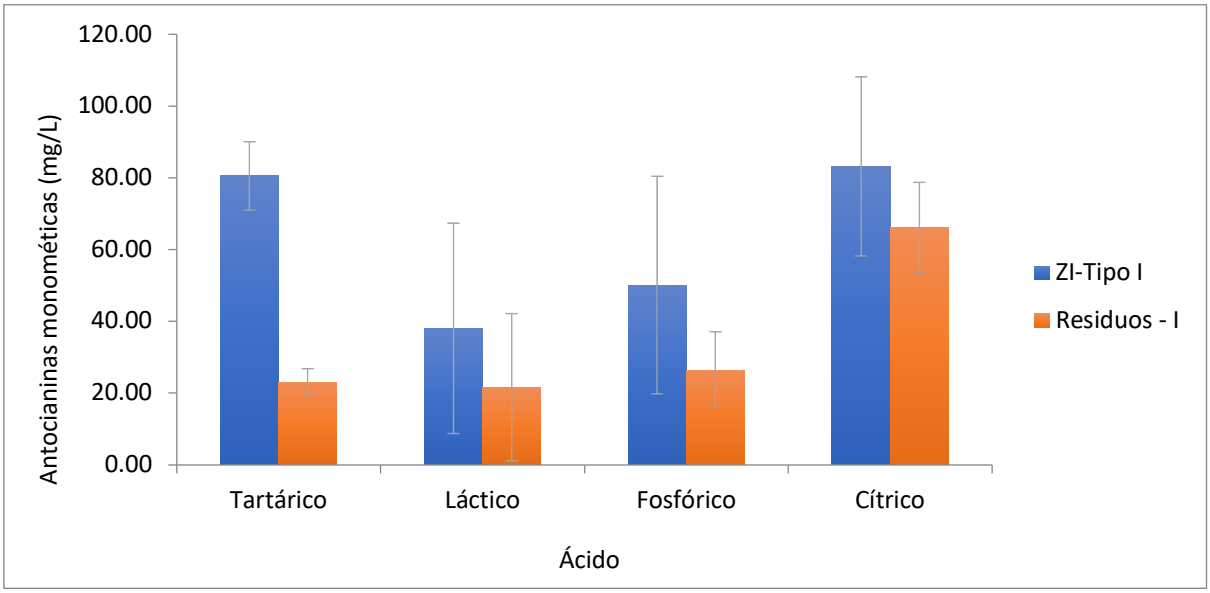


Figura 3.2. Contenido de antocianinas monoméricas (mg/L) en extractos de residuos de zanahoria tipo I (residuos) y de zanahoria utilizada como referente (ZI).

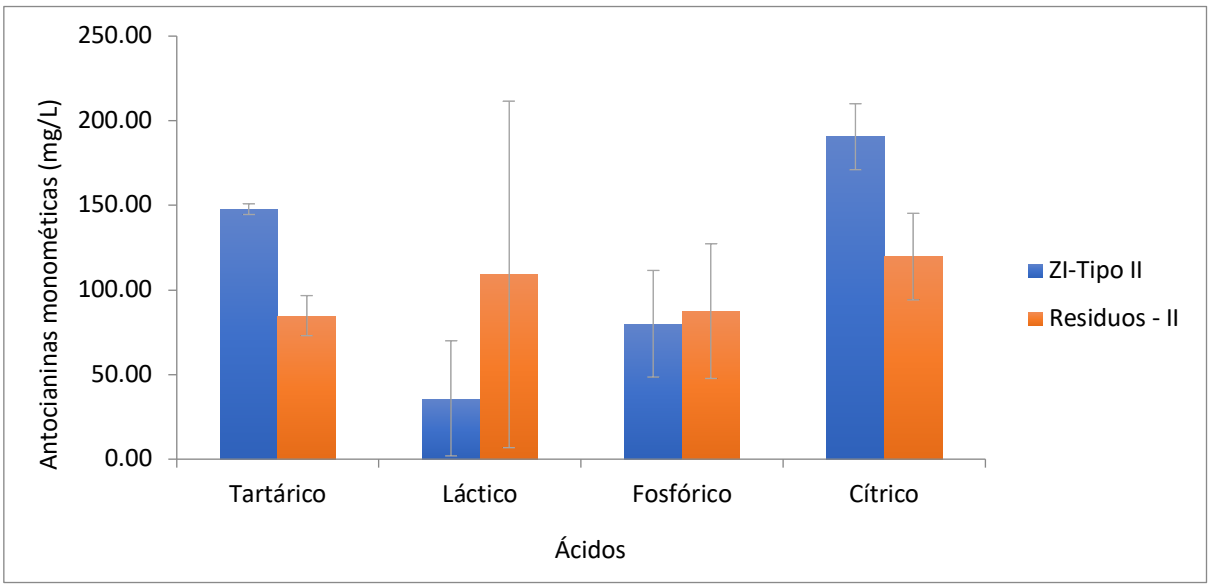


Figura 3.3 Contenido de antocianinas monoméricas (mg/L) en extractos de residuos de zanahoria tipo II (residuos) y de zanahoria utilizada como referente (ZI)

La tabla 3.1 muestra el análisis ANOVA de los datos obtenidos de antocianinas monoméricas en los extractos de residuos de zanahoria purpura.

Tabla 3.1. ANOVA de antocianinas monoméricas de los extractos obtenidos a partir de los residuos de zanahoria (R).

Extracto	Antocianinas monoméricas (mg/100gpf)	Diferencias significativas debido altipo de zanahoria*	Diferencias significativas debido alos ácidos utilizados*
R-C-TI	79.46 ± 23.58	B	A
R-T-TI	66.54 ± 25.05	B	A
R-L-TI	34.87 ± 24.30	B	B
R-F-TI	26.61 ± 10.49	B	B
R-C-TII	153.04 ± 34.41	A	A
R-T-TII	113.34 ± 10.87	A	A
R-L-TII	42.91 ± 5.02	A	B
R-F-TII	54.14 ± 30.61	A	B

*En una misma columna, letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los extractos para un p-valor inferior a 0.05. pf = peso fresco, R= residuos de zanahoria, TI= zanahoria Tipo I, TII= zanahoria Tipo II, C= ácido cítrico, T= ácido tartárico, L= ácido láctico, F= ácido fosfórico.

El análisis ANOVA indicó diferencias significativas de contenido de antocianinas monoméricas en los extractos de residuos de zanahoria tipo I y II. De acuerdo con los resultados, el mayor contenido de antocianinas monoméricas, (mg/100g pf) se encontró en los extractos tipo II.

Con respecto a los ácidos utilizados en la extracción, ambos tipos de zanahoria (Tipo I y II) se comportaron de manera similar, indicando que entre los ácidos cítrico y tartárico no hubo diferencia significativa; mientras que se encontraron diferencias significativas entre las antocianinas monoméricas con respecto a los ácidos láctico y fosfórico.

A su vez, los extractos de la zanahoria de referencia tipo I y II (figura 3.3.) utilizados como referente de ambos residuos, también presentaron el mismo comportamiento. El

contenido de antocianinas monoméricas más alto fue encontrado en extractos de ácido cítrico y tartárico. Por tanto, se establece que mediante el ácido cítrico y tartárico es posible extraer mayor cantidad de antocianinas monoméricas en esos tipos de zanahoria (Tipo I y II). La tabla 3.2 muestra el análisis ANOVA correspondiente.

Tabla 3.2. ANOVA de antocianinas monoméricas de los extractos obtenidos a partir de la zanahoria inicial de referencia (ZI).

Extracto	Antocianinas monoméricas (mg/100gpf)	Diferencias significativas debido altipo de zanahoria*	Diferencias significativas debido alos ácidos utilizados*
ZI-C-TI	83.40 ± 25.22	B	A
ZI-T-TI	80.57 ± 9.5	B	A
ZI-L-TI	38.09 ± 29.33	B	B
ZI-F-TI	50.15 ± 30.32	B	B
ZI-C-TII	190.54 ± 19.47	A	A
ZI-T-TII	147.83 ± 3.31	A	A
ZI-L-TII	38.48 ± 31.59	A	B
ZI-F-TII	80.02 ± 31.52	A	B

*En una misma columna, letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los extractos para un p-valor inferior a 0.05. pf = peso fresco, ZI= zanahoria inicial, R= residuos de zanahoria, TI= zanahoria Tipo I, TII= zanahoria Tipo II, C= ácido cítrico, T= ácido tartárico, L= ácido láctico, F= ácido fosfórico.

La diferencia de contenido de antocianinas monoméricas (mg/100g pf) entre extractos de residuos de zanahoria tipo I y II mostró que el mayor contenido se encontró en residuos del tipo II, alcanzando valores de 153.04 y 113.34 mg/100g pf contra 83.4 y 80.57 mg/100g pf del tipo I (ambos en extractos de ácido cítrico y tartárico, respectivamente).

Con respecto a los referentes, los extractos de zanahoria tipo II, también mostraron el más alto contenido de antocianinas monoméricas en extractos de zanahoria tipo II, alcanzando valores de 190.54 y 147.83 mg/100g pf en extractos de ácido cítrico y ácido tartárico, respectivamente.

Bajo la comparación del contenido de antocianinas monoméricas entre zanahoria tipo I y II y sus residuos, se encontró que estos últimos contienen aproximadamente 20-30% menos, lo que significa que los residuos aún contienen una cantidad considerable de antocianinas para ser aprovechados (70-80%).

Considerando lo reportado en la bibliografía, Algarra *et al.* (2014) reportó valores de antocianinas monoméricas en zanahoria color púrpura entre 126.4 +/- 6 mg/100g pf para la zanahoria variedad Purple Haze y 93.8 +/- 3.0 mg/100g pf para la zanahoria variedad Antonina, en este caso el autor utilizó HCl y etanol para la extracción. Por otro lado, Montilla *et al.* (2011), reportó valores de antocianinas monoméricas en zanahoria color púrpura entre 15 y 177 mg/L, utilizando HCl para la extracción. La diferencia en resultados se atribuye a la variedad de zanahoria y ácido utilizado.

En relación con otras fuentes de obtención de antocianinas, Lee *et al.* (2004) obtuvo 13.6 mg/L de antocianinas monoméricas en extractos de arándanos y 63.6 mg/L en extractos de fresa; Ochoa *et al.* (2020) reporta valores de antocianinas monoméricas obtenidas a partir del ñame púrpura (Dioscorea alata) con valores en un rango de 1.26 a 0.56 mg / g de materia seca, obtenidas mediante la extracción ultrasónica y con Soxhlet, utilizando EtOH/agua como medio de extracción. Las comparaciones anteriores nos muestran que los residuos de zanahoria color púrpura considerados en este estudio superan el contenido de antocianinas monoméricas, y, por tanto, representan una materia prima competitiva para su aprovechamiento.

Para explicar la eficacia de los ácidos sobre la cantidad de antocianinas presentes en los extractos evaluados, debemos recordar la estructura química de los ácidos orgánicos analizados; el ácido cítrico es un ácido tricarboxílico, el ácido tartárico es dicarboxílico, el láctico es mono carboxílico y el ácido fosfórico es un ácido inorgánico. Los resultados mostraron que la mayor cantidad de antocianinas se obtuvieron con los ácidos con mayor grupos carboxílicos; mismo que lo reportado por Yawadio *et al.* (2007), quien estudió el efecto de ácidos carboxílicos aromáticos sobre las antocianinas provenientes del arroz negro y concluyó que a mayor cantidad de grupos carboxílicos presentes en la nueva estructura formada, las piroantocianinas, mejor la

potencialización del color obtenido; dado que a mayor metoxilación dentro del ácido orgánico utilizado, se obtienen mejores resultados apoyando la hipótesis de que los grupos acilos ocurrían principalmente en las posiciones C-3 y C-6 del monosacárido, por lo tanto, propuso mecanismos de modificaciones químicas de antocianinas-glucósidos. Proponen que el primer mecanismo de acción es el relacionado con la acilación del azúcar, seguido de del Arreglo de Fries: AlCl3 cataliza la conversión de arilésteres (resultando de la acilación del azúcar) a aril alkil cetona. La segunda reacción la proponen como la adición de Michaels, la cual procede de la formación de vinil fenoles vía una serie de reacciones: adición de Michaelis, ciclización, de hidrogenación, descarboxilación, oxidación y aromatización (Yawadio *et al.*, 2007).

3.1.2. Porcentaje de color polimérico

La figura 3.4 muestra un ejemplo del espectro Uv-vis de un extracto de residuos de la zanahoria tipo I obtenido en la determinación de color polimérico.

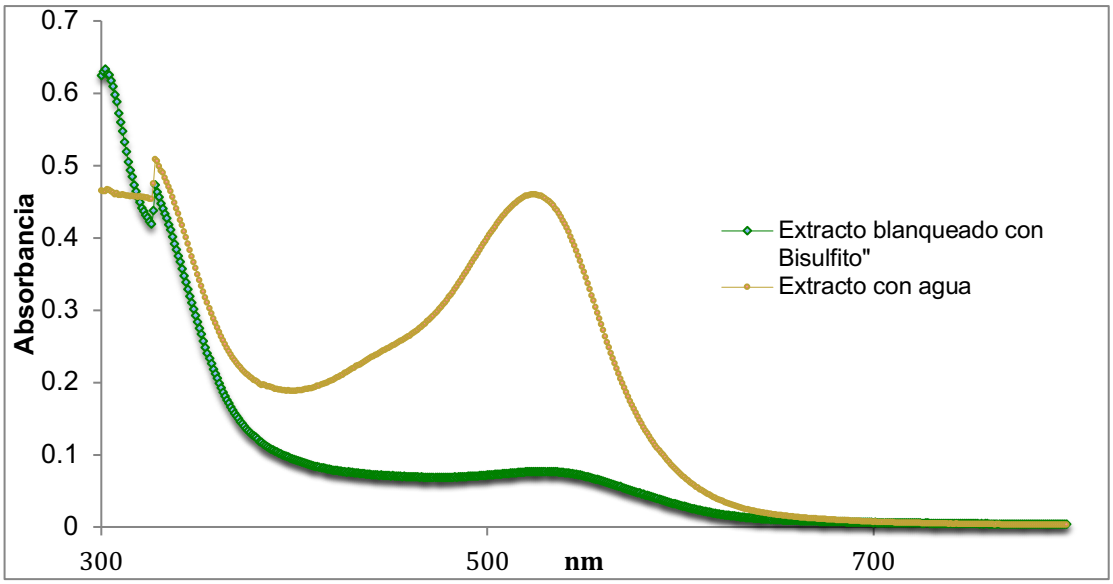


Figura 3.4. Espectro Uv-vis de un extracto de residuos de zanahoria tipo I obtenido en la determinación de color polimérico.

De la figura 3.5. y 3.6 se observa que los residuos de zanahoria color púrpura tipo II y la zanahoria de referencia tipo II mostraron mayor contenido de color polimérico, en comparación con sus correspondientes residuos y zanahorias de referencia tipo I.

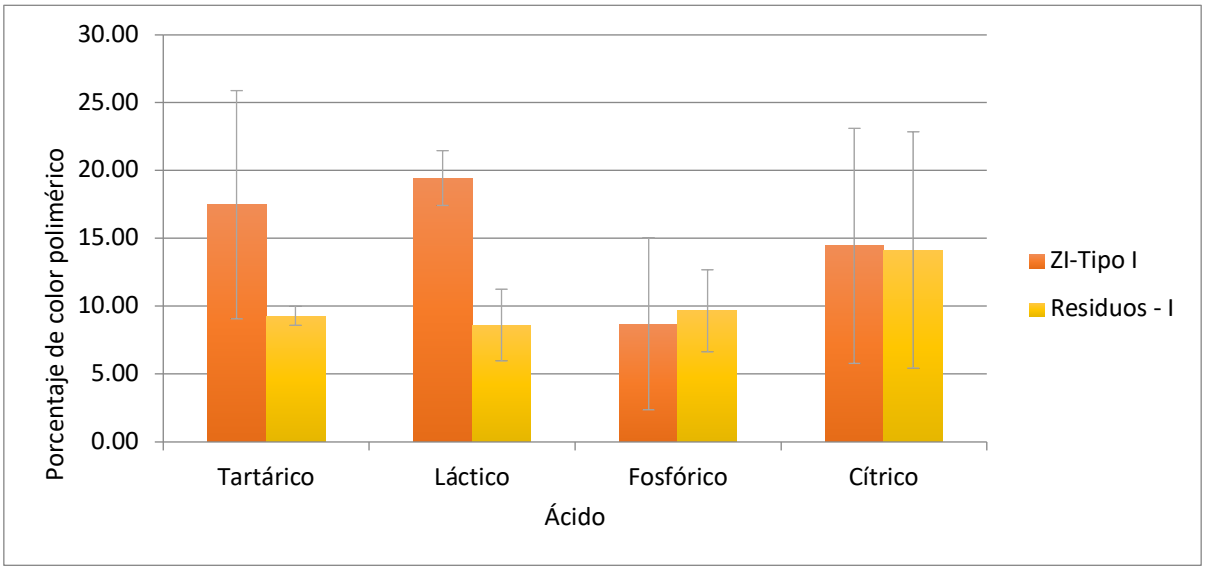


Figura 3.5. Porcentaje de color polimérico en extractos de residuos y zanahoria tipo I.

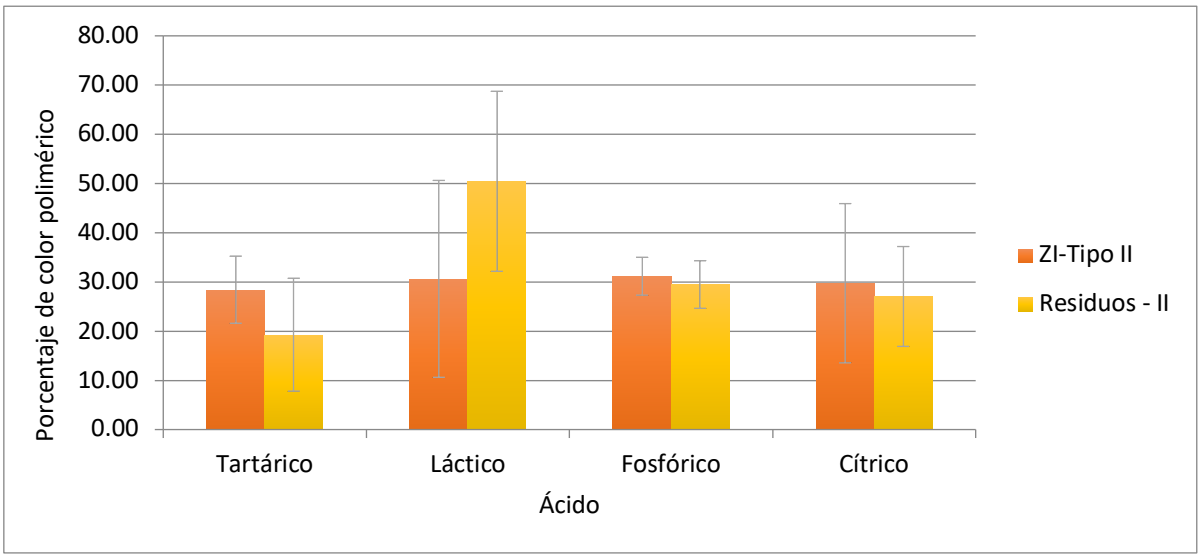


Figura 3.6. Porcentaje de color polimérico en extractos de residuos y zanahoria tipo II.

Los valores obtenidos de antocianinas poliméricas para los residuos de zanahoria tipo II oscilaron en valores entre 29.73 y 31.16%, en comparación con la cantidad obtenida de en los residuos de zanahoria tipo I, valores entre 12.04 y 19.45%.

Así mismo, los valores obtenidos de antocianinas poliméricas para las zanahorias de referencia tipo II son superiores (28.42 – 31.16%) a los valores obtenidos para las zanahorias de referencia tipo I (12.04 – 19.45%; presentando el mismo comportamiento antes mencionado para los residuos.

El porcentaje de color polimérico obtenido a partir de extractos de los residuos de la zanahoria tipo I se encontraron entre 12 y 19.5%, mientras que los extractos de zanahoria tipo I presentaron 9 – 12%, encontrando una pérdida del 20-30 % de color polimérico entre zanahoria y residuos.

Las tablas 3.3 y 3.4 muestran el correspondiente análisis ANOVA de los datos de antocianinas poliméricas en los extractos de residuos tipo I y II y su referente.

Tabla 3.3. Antocianinas poliméricas de los extractos obtenidos a partir de los residuos de zanahoria (R).

Extracto	Antocianinas poliméricas (%)	Diferencias significativas debido al tipo de zanahoria*	Diferencias significativas debido a los ácidos utilizados*
R-C-TI	14.45 ± 8.66	B	A
R-T-TI	17.49 ± 8.41	B	A
R-L-TI	19.45 ± 2.02	B	A
R-F-TI	12.04 ± 4.07	B	A
R-C-TII	29.73 ± 16.18	A	A
R-T-TII	28.42 ± 6.83	A	A
R-L-TII	30.62 ± 20.00	A	A
R-F-TII	31.16 ± 3.85	A	A

*En una misma columna, letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los extractos para un p-valor inferior a 0.05. pf = peso fresco, R= residuos de zanahoria, TI= zanahoria Tipo I, TII= zanahoria Tipo II, C= ácido cítrico, T= ácido tartárico, L= ácido láctico, F= ácido fosfórico

Tabla 3.4. Antocianinas poliméricas de los extractos obtenidos a partir de la zanahoria púrpura inicial de referencia (ZI).

Extracto	Antocianinas poliméricas (%)	Diferencias significativas debido al tipo de zanahoria*	Diferencias significativas debido a los ácidos utilizados*
ZI-C-TI	10.82 ± 2.93	B	A
ZI-T-TI	9.31 ± 0.71	B	A
ZI-L-TI	9.62 ± 0.93	B	A
ZI-F-TI	11.66 ± 2.5	B	A
ZI-C-TII	27.04 ± 10.15	A	A
ZI-T-TII	26.62 ± 12.22	A	A
ZI-L-TII	33.80 ± 14.29	A	A
ZI-F-TII	32.80 ± 3.65	A	A

*En una misma columna, letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los extractos para un p-valor inferior a 0.05. pf = peso fresco, ZI= zanahoria inicial, R= residuos de zanahoria, TI= zanahoria Tipo I, TII= zanahoria Tipo II, C= ácido cítrico, T= ácido tartárico, L= ácido láctico, F= ácido fosfórico.

3.1.3. Porcentaje de Antocianinas totales

La figura 3.7 muestra un ejemplo del espectro Uv-vis de un extracto de residuos de la zanahoria tipo I obtenido en la determinación de antocianinas totales.

El mayor porcentaje de antocianinas totales se encontró en extractos de ácido tartárico y cítrico provenientes de residuos de zanahoria tipo II, alcanzando valores de 14 a 24%, respectivamente, mientras que los extractos de residuos de zanahoria tipo I, mostraron valores de 15 a 19% para los mismos ácidos, tartárico y cítrico, respectivamente.

