



SEP

SES

TecNM

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA

**OBTENCIÓN DE PIGMENTOS DE ESTRUCTURA ANTOCIANÍNICA
A PARTIR DEL CULTIVO CONVENCIONAL Y ORGÁNICO DE
Daucus carota L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**PRESENTA:
M. C. ALEJANDRA VALDEZ ZARCO
No. DE CONTROL: 9728D0635**

**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. CLAUDIA ROSARIO MURO URISTA**

**CO-DIRECTORA DE TESIS:
DRA. MARÍA DEL CARMEN DÍAZ NAVA**

METEPEC, ESTADO DE MÉXICO, DICIEMBRE DE 2021.

Metepec, Edo. de México, 19/enero/2022

JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN
PRESENTE

Por este medio comunicamos a usted que la comisión Revisora designada para analizar la tesis denominada "OBTENCIÓN DE PIGMENTOS DE ESTRUCTURA ANTOCIANÍNICA A PARTIR DEL CULTIVO CONVENCIONAL Y ORGÁNICO DE *Daucus carota L. ssp. sativus var. atrorubens Alef.*", que como parte de los requisitos para obtener el grado académico de Doctor en Ciencias Ambientales presenta la **C. ALEJANDRA VALDEZ ZARCO** con número de control **9728D0635** para sustentar el acto de Recepción Profesional, ha dictaminado que dicho trabajo reúne las características de contenido y calidad para proceder a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE

CLAUDIA ROSARIO MUÑOZ URISTA
DIRECTOR DE TESIS

MARÍA DEL CARMEN DÍAZ NAVA
CODIRECTOR DE TESIS

YOLANDA ALVARADO PÉREZ
REVISOR DE TESIS

MARÍA DOLORES MARTELLERENA TERASAIN
REVISOR DE TESIS

JESUS CAUDENIO AQUINO MARTINEZ
REVISOR DE TESIS

OMAR ALBERTO HERNANDEZ AGUIRRE
REVISOR DE TESIS

ccp: Archivo
JLGR/MAB





Meteppec, Edo. de México, 24/enero/2022
DEPI-395-028/2022

C. Alejandra Valdez Zarco
CANDIDATO AL GRADO DE DOCTOR
EN CIENCIAS AMBIENTALES
PRESENTE

De acuerdo con el Reglamento de Titulación del Sistema Nacional de Educación Superior Tecnológica dependiente de la Subsecretaría de Educación Superior de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora realizó con respecto a su trabajo de Tesis titulado **"OBTENCIÓN DE PIGMENTOS DE ESTRUCTURA ANTOCIANÍNICA A PARTIR DEL CULTIVO CONVENCIONAL Y ORGÁNICO DE *Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef."**, la División de Estudios de Posgrado e Investigación concede autorización para que proceda a la impresión del mismo.

Sin más por el momento, quedo de usted.

ATENTAMENTE

"Excelencia en educación tecnológica"
"Educación, integridad y cambio"

JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN



ccp. Archivo
JLGR/IMAB



Av. Tecnológico S/N, Col. Agrícola Bellavista, C.P.52149, Metepec, Edo. de México. Tels. Dirección 722 208 72 05,
Subd. Académica 722 208 7207, Subd. de Planeación 208 7206, Subd. Administrativa 722 208 7208,
Conmut. 722 208 72 00, e-mail: info@toluca.tecnm.mx, tecnm.mx | toluca.tecnm.mx



Ricardo
2022 Flores
Año de Magón
DICIEMBRE DE 1876 - DICIEMBRE DE 1902

*A mi padre amado **Luis** que, hasta su última exhalación, me brindó claridad y sabiduría de vida, y que junto a mi madre **Alicia**, me enseñaron que el amor, la dedicación y la constancia son la clave para lograr cualquier objetivo.*

*A mis hermanos **Luis Alberto**, **Ana Alicia**, **Emiliano** y **Paulina**, por ser parte de los momentos importantes de mi vida.*

*A mis amados hijos **Jorge Ivan** y **Julieta Alejandra** que son un gran impulsor para trabajar conscientemente a favor del medio ambiente para dejar un mundo mejor del que nos fue entregado.*

*A mi amado compañero **Iván** que, con su actitud emprendedora, determinante y temeraria me ha enseñado que, lo que la mente diseña con una visión clara, las manos lo construyen con ahínco.*

*A la **existencia** que, nos permite experimentar la vida a través de los seres vivos que nos sostienen y tantos recursos naturales que nos proporciona.*

*A la **ciencia** y la **tecnología**, como herramientas que nos ayudan a comprender la creación en su complejo proceso evolutivo.*

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Tecnológico de Toluca, por ser casa de estudio en toda mi formación profesional, brindándome los elementos materiales y humanos requeridos para lograr completar con éxito cada grado de mi desarrollo, proyectándome a un crecimiento integral en el ámbito laboral, dado el compromiso de la institución para ofrecer una educación de calidad. Así mismo, al LIIA, por proporcionar sus instalaciones y equipos para realizar las pruebas experimentales de pigmentación del presente trabajo.