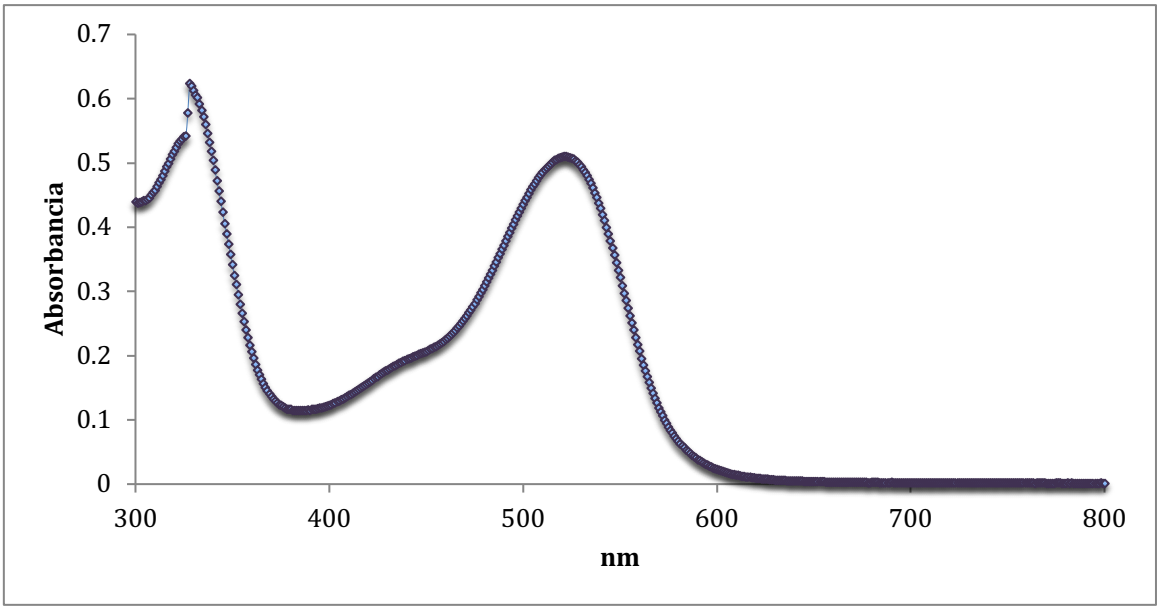


Figura 3.7. Espectro Uv-vis de un extracto de residuos de zanahoria tipo I, utilizado en la determinación de antocianinas totales.

En las figuras 3.8 y 3.9 se muestran los resultados obtenidos sobre el porcentaje de antocianinas totales en extractos de residuos y zanahoria tipo I y II.

Con respecto a los referentes, el zanahoria tipo II arrojó el mayor contenido de antocianinas totales en extractos de ácidos tartárico y cítrico (33 y 41% respectivamente), mientras los valores obtenidos por los referentes de zanahoria tipo I alcanzaron valores de 20 y 31%.

Las figuras 3.8 y 3.9 también muestran que el porcentaje de antocianinas totales obtenido para los residuos de los referentes zanahoria (tipo I y II), mantuvieron la misma tendencia encontrada en los resultados de los residuos.

Las tablas 3.5 y 3.6 muestran el análisis ANOVA de los datos de antocianinas totales en los extractos de residuos de zanahoria púrpura tipo I y II.

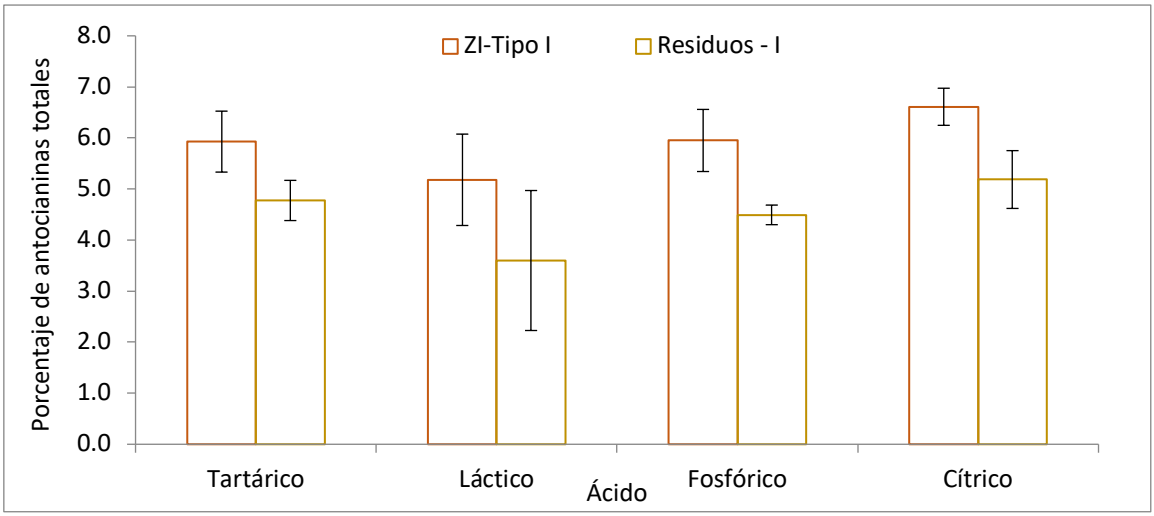


Figura 3.8. Porcentaje de antocianinas totales en extractos de residuos y zanahoria tipo I.

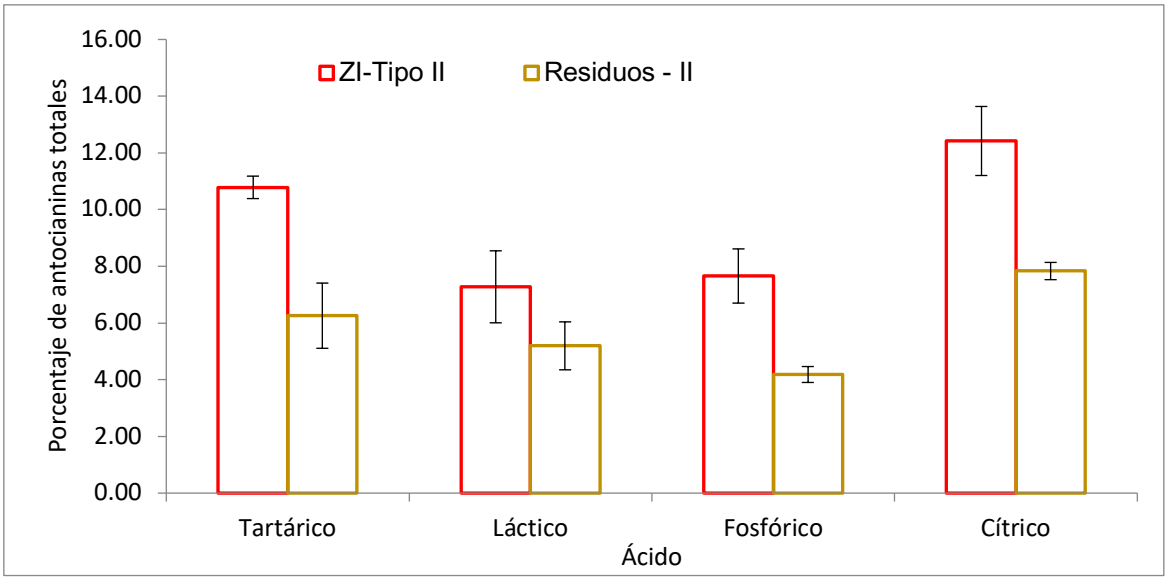


Figura 3.9. Porcentaje de antocianinas totales en extractos de residuos y zanahoria Inicial tipo II.

El análisis ANOVA indicó que existen diferencias significativas en las antocianinas totales y los tipos de residuo I y II.

A su vez, entre los tipos de ácido utilizado en la obtención de extractos, el ácido cítrico mostró diferencia significativa con respecto al contenido de antocianinas totales, pero no existen diferencias significativas entre el ácido tartárico y los otros dos ácidos (láctico y fosfórico) utilizados.

Bajo los resultados encontrados sobre contenido de antocianinas en extractos de residuos de zanahoria púrpura, se establece que el mayor contenido de antocianinas monoméricas, poliméricas y totales es proporcionado por los residuos de zanahoria tipo II, por lo que este tipo de zanahoria se seleccionó para posteriores análisis.

Por su parte, los ácidos que permiten la mayor extracción de antocianinas en los residuos de zanahoria color purpura son el ácido cítrico y tartárico, por lo que estos extractos se seleccionaron para posteriores análisis. El resultado se atribuye a la copigmentación y estabilización que causa la adición de los ácidos cítrico y tartárico a las antocianinas, debido a la formación de complejos o asociación de las moléculas, colaborando en la protección de la molécula al ataque del agua, lo que no sucede con el ácido fosfórico.

La pérdida de antocianinas en los extractos de residuos con respecto a los extractos de la zanahoria de donde provienen es del 10-30%, por lo que aún pueden ser aprovechados para diferentes aplicaciones. Con respecto a otras fuentes de obtención de antocianinas, los residuos de zanahoria son competitivos debido a su alto contenido en estas estructuras.

Tabla 3.5. Antocianinas totales de los extractos obtenidos a partir de los residuos de zanahoria (R).

Extracto	Antocianinas totales (%)	Diferencias significativas debido al tipo de zanahoria*	Diferencias significativas debido a los ácidos utilizados*
R-C-TI	19.02 ± 5.31	B	A
R-T-TI	15.92 ± 1.61	B	A B
R-L-TI	12.00 ± 5.6	B	B
R-F-TI	14.98 ± 0.79	B	B
R-C-TII	24.37 ± 3.94	A	A
R-T-TII	20.86 ± 4.70	A	A B
R-L-TII	17.31 ± 3.45	A	B
R-F-TII	13.94 ± 1.15	A	B

*En una misma columna, letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los extractos para un p-valor inferior a 0.05. pf = peso fresco, R= residuos de zanahoria, TI= zanahoria Tipo I, TII= zanahoria Tipo II, C= ácido cítrico, T= ácido tartárico, L= ácido láctico, F= ácido fosfórico.

Tabla 3.6. Antocianinas totales de los extractos obtenidos a partir de la zanahoria púrpura inicial de referencia (ZI).

Extracto	Antocianinas totales (%)	Diferencias significativas debido al tipo de zanahoria*	Diferencias significativas debido a los ácidos utilizados*
ZI-C-TI	30.95 ± 14.01	B	A
ZI-T-TI	25.76 ± 1.47	B	A B
ZI-L-TI	17.27 ± 3.65	B	B
ZI-F-TI	19.83 ± 2.48	B	B
ZI-C-TII	40.48 ± 1.81	A	A
ZI-T-TII	32.61 ± 6.52	A	A B
ZI-L-TII	24.25 ± 5.18	A	B
ZI-F-TII	22.52 ± 2.50	A	B

*En una misma columna, letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los extractos para un p-valor inferior a 0.05. pf = peso fresco, ZI= zanahoria inicial, R= residuos de zanahoria, TI= zanahoria Tipo I, TII= zanahoria Tipo II, C= ácido cítrico, T= ácido tartárico, L= ácido láctico, F= ácido fosfórico.

El análisis ANOVA indicó diferencias significativas de contenido de antocianinas poliméricas en los extractos de residuos de zanahoria tipo I y II. De acuerdo con los resultados, el mayor contenido de antocianinas poliméricas (mg/100g pf) se encontró en los extractos tipo II. Sin embargo, con respecto a los ácidos utilizados en la extracción, ambos tipos de zanahoria (Tipo I y II) mostraron que no hubo diferencia significativa entre los ácidos utilizados en la extracción.

Por tanto, los resultados obtenidos de color polimérico no se vieron influenciado por los ácidos utilizados; sólo por el tipo de zanahoria.

Comparando estos datos obtenidos con los reportados por la bibliografía, Türkyılmaz *et al.* (2012) reporta 18.31% de antocianinas poliméricas para jugo de zanahoria.

El efecto de los ácidos utilizados en la obtención de extractos sobre el contenido de antocianinas (monoméricas, poliméricas y totales) fue examinado mediante un análisis ANOVA utilizando un diseño experimental de dos factores, 1) Factor 1, con 4 niveles por el tipo de ácido utilizado en la obtención de extractos (tartárico, cítrico, fosfórico y láctico) y 2) Factor 2, con 2 niveles por tipo de residuo I y II, con 3 repeticiones cada uno, obteniendo un total de 24 datos.

Los niveles para la variedad de zanahoria fueron variedad tipo I y tipo II. Los valores para los ácidos fueron cítrico, tartárico, fosfórico, láctico,

Los valores de contenido de antocianinas se expresaron como media de la desviación estándar. La diferencia estadística de la diferencia entre varios grupos se evaluó mediante un análisis de varianza, (ANOVA) dos factores seguido de una prueba de Tukey, utilizando el software Minitab, versión 19.2020.1.0; Minitab, LLC Software, Inc. Las diferencias se consideraron significativas para $p<0.05$.

3.2. Determinación de la actividad antioxidante en residuos y en zanahorias de referencia tipo I y II

3.2.1. Actividad Antioxidante utilizando el radical – 2,2-Difenil-1- Picrilhidrazilo (DPPH)

La figura 3.10 muestra un ejemplo del espectro Uv-vis de un extracto de residuos de la zanahoria tipo I obtenido en la determinación de inhibición del DPPH.

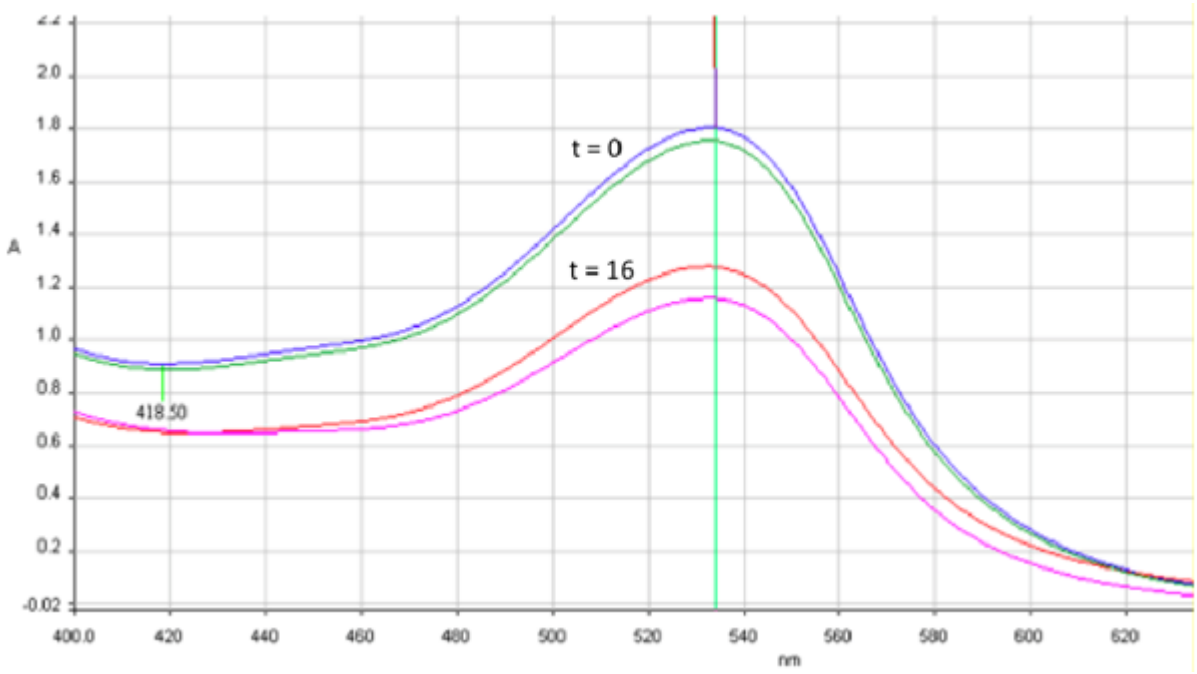


Figura 3.10. Espectro Uv-vis de una muestra de extracto de residuos de zanahoria tipo I obtenido en la determinación de inhibición del DPPH con dos tipos de ácidos.

Para la determinación de la capacidad antioxidante mediante el método DPPH, se utilizó la siguiente curva patrón (figura 3.11) utilizando diferentes concentraciones de trolox, obteniendo un R^2 de 0.9912.

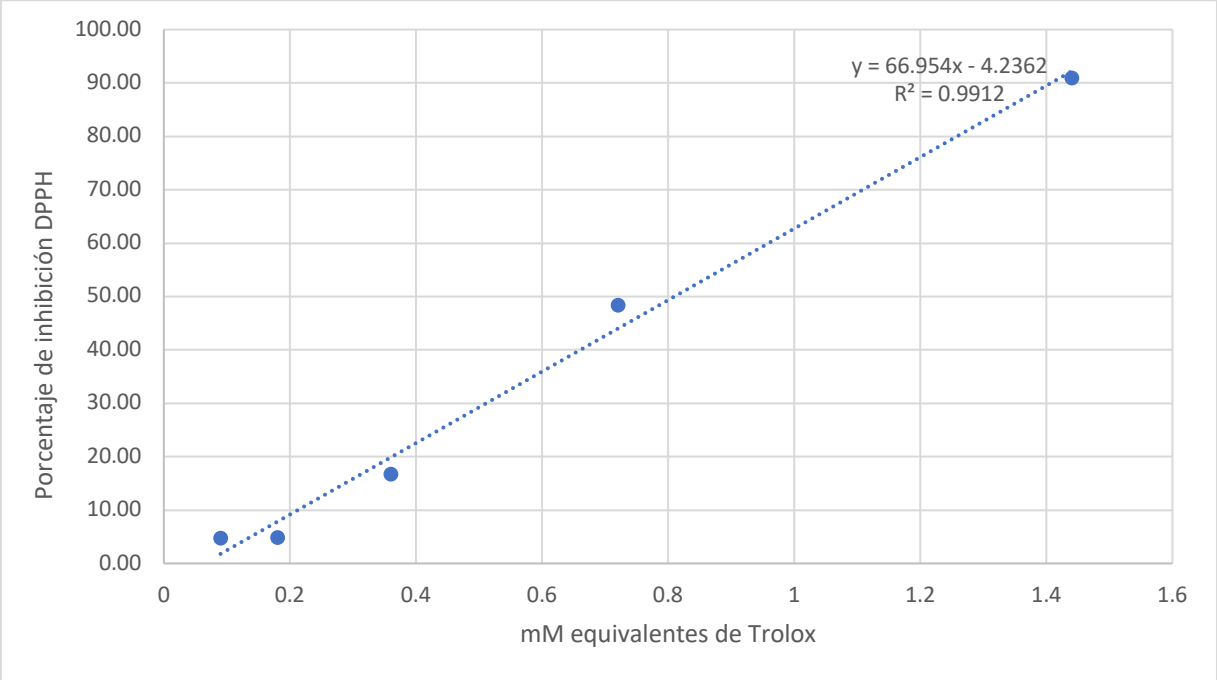


Figura 3.11. Curva de calibración con trolox para la determinación de capacidad antioxidante utilizando el método DPPH.

La figura 3.12 y 3.13 muestran los resultados obtenidos de la actividad antioxidante de los extractos de residuos de zanahoria tipo I y II y sus referentes. La actividad antioxidante es expresada como µM TE / 100 g pf (TE= Equivalentes de trolox, pf= peso fresco). La tabla 3.7 muestra su correspondiente análisis ANOVA.

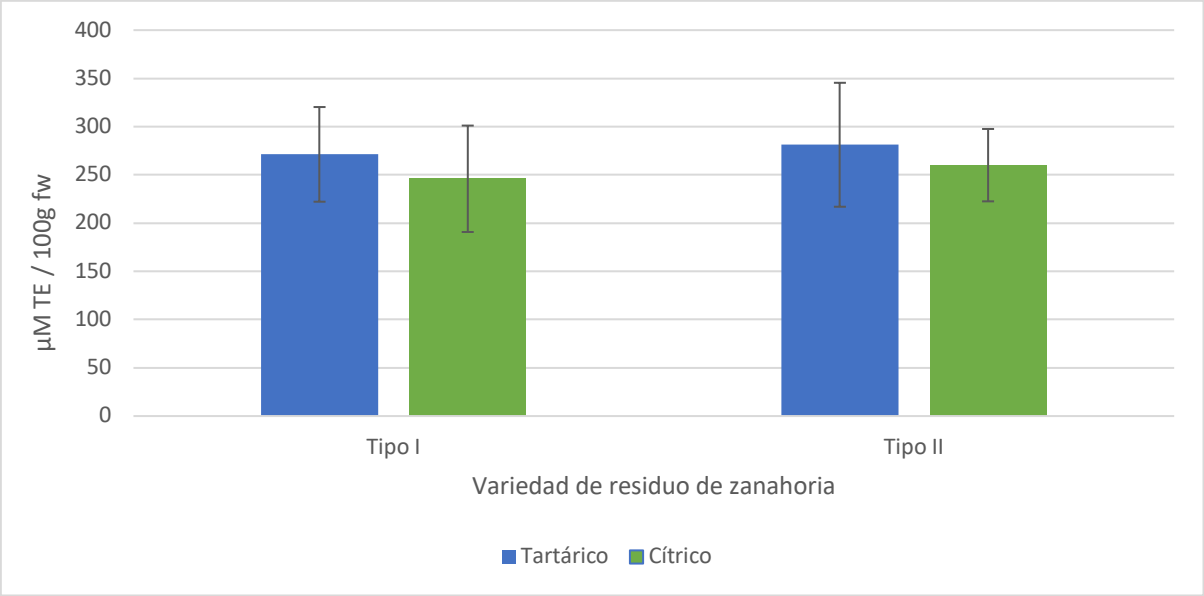


Figura 3.12. Porcentaje de inhibición del DPPH como actividad antioxidante de los residuos tipo I y II.

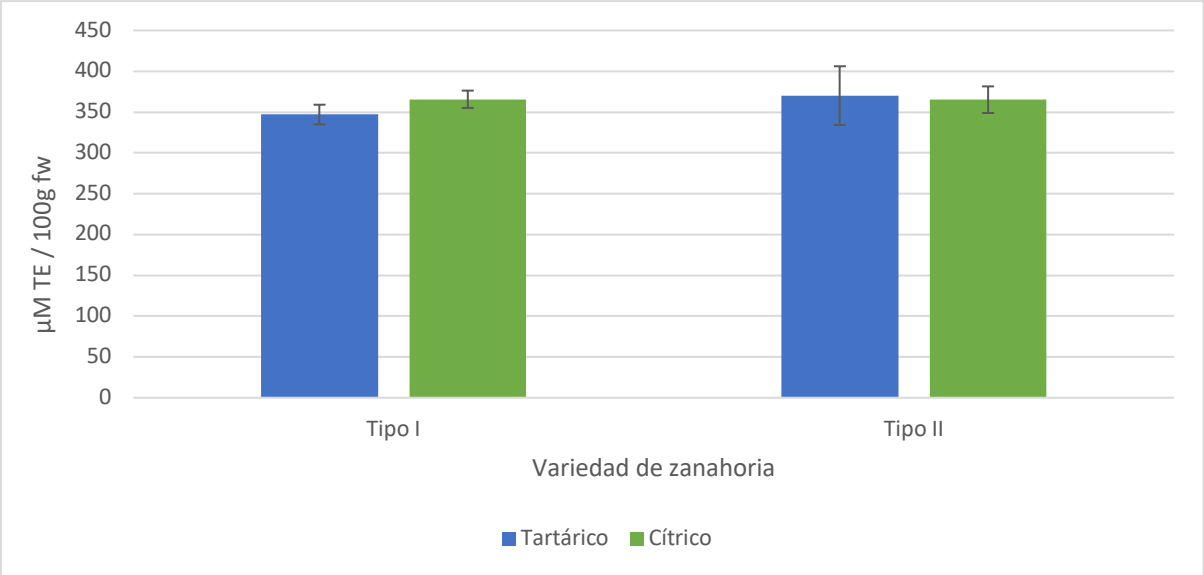


Figura 3.13. Porcentaje de inhibición del DPPH como actividad antioxidante de los referentes zanahoria tipo I y II.