Al CONACYT, por la beca otorgada número 568214, para la realización de mis estudios de doctorado y al COMECYT por la beca de titulación EDOMEX asignada número 19BTIID0055.

A la empresa Sensient Colors S.A. de C.V., por conceder el acceso al área de pigmentos naturales para llevar a cabo las extracciones de pigmento con un método propio de la compañía.

Al ICAMEX, por facilitar el uso del Campo Experimental del Centro de Investigación y Transferencia de Tecnología (CITT) Rancho “El Islote” y recursos para realizar los ensayos experimentales del cultivo de la zanahoria morada.

A la directora y co-directora de tesis, Dra. Claudia Rosario Muro Urista y Dra. María del Carmen Díaz Nava, respectivamente, por su dirección, apoyo, paciencia y comprensión para dirigir este trabajo de investigación. A la Dra. María Dolores Mariezcurrena Berasain de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la UAEM, al Dr. Jesús Gaudencio Aquino Martínez de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la UAEM e ICAMEX, a los investigadores Dra. Yolanda Alvarado Pérez y al Dr. Omar Alberto Hernández Aguirre del Instituto Tecnológico de Toluca, que conformaron el comité revisor en diferentes etapas de evaluación, por el involucramiento mostrado y aportaciones que enriquecieron este proceso.

RESUMEN

Entre los recursos de pigmentos naturales se encuentra la zanahoria morada (*Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.), cuyo contenido de antocianinas ha llamado fuertemente la atención para la extracción de su pigmento, debido a su poder antioxidante inherente y aplicación en diferentes áreas. Actualmente, es sabido que, en los continentes americano, asiático y europeo, la zanahoria morada es una poderosa materia prima para la obtención de antocianinas con gran aplicación y aceptación en el sector alimenticio, farmacéutico y cosmético. En consecuencia, el renacimiento del cultivo de esta raíz se encuentra en auge, incluyendo países como son Estados Unidos de América, Canadá, Perú, España, Italia y Turquía.

En México, dentro del sector industrial de pigmentos naturales, ya es conocido el potencial que la zanahoria morada tiene como fuente de obtención de antocianinas, por lo que ya se estudia su introducción en el país. Sin embargo, no existen antecedentes documentados de su cultivo en este país, ni referencia de un paquete tecnológico que indique las condiciones requeridas para el mismo fin, variedades de zanahoria que pueden cultivarse, unidades de color y contenido de antocianinas que este producto cosechado, puede presentar.

Por tanto, dadas las diferentes condiciones climáticas y características de suelo que presenta este país en comparación con Afganistán y Holanda (lugares de procedencia de la zanahoria morada), su cultivo requiere de estudio, a fin de obtener datos que pudieran ser útiles para implementar el cultivo de esta hortaliza de gran valor.

Bajo el planteamiento anterior, este trabajo tuvo como objetivo evaluar el cultivo de zanahoria morada en el Estado de México, y su uso como fuente de obtención de pigmentos de estructura antocianínica, con el propósito de obtener datos que pueden ser útiles a una empresa asentada en Lerma, Estado de México, para analizar la producción y comercialización de estos pigmentos.

Para llevar a cabo el estudio del cultivo de la zanahoria morada, se consideró la siembra de semilla de esta raíz bajo condiciones climáticas del Estado de México en el ciclo agrícola otoño-invierno-primavera 2017-2018, y mediante dos tipos de tratamiento de fertilización, uno químico y otro orgánico; cada uno con tres niveles de concentración o cantidad de nutrientes.

El cultivo se implementó en dos parcelas pertenecientes al Instituto de Capacitación Agropecuaria, Agrícola y Forestal del Estado de México (ICAMEX), localizadas en el centro de Investigación y Transferencia de Tecnología Rancho “El Islote” en Villa Guerrero. El cultivo de fertilización química se realizó a cielo abierto y el orgánico en un invernadero de baja tecnología.