La actividad antioxidante con DPPH (µM TE/100 g) pf obtenidos por el método DPPH para extractos de residuos de ácido cítrico y tartárico fueron similares, puesto que no

presentaron diferencia significativa entre ellos, tanto para el origen de zanahoria como para el tipo de ácido utilizado; obteniendo valores entre 245 y 281 μM TE/100 g pf, lo cual se demuestra con los datos de análisis ANOVA en la tabla 3.7 y 3.8.

Tabla 3.7. Actividad antioxidante de los extractos obtenidos a partir de los residuos de zanahoria ® utilizando el método DPPH.

Extracto	DPPH (μM TE / 100 g pf)	Diferencias significativas debido al tipo de zanahoria*	Diferencias significativas debido a los ácidos utilizados*
R-C-TI	245.93 ± 55.15	A	A
R-T-TI	271.24 ± 49.06	A	A
R-C-TII	260.06 ± 37.51	A	A
R-T-TII	281.19 ± 64.23	A	A

*En una misma columna, letras diferentes indican que el análisis de varianza (ANOVA) señaló diferencias significativas entre las medias de los extractos para un p-valor inferior a 0.05. pf = peso fresco, R= residuos de zanahoria, TI= zanahoria Tipo I, TII= zanahoria Tipo II, C= ácido cítrico, T= ácido tartárico, L= ácido láctico, F= ácido fosfórico.

Tabla 3.8. Actividad antioxidante de los extractos obtenidos a partir de la zanahoria púrpura inicial de referencia (ZI) utilizando el método DPPH.

Extracto	DPPH (μM TE / 100 g pf)	Diferencias significativas debido al tipo de zanahoria*	Diferencias significativas debido a los ácidos utilizados*
ZI-C-TI	365.7 ± 1.61	B	A
ZI-T-TI	346.99 ± 12.03	B	A
ZI-C-TII	365.17 ± 16.31	A	A
ZI-T-TII	370.18 ± 35.96	A	A

*En una misma columna, letras diferentes indican que el análisis de varianza (ANOVA) señaló diferencias significativas entre las medias de los extractos para un p-valor inferior a 0.05. pf = peso fresco, R= residuos de zanahoria, TI= zanahoria Tipo I, TII= zanahoria Tipo II, C= ácido cítrico, T= ácido tartárico, L= ácido láctico, F= ácido fosfórico.

Algarra *et al.* (2014) reporta valores de 240 +/- 54 µM TE /100g fw (Purple Haze) y 17.6 +/- 9.0 µM TE /100g fw (Antonina), lo que nos indica que los residuos de zanahoria utilizados aún contienen una capacidad antioxidante lo suficientemente robusta para poder se reutilizados.

3.2.2. Actividad Antioxidante 2,2-azinobis, 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico (ABTS)

Para la determinación de la capacidad antioxidante mediante el método ABTS, se utilizó la siguiente curva patrón (figura 3.14) utilizando diferentes concentraciones de trolox, obteniendo un R^2 de 0.9921.

La figura 3.15 y 3.16 muestran los resultados obtenidos de la actividad antioxidante de los extractos de residuos de zanahoria tipo I y II y su referente. La actividad antioxidante es expresada como µM TE / 100 g pf (TE= Equivalentes de trolox, pf= peso fresco). La tabla 3.9 muestra el análisis ANOVA correspondiente.

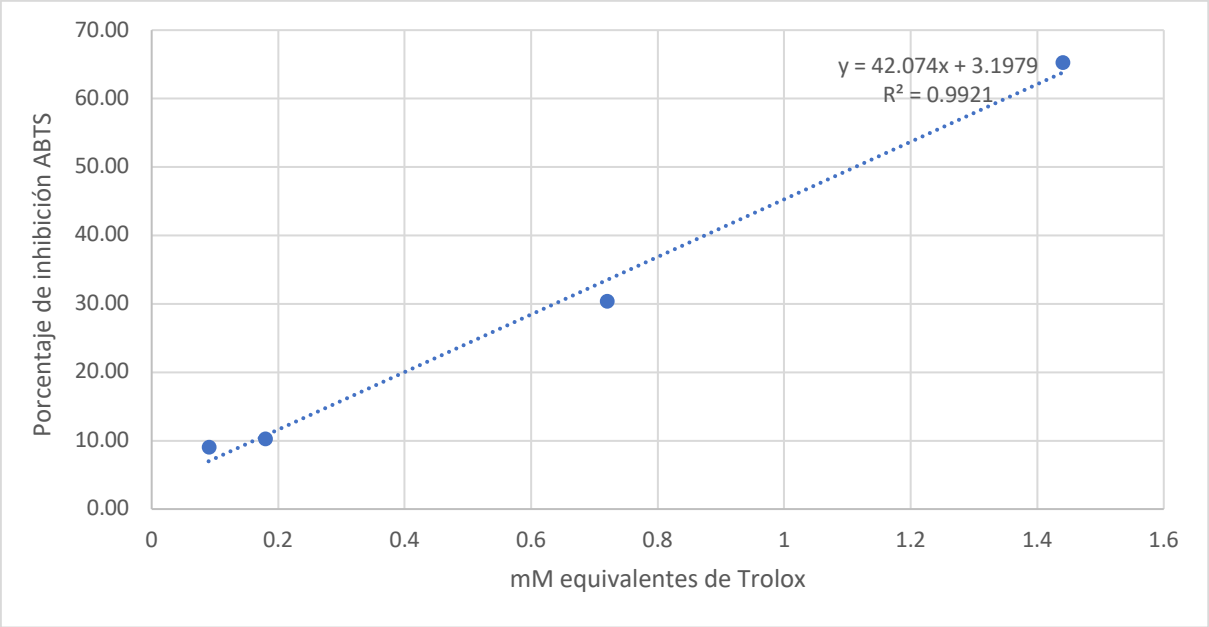


Figura 3.14. Curva de calibración con trolox para la determinación de capacidad antioxidante utilizando el método ABTS.

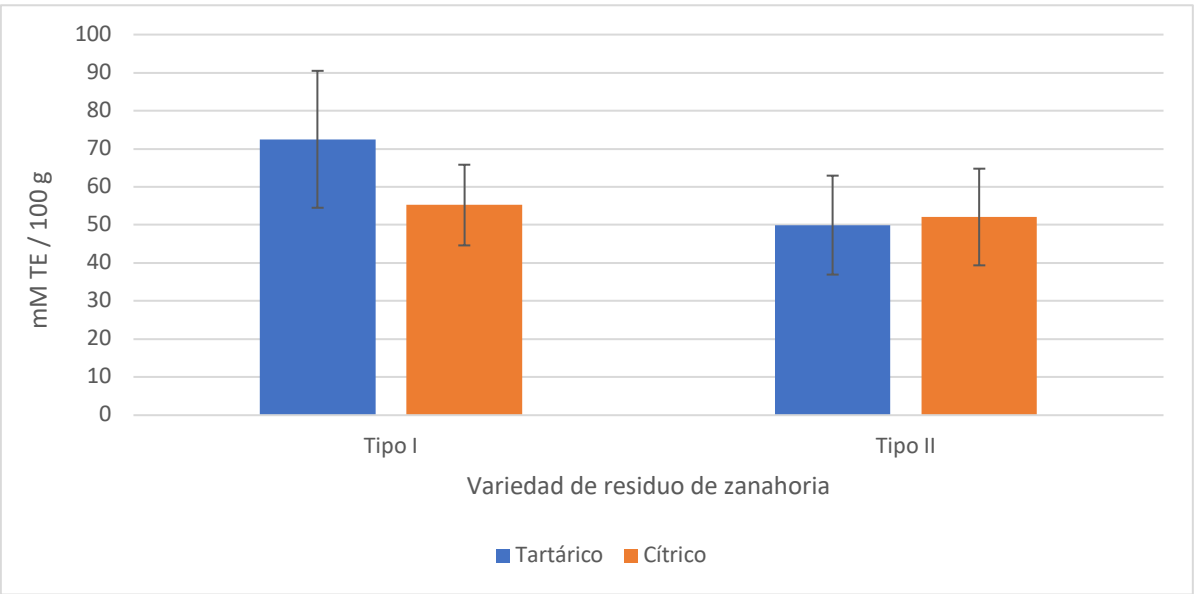


Figura 3.15. Porcentaje de inhibición del ABTS como actividad antioxidante de los residuos I y residuos II.

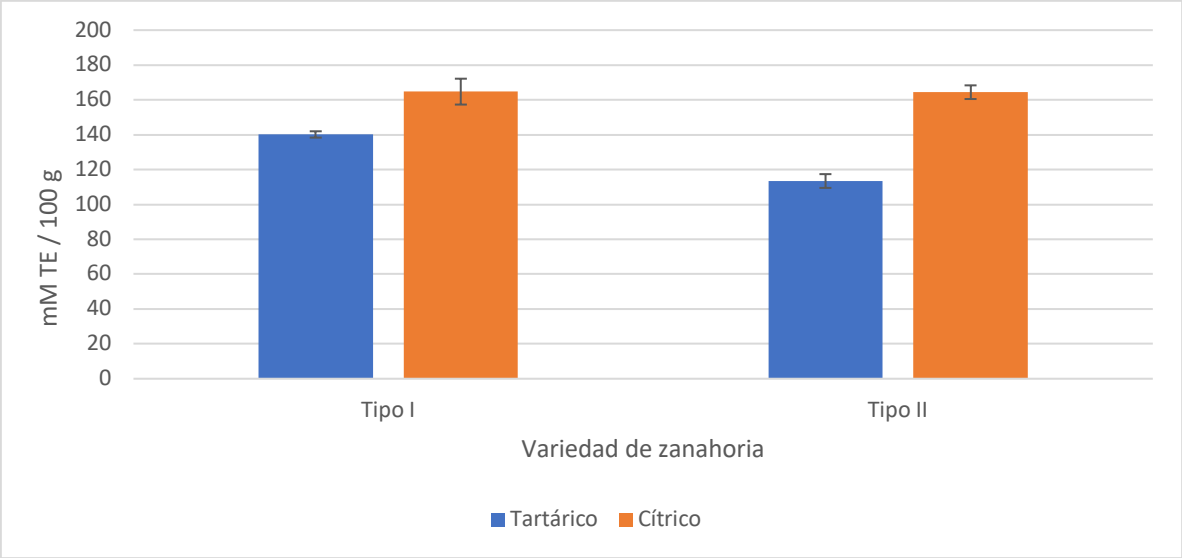


Figura 3.16. Porcentaje de inhibición del ABTS como actividad antioxidante de la zanahoria de referencia tipo I y II.

Los valores de capacidad antioxidante (µM TE / 100 g pf) obtenidos por el método ABTS para ambos residuos de zanahoria no presentaron diferencia significativa entre ellos, ni para el tipo de zanahoria utilizado ni para el tipo de ácido; obteniendo valores entre 50 y 72 µM TE / 100 g pf, tal como se puede observar en los datos del análisis ANOVA presentados en las tablas 3.9 y 3.10.

Tabla 3.9. Actividad antioxidante de los extractos obtenidos a partir de los residuos de zanahoria (R) utilizando el método ABTS.

Extracto	ABTS (µM TE / 100 g pf)	Diferencias significativas debido al tipo de zanahoria*	Diferencias significativas debido a los ácidos utilizados*
R-C-TI	55.21 ± 10.6	A	A
R-T-TI	72.49 ± 17.99	A	A
R-C-TII	52.07 ± 12.7	A	A
R-T-TII	49.94 ± 13	A	A

*En una misma columna, letras diferentes indican que existen diferencias significativas entre las medias de los extractos para un p-valor inferior a 0.05. pf = peso fresco, R= residuos de zanahoria, TI= zanahoria Tipo I, TII= zanahoria Tipo II, C= ácido cítrico, T= ácido tartárico, L= ácido láctico.

Tabla 3.10. Actividad antioxidante de los extractos obtenidos a partir de la zanahoria púrpura inicial de referencia (ZI) utilizando el método ABTS.

Extracto	ABTS (μM TE / 100 g pf)	Diferencias significativas debido al tipo de zanahoria*	Diferencias significativas debido a los ácidos utilizados*
ZI-C-TI	164.72 ± 7.42	B	A
ZI-T-TI	140.15 ± 1.82	B	A
ZI-C-TII	164.4 ± 3.92	A	A
ZI-T-TII	113.44 ± 3.95	A	A

*En una misma columna, letras diferentes indican que el análisis de varianza (ANOVA) señaló diferencias significativas entre las medias de los extractos para un p-valor inferior a 0.05. pf = peso fresco, R= residuos de zanahoria, TI= zanahoria Tipo I, TII= zanahoria Tipo II, C= ácido cítrico, T= ácido tartárico, L= ácido láctico.

Lo resultados obtenidos tanto para DPPH como para ABTS confirmaron que la capacidad antioxidante obtenida en los residuos de zanahoria, son suficientemente robustos para poder ser reutilizados.

Con los resultados obtenidos se puede afirmar que la actividad antioxidante de los extractos se debe principalmente a las antocianinas.

Muselik *et al.* (2007) determinó que, dentro de los grupos de catequinas, procianidinas, antocianinas y piroantocianinas; reportó que las procianidinas (polímeros de catequinas) son las que mostraron mayor capacidad antioxidante en los estudios in vitro analizados.

3.2.3. Contenido de fenoles totales mediante el método Folin-Ciocalteu

Para la determinación del contenido de fenoles totales, se utilizó la siguiente curva patrón (figura 3.17) utilizando diferentes concentraciones de ácido gálico, obteniendo un R^2 de 0.9963.

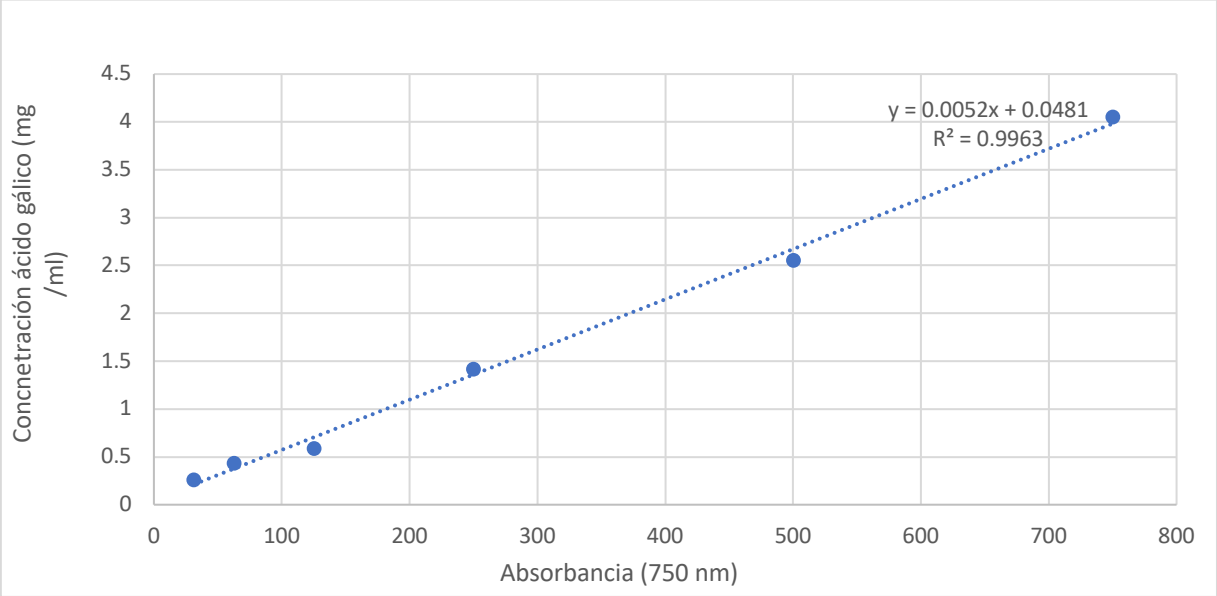


Figura 3.17. Curva de calibración con ácido gálico para la determinación de fenoles totales utilizando el método Folin-Ciocalteu.

La figura 3.18 y 3.19 muestran los resultados obtenidos de contenido de fenoles totales de los extractos de residuos de zanahoria tipo I y II y de los referentes de zanahoria tipo I y II. El contenido de fenoles totales es expresado como mg GAE / 100 g pf (GAE= Equivalentes de ácido gálico, pf= peso fresco).

Los valores de contenido de fenoles para los residuos de zanahoria tipo II alcanzaron valores de 309 a 482 mg GAE / 100 g pf. Los valores obtenidos para los residuos de zanahoria tipo I fueron de 163 a 193 mg GAE / 100 g pf.

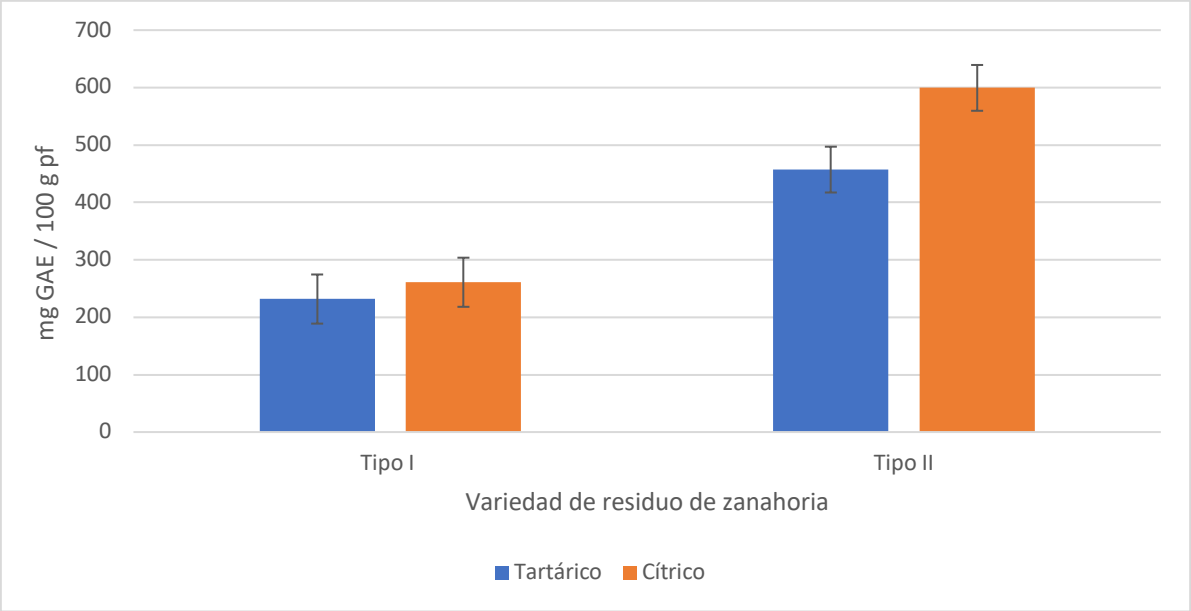


Figura 3.18. Contenido de fenoles totales de los residuos I y residuos II.

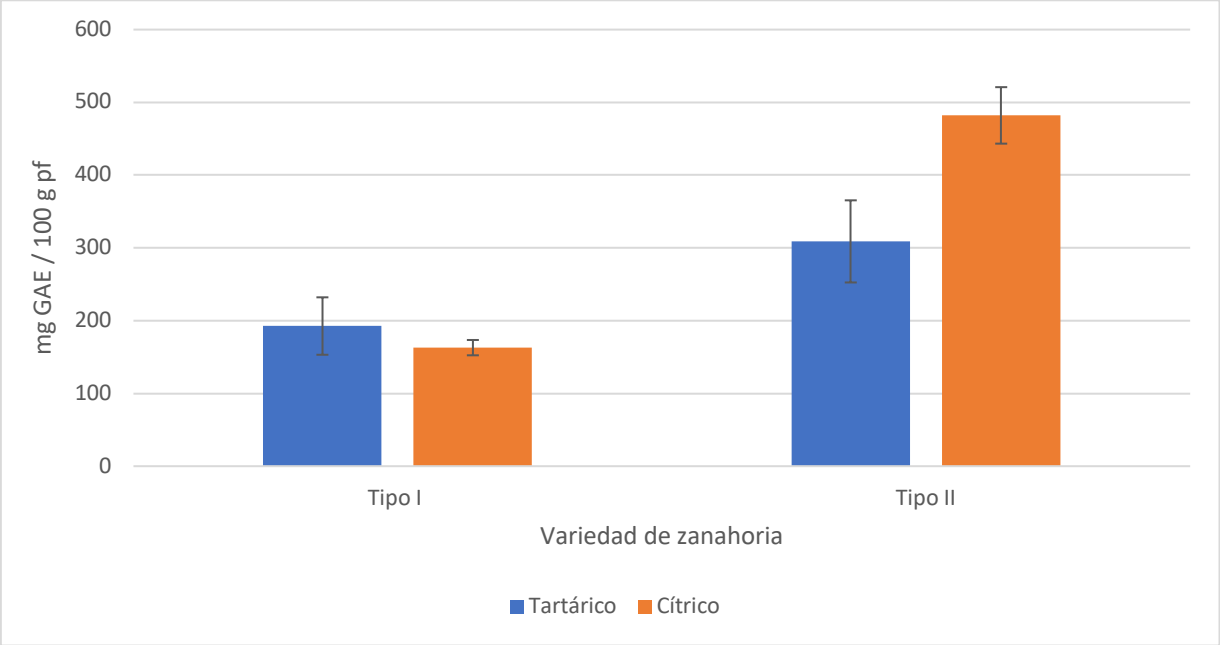


Figura 3.19. Contenido de fenoles totales de las zanahorias iniciales de referencia I y II.

La tabla 3.11 y 3.12 muestran el análisis ANOVA correspondiente al contenido de fenoles en extractos de residuos de zanahoria y sus referentes.

El contenido de fenoles totales obtenidos para los residuos de zanahoria tipo II obtuvieron valores significativamente más altos que los valores obtenidos para los residuos de zanahorita tipo I, manteniéndose el mismo comportamiento en los referentes.

Con respecto al comparativo entre extractos de ácido cítrico y tartárico, también se encontró diferencia significativa entre ambos extractos.

Tabla 3.11. Contenido de fenoles totales de los extractos obtenidos a partir de los residuos de zanahoria ® utilizando el método Folin – Ciocalteu.

Extracto	Fenoles totales (mg GAE / 100 g pf)	Diferencias significativas debido al tipo de zanahoria*	Diferencias significativas debido a los ácidos utilizados*
R-C-TI	162.91 ± 10.53	B	A
R-T-TI	192.60 ± 39.47	B	A
R-C-TII	482.09 ± 38.81	A	A
R-T-TII	308.92 ± 56.43	A	A

*En una misma columna, letras diferentes indican que el análisis de varianza (ANOVA) señaló diferencias significativas entre las medias de los extractos para un p-valor inferior a 0.05. pf = peso fresco, R= residuos de zanahoria, TI= zanahoria Tipo I, TII= zanahoria Tipo II, C= ácido cítrico, T= ácido tartárico, L= ácido láctico, F= ácido fosfórico.

Tabla 3.12. Contenido de fenoles totales de los extractos obtenidos a partir de la zanahoria púrpura inicial de referencia (ZI) utilizando el método Folin-Ciocalteu.

Extracto	Fenoles totales (mg GAE / 100 g pf)	Diferencias significativas debido al tipo de zanahoria*	Diferencias significativas debido a los ácidos utilizados*
ZI-C-TI	260.91 ± 55.12	B	A
ZI-T-TI	231. 66 ± 42.78	B	A
ZI-C-TII	599.45 ± 56.41	A	A
ZI-T-TII	457.12 ± 39.89	A	A

*En una misma columna, letras diferentes indican que el análisis de varianza (ANOVA) señaló diferencias significativas entre las medias de los extractos para un p-valo r inferior a 0.05. pf =

peso fresco, R= residuos de zanahoria, TI= zanahoria Tipo I, TII= zanahoria Tipo II, C= ácido cítrico, T= ácido tartárico, L= ácido láctico, F= ácido fosfórico.

De los resultados obtenidos sobre actividad antioxidante de los extractos de residuos obtenidos en el presente trabajo, se indica que dichos extractos muestran una capacidad antioxidante alta para su reúso.

En comparación con otros autores, Algarra *et al.* (2014) reportó la capacidad antioxidante de la zanahoria variedad Antonina (extraído con EtOH y HCl), como 17.6 ± 9.0 μmol TE/100g (DPPH), lo que muestra coincidencia en la capacidad antioxidante de los extractos de residuos de zanahoria tipo I y II.

Adicionalmente, el comparativo de la capacidad antioxidante de los extractos de los residuos de zanahoria tipo I y II con extractos obtenidos de la zanahoria naranja, muestra que dicha capacidad es superior, ya que de acuerdo con lo reportado por Algarra *et al.* (2014) los valores de la zanahoria naranja se encuentran en 1.4 ± 0.4 μmol TE/100g.

Comparando los resultados de capacidad antioxidante por medio de los métodos DPPH y ABTS obtenidos en el presente trabajo con los valores reportados a partir de otros frutos conteniendo antocianinas, como la zarzamora, Zafra-Rojas *et al.* (2016) reporta valores de 9617.22 µmol TE/100g dw para el DPPH, los cuales son muy similares a los obtenidos en el presente trabajo, dado que los valores obtenidos para los 4 tipos de residuos evaluados oscilaron entre 6,572 – 7,268 µmol TE/100g dw; lo que nos indica que la capacidad antioxidante aún presente en los residuos de zanahoria, son competentes para poder ser aprovechados. Al comparar los resultados reportados con el método ABTS en el mismo estudio de Zafra-Rojas *et al.* (2016), obtienen valores de 6318.98 µmol TE/100g dw, los cuales son significativamente más bajos a los obtenidos en el presente trabajo, ya que los valores oscilan entre 49,980 – 60,928 µmol TE/100g dw para los extractos de residuos de zanahoria evaluados, lo

que confirma que la cantidad antioxidante contenida aún en los residuos es suficiente para poder ser aprovechada.

A partir de los resultados obtenidos de actividad antioxidante, para la siguiente etapa se seleccionaron los residuos de la variedad II de zanahoria y los extractos provenientes del ácido cítrico.

Los datos de contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante fueron analizados mediante un ANOVA usando un diseño experimental de dos factores, 1) tipo de ácido utilizados en la extracción de antocianinas, considerando 2 niveles, ácido cítrico y tartárico, y 2) factor 2 con dos niveles, considerando el tipo de zanahoria tipo I y II, con 3 repeticiones cada uno, obteniendo un total de 12 datos al seleccionar dos extractos de ácidos de los resultados anteriores. La tabla 2.2 muestra las variables utilizadas en el diseño experimental.

Los valores de capacidad antioxidante y contenido de fenoles se expresaron como media □ desviación estándar. La diferencia estadística entre varios grupos se evaluó mediante un análisis de varianza, (ANOVA) dos factores seguido de una prueba de Tukey, utilizando el software Minitab, versión 19.2020.1.0; Minitab, LLC Software, Inc. Las diferencias se consideraron significativas para $p<0.05$.

Los valores para la variedad de zanahoria fueron tipo I y tipo II. Los valores para los ácidos fueron cítrico y tartárico.

3.3. Estabilización de antocianinas de extractos de residuos de zanahoria púrpura mediante copigmentación y encapsulamiento

En la tabla 3.13 y 3.14 se presentan los resultados obtenidos del contenido de antocianinas (mg/L) de los extractos concentrados de los residuos de zanahoria con su respectiva adición de polisacáridos (maltodextrina, almidón, goma arábiga, carboximetilcelulosa, pectina y xiloglucano) de forma individual y en combinación con el xiloglucano, en comparación con el control (concentrado) y el extracto (sin concentrar) bajo temperatura de 4ºC y 20ºC, respectivamente. Los resultados muestran 360 días de almacenamiento (equivalente a un año). El contenido de antocianinas se calculó como pigmento de antocianinas (mg/L).

Las figuras 3.20, 3.22, 3.24, 3.26 y 3.28 muestran el comportamiento de los resultados obtenidos de pigmento de antocianinas (mg/L) en los extractos de residuos de zanahoria tipo II con la adición de maltodextrina, almidón, goma arábiga, carboximetilcelulosa y pectina, respectivamente; en individual y también en combinación del transportador con xiloglucano a temperatura de 4ºC comparando con los extractos de residuos concentrados.

Las figuras 3.21, 3.23, 3.25, 3.27 y 3.29 muestran el comportamiento de los resultados obtenidos de pigmento de antocianinas (mg/L) en los extractos de residuos de zanahoria tipo II con la adición de maltodextrina, almidón, goma arábiga, carboximetilcelulosa y pectina en individual y también en combinación del transportador con xiloglucano a temperatura de 20ºC comparando con los extractos de residuos concentrados.

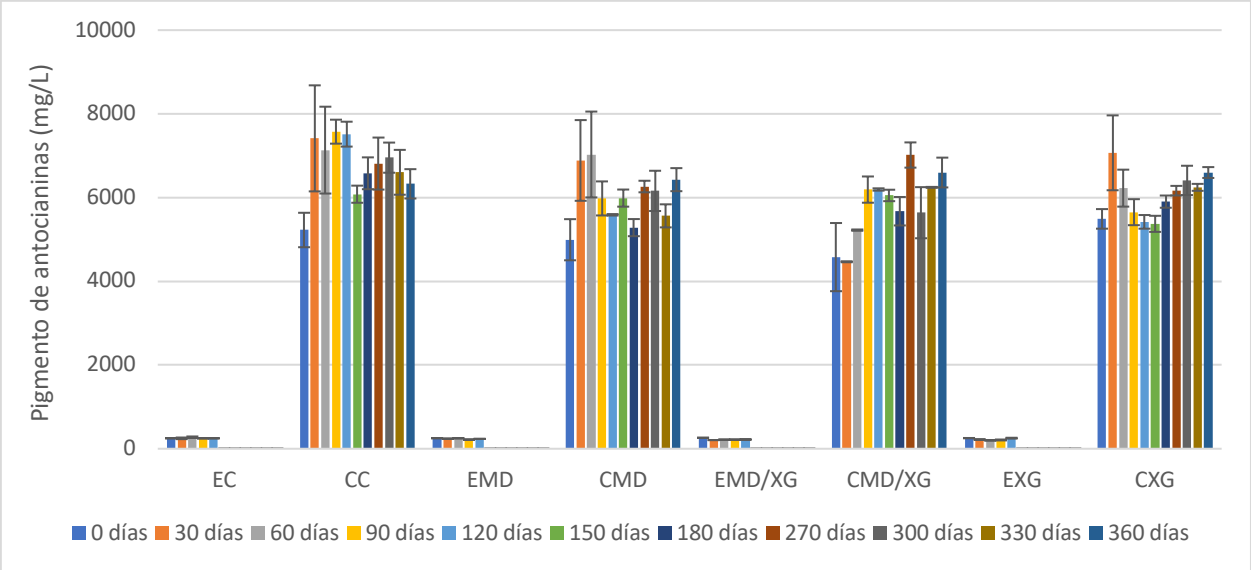


Figura 3.20. Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con maltodextrina (MD), maltodextina con xiloglucano (MD/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 4ºC.

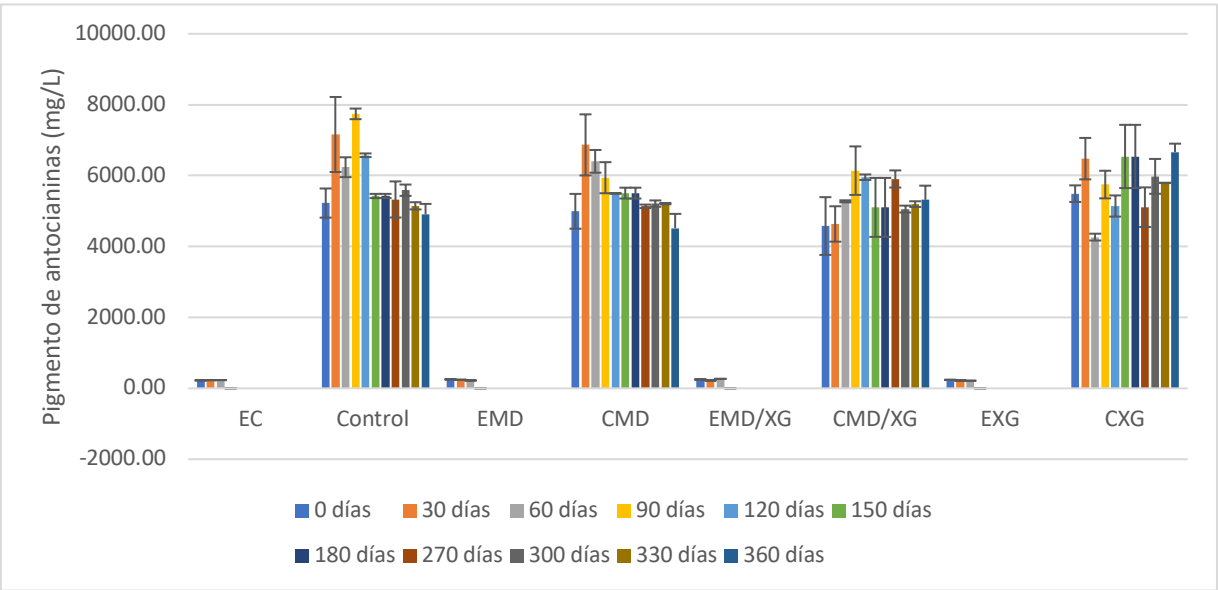


Figura 3.21. Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con maltodextrina (MD), maltodextina con xiloglucano (MD/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 20ºC.

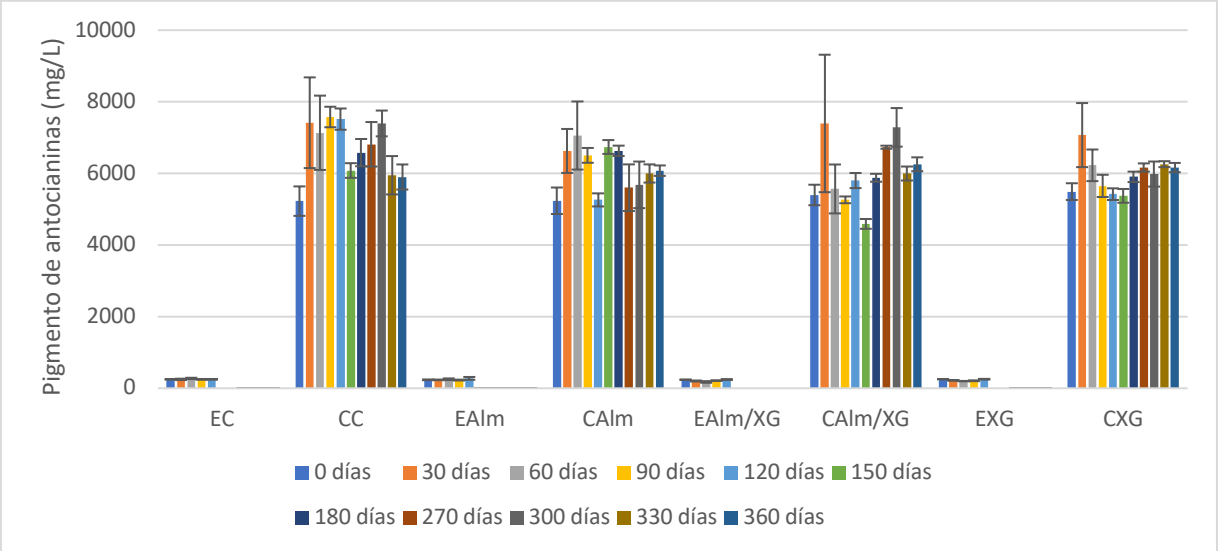


Figura 3.22. Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con almidón (Alm), almidón con xiloglucano (Alm/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 4ºC.

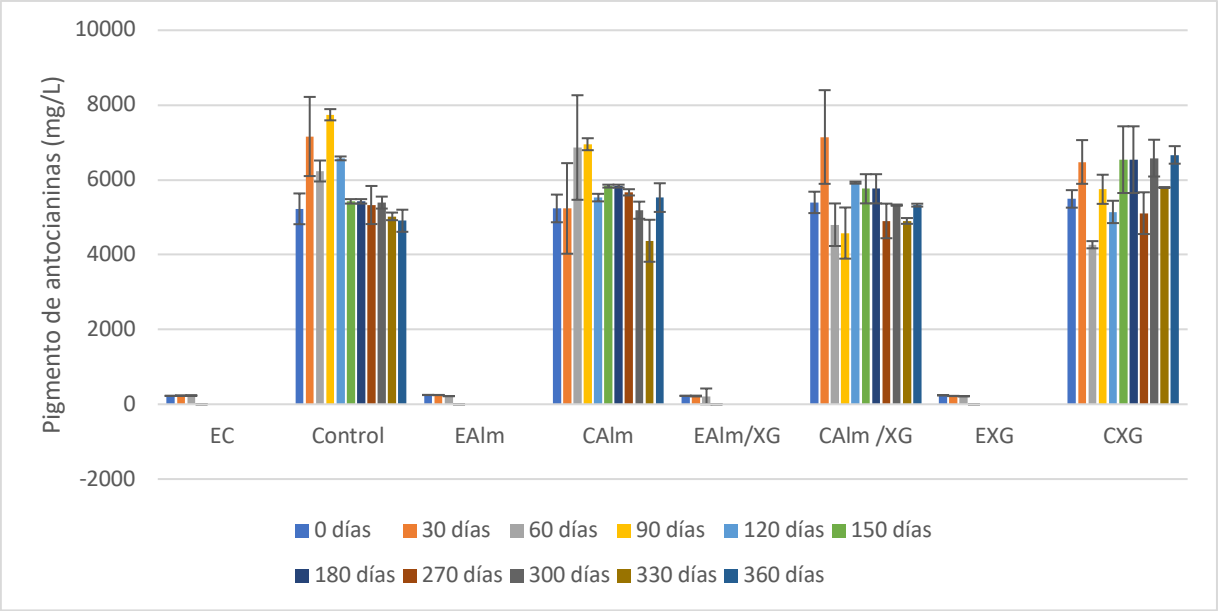


Figura 3.23. Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con almidón (Alm), almidón con xiloglucano (Alm/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 20ºC.

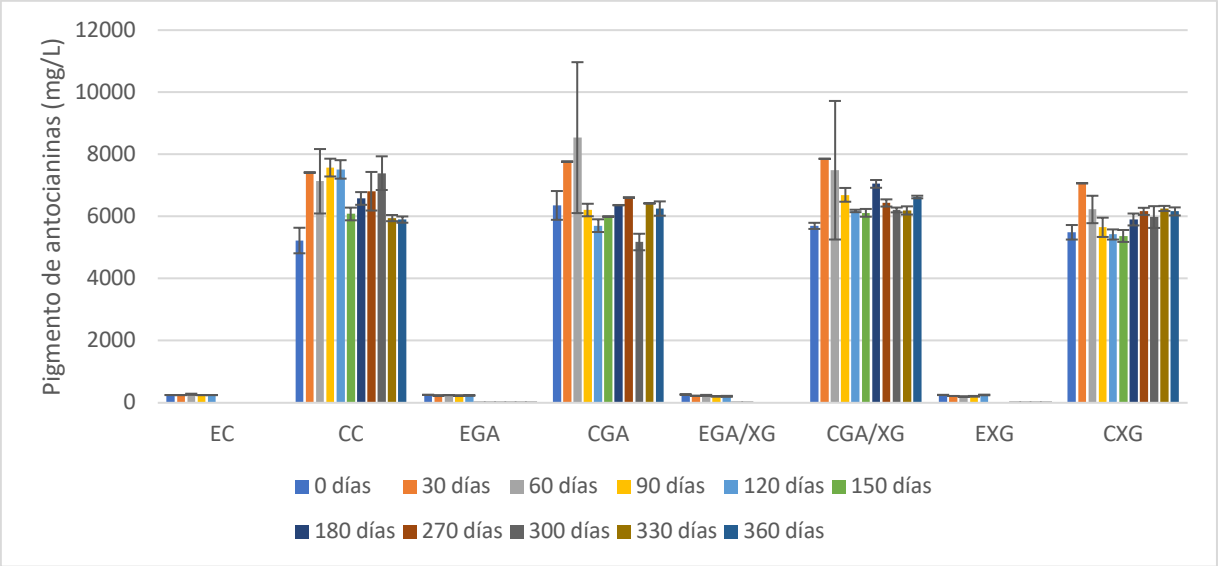


Figura 3.24. Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con goma arábiga (GA), goma arábiga con xiloglucano (GA/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 4ºC.

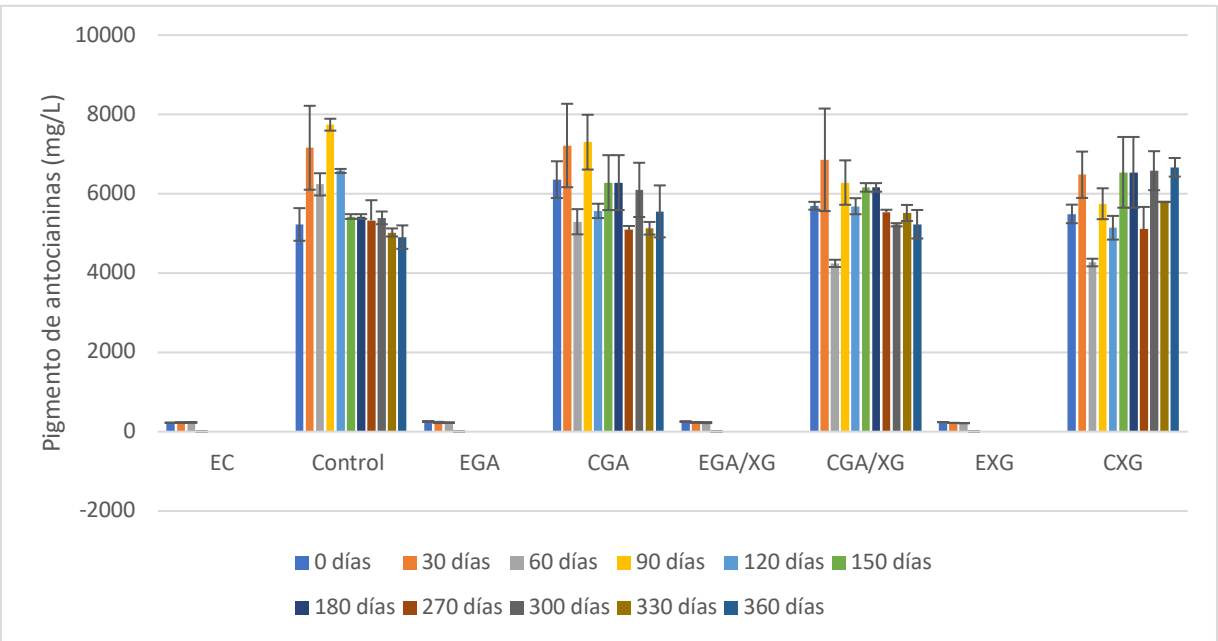


Figura 3.25. Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con goma arábiga (GA), goma arábiga con xiloglucano (GA/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 20ºC.

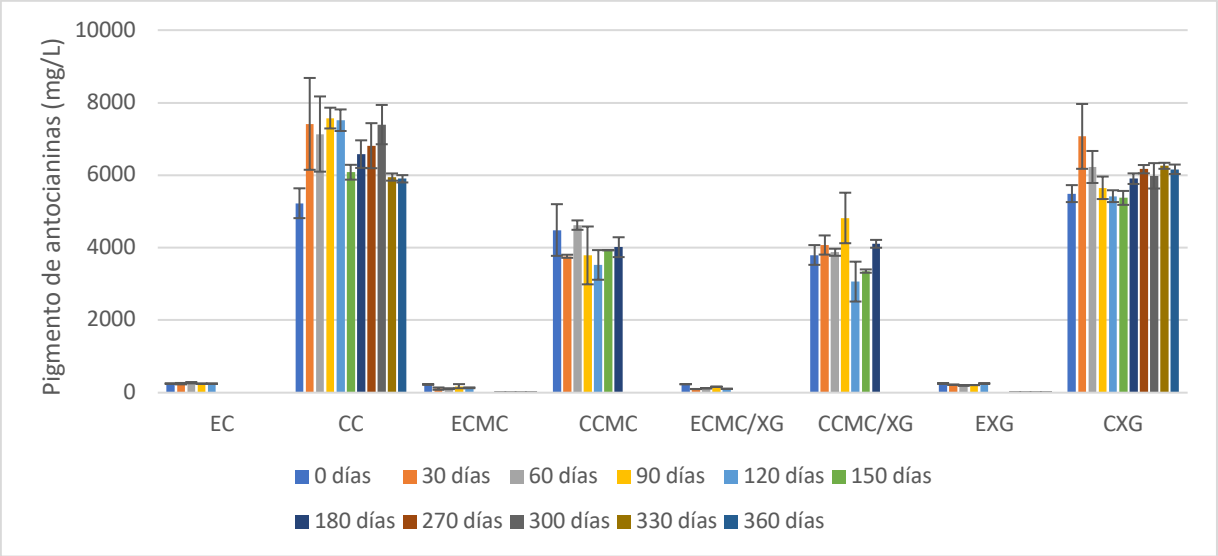


Figura 3.26. Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con carboximetilcelulosa (CMC), carboximetilcelulosa con xiloglucano (CMC/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 4ºC.