Cada uno de los cultivos se evaluó bajo un diseño experimental de bloques al azar. En la fertilización química, se utilizó un diseño tipo factorial, con 2 factores, 5 tratamientos y 5 repeticiones. Como primer factor se consideraron dos variedades de semilla de zanahoria, *Deep Purple* y *Purple Snax*. El segundo factor fue referido a la concentración de nutrientes de origen químico mediante la adición de varios fertilizantes comerciales para proporcionar Nitrógeno (N^{-3}), Fósforo (P^{-3}), Calcio (Ca^{2+}), Magnesio (Mg^{2+}), Boro (B^{-1}) y Potasio (K^{1+}). Las dosis de N^{-3} , P^{-3} , Ca^{2+} y Mg^{2+} , se utilizaron en cantidades fijas; mientras que las dosis de B^{-1} y K^{1+} se variaron en 4 niveles o tratamientos, incluyendo un testigo al que no se aplicó ningún tratamiento de fertilización, conformando los 5 tratamientos mencionados.

En el cultivo orgánico, se estableció igualmente un diseño de bloques completos al azar con un factor, 5 tratamientos y 5 repeticiones, los cuales se aplicaron a la variedad *Deep purple*. En los tratamientos de fertilización se utilizó humus de lombriz en tres dosis diferentes, utilizando como blanco un cultivo con fertilización química y un testigo al que no se aplicó ningún tratamiento, dando como resultado los 5 tratamientos indicados.

Los datos obtenidos de cada diseño experimental se sometieron a un análisis de varianza (ANAVA), empleando el paquete estadístico InfoStat para determinar la existencia de diferencias estadísticas entre los tratamientos aplicados. La comparación de promedios de las variables se hizo mediante las pruebas estadísticas de comparaciones múltiples, LSD de Fisher al 5% y Duncan al 10% de probabilidad de error. Utilizando las pruebas LSD de Fisher y Duncan para el análisis de los resultados obtenidos del tratamiento químico y Duncan para el orgánico.

La respuesta de la variación de los factores utilizados para el estudio del cultivo, se midió en el efecto del rendimiento de la cosecha del producto; en datos agronómicos como: peso, longitud y diámetro; así como en el contenido de antocianinas en el extracto de los productos de zanahoria morada.

Como resultado del cultivo de la raíz en estudio considerando la fertilización química, se encontró que todas las dosis de fertilización (tratamientos) tuvieron un efecto positivo en comparación con el testigo.

Ambas variedades de semilla proporcionaron datos semejantes en relación a los aspectos agronómicos independientemente del tratamiento. Sin embargo, la variedad *Deep Purple* proporcionó la mayor cantidad de antocianinas y un alto rendimiento biológico.

En el cultivo orgánico, se determinó que el mayor rendimiento de cosecha de zanahoria y los valores más altos en los aspectos agronómicos, se obtuvieron a partir del tratamiento con humus de lombriz en dosis bajas, superando al resto de los tratamientos y al testigo. Entre los tratamientos con humus de lombriz, químico y el testigo, no se encontró diferencia significativa en el contenido de antocianinas.

ABSTRACT

One source of natural pigments is the purple carrot (*Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.), which anthocyanin content has strongly gained attention for pigment extraction due to its inherent antioxidant power and application in different areas. Presently, it is known that, in the American, Asian, and European continents, the purple carrot is a powerful raw material for anthocyanins obtention with wide application and acceptance in the food, pharmaceutical and cosmetic sectors. Consequently, the resurgence of this root cultivation is rising in countries such as the United States of America, Canada, Peru, Spain, Italy and Turkey.

In Mexico, within the industrial sector of natural pigments, the potential that the purple carrot has as a source of anthocyanins is known, so its introduction to the country is already studied. However, there is no documented history of its cultivation in this region, nor reference to a technological kit that may indicate the conditions required for such a purpose, or carrot varieties that can be grown, or color units and anthocyanin content that this product harvested in Mexico may present. Thus, given the difference in climatic conditions and soil characteristics that this country presents compared to Afghanistan and Holland (purple carrot native places), study is required to obtain data that could be useful to implement the cultivation of this vegetable of great value.

Under the previous approach, this work purposed was to evaluate the purple carrot cultivation in the State of Mexico, and its application as a source of pigments with anthocyaninic structure, aiming to obtain useful data for a company based in Lerma, State of Mexico, to investigate the production and commercialization of these pigments.

During the study of purple carrot cultivation, seed sowing of this root was considered under the State of Mexico's climatic conditions in the agricultural cycle autumn-winter-spring 2017-2018, and two types of fertilization treatment, one chemical and one organic, each with three levels of nutrient concentration.

The crop was implemented in two plots belonging to the Agricultural, Agricultural and Forestry Training Institute of the State of Mexico (ICAMEX), located in the Research and Technology Transfer Center Rancho "El Islote" in Villa Guerrero. Cultivation of chemical fertilization was carried out in open sky and the organic in a low-tech greenhouse.

Each crop was evaluated under a randomized block design statistical experiment. In chemical fertilization, a factorial design consisting of 2 factors, 5 treatments and 5 repetitions was applied. The first factor considered two varieties of carrot seed: *Deep Purple* and *Purple Snax*. The second factor was referred to the nutrient concentration of chemical origin by addition of various commercial fertilizers to provide Nitrogen (N^{-3}), Phosphorus (P^{-3}), Calcium (Ca^{2+}), Magnesium (Mg^{2+}), Boron (B^{-1}) and Potassium (K^{1+}). Fixed doses of N^{-3} , P^{-3} , Ca^{2+} and Mg^{2+} , were used; while a variation of doses of B^{-1} and K^{1+} were applied in 4 levels or treatments, including a control to which no fertilization treatment was applied, making up the 5 treatments mentioned above.

In organic farming, a randomized block design statistical experiment consisting of 5 treatments and 5 repetitions was set for the *Deep purple* variety. The fertilization treatment included worm humus in three different doses, using as reference a culture with chemical fertilization and a control culture to which no treatment was applied.

The data obtained from each experimental design was subjected to analysis of variance (ANAVA), using the InfoStat statistical package to determine the existence of statistical differences between the treatments applied. Comparison of means was made using multiple comparisons statistical tests such as Fisher's LSD at 5% and Duncan at 10% probability of error. Fisher and Duncan's LSD tests were used for the analysis of results obtained from the chemical treatment and Duncan for the organic.

The effect of factor variation used in the study of the crops, was measured in the harvest yield gathering agronomic data such as: weight, length and diameter, and the anthocyanins content in the extract of purple carrot products.

As a result, for the root cultivation under chemical fertilization it was found that all fertilization doses (treatments) had a positive effect compared to the control.

Both seed varieties provided similar data in relation to agronomic aspects regardless of treatment. However, the *Deep Purple* variety with the treatment provided the highest amount of anthocyanins and a high yield.

In organic cultivation, it was determined that the highest carrot harvest yield and the highest values in agronomic aspects were obtained from the treatment with worm humus in low doses, surpassing the rest of the treatments and the control.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	v
ABSTRACT	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE TABLAS	xvii
INTRODUCCIÓN	- 1 -
1. FUNDAMENTOS	- 4 -
1.1 Pigmentos naturales	- 6 -
1.1.1 Pigmentos de estructura antocianínica	- 9 -
1.1.2 Legislación de los colorantes y pigmentos naturales	- 16 -
1.3 Fuentes vegetales de obtención de pigmentos de estructura antocianínica	- 19 -
1.4 Generalidades de la zanahoria y su uso como fuente de antocianinas	- 21 -
1.4.1 Datos botánicos de la zanahoria	- 26 -
1.4.2 Condiciones edafoclimáticas para el cultivo de zanahoria	- 30 -
1.4.3 Características de la zanahoria morada. <i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>sativus</i> var. <i>atrorubens</i> Alef.	- 34 -
1.5 Técnicas para cuantificar e identificar antocianinas de pigmentos naturales-	39 -
2. MÉTODO	- 41 -
2.1 Cultivo de <i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>sativus</i> var. <i>atrorubens</i> Alef.	- 42 -
2.1.1 Cultivo de zanahoria morada con manejo de fertilización química	- 45 -
2.1.2 Cultivo de zanahoria morada con manejo de fertilización orgánica	- 55 -
2.1.3 Recolección de la zanahoria morada y obtención de datos de estudio .-	61 -

2.2 Obtención del extracto de zanahoria morada y determinación del contenido de antocianinas.....	- 64 -
2.3 Análisis de degradabilidad del pigmento antocianínico por efecto de la temperatura	- 68 -
2.4 Análisis estadístico.....	- 68 -
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	- 70 -
3.1 Cultivo de <i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>sativus</i> var. <i>atrorubens</i> Alef. con manejo de fertilización química	- 70 -
3.1.1 Altura de follaje, longitud y diámetro de raíz.....	- 71 -
3.1.2 Peso fresco de planta y sus componentes	- 75 -
3.1.3 Rendimiento y contenido de antocianinas en fresco	- 78 -
3.1.4 Datos de pigmentación de los extractos obtenidos del cultivo con manejo químico de <i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>sativus</i> var. <i>atrorubens</i> Alef.	- 84 -
3.2 Cultivo de <i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>Sativus</i> con manejo orgánico.....	- 85 -
3.2.1 Altura de follaje, longitud y diámetro de raíz.....	- 86 -
3.2.2 Peso fresco de planta y sus componentes	- 88 -
3.2.3 Rendimiento	- 89 -
3.2.4 Datos de pigmentación del extracto obtenido del cultivo con manejo orgánico de <i>Daucus carota</i> L ssp. <i>sativus</i> var. <i>atrorubens</i> Alef.....	- 90 -
3.3 Degradabilidad de las antocianinas por temperatura de almacenamiento...	- 92 -
3.4 Pruebas de aplicación del pigmento en alimentos	- 93 -
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	- 97 -
5. REFERENCIAS.....	- 99 -