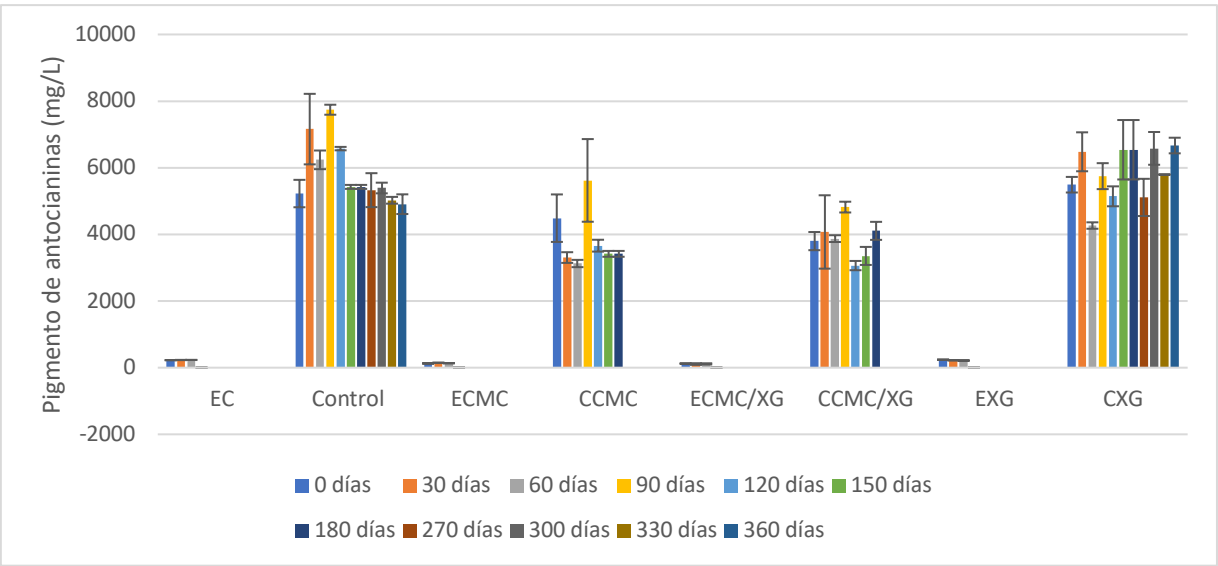


Figura 3.27. Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con carboximetilcelulosa (CMC), carboximetilcelulosa con xiloglucano (CMC/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 20ºC.

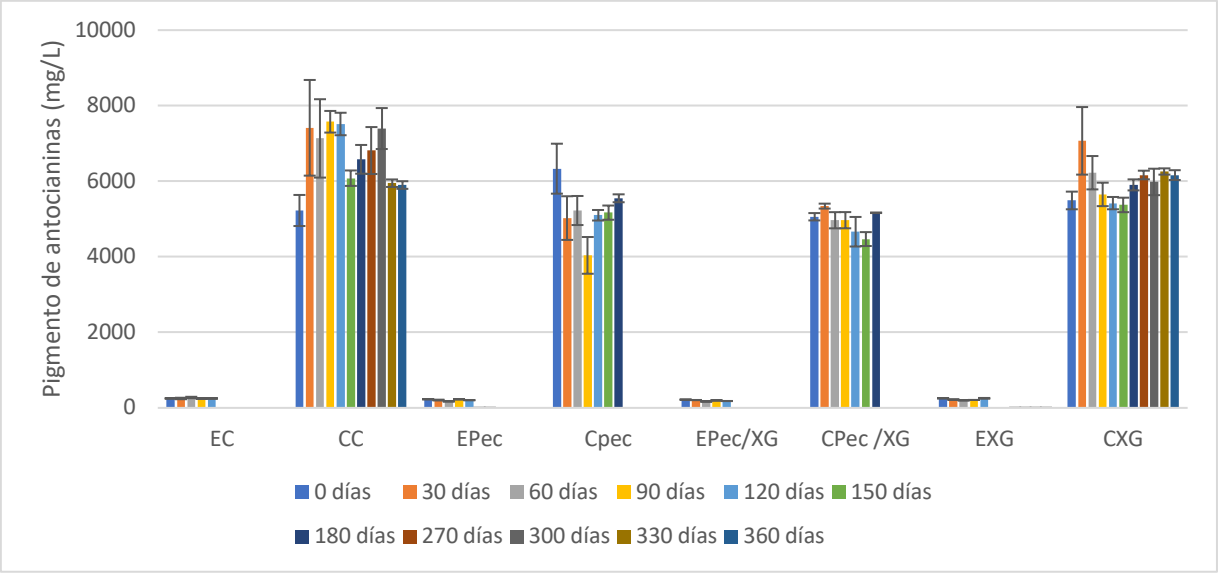


Figura 3.28. Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con pectina (Pec), pectina con xiloglucano (Pec/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 4ºC.

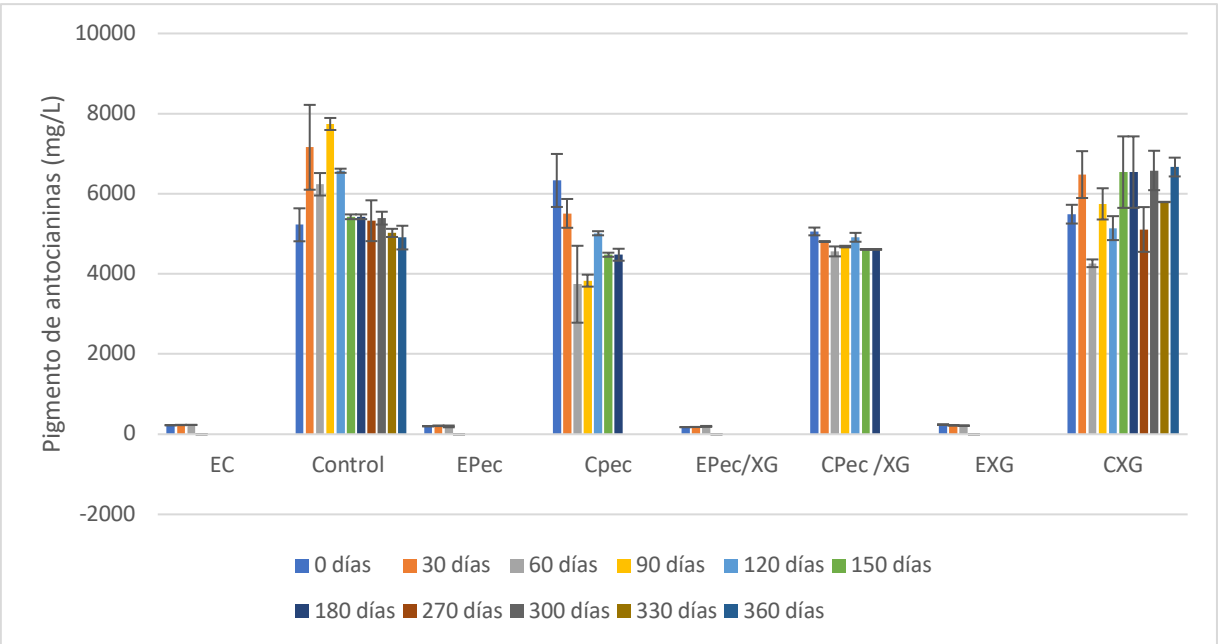


Figura 3.29. Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con pectina (Pec), pectina con xiloglucano (Pec/XG); xiloglucano (XG), control (C) y extracto (E); a 20ºC.

Los resultados ANOVA respectivos, se muestran en el ANEXO I.

El contenido de antocianinas (mg/L) obtenido en los concentrados de residuos de zanahoria púrpura durante 360 días de almacenamiento a 4ºC con los diferentes polímeros evaluados, presentaron diferencia significativa entre ellos (método de Tukey, 95% de confianza). Las muestras que obtuvieron los valores significativamente más altos fueron los concentrados copigmentados de control, goma arábiga, goma arábiga/xiloglucano, almidón, maltodextrina, xiloglucano y almidón/xiloglucano, con valores entre 6747.67 y 5806.88 mg/L. Las muestras concentradas copigmentadas con pectina y carboximetilcelulosa (también en combinación con el xiloglucano) obtuvieron valores entre 3312.34 y 2462.56 mg/L. Los valores significativamente más bajos fueron los correspondientes a los extractos (control, almidón, goma arábiga, maltodextrina, goma arábiga/xiloglucano, xiloglucano, maltodextrina/xiloglucano, almidón/xiloglucano, pectina, pectina/xiloglucano, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa/xiloglucano) con valores entre 426.72 y 317.75 mg/L.

En relación a el contenido de antocianinas (mg/L) obtenido en los concentrados de residuos de zanahoria púrpura durante 360 días de almacenamiento a 20ºC con los diferentes polímeros evaluados, también se presentaron diferencias significativas entre ellos (método de Tukey, 95% de confianza); siendo los concentrados copigmentados con goma arábiga, control, xiloglucano, goma arábiga/xiloglucano, almidón, almidón/xiloglucano, maltodextrina y maltodextrina/xiloglucano, con valores entre 6015.52 y 5351.85 mg/L. Las muestras concentradas copigmentadas con pectina y carboximetilcelulosa (también en combinación con el xiloglucano) obtuvieron valores entre 3233.43 y 2418.98 mg/L.

Los valores significativamente más bajos fueron los correspondientes a los extractos (control, almidón, goma arábiga, maltodextrina, goma arábiga/xiloglucano, xiloglucano, maltodextrina/xiloglucano, almidón/xiloglucano, pectina, pectina/xiloglucano, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa/xiloglucano) con valores entre 449.05 y 318.38 mg/L.

Analizando el comportamiento del contenido de antocianinas durante los 360 días de seguimiento (Anexo I.) para el caso específico de los concentrados control; obtenemos

que no existe diferencia significativa entre el día 0 y el día 360 en cuanto a contenido de antocianinas(mg/L), tanto a 4 y 20ºC. La diferencia significativa existe entre el contenido de antocianinas (mg/L) a 4ºC con respecto a 20ºC, siendo aproximadamente un 10% mayor a la temperatura de 4ºC.

El comportamiento observado en las muestras control, maltodextrina, almidón, goma arábiga y xiloglucano se atribuyó a los procesos de copigmentación de las antocianinas en las muestras, lo cual permite en ensamble de antocianinas obteniendo moléculas más largas. De acuerdo con Rein *et al.* (2005), a través de una concentración mínima de 3.5 x 10-5 M de antocianinas, la intensidad de color se ve incrementada linealmente con el incremento del proceso de la copigmentación, posteriormente se presenta un decremento hasta alcanzar la estabilización.

Este comportamiento observado en las muestras con la adición de carboximetilcelulosa y pectina se puede deber a lo reportado por Peñailillo *et al.* (2013), quien evaluó el efecto de la carboximetilcelulosa sobre las características físicas y químicas del vino tinto de la variedad Carménère, en el cual documenta una directa relación entre la pérdida de antocianinas y la precipitación de materia colorante en vinos tintos originada por la acción de la carboximetilcelulosa; proponiendo en su mismo estudio que dicho efecto puede ser controlado mediante la adición de sustancias denominadas “coloides protectores” como la goma arábiga, la cual impide la floculación de la materia colorante coloidal.

El comportamiento obtenido de antocianinas en almacenamiento coincide con el reportado por Flores-Aguilar *et al.* (2018) y Martínez *et al.* (2011). Los autores determinaron la estabilidad térmica y de almacenamiento de las antocianinas presentes a maíz morado (Zea mays L.) y jugo de agraz (Vaccinium meridionale Sw.) a temperaturas de 4, 18 y 37ºC, obteniendo en ambos estudios los valores más altos de contenido de antocianinas totales a menor temperatura de almacenamiento (4ºC), concluyendo que la degradación de las antocianinas es menor debido a que la velocidad de reacción entre las moléculas disminuye y por lo tanto la estabilidad de las mismas es mejor a dicha temperatura.

Tabla 3.13 Contenido de antocianinas (mg/L) para estudio de estabilidad a 4°C

SEGUIMIENTO A 360 DÍAS EXTRACTOS Y CONCENTRADOS (4ºC)											
DíAS	0	30	60	90	120	150	180	270	300	330	360
EC	250.19	248.81	275.11	248.52	249.25	-	-	-	-	-	-
Control	5225.66	7414.63	7133.84	7574.61	7515.50	6080.73	6580.25	6812.52	7394.77	5948.13	5899.68
EMD	251.78	240.82	249.72	218.64	236.45	-	-	-	-	-	-
CMD	4993.17	6887.15	7029.28	5979.77	5588.50	5987.79	5282.41	6264.11	6749.02	5226.13	6145.91
EMD/XG	262.20	206.75	217.44	218.11	220.43	-	-	-	-	-	-
CMD/XG	4577.96	4466.57	5222.88	6190.79	6193.60	6051.05	5674.25	7016.79	4890.94	6257.92	6162.64
EXG	253.53	219.81	199.78	209.65	252.64	-	-	-	-	-	-
CXG	5491.05	7069.37	6225.69	5651.18	5420.19	5372.87	5903.27	6164.99	5981.59	6257.92	6162.64
EAlm	236.61	234.96	251.88	229.27	275.79	-	-	-	-	-	-
CAlm	5236.17	6626.90	7057.78	6503.69	5260.05	6737.52	6630.78	5600.13	4883.87	5687.17	6076.32
EAlm/XG	238.97	202.98	176.84	213.70	243.89						
CAlm /XG	5397.56	7394.52	5565.69	5261.75	5800.24	4589.86	5877.90	6731.49	6625.78	6235.83	6076.32

*EC= Extracto control; CC= Concentrado control; EMD= Extracto maltodextrina; CMD= Concentrado maltodextrina; EMD/XG= Extracto maltodextrina/xiloglucano; CMD/XG= Concentrado maltodextrina/xiloglucano; EXG= Extracto xiloglucano; CXG= Concentrado xiloglucano; EAlm= Extracto almidón; CAlm=Concentrado Almidón; EAlm/XG= Extracto almidón/xiloglucano; CAlm/XG= Conentrado almidón/xiloglucano; EGA= Extracto goma arábiga; CGA= Concentrado goma arábiga; EGA/XG= Extracto goma arábiga/xiloglucano; CGA/XG= Concentrado goma arábiga/xiloglucano; ECMC= Extracto carboximetilcelulosa; CCMC= Concentrado carboximetilcelulosa; ECMC/XG= Extracto carboximetilcelulosa/xiloglucano; CCMC/XG= Concentrado carboximetilcelulosa/xiloglucano; EPec= Extracto pectina; CPec= Concentrado pectina; EPec/XG= Extracto pectina/xiloglucano; CPec/XG= Concentrado pectina/xiloglucano

Continuación Tabla 3.13. Contenido de antocianinas (mg/L) para estudio de estabilidad a 4°C

DíAS	0	30	60	90	120	150	180	270	300	330	360
EGA	256.41	233.75	247.97	232.57	237.93	-	-	-	-	-	-
CGA	6356.08	7766.55	8538.32	6207.97	5704.12	5996.74	6363.82	6608.75	4852.01	6410.02	6076.32
EGA/XG	266.80	225.77	238.43	208.56	208.56	-	-				
CGA/XG	5697.42	7858.04	7489.32	6696.77	6177.59	6117.48	7049.35	6435.54	6304.86	6355.76	6678.00
ECMC	226.95	111.65	110.36	178.86	134.47	-	-	-	-	-	-
CCMC	4486.82	3762.50	4622.11	3786.05	3523.82	3929.97	4013.38	-	-	-	-
ECMC/XG	234.07	99.82	121.65	164.15	107.34	-	-	-	-	-	-
CCMC/XG	3798.50	4073.01	3873.20	4819.37	3063.98	3353.87	4106.22	-	-	-	-
EPec	227.93	206.71	172.58	226.78	204.12	-	-	-	-	-	-
Cpec	6332.27	5024.59	5225.01	4037.04	5099.44	5168.71	5548.66	-	-	-	-
EPec/XG	218.56	206.71	170.28	197.50	181.24	-	-	-	-	-	-
CPec /XG	5059.94	5341.56	4967.31	4968.64	4663.28	4469.02	5165.24	-	-	-	-

*EC= Extracto control; CC= Concentrado control; EMD= Extracto maltodextrina; CMD= Concentrado maltodextrina; EMD/XG= Extracto maltodextrina/xiloglucano; CMD/XG= Concentrado maltodextrina/xiloglucano; EXG= Extracto xiloglucano; CXG= Concentrado xiloglucano; EAlm= Extracto almidón; CAlm=Concentrado Almidón; EAlm/XG= Extracto almidón/xiloglucano; CAlm/XG= Conentrado almidón/xiloglucano; EGA= Extracto goma arábiga; CGA= Concentrado goma arábiga; EGA/XG= Extracto goma arábiga/xiloglucano; CGA/XG= Concentrado goma arábiga/xiloglucano; ECMC= Extracto carboximetilcelulosa; CCMC= Concentrado carboximetilcelulosa; ECMC/XG= Extracto carboximetilcelulosa/xiloglucano; CCMC/XG= Concentrado carboximetilcelulosa/xiloglucano; EPec= Extracto pectina; CPec= Concentrado pectina; EPec/XG= Extracto pectina/xiloglucano; CPec/XG= Concentrado pectina/xiloglucano

Continuación Tabla 3.13. Contenido de antocianinas (mg/L) para estudio de estabilidad a 4°C

Desviación estándar

SEGUIMIENTO A 360 DÍAS EXTRACTOS Y CONCENTRADOS (4ºC)											
DíAS	SD día 0	SD 30	SD 60	SD 90	SD 120	SD 150	SD 180	SD 270	SD 300	SD 330	SD 360
EC	1.01	19.52	18.23	1.34	1.60	-	-	-	-	-	-
Control	411.3	1266.50	1037.30	286.30	297.40	204.50	380.36	621.43	542	99.46	101
EMD	1.5	0.80	0.10	0.10	1.60	-	-	-	-	-	-
CMD	491.3	964.00	1025.50	406.70	17.50	204.50	204.52	452	56	126	283
EMD/XG	2.0	1.90	0.80	1.00	0.80	-	-	-	-	-	-
CMD/XG	814.3	11.70	15.30	313.40	27.60	136.70	340.07	89	203	178	444
EXG	3.8	5.10	5.40	11.20	10.10	-	-	-	-	-	-
CXG	233.9	894.30	441.50	310.50	163.00	192.00	146.05	154	87	204	132
EAlm	10.2	8.71	23.58	12.07	40.04	-	-	-	-	-	-
CAlm	370.0	613.86	950.87	206.85	182.67	192.64	144.39	452	56	126	283
EAlm/XG	5.1	14.51	22.76	6.38	12.79	-	-	-	-	-	-
CAlm /XG	286.1	1919.41	683.13	94.69	211.10	137.03	110.31	89	203	178	444

*EC= Extracto control; CC= Concentrado control; EMD= Extracto maltodextrina; CMD= Concentrado maltodextrina; EMD/XG= Extracto maltodextrina/xiloglucano; CMD/XG= Concentrado maltodextrina/xiloglucano; EXG= Extracto xiloglucano; CXG= Concentrado xiloglucano; EAlm= Extracto almidón; CAlm=Concentrado Almidón; EAlm/XG= Extracto almidón/xiloglucano; CAlm/XG= Conentrado almidón/xiloglucano; EGA= Extracto goma arábiga; CGA= Concentrado goma arábiga; EGA/XG= Extracto goma arábiga/xiloglucano; CGA/XG= Concentrado goma arábiga/xiloglucano; ECMC= Extracto carboximetilcelulosa; CCMC= Concentrado carboximetilcelulosa; ECMC/XG= Extracto carboximetilcelulosa/xiloglucano; CCMC/XG= Concentrado carboximetilcelulosa/xiloglucano; EPec= Extracto pectina; CPec= Concentrado pectina; EPec/XG= Extracto pectina/xiloglucano; CPec/XG= Concentrado pectina/xiloglucano

Continuación Tabla 3.13. Contenido de antocianinas (mg/L) para estudio de estabilidad a 4°C

Desviación estándar

DíAS	SD 0	SD 30	SD 60	SD 90	SD 120	SD 150	SD 180	SD 270	SD 300	SD 330	SD 360
EGA	4.7	1.69	0.48	11.01	11.74	-	-	-	-	-	-
CGA	463.3	1344.16	2429.93	201.41	205.03	6.52	1.38	452	56	126	283
EGA/XG	10.2	0.79	16.77	0.72	15.49	-	-	-	-	-	-
CGA/XG	98.6	1339.70	2230.99	221.70	39.74	125.02	607.22	89	203	178	444
ECMC	0.8	31.97	11.90	57.15	10.87			-	-	-	-
CCMC	712.5	42.54	130.03	797.71	408.81	30.00	273.65	452	56	126	283
ECMC/XG	2.0	2.50	1.60	1.30	1.40			-	-	-	-
CCMC/XG	272.5	264.12	97.86	696.65	549.94	45.69	108.15	89	203	178	444
EPec	5.0	10.72	0.50	5.50	4.58	-	-	-	-	-	-
Cpec	661.3	578.01	384.80	486.43	139.44	188.11	104.71	452	56	126	283
EPec/XG	2.0	2.50	2.50	2.00	1.40			-	-	-	-
CPec /XG	97.0	65.36	214.29	214.29	391.34	184.07	7.14	89	203	178	444

*EC= Extracto control; CC= Concentrado control; EMD= Extracto maltodextrina; CMD= Concentrado maltodextrina; EMD/XG= Extracto maltodextrina/xiloglucano; CMD/XG= Concentrado maltodextrina/xiloglucano; EXG= Extracto xiloglucano; CXG= Concentrado xiloglucano; EAlm= Extracto almidón; CAlm=Concentrado Almidón; EAlm/XG= Extracto almidón/xiloglucano; CAlm/XG= Conentrado almidón/xiloglucano; EGA= Extracto goma arábiga; CGA= Concentrado goma arábiga; EGA/XG= Extracto goma arábiga/xiloglucano; CGA/XG= Concentrado goma arábiga/xiloglucano; ECMC= Extracto carboximetilcelulosa; CCMC= Concentrado carboximetilcelulosa; ECMC/XG= Extracto carboximetilcelulosa/xiloglucano; CCMC/XG= Concentrado carboximetilcelulosa/xiloglucano; EPec= Extracto pectina; CPec= Concentrado pectina; EPec/XG= Extracto pectina/xiloglucano; CPec/XG= Concentrado pectina/xiloglucano