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.1	Estructuras químicas de antocianinas básicas.....	- 9 -
Figura 1.2	Estructura generalizada y sustituyentes para los pigmentos de antocianina.....	- 10-
Figura 1.3	Transformaciones estructurales y de color de las antocianinas en función del pH.....	- 11 -
Figura 1.4	Coloración de la zanahoria de acuerdo a sus variedades.....	- 22 -
Figura 1.5	Análisis nutrimental de una variedad de zanahoria morada (híbrido DP) cultivada en Vilcún, Chile (Tomada de Vergara <i>et al.</i> , 2019).....	- 25 -
Figura 1.6	Fenología del cultivo bianual de zanahoria (Tomado de Vergara <i>et al.</i> , 2019).....	- 27 -
Figura 1.7	Partes que conforman la raíz carnosa de la zanahoria.....	- 29 -
Figura 1.8	Morfología de algunas variedades de zanahoria naranja.....	- 30 -
Figura 1.9	Ejemplos de variedades de zanahoria morada disponibles en el mercado. (Adaptado de Gras <i>et al.</i> , 2015).....	- 36 -
Figura 1.10	Zanahoria morada cultivada en Cuevas Bajas, España (Adaptado de https://www.eldiario.es/andalucia/pasaporte/mejor-secreto-cuevas-ajas_1_3714116).....	- 38 -
Figura 2.1	Diagrama general del método.....	- 41 -
Figura 2.2	Diagrama de actividades efectuadas desde el análisis del suelo hasta el análisis estadístico de resultados.....	- 43 -
Figura 2.3	Preparación del terreno y conformación de las camas de siembra...	- 49 -
Figura 2.4	Pesada y mezcla de los fertilizantes por tratamiento usando una balanza analítica para mayor precisión.....	- 49 -

Figura 2.5	(a) Trazo del experimento y distribución del fertilizante químico por unidad experimental y (b) aplicación de los tratamientos....	- 50 -
Figura 2.6	(a) Tapado del fertilizante aplicado por unidad experimental y (b) Siembra de las variedades de zanahoria morada, <i>Deep Purple</i> y <i>Purple Snax</i>	- 50 -
Figura 2.7	(a) Cubierta superficial de la semilla sembrada y (b) aplicación de riego ligero sobre la superficie sembrada.....	- 51 -
Figura 2.8	Segunda aplicación de los tratamientos de fertilización química: (a) pesada de los fertilizantes químicos, (b) surcado manual entre líneas de siembra, (c) aplicación del fertilizante y (d) tapado manual del fertilizante.....	- 51 -
Figura 2.9	Deshierbe manual de la parcela experimental: (a), (b) y (c) durante las primeras etapas de desarrollo de los cultivos y (d) al finalizar el ciclo vegetativo.....	- 52 -
Figura 2.10	Aplicación de plaguicidas químicos y botánicos para el control de plagas y enfermedades de la zanahoria morada: (a) en las primeras semanas del cultivo y (b) en el punto medio del desarrollo de las plantas.....	- 52 -
Figura 2.11	Muestreo: (a) Extracción de las zanahorias moradas de las líneas centrales de siembra de cada unidad experimental y (b) eliminación del exceso de tierra incrustada en las raíces.....	- 54 -
Figura 2.12	Toma de datos para la determinación de variables agronómicas: a) medición del diámetro de la raíz y b) medición del largo del follaje.....	- 55 -
Figura 2.13	Establecimiento del experimento: (a) preparación del terreno utilizando un rotocultivador, (b) conformación manual de las camas de plantación, (c) aplicación de yeso agrícola y (d) aplicación de los tratamientos orgánicos.....	- 57 -