Tabla 3.14 Contenido de antocianinas (mg/L) para estudio de estabilidad a 20°C

SEGUIMIENTO A 360 DÍAS EXTRACTOS Y CONCENTRADOS (20ºC)											
	0 días	30 días	60 días	90 días	120 días	150 días	180 días	270 días	300 días	330 días	360 días
EC	225.19	230.45	232.70	228.94	-	-	-	-	-	-	-
Control	5225.66	7159.64	6237.03	7741.44	6574.43	5425.67	5425.67	5327.38	5392.05	5023.64	4906.67
EMD	251.24	242.48	222.60	218.19							
CMD	4993.17	6866.56	6402.69	5941.08	5497.85	5506.82	5506.82	5133.80	5319.96	5185.20	4020.61
EMD/XG	249.15	222.14	267.61	228.7							
CMD/XG	4577.96	4636.17	5274.63	6140.00	5955.59	5103.80	5103.80	5905.42	4937.08	5196.23	4828.97
EXG	240.60	221.48	214.79	211.76							
CXG	5491.05	6478.73	4265.63	5747.92	5142.63	6540.17	6540.17	5109.51	6581.20	5795.13	6666.86
EAlm	248.57	246.73	217.56	209.26							
CAlm	5236.17	5235.97	6864.94	6953.16	5525.89	5832.85	5832.85	5666.41	5469.35	3684.11	5056.81
EAlm/XG	225.52	220.07	210.75	203.77							
CAlm /XG	5397.56	7146.09	4800.41	4577.31	5926.09	5761.54	5761.54	4806.92	5276.88	4806.92	5276.88

*EC= Extracto control; CC= Concentrado control; EMD= Extracto maltodextrina; CMD= Concentrado maltodextrina; EMD/XG= Extracto maltodextrina/xiloglucano; CMD/XG= Concentrado maltodextrina/xiloglucano; EXG= Extracto xiloglucano; CXG= Concentrado xiloglucano; EAlm= Extracto almidón; CAlm=Concentrado Almidón; EAlm/XG= Extracto almidón/xiloglucano; CAlm/XG= Conentrado almidón/xiloglucano; EGA= Extracto goma arábiga; CGA= Concentrado goma arábiga; EGA/XG= Extracto goma arábiga/xiloglucano; CGA/XG= Concentrado goma arábiga/xiloglucano; ECMC= Extracto carboximetilcelulosa; CCMC= Concentrado carboximetilcelulosa; ECMC/XG= Extracto carboximetilcelulosa/xiloglucano; CCMC/XG= Concentrado carboximetilcelulosa/xiloglucano; EPec= Extracto pectina; CPec= Concentrado pectina; EPec/XG= Extracto pectina/xiloglucano; CPec/XG= Concentrado pectina/xiloglucano

Continuación Tabla 3.14 Contenido de antocianinas (mg/L) para estudio de estabilidad a 20°C

	0 días	30 días	60 días	90 días	120 días	150 días	180 días	270 días	300 días	330 días	360 días
EGA	256.12	232.38	228.62	203.77	-	-	-	-	-	-	-
CGA	6356.08	7216.69	5294.33	7300.75	5567.74	6280.99	6280.99	5091.10	6934.88	5324.57	4753.02
EGA/XG	254.77	232.38	228.62	203.77	-	-	-	-	-	-	-
CGA/XG	5697.42	6855.78	4244.14	6282.05	5685.57	6160.26	6160.26	5538.14	5167.72	5266.46	4790.64
ECMC	126.76	147.78	133.45	236.18	-	-	-	-	-	-	-
CCMC	4486.82	3305.07	3126.05	5620.00	3661.58	3416.28	3416.28	-	-	-	-
ECMC/XG	123.46	109.29	114.15	202.22	-	-	-	-	-	-	-
CCMC/XG	3798.50	4073.01	3873.20	4819.37	3063.98	3353.87	4106.22	-	-	-	-
EPec	199.80	211.01	195.44	203.45	-	-	-	-	-	-	-
Cpec	6332.27	5510.63	3742.67	3832.37	5015.00	4478.69	4478.69	-	-	-	-
EPec/XG	177.51	181.21	195.06	198.72	-	-	-	-	-	-	-
CPec /XG	5059.94	4808.08	4561.80	4682.48	4913.78	4610.95	4610.95	-	-	-	-

*EC= Extracto control; CC= Concentrado control; EMD= Extracto maltodextrina; CMD= Concentrado maltodextrina; EMD/XG= Extracto maltodextrina/xiloglucano; CMD/XG= Concentrado maltodextrina/xiloglucano; EXG= Extracto xiloglucano; CXG= Concentrado xiloglucano; EAlm= Extracto almidón; CAlm=Concentrado Almidón; EAlm/XG= Extracto almidón/xiloglucano; CAlm/XG= Conentrado almidón/xiloglucano; EGA= Extracto goma arábiga; CGA= Concentrado goma arábiga; EGA/XG= Extracto goma arábiga/xiloglucano; CGA/XG= Concentrado goma arábiga/xiloglucano; ECMC= Extracto carboximetilcelulosa; CCMC= Concentrado carboximetilcelulosa; ECMC/XG= Extracto carboximetilcelulosa/xiloglucano; CCMC/XG= Concentrado carboximetilcelulosa/xiloglucano; EPec= Extracto pectina; CPec= Concentrado pectina; EPec/XG= Extracto pectina/xiloglucano; CPec/XG= Concentrado pectina/xiloglucano

Continuación Tabla 3.14 Contenido de antocianinas (mg/L) para estudio de estabilidad a 20°C

Desviación estándar

	SD 0 días	30	60	90	120	150	180	270	300	330	360
EC	2.90	3.90	2.80	4.70	-	-	-	-	-	-	-
Control	411.27	1058.32	280.19	150.12	51.33	59.47	59.47				
EMD	2.00	2.40	2.40	3.00	-	-	-	-	-	-	-
CMD	491.32	861.35	320.58	438.28	2.07	152.96	152.96				
EMD/XG	3.00	1.90	1.80	3.00	-	-	-	-	-	-	-
CMD/XG	814.33	499.37	28.71	684.03	77.39	831.61	831.61				
EXG	3.40	3.50	2.30	2.00	-	-	-	-	-	-	-
CXG	233.93	584.37	96.37	389.51	298.84	891.95	891.95				
EAlm	3.10	2.80	1.50	3.70	-	-	-	-	-	-	-
CAlm	369.99	1210.85	1397.93	160.14	101.02	38.82	38.82	0.00			
EAlm/XG	5.14	10.94	210.75	#¡DIV/0!	-	-	-	-	-	-	-
CAlm /XG	286.12	1252.23	568.93	684.03	27.77	390.16	390.16	0.00			

*EC= Extracto control; CC= Concentrado control; EMD= Extracto maltodextrina; CMD= Concentrado maltodextrina; EMD/XG= Extracto maltodextrina/xiloglucano; CMD/XG= Concentrado maltodextrina/xiloglucano; EXG= Extracto xiloglucano; CXG= Concentrado xiloglucano; EAlm= Extracto almidón; CAlm=Concentrado Almidón; EAlm/XG= Extracto almidón/xiloglucano; CAlm/XG= Conentrado almidón/xiloglucano; EGA= Extracto goma arábiga; CGA= Concentrado goma arábiga; EGA/XG= Extracto goma arábiga/xiloglucano; CGA/XG= Concentrado goma arábiga/xiloglucano; ECMC= Extracto carboximetilcelulosa; CCMC= Concentrado carboximetilcelulosa; ECMC/XG= Extracto carboximetilcelulosa/xiloglucano; CCMC/XG= Concentrado carboximetilcelulosa/xiloglucano; EPec= Extracto pectina; CPec= Concentrado pectina; EPec/XG= Extracto pectina/xiloglucano; CPec/XG= Concentrado pectina/xiloglucano

Continuación Tabla 3.14 Contenido de antocianinas (mg/L) para estudio de estabilidad a 20°C

Desviación estándar

	SD 0 días	30	60	90	120	150	180	270	300	330	360
EGA	4.68	15.56	8.90	10.01	-	-	-	-	-	-	-
CGA	463.30	1051.94	317.47	690.84	180.92	691.91	691.91	-	-	-	-
EGA/XG	10.22	1.06	13.08	12.51	-	-	-	-	-	-	-
CGA/XG	98.60	1292.27	91.42	560.32	202.47	107.68	107.68	-	-	-	-
ECMC	0.83	3.18	5.58	19.65	-	-	-	-	-	-	-
CCMC	712.52	160.30	109.60	1240.41	177.71	87.90	270.37	-	-	-	-
ECMC/XG	9.14	24.85	17.77	20.03	-	-	-	-	-	-	-
CCMC/XG	272.52	1100.62	101.85	161.49	139.13	270.37	270.37	-	-	-	-
EPec	4.96	7.38	22.01	8.56	-	-	-	-	-	-	-
Cpec	661.33	359.50	959.72	149.28	51.13	51.13	149.28	-	-	-	-
EPec/XG	2.73	1.55	11.82	9.9	-	-	-	-	-	-	-
CPec /XG	97.04	3.11	123.94	19.35	110.69	0.33	0.33	-	-	-	-

*EC= Extracto control; CC= Concentrado control; EMD= Extracto maltodextrina; CMD= Concentrado maltodextrina; EMD/XG= Extracto maltodextrina/xiloglucano; CMD/XG= Concentrado maltodextrina/xiloglucano; EXG= Extracto xiloglucano; CXG= Concentrado xiloglucano; EAlm= Extracto almidón; CAlm=Concentrado Almidón; EAlm/XG= Extracto almidón/xiloglucano; CAlm/XG= Conentrado almidón/xiloglucano; EGA= Extracto goma arábiga; CGA= Concentrado goma arábiga; EGA/XG= Extracto goma arábiga/xiloglucano; CGA/XG= Concentrado goma arábiga/xiloglucano; ECMC= Extracto carboximetilcelulosa; CCMC= Concentrado carboximetilcelulosa; ECMC/XG= Extracto carboximetilcelulosa/xiloglucano; CCMC/XG= Concentrado carboximetilcelulosa/xiloglucano; EPec= Extracto pectina; CPec= Concentrado pectina; EPec/XG= Extracto pectina/xiloglucano; CPec/XG= Concentrado pectina/xiloglucano

La tabla 3.15 muestra los resultados de los polvos obtenidos mediante secado por aspersión. Los polvos seleccionados para ser aplicados en el yoghurt fueron los correspondientes a los de maltodextrina y goma arábiga al 8%, debido a la coloración y al menor contenido de polímero.

Tabla 3.15. Resultados obtenidos de los polvos secados por aspersión.

Cantidad inicial de extracto (ml)	Porcentaje de polímero agregado (%)	Cantidad de polvo obtenido (g)	
		Maltodextrina	Goma arábiga
300	8		
		22	12
	10		
		14.6	15.8
	15		
		37.3	17.2
	20 con 1.5 de fosfato de calcio		-No se pudo obtener
		7.8	-

La bibliografía reporta muchos estudios sobre la obtención de encapsulados de antocianinas mediante secado por aspersión; sin embargo, en todos ellos se utilizan combinaciones de biopolímeros y no los biopolímeros en individual, como lo propuso el presente estudio. Mazuco *et al.* (2018) evaluó los polisacáridos maltodextrina y goma arábiga (en combinación 60/40 y 40/60, respectivamente) como encapsulantes de antocianinas de extracto de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. secados por aspersión, considerando a la temperatura como variable en el proceso, obteniendo como conclusión que la temperatura de entrada del secador (150 y 190°C) no tuvo influencia significativa sobre el rendimiento del proceso; y que la combinación de maltodextrina y goma arábiga al 60/40 fue la que obtuvo mejor rendimiento debido a la cantidad de maltodextrina, la cual se refiere como un aditivo para generar aumento en el rendimiento de las sustancias a secar dado a que es un carbohidrato complejo que provoca el aumento de sólidos solubles. En el presente trabajo no se determinó la eficiencia del proceso con respecto al biopolímero utilizado; sin embargo, se puede observar en la tabla 3.15 que el mayor contenido de polvos obtenidos correspondieron al encapsulante de maltodextrina al 15%.

3.4. Elaboración de yoghurt adicionado con antocianinas de zanahoria púrpura

La figura 3.30 muestra las imágenes del yoghurt blanco elaborado en el presente trabajo y de las muestras de antocianinas que fueron adicionadas sobre dicho yoghurt, considerando antocianinas en extracto concentrado (conc.) y antocianinas en polvo

preparadas con maltodextrina (MD8) y goma arábiga (GA8), donde se observa la coloración de cada muestra de antocianinas.

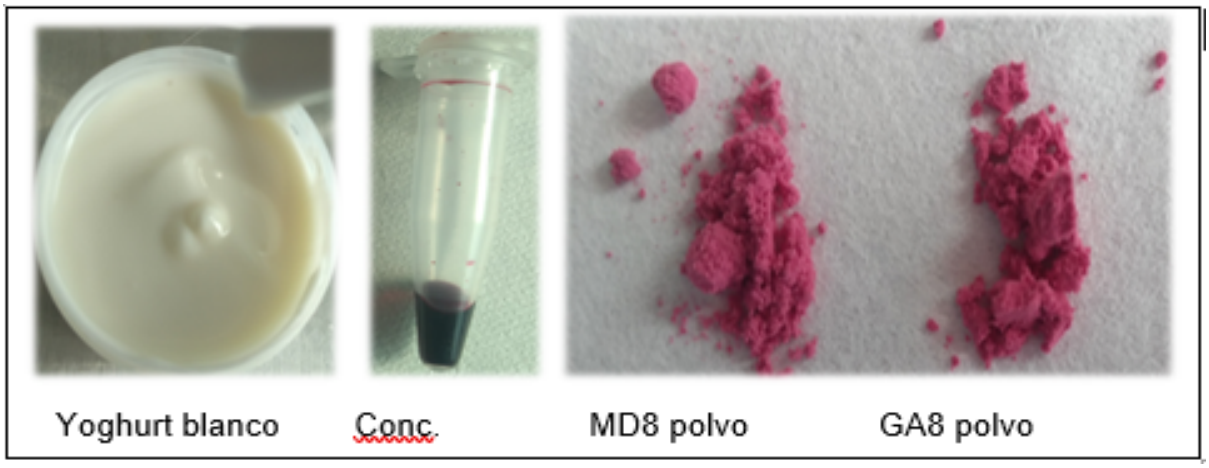


Figura 3. 30 Imagen del yoghurt blanco elaborado y de las muestras aplicadas sobre dicho yoghurt: el concentrado (conc.), el polvo secado por aspersión con maltodextrina (MD8) y el polvo secado por aspersión con goma arábiga (GA8).

La tabla 3.16 muestra las características fisicoquímicas del yoghurt blanco elaborado (yog blanco), las muestras elaborado con antocianinas de zanahoria (conc., MD8, GA8) y un yoghurt comercial con fresa.

En todos los casos la adición de antocianinas al yoghurt elaborado no afectó los parámetros medidos. Sin embargo, el yoghurt comercial si mostró algunos datos diferentes. El análisis estadístico ANOVA ($p \leq 0.05$) realizado se encuentra en el ANEXO II.

Tabla 3.16 Características de los yoghurts utilizados, yoghurt blanco elaborado en el presente estudio (yog blanco); las muestras aplicadas (Conc., MD8, GA8) y un yoghurt comercial con fresa.

Parámetro	yog blanco	yog (conc)	yog (MD8)	yog GA8	yog comercial
°Bx	15.1 ± 1.5	16.5 ± 1.19	17.5 ± 0.36	17 ± 0.47	19.7 ± 0.1

pH	4.48 ± 0.2	4.18 ± 0.3	4.17 ± 0.025	4.18 ± 0.34	4.3 ± 0.2
Viscosidad (cps)	477.7 ± 50.3	480 ± 20	486.7 ± 30.5	490.3 ± 30.5	620 ± 52.9

En relación a los °Bx, se observa que un mayor contenido de azucares es encontrado en el yoghurt comercial; sin embargo, los valores están entre 15 y 20 °Bx; y los resultados estadísticos mostraron que no existe diferencia significativa de este parámetro en todas las muestras ($p \leq 0.05$).

Con respecto al pH, el yoghurt preparado presentó similar valor al comercial (sin diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Los valores reportados como rango para un yoghurt son de 4. 0 – 4.5; por lo que la adición de las muestras (Conc., MD8, GA8) no afectaron la propiedad de pH en el yoghurt.

Referente a la viscosidad, el yoghurt comercial presentó mayor viscosidad que la del yoghurt elaborado, mientras que los sedimentos granulares de antocianinas incrementaron ligeramente este parámetro sobre el yoghurt elaborado (480-490 ctp); sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la viscosidad por esta adición ($p \leq 0.05$).

El porcentaje de humedad de los sedimentos granulares con goma arábiga fue de 2.2% +/- 0.3 y de 2.5% +/-0.23 para los sedimentos granulares con maltodextrina. El tamaño de partícula de ambos sedimentos granulares fue de 0.2 mm.

3.5. Estabilidad de antocianinas, DPPH y Folin en el yoghurt

Para el seguimiento cualitativo del color y forma del yoghurt elaborado a fecha de caducidad (30 días), la figura 3.31 muestra imágenes del yoghurt blanco elaborado,

yoghurt adicionado con extracto concentrado de antocianinas (Conc.); los polvos MD8 y GA8, y un yoghurt comercial con fresa a 0 y 30 días de almacenamiento a 4°C.
En este caso no se observaron cambios de coloración ni morfológicos por la adición de antocianinas.

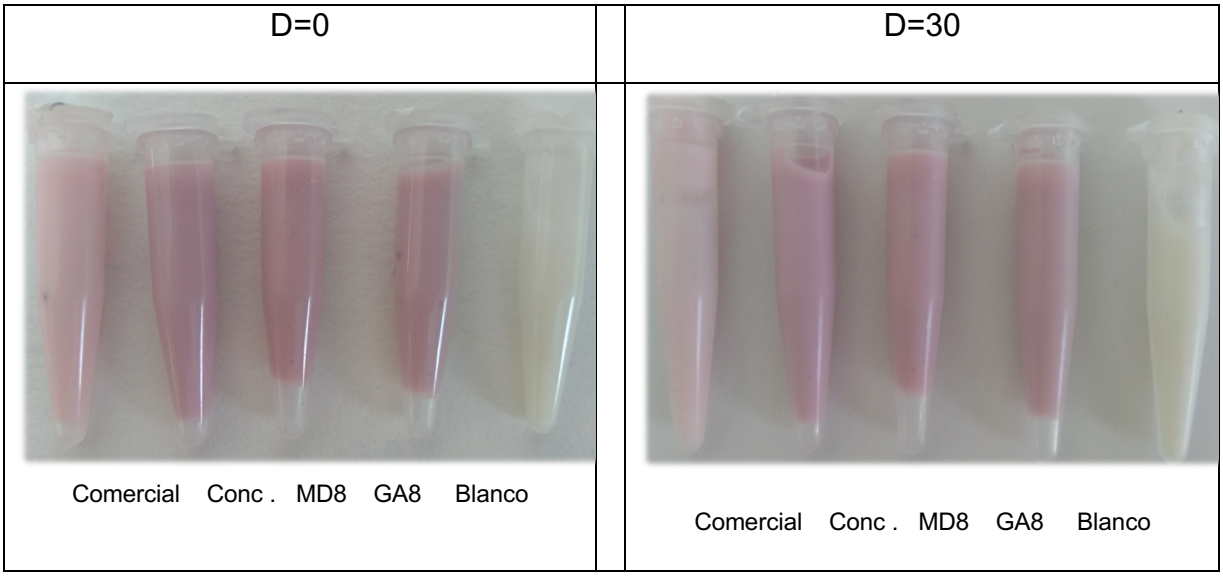


Figura 3.31. Imágenes del concentrado (Conc.); los polvos obtenidos por secado por aspersión (maltodextrina (MD8) y goma arábiga (GA8)) aplicados en yoghurt, junto con un yoghurt comercial con fresa y una muestra del yoghurt blanco; a 0 y 30 días de almacenamiento bajo condiciones de refrigeración.

En la figura 3.32 se muestran los resultados del análisis cuantitativo del contenido de pigmento de antocianinas (mg/L) de las muestras aplicadas al yoghurt blanco y del yoghurt comercial, a 0, 15 y 30 días de almacenamiento (4°C).

El análisis ANOVA (Anexo II) indica que no hay diferencia significativa en el contenido de pigmento de antocianinas con respecto al tiempo entre el día 0, 15 y 30 de almacenamiento (4°C).

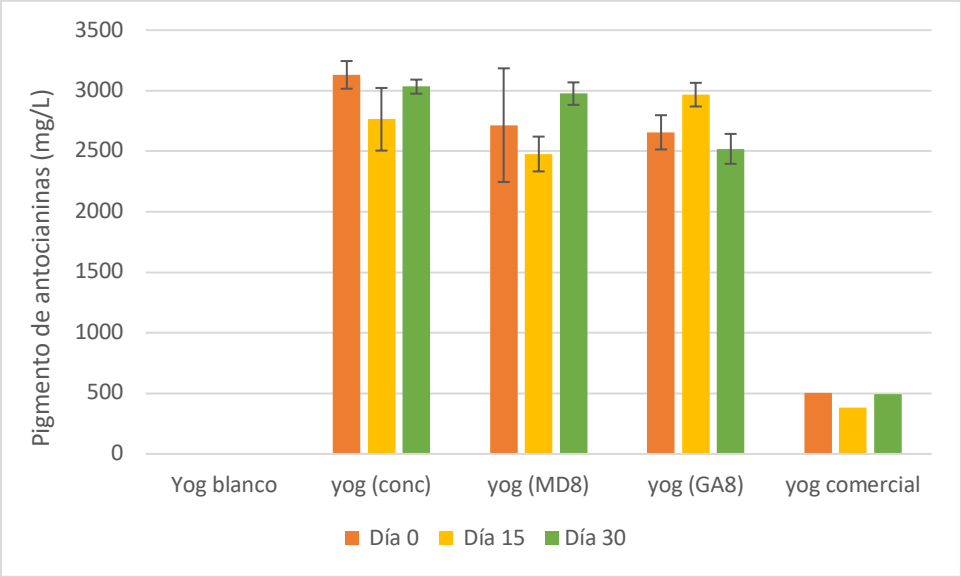


Figura 3.32. Contenido de pigmento de antocianinas (mg/L) de las muestras aplicadas en yoghurt (Conc., MD8, GA8) y del yoghurt comercial con fresa; a los 0, 15 y 30 días de almacenamiento (4°C).

Con respecto al contenido de pigmentos de antocianinas (mg/L), no existe diferencia significativa entre las tres muestras aplicadas al yoghurt blanco (Conc., MD8, GA8), con valores entre 2,975.92 mg/L y 2,714.26 mg/L; sin embargo, sí existe diferencia significativa en el contenido de pigmento de antocianinas con respecto al yoghurt comercial (con fresa) evaluado; presentando éste, un valor significativamente inferior (457.82 mg/L) a las muestras elaboradas en el presente estudio.

La figura 3.33 muestra los resultados de capacidad antioxidante de las muestras aplicadas al yoghurt (Conc., MD8 y GA8), un yoghurt comercial con fresa y el yoghurt blanco; a los 0, 15 y 30 días de almacenamiento (4°C).