Figura 2.14	Establecimiento del experimento: (a) aplicación de productos biológicos, (b) tapado manual de las enmiendas, (c) siembra de zanahoria morada <i>Deep Purple</i> y (d) aplicación de riego ligero por goteo.....	- 58 -
Figura 2.15	Deshierbe manual del cultivo: (a) durante la etapa de emergencia de los dos cotiledones de las plantas, (b) y (c) al presentarse las primeras hojas verdaderas y (d) hacia la mitad del ciclo vegetativo.....	- 59 -
Figura 2.16	Aplicación de plaguicidas para el control de plagas y prevención de enfermedades del follaje de <i>Deep Purple</i> bajo manejo orgánico: (a) a las 10 sds y (b) a las 15 sds.....	- 61 -
Figura 2.17	Toma de datos agronómicos por planta y tratamiento de estudio: (a) muestras extraídas, (b) medición del peso de la raíz, (c) medición del peso del follaje, (d) medición de la longitud de la raíz, (e) medición diámetro de la raíz y (f) medición de la longitud del follaje.....	- 63 -
Figura 2.18	Zanahoria morada <i>Deep Purple</i> : a) muestra obtenida en campo y b) zanahoria lavada y desinfectada.....	- 64 -
Figura 2.19	Preparación de la muestra: (a) pesada de la muestra de zanahoria morada y (b) molienda de la masa pesada hasta obtener una trituration fina.....	- 66 -
Figura 2.20	Proceso de extracción del pigmento de la zanahoria morada: (a) primera extracción del pigmento y reposo del primer macerado y (b) segunda extracción de las misma muestra y separación del sobrenadante después del tiempo de maceración.....	- 67 -
Figura 2.21	Clarificación de los extractos de zanahoria morada mediante filtración a vacío con tierra <i>Diatomea</i>	- 67 -

Figura 2.22	Productos finales extractivos. (a) pesada de la mezcla de los extractos de pigmento y (b) residuo de bagazo de las zanahorias moradas <i>Deep Purple</i> y <i>Purple Snax</i> en proceso de secado.....	- 68 -
Figura 3.1	Porcentaje de antocianinas calculado por cada unidad experimental al momento de la cosecha y 6 meses después, del cultivo con manejo químico.....	- 92 -
Figura 3.2	Porcentaje de antocianinas calculado por cada unidad experimental al momento de la cosecha y 6 meses después, del cultivo con manejo orgánico.....	- 93 -
Figura 3.3	Aplicación del pigmento de zanahoria morada en una mezcla de panificación para obtener dos tortillas de color: a) morado y b) rojo.....	- 94 -
Figura 3.4	Aplicación del pigmento de zanahoria morada en una composición de perlas de alginato suspendidas en una disolución de goma xantana en color a) rojo y b) rojo, rosa y azul.....	- 95 -

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1.1	Compendio de fuentes vegetales y pigmentos extraídos por diferentes autores..... - 19 -
Tabla 2.1	Croquis de distribución de los tratamientos en la parcela experimental..... - 46 -
Tabla 2.2	Fertilizantes comerciales utilizados y su dosificación (Kg) para cada tratamiento (1-5), en el cultivo convencional de zanahoria <i>Deep Purple</i> y <i>Purple Snax</i> - 47 -
Tabla 2.3	Factores, tratamientos y combinaciones utilizadas para el diseño experimental del cultivo con manejo convencional de zanahoria morada..... - 48 -
Tabla 2.4	Productos químicos utilizados para la prevención y control de plagas y enfermedades para el cultivo de semillas <i>Deep Purple</i> y <i>Purple Snax</i> - 53 -
Tabla 2.5	Croquis de distribución de los tratamientos en la parcela experimental..... - 56 -
Tabla 2.6	Productos sugeridos para la prevención y control de plagas y enfermedades de zanahoria morada <i>Deep Purple</i> permitidos por la agricultura orgánica..... - 60 -
Tabla 3.1	Medias estadísticas de altura de planta, longitud de raíz y diámetro de raíz por variedad de zanahoria..... - 71 -
Tabla 3.2	Medias estadísticas de altura de planta, longitud de raíz y diámetro de raíz debido a la dosis de fertilización química..... - 72 -
Tabla 3.3	Medias estadísticas de altura de planta, longitud y diámetro de raíz debido a la interacción variedad x dosis de fertilización química..... - 73 -