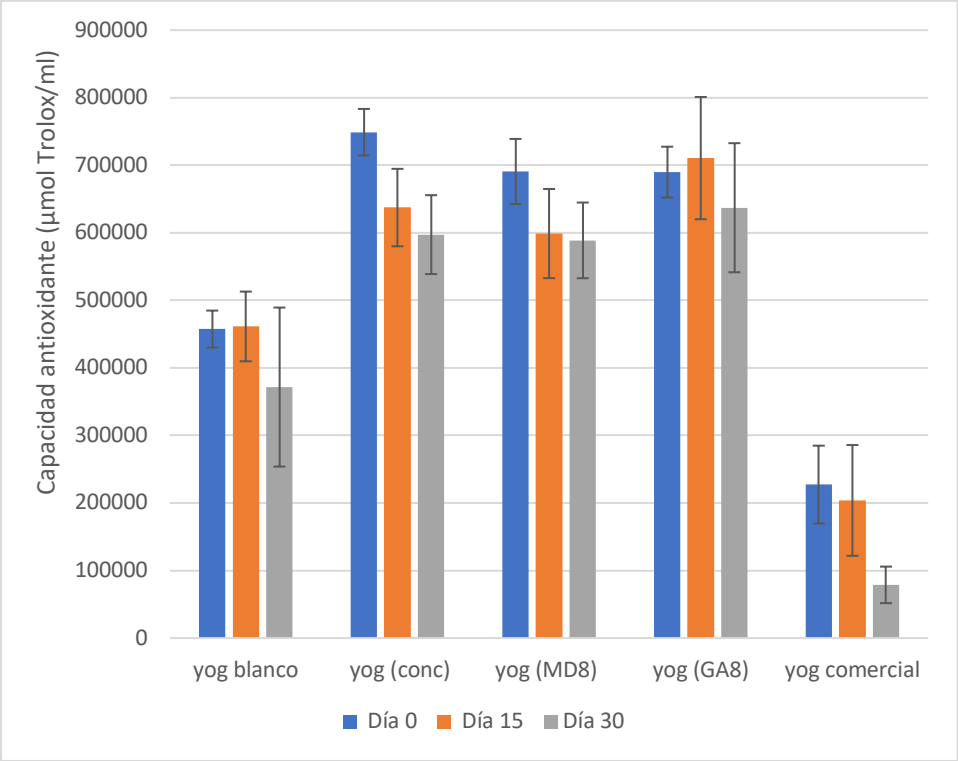


Figura 3.33 Capacidad antioxidante (µg/ml Trolox) de las muestras aplicadas al yoghurt (Conc., MD8, GA8), un yoghurt comercial con fresa y el yoghurt blanco; a los 0, 15 y 30 días de almacenamiento (4°C).

La capacidad antioxidante del yoghurt blanco elaborado en el presente estudio en comparación al yoghurt comercial fue significativamente superior ($p \leq 0.05$), con valores de 457, 393.11 y 227, 221.51 µg/ml Trolox respectivamente; es decir la capacidad antioxidante del yoghurt blanco es aproximadamente 50% superior a los valores del yoghurt comercial; mismos que una vez agregadas las muestras sobre el yoghurt blanco, ésta diferencia aumenta hasta un 70% aproximadamente.

Con respecto al tiempo de almacenamiento, el análisis ANOVA (Anexo II) indica que la capacidad antioxidante de las muestras sí se ve disminuida con respecto al tiempo de almacenamiento (4°C), siendo esta disminución de aproximadamente de un 20%. Cabe señalar que dicha disminución es propia del producto y no como consecuencia de la adición de las muestras al yoghurt.

Por otro lado, el análisis ANOVA (Anexo II) indicó que no existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la capacidad antioxidante (µg/ml Trolox) de las muestras aplicadas en yoghurt; obteniendo valores entre 679, 131 y 626, 140 µg/ml Trolox. La capacidad antioxidante obtenida en las muestras aplicadas al yoghurt presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) superior con respecto al yoghurt blanco, que obtuvo valores de 430, 111 µg/ml Trolox; confirmando que la adición de las antocianinas extraídas a partir de residuos de zanahoria morada sobre el yoghurt sí le aporta un beneficio de capacidad antioxidante al producto, en este caso, de un 45% aproximadamente.

La figura 3.34 muestra los resultados de contenido de fenoles de las muestras aplicadas al yoghurt (Conc., MD8 y GA8), un yoghurt comercial con fresa y el yoghurt blanco; a los 0, 15 y 30 días de almacenamiento (4°C).

Con respecto al tiempo, el análisis ANOVA (Anexo II) indica que no hay diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el contenido de fenoles (µg/ml Ac. Gálico) entre el día 0, 15 y 30 de almacenamiento.

Referente al tipo de muestra, el análisis ANOVA (Anexo II) indicó que no existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el contenido de fenoles (µg/ml Ac. Gálico) en las muestras aplicadas al yoghurt blanco (Conc., GA8 y MD8), con valores entre 16, 526.3 y 15, 119.6 µg/ml Ac. gálico. Estos valores fueron significativamente superiores ($p \leq 0.05$) a los valores obtenidos en el yoghurt blanco (9,522.3 µg/ml Ac. gálico). Dicho comportamiento se relaciona con los valores de capacidad antioxidante (DPPH) obtenidos en el inciso 3.4.2, confirmando así que la adición de antocianinas provenientes de residuos de zanahoria morada, aportan compuestos antioxidantes (fenoles, entre ellos) que conllevan a aumentar la capacidad antioxidante del producto; en este caso, un aumento de aproximadamente 60% en compuestos fenoles. Los valores significativamente inferiores correspondieron al yoghurt comercial, con un valor de 6,046.2 µg/ml Ac. gálico.

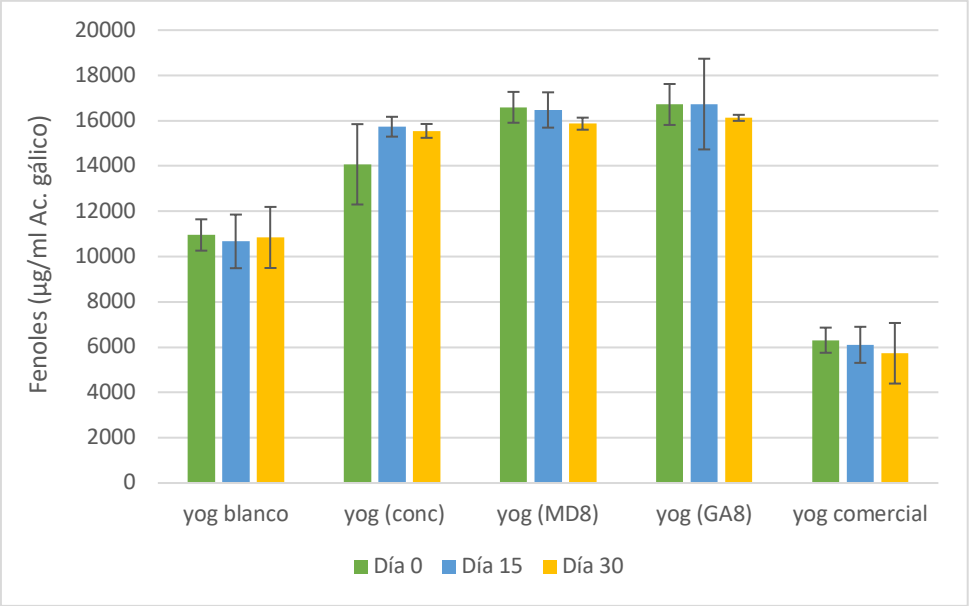


Figura 3.34 Contenido de fenoles (µg/ml Ac. gálico) de las muestras aplicadas al yoghurt (Conc., MD8, GA8), un yoghurt comercial con fresa y el yoghurt blanco; a los 0, 15 y 30 días de almacenamiento (4°C).

Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con los reportados por varios autores; entre ellos, Citta *et al.* (2017) quien analizó la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles en dos tipos de yoghurts, uno bajo en grasa y uno alto en grasa, con y sin la adición de cerezas, duraznos y moras; durante 9 semanas. Con respecto a la capacidad antioxidante, Citta *et al.* (2017) reporta que ésta fue mayor en los yoghurts que tenían adición de fruta y que este ésta disminuyó gradualmente por 4 semanas en todos los yoghurts; sin embargo, en la semana 5 a 8, la capacidad antioxidante aumentó a cantidades similares a las mostradas en el inicio. Explica este comportamiento bifásico debido a la probable formación tardía de péptidos (con propiedades antioxidantes) derivados de la fragmentación de las proteínas de la leche. Con respecto al contenido de fenoles, el este mismo estudio también reporta mayor contenido de fenoles en los yoghurts a los que se les adicionó fruta; dicho contenido de fenoles no tuvo cambios significativos durante el tiempo de almacenamiento (9 semanas) en ninguno de los yoghurts, excepto en el yoghurt bajo en grasa con la adición de moras.

El presente estudio demuestra que el efecto de la copigmentación de las antocianinas; fenómeno descrito por Enaru *et al.* (2021) como exclusivo de estos compuestos y no presente en ningún otro compuesto polifenólico o no fenólico; es suficiente y para poder ser aplicado en productos para aportarle beneficios, tales como una coloración natural y un aumento en la capacidad antioxidante; y que no es necesaria ningún tipo de encapsulante para mejorar su estabilización.

CONCLUSIONES

Como resultado de valorar residuos de zanahoria color purpura, identificados como tipo I y II, provenientes de una industria de aditivos alimentarios, se obtuvieron las siguientes conclusiones de la investigación.

De extractos obtenidos en medio ácido de ambos tipos de residuos, se encontró que el mayor contenido de antocianinas monoméricas, color polimérico y totales fue encontrado en los extractos obtenidos de ácidos cítrico y tartárico de residuos de zanahoria tipo II.

La pérdida de antocianinas en los extractos de residuos tipo II con respecto a los extractos de la zanahoria de donde provienen es del 10-30%, por lo que aún pueden ser aprovechados para diferentes aplicaciones.

El poder antioxidante obtenido en las dos variedades de residuos de zanahoria (tipo I y II) para ambos métodos DPPH y ABTS oscilaron entre 40 – 60 μM/100g pf y entre 50 y 70 μM/100g pf, respectivamente, observándose que el ácido utilizado en la extracción no afecta significativamente ($p \leq 0.05$) dicho poder.

En los resultados de estabilización de las antocianinas, ambas técnicas de copigmentación consistentes en la concentración extractos y concentración de extractos y adición de polímeros, mantuvieron favorablemente los extractos a 4°C de temperatura de almacenamiento por 360 días, sin pérdidas de antocianinas; mientras que en los extractos concentrados con polímeros se observaron pérdidas <10%. Por lo que se sugiere únicamente obtener extractos concentrados para conservar las antocianinas.

Con respecto a la técnica de encapsulamiento de antocianinas en biopolímeros y secado por aspersión para la estabilización de las antocianinas, se obtuvieron polvos de antocianinas con maltodextrina y goma arábiga de coloración roja, con mayor rendimiento en maltodextrina. El comparativo de contenido de antocianinas de estos

productos con los extractos concentrados mostraron pérdidas de antocianinas de hasta el 30% a los 360 días de almacenamiento.

En las pruebas de elaboración y conservación de un yoghurt con la adición de los productos de antocianinas obtenidos se encontró para la elaboración del yoghurt fue requerida mayor cantidad de polvos para igualar el color del yoghurt y el contenido de antocianinas, en comparación con extractos. A su vez, la apariencia, el contenido de azucares y la viscosidad del yoghurt no se vio afectada por los productos de antocianinas obtenidos.

La funcionalidad del yoghurt elaborado se incrementó con antocianinas de residuos de zanahoria purpura debido al incremento de su actividad antioxidante y contenido de polifenoles por la adición de antocianinas en todos los productos probados.

Los resultados globales confirmaron la hipótesis planteada; los residuos de zanahoria color púrpura aún contienen cantidades suficientes de antocianinas para poder ser aplicadas en la elaboración de un yoghurt funcional para su consumo; dado que la aplicación de éstos sobre el yoghurt blanco aumentó significativamente ($p \leq 0.05$) el contenido de pigmento de antocianinas, capacidad antioxidante y contenido de fenoles en aproximadamente un 45%.

FUENTES CONSULTADAS

Alcázar-Alay SC, Almeida MA (2015). Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. Food Sci Technol Int, 35 (2). https://doi.org/10.1590/1678-457X.6749

Alasalvar C, Grigor JM, Zhang D, Quantick PC, Shahidi F (2001). Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. J Agric Food Chem, 49(3):1410-1416. https://doi.org/10.1021/jf000595h

Algarra M,Fernandes A, Mateus N, De Freitas V, Esteves S, Joaquim CG, Casado J (2014). Anthocyanin profile and antioxidant capacity of black carrots (Daucus carota L. ssp. sativus var. atrorubens Alef.) from Cuevas Bajas, Spain. J Food Comp Anal, 33(1), 71–76.
https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.11.005

Anal AK (2018). Food processing by-products and their utilization. Hoboken, NJ. Published Ed. First ed, 4-5.

Antonio-Estrada C, Bello-Pérez LA, Martínez-Sánchez CE, Montañez-Soto JL, Jiménez-Hernández J, Vivar-Vera MA (2009). Producción enzimática de maltodextrinas a partir de almidón de malanga (Colocasia esculenta) Enzymatic production of maltodextrins from taro (Colocasia esculenta) starch. CyTA - J Food, 7(3):233-241.

https://doi.org/10.1080/19476330903091300

Arrazola G, Herazo I, Alvis A (2014). Microencapsulación de Antocianinas de Berenjena (Solanum melongena L.) mediante Secado por Aspersión y Evaluación de la Estabilidad de su Color y Capacidad Antioxidante. Información tecnológica, 25:31-42.

http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642014000300006

Assous MTM, Abdel-Hady MM, Medany GM (2014). Evaluation of red pigment extracted from purple carrots and its utilization as antioxidant and natural food colorants. Ann Agric Sci, 59(1), 1–7.
https://doi.org/10.1016/j.aoas.2014.06.001

Banjarnahor SD, Artanti N (2015). Antioxidant properties of flavonoids. Med J of Indones, 23:239-244.
https://doi.org/10.13181/mji.v23i4.1015

Barba-Espín G, Glied S, Crocoll C, Dzhanfezova T, Joernsgaard B, Okkels F, Müller R (2017). Foliar-applied ethephon enhances the content of anthocyanin of black carrot roots (*Daucus carota* ssp. sativus var. atrorubens Alef.). BMC Plant Biol, 17(1), 70-70.
https://doi.org/10.1186/s12870-017-1021-7

Benchikh Y, Aissaoui A, Allouch R, Mohellebi N (2021). Optimising anthocyanin extraction from strawberry fruits using response surface methodology and application in yoghurt as natural colorants and antioxidants. J Food Sci Technol, 58(5):1987-1995.
https://doi.org/10.1007/s13197-020-04710-0

Blois, M.S. (1958) Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. Nature, 181, 1199-1200.
http://dx.doi.org/10.1038/1811199a0

Bordignon CL, Francescatto V, Nienow AA, Calvete E, Reginatto FH (2009). Influência do pH da solução extrativa no teor de antocianinas em frutos de morango. Food Sci Technol, 29:183-188.
https://doi.org/10.1590/S0101-20612009000100028

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity using the DPPH free radical method. Lebensmittel Wissenchaft und Technologie Food Sci Tech, 28:25-30.

https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5

Buwalda SJ, Boere KW, Dijkstra PJ, Feijen J, Vermonden T, Hennink, WE (2014). Hydrogels in a historical perspective: from simple networks to smart materials. J Control Release, 190:254-273.

https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.03.052

Carocho M, Ferreira ICFR, Morales P, Soković M (2019). Antioxidants and Prooxidants: Effects on Health and Aging 2018. Oxid Med Cell Long, 2019:147-148. https://doi.org/10.1155/2019/7971613

Castañeda A, Pacheco HL, Páez E, Rodriguez J, Galán-Vidal C (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. Food Chem, 113:859-871. http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001

Citta A, Folda A, Scalcon V, Scutari G, Bindoli A, Bellamio M, Feller E, Rigobello MP (2017). Oxidative changes in lipids, proteins, and antioxidants in yoghurt during the shelf life. Food Sci Nutr, *5*(6):1079–1087.

https://doi.org/10.1002/fsn3.493

Ćorković I, Pichler A, Buljeta I, Šimunović J, Kopjar M (2021) Carboxymethylcellulose hydrogels: Effect of its different amount on preservation of tart cherry anthocyanins and polyphenols. Curr Plant Biol, 28:134-136.

https://doi.org/10.1016/j.cpb.2021.100222.

De Cindio B, Domenico G, Lupi FR (2016). Pectin: Properties Determination and Uses.

Encyclopedia of Food and Health, 268:294–300.

http://doi.org/10.1016/b978-0-12- 384947-2.00531-6

Djordjević B, Šavikin K, Zdunić G, Janković T, Vulić T, Pljevljakušić D, Oparnica C. (2013). Biochemical properties of the fresh and frozen black currants and juices. J Med Food, *16*(1):73–81.

https://doi.org/10.1089/jmf.2011.0256

Ekici L, Ozturk I, Karaman S, Caliskan O, Tornuk F, Sagdic O, Yetim H (2015). Effects of black carrot concentrate on some physicochemical, textural, bioactive, aroma and sensory properties of sucuk, a traditional Turkish dry- fermented sausage. LWT - Food Sci Technol, 62(1):718- 726.

https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.025

El-Said, Marwa M, Haggag HF, Fakhr ED, Hala M, Gad AS, Farahat AM (2014). Antioxidant activities and physical properties of stirred yoghurt fortified with pomegranate peel extracts. Annals Agri Sci, 59(2):207–212. https://doi.org/10.1016/j.aoas.2014.11.007

Enaru B, Drețcanu G, Pop TD, Stănilă A, Diaconeasa Z (2021). Anthocyanins: Factors Affecting Their Stability and Degradation. Antioxidants (Basel, Switzerland), *10*(12): 1967.

https://doi.org/10.3390/antiox10121967

Guija-Poma E, Ponce -Pardo J, Zarzosa-Norabuena E (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. Horiz Med, 15:57-60.

Flores-Aguilar E., Flores-Rivera E. (2018). Estabilidad de antocianinas, fenoles totales y capacidad antioxidante de bebidas de maíz morado (Zea mays L.). Información Tecnológica, 29(2), 175-184.
https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642018000200175

Folin O, Ciocalteu V (1927). On Tyrosine and Triptophane Determinations in Proteins. J Biol Chem, 73(2):627-650.

https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)84277-6

Garzón GA (2008). Las Antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. Acta Biológica Colombiana, 13(3):27-36.

Giusti MM, Wrolstad RE (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. Curr Protoc Food Anal Chemi, 00(1):F1.2.1-F1.2.13. https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00

Gorriti GA, Arroyo AJ, Negron BL, Jurado TB, Purizaca LH, Santiago AI, Taype EE, Quispe F, Quispe JF (2009). Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas del maíz morado (Zea mays L.): Método de extracción. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 8(6):509-518.

Hosseini S, Gharachorloo M, Ghiassi-Tarzi B, Ghavami M (2016). Evaluation of the Organic Acids Ability for Extraction of Anthocyanins and Phenolic Compounds from Different Sources and Their Degradation Kinetics During Cold Storage. Polish J Food Nutr Sci, 66:261-270.

http://doi.org/10.1515/pjfns-2015-0057

Jayathilakan K, Sultana K, Radhakrishna K, Bawa A (2012). Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review. J Food Sci Technol, 49(3):278-293.

http://doi.org/10.1007/s13197-011-0290-7.

Kallam K, Appelhagen I, Luo J, Albert N, Zhang H, Deroles S, Hill L, Findlay K, Andersen OM, Davies K, Martin C (2017). Aromatic Decoration Determines the Formation of Anthocyanic Vacuolar Inclusions. Curr Biol, 27(7):945-957. http://doi.org/10.1016/j.cub.2017.02.027

Kamiloglu S, Capanoglu E, Bilen FD, Gonzales GB, Grootaert C, Van de Wiele T, Van Camp J (2016). Bioaccessibility of Polyphenols from Plant- Processing Byproducts of Black Carrot (*Daucus carota* L.). J Agric Food Chem, 64(12):2450-2458. http://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02640

Kedare S, Singh R (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. J Food Sci Technol, 48:412-422.

http://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1

Khoo HE, Azlan A, Tang ST, Lim SM (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. Food Nutr Res, 61(1):1361779.
http://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779

Kopjar M, Jsksic K, Pilizota V (2012). Influence of sugars and chlorogenic acid addition on anthocyanin content antioxidant activity and color blackberry juice during storage. J Food Process Preserv, 36(6):545-552.

https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2011.00631.x

Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Food Sci Technol, 25:726-732.
https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016

Lee J, Koo N, Min DB (2004). Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals. Compr Rev Food Sci F, 3(1):21-33.

http://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2004.tb00058.x

Mahajan HS, Deshmukh SR (2015). Development and evaluation of gel- forming ocular films based on xyloglucan. Carbohydr Polym, 122:243- 247. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.01.018

Martin J, Kuskoski E, Navas M, Garcia AA (2017). Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments. In:Justino, G, Eds, Flavonoids-FromBiosynthesis to Human Health, National and University Library in Zagreb, Croatia:205-256.

Martínez-Flórez S, Tuñón MJ, Sánchez-Campos S, Culebras JM, González-Gallego J (2004). Capacidad antioxidante del flavonoide quercitina frente al daño oxidativo producido por la interleucina 1 beta en hepatocitos. Nutrición Hospitalaria, 19(Supl. 1), 32.

Martínez JJ, Rojas HA, Borda G, Hastamorir AN, Medina MF (2011) Estabilidad de antocianinas en jugo y concentrado de agraz (Vaccinium meridionale Sw.). Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín, 64(1):6015-6022.

Mazuco, RA, Cardoso PMM, Bindaco ÉS, Scherer R, Castilho RO, Faraco AAG, Ruas FG, Oliveira JP, Guimarães MCC, de Andrade TU, Lenz D, Braga FC, Endringer DC (2018). Maltodextrin and Gum Arabic-Based Microencapsulation Methods for Anthocyanin Preservation in Juçara Palm (Euterpe edulis Martius) Fruit Pulp. Plant Foods Hum Nutr, *73*(3):209–215.

https://doi.org/10.1007/s11130-018-0676-z

Mejias-Brizuela NY, Orozco GE, Galan N (2016). Aprovechamiento de los residuos agroindustriales y su contribución al desarrollo sostenible de México. Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales, 2:27-41.

Miyazaki S, Suisha F, Kawasaki N, Shirakawa M, Yamatoya K, Attwood D (1998). Thermally reversible xyloglucan gels as vehicles for rectal drug delivery. J Control Release, 56(1-3):75-83.

http://doi.org/10.1016/s0168- 3659(98)00079-0

Moldovan B, David L, Chişbora C, Cimpoiu C (2012). Degradation kinetics of anthocyanins from European cranberrybush (Viburnum opulus L.) fruit extracts. Effects of temperature, pH and storage solvent. Molecules, 17(10):11655-11666. http://doi.org/10.3390/molecules171011655

Molyneux P. (2004) The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. J Sci Tech, 26, 211-219.