Tabla 3.4	Medias estadísticas de peso fresco de raíz, follaje y planta por variedad de zanahoria morada.....	- 76 -
Tabla 3.5	Medias estadísticas de peso fresco de raíz, peso fresco de follaje y peso fresco de planta debido a la dosis de fertilización química.....	- 77 -
Tabla 3.6	Medias estadísticas de peso fresco de raíz, peso fresco de follaje y peso fresco de planta debido a la interacción variedad x dosis de fertilización química.....	- 78 -
Tabla 3.7	Medias estadísticas de rendimiento en fresco de raíz y contenido de antocianinas por variedad de zanahoria morada.....	- 79 -
Tabla 3.8	Medias estadísticas de rendimiento en fresco de raíz y contenido de antocianinas en raíces por dosis de fertilización química.....	- 80 -
Tabla 3.9	Medias estadísticas de rendimiento en fresco de raíces y contenido de antocianinas debido a la interacción variedad x dosis de fertilización química.....	- 82 -
Tabla 3.10	Medias estadísticas del porcentaje de antocianinas debido a la interacción variedad x dosis de fertilización química.....	- 87 -
Tabla 3.11	Medias estadísticas de altura de planta, longitud de raíz, diámetro de raíz y número de hojas por dosis de fertilización orgánica.....	- 83 -
Tabla 3.12	Medias estadísticas de peso en fresco de raíz, follaje y planta de por dosis de fertilización orgánica.....	- 88 -
Tabla 3.13	Medias estadísticas de rendimiento de raíz en fresco por dosis de fertilización orgánica.....	- 90 -
Tabla 3.14	Porcentaje de antocianinas de los extractos de zanahoria morada <i>Deep Purple</i> proveniente del cultivo con manejo orgánico.....	- 91 -

INTRODUCCIÓN

Investigaciones científicas de los últimos años, realizadas principalmente en Europa y Estados Unidos de América, han mostrado que la ingesta continua de colorantes sintéticos causa efectos adversos sobre la salud humana por lo que, actualmente se busca incrementar la producción de pigmentos naturales para sustituir a los colorantes sintéticos comerciales, llevando al mercado mundial hacia una tendencia acelerada por el uso de colorantes de origen natural, principalmente porque en su mayoría presentan actividad biológica, la cual puede ser aprovechada en la preparación de alimentos, fármacos y cosméticos.

A la fecha se han explorado pocas fuentes de pigmentos naturales, particularmente, la zanahoria morada, *Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef., comenzó a ser investigada hace dos décadas en Europa y Asia debido a su alto contenido de antocianinas y su gran actividad antioxidante y, en años recientes se ha extendido su estudio en África y América poniendo atención en su actividad biológica como alimento funcional, aplicación nutracéutica, aplicación textil y en algunos aspectos genéticos ligados a las estructuras moleculares de las antocianinas. Bajo esta primicia una empresa productora de colorantes establecida en Lerma, Estado de México, se encuentra interesada en utilizar esta raíz carnosa para la obtención de pigmentos antocianínicos con aplicaciones alimenticias principalmente, por lo tanto, resulta importante lograr la introducción y adaptación de este cultivo en el Estado de México, ya que no se tiene conocimiento de su implementación en este país.

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar condiciones de fertilización química y orgánica en el cultivo de *Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef., en el Estado de México para obtener pigmentos de estructura antocianínica.

Los objetivos específicos enmarcan la implementación y el análisis del cultivo de zanahoria morada bajo condiciones climáticas del Estado de México y aplicando dos

tipos de manejo de fertilización, química y orgánica. El primero, establecido a cielo abierto utilizando dos variedades de semillas y considerando la variación de la concentración de boro (B^{-1}) y potasio (K^{1+}). El segundo, establecido en invernadero aplicando diferentes dosis de humus de lombriz.

En ambos casos, los ensayos se realizaron para medir el efecto de tipo de manejo de fertilización y dosis, sobre el rendimiento en campo del producto obtenido, así como en los aspectos agronómicos y contenido de antocianinas en el vegetal.

Los objetivos planteados permitieron sustentar las siguientes hipótesis: 1) En el cultivo de *Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef. mediante el manejo de fertilización química, los factores, variedad de semilla y la concentración de B^{-1} y K^{+1} , afectan el rendimiento en campo, las características agronómicas y la cantidad de antocianinas de los productos obtenidos. 2) En el cultivo de *Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef. la variación de diferentes cantidades de humus de lombriz en el manejo de fertilización orgánica, afecta el rendimiento en campo, características agronómicas y cantidad de antocianinas en los productos obtenidos. 3) Los cultivos con manejo de fertilización química y orgánica de *Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef. proporcionarán productos con diferentes características agronómicas y cantidad de antocianinas.