Montilla EC, Arzaba MR, Hillebrand S, Winterhalter P (2011). Anthocyanin composition of black carrot (Daucus carota ssp. sativus var. atrorubens Alef.) cultivars Antonina, Beta Sweet, Deep Purple, and Purple Haze. J Agric Food Chem, 59(7):3385-3390. http://doi.org/10.1021/jf104724k

Murali S, Kar A, Mohapatra D, Kalia P (2015). Encapsulation of black carrot juice using spray and freeze drying. Food Sci Technol Int, 21(8):604-612. http://doi.org/10.1177/1082013214557843.

Musa HH, Ahmed AA, Musa TH (2018). Chemistry, Biological, and Pharmacological Properties of Gum Arabic. In: Mérillon JM, Ramawat K (eds.) Bioactive Molecules in Food. Reference Series in Phytochemistry. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-54528- 8_11-1.

Muselik J, Garcia-Alonso M, Martin-Lopez MP, Zemlicka M, Rivas-Gonzalo JC. Measurement of antioxidant activity of wine catechins, procyanidins, anthocyanins and pyranoanthocyanins. Int J Mol Sci 2007;8:797-809.

https://doi.org/10.3390/i8080797

Nishinari K, Takemasa M, Fang Y, Hossain KS, Tsumura Y, Sone Y, Fujiwara M, Habu D, Emoto M (2020). Effects of xyloglucan with different molar masses on glucose in blood. Food Hydrocoll, 108:105727.

https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105727

Ochoa S, Durango-Zuleta M, Osorio Toban F (2020). Techno-economic evaluation of extraction of anthocyanins from purple yam (Dioscorea alata) using ultrasound-assited extraction and conventional extraction processes. 122:111-123.

https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.04.007

Peñailillo RPA, (2013). Evaluación de la carboximetilcelulosa sobre las características físicas y químicas de un vino tiento cultivar carmenere. [Tesis Profesional, Universidad de Chile]. Biblioteca Digital de la Univerisdad de Chile.

Pisoschi AM, Negulescu GP (2011). Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. Biochem Anal Biochem, 01:106.

http://doi.org/10.4172/2161-1009.1000106

Rauf A, Imran M, Abu-Izneid T, Iahtisham UlH, Patel S., Pan X, Naz S, Sanches AS, Saeed F, Rasul HAS (2019). Proanthocyanidins: A comprehensive review. Biomedicine Pharmacother, 116:08999.

https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108999

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med, 26(9):1231-1237.

https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3

Rein M (2005). Copigmentation Reactions and Color Stability of Berry Anthocyanins. Chemistry (dissertation). EKT series 1331. University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology. 88:34pp.

Rios-Aguirre S, Gil-Garzón, MA (2021). Microencapsulación por secado por aspersión de compuestos bioactivos en diversas matrices: una revisión. TecnoLógicas, 24(51): 206-229.

https://doi.org/10.22430/22565337.1836

Roy MK; Motoki K, Theertham RP, Tsutomu O, Ogasawara Y, Juneja LR (2010). ORAC and DPPH assay comparison to assess antioxidant capacity of tea infusions: Relationship between total polyphenol and individual catechin content. Int J Food Sci Nutr, 61(2):109–124.

https://doi.org/10.3109/09637480903292601

Ruiz DF, Varela AM (2010). Antioxidantes naturales. Aspectos saludables, toxicológicos y aplicaciones industriales: Gráficas Garabal SLS, Martínez-Flórez JGG:102.

ISBN-13978-84-453-4963-2

Shahidi F, Zhong Y (2015). Measurement of antioxidant activity. J Funct Foods, 18:757-781.

https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047

Singh MN, Yadav H, Ram M, Shivakumar HG (2010). Microencapsulation: A promising technique for controlled drug delivery. Res Pharm Sci, 5(2):65-77.

PMID: 21589795; PMCID: PMC3093624.

Stintzing FC, Stintzing AS, Carle R, Frei B, Wrolstad RE (2002). Color and antioxidant properties of cyanidin-based anthocyanin pigments. J Agric Food Chem, 50(21):6172-6181.

http://doi.org/10.1021/jf0204811

Tan J, Han Y, Han B, Qi X, Cai X, Ge S, Xue H (2022). Extraction and purification of anthocyanins: A review. J Agric Food Res, (8): 113-119. https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100306.

Timberlake CF (1980). Anthocyanins—Occurrence, extraction and chemistry. Food Chem, 5(1):69-80.

https://doi.org/10.1016/0308-8146(80)90065-5

Turkimaz M, Ozkan M (2012). Kinetics of anthocyanin degradation and polymeric color formation in black carrot juice concentrates during storage. Int J Food Sci Tech 47:2273-2281.

https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03098.x

Vargas VM, Figueroa BH, Tamayo J, Toledo LV, Moo HV (2019). Aprovechamiento de cáscaras de frutas: análisis nutricional y compuestos bioactivos. Ciencia Ergo-Sum, 26.

http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.066

Velasco-Velasco J (2018). Residuos agroindustriales con potencial de compostaje. Agro Productividad, 9(8).

https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.05.003

Yawadio R, Morita N (2007). Color enhancing effect of carboxylic acids on Anthocyanins, 105(1): 421–427.
https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.066

Zafra-Rojas QY, Cruz-Cansino NS, Quintero-Lira A, Gómez-Aldapa CA, Alanís-García E, Cervantes-Elizarrarás A, Ramírez-Moreno E (2016). Application of Ultrasound in a Closed System: Optimum Condition for Antioxidants Extraction of Blackberry (Rubus fructicosus) Residues. Molecules 21(7):950. https://doi.org/10.3390/molecules21070950

Zhang XL, Zhang YD, Wang T, Guo HY, Liu QM, Su HX (2014). Evaluation on Antioxidant Effect of Xanthohumol by Different Antioxidant Capacity Analytical Methods. J Chem, 2014:1-6. https://doi.org/ 10.1155/2014/249485

ANEXO I

Biopolímero	% de adición
Control	NA
Maltodextrina (MD)	5
Almidón (Alm)	5
Goma Arábiga (GA)	0.08
Carboximetilcelulosa (CMC)	5
Pectina	5
Xiloglucano	0.08
MD/XG	5/0.08
Alm/XG	5/0.08
GA/XG	0.08/ 0.08
CMC/XG	5/0.08
Pectina / XG	5/0.08

ANEXO **II**

Contenido de pigmentos de antocianinas (mg/L) en concentrados con maltodextrina (MD), almidón (Alm), goma arábiga (GA), carboximetilcelulosa (CMC), pectina (Pec) y xiloglucano (XG), en induvidual y en sus respectivas combinaciones con el xiloglcano (MD/XG, Alm/XG, GA/XG, CMC/XG, Pec/XG), control (C) y extracto (E); a 4ºC

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Muestra	Fijo	24	Conc. Control, Conc.Almidón, Conc.Almidón/XG, Conc.CMC, Conc.CMC/XG, Conc.GA, Conc.GA/XG, Conc.MD, Conc.MD/XG, Conc.Pectina, Conc.Pectina/XG, Conc.XG, Extracto Almidón, Extracto Almidón/XG, Extracto CMC, Extracto CMC/XG, Extracto Control, Extracto GA, Extracto GA/XG, Extracto MD, Extracto MD/XG, Extracto Pectina, Extracto Pectina/XG, Extracto XG
Día	Fijo	11	0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 225, 270, 315, 360

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Muestra	23	2486063379	108089712	76.59	0.000
Día	10	136660615	13666061	9.68	0.000
Error	350	493974434	1411356		
Falta de ajuste	158	384163073	2431412	4.25	0.000
Error puro	192	109811362	571934		
Total	383	3300354178			

Comparaciones para Pigmento de antocianina (mg/L)

Comparaciones por parejas de Tukey: Muestra

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Muestra	N	Media	Agrupación		
Conc. Control	22	6747.67	A		
Conc.GA/XG	22	6595.64	A		
Conc.GA	22	6459.76	A		
Conc.Almidón	22	6144.22	A		
Conc.Almidón/XG	22	6114.66	A		
Conc.MD	22	6014.91	A		
Conc.XG	22	5965.72	A		
Conc.MD/XG	22	5806.88	A		
Conc.Pectina	22	3312.34		B	
Conc.Pectina/XG	22	3148.63		B	
Conc.CMC	22	2556.79		B	
Conc.CMC/XG	22	2462.56		B	
Extracto Control	10	-317.75			C
Extracto Almidón	10	-326.42			C
Extracto GA	10	-330.40			C
Extracto MD	10	-332.64			C
Extracto GA/XG	10	-340.61			C
Extracto XG	10	-345.04			C
Extracto MD/XG	10	-347.14			C
Extracto Almidón/XG	10	-356.85			C
Extracto Pectina	10	-364.50			C
Extracto Pectina/XG	10	-386.81			C
Extracto CMC	10	-419.67			C
Extracto CMC/XG	10	-426.72			C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Comparaciones por parejas de Tukey: Día

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Día	N	Media	Agrupación		
30	48	3169.84	A		
60	48	3140.09	A		
180	24	2948.61	A		
90	48	2927.24	A		
120	48	2773.43	A		
0	48	2732.36	A		
150	24	2586.95	A	B	
225	24	1568.51		B	C
360	24	1560.88		B	C
270	24	1392.01			C
315	24	1341.22			C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados con maltodextrina (MD),

almidón (Alm), goma arábiga (GA), carboximetilcelulosa (CMC), pectina (Pec) y xiloglucano (XG), en induvidual y en sus respectivas combinaciones con el xiloglcano (MD/XG, Alm/XG, GA/XG, CMC/XG, Pec/XG), control (C) y extracto (E); a 20ºC

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Muestra	Fijo	24	Conc. Control, Conc.Almidón, Conc.Almidón/XG, Conc.CMC, Conc.CMC/XG, Conc.GA, Conc.GA/XG, Conc.MD, Conc.MD/XG, Conc.Pectina, Conc.Pectina/XG, Conc.XG, Extracto Almidón, Extracto Almidón/XG, Extracto CMC, Extracto CMC/XG, Extracto Control, Extracto GA, Extracto GA/XG, Extracto MD, Extracto MD/XG, Extracto Pectina, Extracto Pectina/XG, Extracto XG
Día	Fijo	11	0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 270, 300, 330, 360

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Muestra	23	1479467402	64324670	53.78	0.000
Día	10	190914975	19091497	15.96	0.000
Error	302	361239088	1196156		
Falta de ajuste	134	278673845	2079656	4.23	0.000
Error puro	168	82565243	491460		
Total	335	2234626052			

Comparaciones para Pigmento de antocianina (mg/L)

Comparaciones por parejas de Tukey: Muestra

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Muestra	N	Media	Agrupación		
Conc.GA	22	6015.52	A		
Conc. Control	22	5920.17	A		
Conc.XG	22	5832.64	A		
Conc.GA/XG	22	5689.81	A		
Conc.Almidón	22	5657.68	A		
Conc.Almidón/XG	22	5535.52	A		
Conc.MD	22	5525.92	A		
Conc.MD/XG	22	5351.85	A		
Conc.Pectina/XG	20	3233.43		B	
Conc.Pectina	21	3147.56		B	
Conc.CMC/XG	20	2513.09		B	
Conc.CMC	21	2418.98		B	
Extracto MD/XG	6	-318.38			C
Extracto GA	6	-325.64			C
Extracto MD	6	-325.90			C
Extracto Almidón	6	-331.22			C
Extracto GA/XG	6	-332.18			C
Extracto Control	6	-335.95			C
Extracto XG	6	-339.05			C
Extracto Almidón/XG	6	-345.90			C
Extracto Pectina	6	-362.59			C
Extracto Pectina/XG	6	-380.08			C
Extracto CMC	6	-428.68			C
Extracto CMC/XG	6	-449.05			C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Comparaciones por parejas de Tukey: Día

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Día	N	Media	Agrupación		
90	24	3103.45	A		
30	48	3012.62	A		
0	48	2717.45	A		
120	24	2696.39	A		
150	24	2665.81	A		
180	24	2665.81	A		
60	48	2534.90	A		
225	20	1508.36		B	
270	24	1096.97		B	
360	24	1046.70		B	
315	22	1044.98		B	

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Contenido de antocianinas (mg/L) en concentrados control a 4°C y 20°C a 360 días

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Día	Fijo	13	0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 225, 270, 300, 315, 330, 360
Temperatura	Fijo	2	20, 4

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Día	12	22738423	1894869	2.78	0.011
Temperatura	1	4582762	4582762	6.72	0.015
Error	30	20473363	682445		
Falta de ajuste	8	2731327	341416	0.42	0.894
Error puro	22	17742036	806456		
Total	43	50744083			

Comparaciones por parejas de Tukey: Día

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Día	N	Media	Agrupación	
90	4	7658.03	A	
30	4	7287.13	A	B
120	4	7044.97	A	B
60	4	6685.44	A	B
225	2	6455.73	A	B
315	2	6247.28	A	B
270	4	6140.65	A	B
180	4	6002.96	A	B
300	2	5944.77	A	B
360	4	5798.61	A	B
150	4	5753.20	A	B
330	2	5505.12	A	B
0	4	5225.66		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Comparaciones por parejas de Tukey: Temperatura

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Temperatura	N	Media	Agrupación	
4	22	6645.22	A	
20	22	5931.64		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANEXO III

Resultados ANOVA para las características fisicoquímicas del yoghurt (Sección 3.5.2. Estabilidad de las antocianinas en el yoghurt elaborado)

ANOVA de un solo factor: ° Bx vs. Muestra

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	α = 0.05

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Muestra	5	Conc. en yog, GA8 en yog, MD8 en yog, Yog blanco, Yog comercial

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Muestra	4	33.243	8.3107	10.50	0.001
Error	10	7.913	0.7913		
Total	14	41.156			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.889569	80.77%	73.08%	56.74%

Medias

Muestra	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Conc. en yog	3	16.567	1.193	(15.422, 17.711)
GA8 en yog	3	17.033	0.473	(15.889, 18.178)
MD8 en yog	3	17.3000	0.1000	(16.1556, 18.4444)
Yog blanco	3	15.100	1.513	(13.956, 16.244)
Yog comercial	3	19.7000	0.1000	(18.5556, 20.8444)

Desv.Est. agrupada = 0.889569

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Muestra	N	Media	Agrupación	
Yog comercial	3	19.7000	A	
MD8 en yog	3	17.3000		B
GA8 en yog	3	17.033		B
Conc. en yog	3	16.567		B
Yog blanco	3	15.100		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ICs simultáneos de 95% de Tukey

Gráfica de intervalos de ° Bx vs. Muestra

ANOVA de un solo factor: pH vs. Muestra

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	α = 0.05

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Muestra	5	Conc. en yog, GA8 en yog, MD8 en yog, Yog blanco, Yog comercial

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Muestra	4	0.20220	0.050550	45.20	0.000
Error	10	0.01118	0.001118		
Total	14	0.21338			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0.0334415	94.76%	92.66%	88.21%

Medias

Muestra	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Conc. en yog	3	4.17667	0.00577	(4.13365, 4.21969)
GA8 en yog	3	4.1817	0.0257	(4.1386, 4.2247)
MD8 en yog	3	4.1933	0.0252	(4.1503, 4.2364)
Yog blanco	3	4.4833	0.0289	(4.4403, 4.5264)
Yog comercial	3	4.2567	0.0586	(4.2136, 4.2997)

Desv.Est. agrupada = 0.0334415

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Muestra	N	Media	Agrupación	
Yog blanco	3	4.4833	A	
Yog comercial	3	4.2567		B
MD8 en yog	3	4.1933		B
GA8 en yog	3	4.1817		B
Conc. en yog	3	4.17667		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ICs simultáneos de 95% de Tukey

Gráfica de intervalos de pH vs. Muestra

ANOVA de un solo factor: cps vs. Muestra

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	α = 0.05

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Muestra	5	Conc. en yog, GA8 en yog, MD8 en yog, Yog blanco, Yog comercial

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Muestra	4	56373	14093	9.27	0.002
Error	10	15200	1520		
Total	14	71573			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
38.9872	78.76%	70.27%	52.22%

Medias

Muestra	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Conc. en yog	3	480.0	20.0	(429.8, 530.2)
GA8 en yog	3	493.3	30.6	(443.2, 543.5)
MD8 en yog	3	466.7	30.6	(416.5, 516.8)
Yog blanco	3	446.7	50.3	(396.5, 496.8)
Yog comercial	3	620.0	52.9	(569.8, 670.2)

Desv.Est. agrupada = 38.9872

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Muestra	N	Media	Agrupación	
Yog comercial	3	620.0	A	
GA8 en yog	3	493.3		B
Conc. en yog	3	480.0		B
MD8 en yog	3	466.7		B
Yog blanco	3	446.7		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ICs simultáneos de 95% de Tukey

Gráfica de intervalos de cps vs. Muestra

Resultados ANOVA del seguimiento en el yoghurt. (Sección 3.5.2. Estabilidad de antocianinas en el yoghurt elaborado)

Modelo lineal general: Pigmento de antocianina (mg/L) ... uestra, Día

Método

Codificación de factores (-1, 0, +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Muestra	Fijo	4	Conc. en yog, GA8 en yog, MD8 en yog, Yog comercial
Día	Fijo	3	0, 15, 30

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Muestra	3	37562968	12520989	135.15	0.000
Día	2	89788	44894	0.48	0.621
Error	30	2779266	92642		
Falta de ajuste	6	843006	140501	1.74	0.154
Error puro	24	1936259	80677		
Total	35	40432022			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
304.372	93.13%	91.98%	90.10%

Coeficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	FIV
Constante	2217.7	50.7	43.72	0.000	
Muestra					
Conc. en yog	758.3	87.9	8.63	0.000	1.50
GA8 en yog	496.6	87.9	5.65	0.000	1.50
MD8 en yog	505.0	87.9	5.75	0.000	1.50
Día					
0	33.2	71.7	0.46	0.647	1.33
15	-70.6	71.7	-0.98	0.333	1.33

Ecuación de regresión

Pigmento de antocianina (mg/L) = 2217.7 + 758.3 Muestra_Conc. en yog + 496.6 Muestra_GA8 en yog + 505.0 Muestra_MD8 en yog - 1759.9 Muestra_Yog comercial + 33.2 Día_0 - 70.6 Día_15 + 37.4 Día_30

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes

Obs	Pigmento de antocianina (mg/L)	Ajuste	Resid	Resid est.	
3	3797	3009	787	2.83	R
9	2174	2747	-573	-2.06	R

Residuo grande R

Comparaciones para Pigmento de antocianina (mg/L)

Comparaciones por parejas de Tukey: Muestra

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Muestra	N	Media	Agrupación	
Conc. en yog	9	2975.92	A	
MD8 en yog	9	2722.69	A	
GA8 en yog	9	2714.26	A	
Yog comercial	9	457.82		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Comparaciones por parejas de Tukey: Día

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Día	N	Media	Agrupación
30	12	2255.04	A
0	12	2250.90	A
15	12	2147.09	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Resultados ANOVA del seguimiento en el yoghurt. (Sección 3.5.3. Capacidad antioxidante en el yoghurt elaborado)

Modelo lineal general: µmol Trolox/ml vs. Muestra, Día

Método

Codificación de factores (-1, 0, +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Muestra	Fijo	5	Conc. en yog, GA8 en yog, MD8 en yog, Yog blanco, Yog comercial
Día	Fijo	3	0, 15, 30

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Muestra	4	1.68246E+12	4.20615E+11	101.34	0.000
Día	2	89530472961	44765236481	10.79	0.000
Error	38	1.57713E+11	4150353441		
Falta de ajuste	8	28753071508	3594133939	0.84	0.578
Error puro	30	1.28960E+11	4298678642		
Total	44	1.92970E+12			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
64423.2	91.83%	90.54%	88.54%

Coeficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	FIV
Constante	513296	9604	53.45	0.000	
Muestra					
Conc. en yog	147892	19207	7.70	0.000	1.60
GA8 en yog	165835	19207	8.63	0.000	1.60
MD8 en yog	112843	19207	5.88	0.000	1.60
Yog blanco	-83185	19207	-4.33	0.000	1.60
Día					
0	49525	13582	3.65	0.001	1.33
15	9073	13582	0.67	0.508	1.33

Ecuación de regresión

µmol Trolox/ml = 513296 + 147892 Muestra_Conc. en yog + 165835 Muestra_GA8 en yog + 112843 Muestra_MD8 en yog - 83185 Muestra_Yog blanco - 343385 Muestra_Yog comercial + 49525 Día_0 + 9073 Día_15 - 58598 Día_30

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes

Obs	µmol Trolox/ml	Ajuste	Resid	Resid est.	
42	505146	371513	133633	2.26	R

Residuo grande R

Comparaciones para µmol Trolox/ml

Comparaciones por parejas de Tukey: Muestra

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Muestra	N	Media	Agrupación		
GA8 en yog	9	679131	A		
Conc. en yog	9	661188	A		
MD8 en yog	9	626140	A		
Yog blanco	9	430111		B	
Yog comercial	9	169911			C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Comparaciones por parejas de Tukey: Día

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Día	N	Media	Agrupación	
0	15	562821	A	
15	15	522369	A	
30	15	454699		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Resultados ANOVA del seguimiento en el yoghurt. (Sección 3.5.4. Contenido de fenoles en el yoghurt elaborado)

Modelo lineal general: µg/mL Ac. gálico vs. Muestra, Día

Método

Codificación de factores (-1, 0, +1)

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Muestra	Fijo	5	Conc. en yog, GA8 en yog, MD8 en yog, Yog blanco, Yog comercial
Día	Fijo	3	0, 15, 30

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Muestra	4	791173880	197793470	56.80	0.000
Día	2	7741820	3870910	1.11	0.340
Error	38	132333300	3482455		
Falta de ajuste	8	26869971	3358746	0.96	0.488
Error puro	30	105463328	3515444		
Total	44	931248999			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
1866.13	85.79%	83.55%	80.07%

Coeficientes

Término	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	FIV
Constante	12705	278	45.67	0.000	
Muestra					
Conc. en yog	2414	556	4.34	0.000	1.60
GA8 en yog	3821	556	6.87	0.000	1.60
MD8 en yog	3606	556	6.48	0.000	1.60
Yog blanco	-3183	556	-5.72	0.000	1.60
Día					
0	-557	393	-1.42	0.165	1.33
15	438	393	1.11	0.272	1.33

Ecuación de regresión

µg/mL Ac. gálico = 12705 + 2414 Muestra_Conc. en yog + 3821 Muestra_GA8 en yog + 3606 Muestra_MD8 en yog - 3183 Muestra_Yog blanco - 6659 Muestra_Yog comercial - 557 Día_0 + 438 Día_15 + 119 Día_30

Ajustes y diagnósticos para observaciones poco comunes

Obs	µg/mL Ac. gálico	Ajuste	Resid	Resid est.	
12	0	8965	-8965	-5.23	R

Residuo grande R

Comparaciones para µg/mL Ac. gálico

Comparaciones por parejas de Tukey: Muestra

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Muestra	N	Media	Agrupación		
GA8 en yog	9	16526.3	A		
MD8 en yog	9	16311.5	A		
Conc. en yog	9	15119.6	A		
Yog blanco	9	9522.3		B	
Yog comercial	9	6046.2			C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Comparaciones por parejas de Tukey: Día

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Día	N	Media	Agrupación
15	15	13143.3	A
30	15	12824.0	A
0	15	12148.3	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.