En la primera parte de esta investigación se encuentra la fundamentación teórica a cerca de los pigmentos naturales con énfasis en las antocianinas. Se incluye también lo que se refiere a la zanahoria y lo que se conoce sobre la zanahoria morada, además se muestra la técnica utilizada para la caracterización e identificación de pigmentos, a fin de exponer los conceptos que enmarcan la investigación.

En el segundo apartado de este trabajo se describe el método a través del cual se realizó el cultivo de dos variedades de zanahoria morada, que incluyen los pasos involucrados para el establecimiento de los cultivos, las cuales fueron sembradas bajo

las condiciones edafoclimáticas de una zona agrícola de Villa Guerrero, en el Estado de México. También, se encuentra la descripción de los métodos ocupados para la extracción del colorante de las raíces carnosas y la cuantificación de antocianinas.

Finalmente, en el último apartado del presente documento se muestran los resultados obtenidos y discusión de los mismos, así como las conclusiones derivadas de éstos.

1. FUNDAMENTOS

Con la síntesis del primer colorante sintético, la anilina, en 1905, los colorantes sintéticos se volvieron imprescindibles para dar mejor apariencia y mayor poder comercial a los productos de consumo en general, los cuales ahora son utilizados sin limitaciones en distintos rubros, como las industrias alimenticia, farmacéutica, cosmética, de pintura, textil, papelera, polimérica, entre otras, sin embargo, debido a que una gran cantidad de ellos contienen en su estructura anillos aromáticos que son de difícil degradación o bien metales pesados, representa un riesgo para la salud y para el medio ambiente (Arango y Garcés, 2009; Yu *et al.*, 2014).

En cuanto a la salud, varias investigaciones indican que su consumo promueve desordenes nerviosos y de atención, además, una exposición prolongada puede derivar en problemas carcinógenos (Gupta *et al.*, 2012; Noroozi y Sorial, 2013). Particularmente, se ha mostrado que los colorantes rojo No. 2 y No. 40 están relacionados con la hiperactividad de niños de edad escolar, incluso, se les relaciona con problemas neuronales agudos. Debido a estas investigaciones, los colorantes mencionados, ya han sido prohibidos en Austria, Japón, Noruega y Suecia, desde hace bastante tiempo. Mientras que, en Estados Unidos de América, el rojo No. 40 aún se encuentra en escrutinio (McCann *et al.*, 2007), y en México, ambos continúan en uso.

En lo que se refiere a los daños que ocasionan al ambiente, es bien sabido que su vertido en cuerpos de agua, aún en bajas concentraciones causa grandes alteraciones sobre la actividad biológica de las especies que habitan en esos ecosistemas porque restringe la penetración de la luz, coadyuvando en el proceso de eutrofización y muerte de especies; además, su presencia en agua residual representa un problema grave de contaminación por su resistencia a la biodegradación, particularmente, aquellos clasificados como azoicos, al momento de tratarse en plantas convencionales. Sin mencionar que su absorción en suelo puede disminuir la fertilidad del mismo (Nozoori y Sorial, 2013). Tales antecedentes son indicios suficientes para concientizarnos sobre

la disminución del uso y consumo de colorantes sintéticos y favorecer el consumo de colorantes o pigmentos naturales (Carmona, 2013).

El mercado mundial de colorantes naturales en la industria alimentaria se valoró en 1320 millones en 2015, y se espera que continúe creciendo más del 7% anual entre 2017 y 2022 (Global Natural Food Colors Market, 2018). Este crecimiento se debe, en parte, a la mayor conciencia de los peligros ambientales, los posibles beneficios para la salud asociados con el consumo de pigmentos naturales, como se ha mencionado anteriormente, y el creciente interés de los consumidores en soluciones "naturales" (Cooperstone y Schwartz, 2016). Para satisfacer la demanda de los consumidores, las principales empresas de alimentos y bebidas se están moviendo hacia reemplazar los colorantes sintéticos con pigmentos naturales de origen vegetal en sus productos. Sin embargo, su uso representa un reto debido a las interacciones con los ingredientes de los alimentos, la débil fuerza tintórea de algunos, menor estabilidad y los desafíos de igualar los tonos deseados (Wrolstad y Culver, 2012). Además, la producción de pigmentos naturales es más costoso y requiere una logística eficiente. De hecho, mientras que el colorante sintético es un proceso industrial más estandarizado, la producción de pigmentos naturales implica múltiples pasos, desde el desarrollo y producción de la materia prima, hasta la extracción, teñido y envasado, que son más difícil de estandarizar. Las comparaciones entre los precios de los colorantes sintéticos y naturales rara vez se reporta en la literatura científica, pero basado en algunos expertos de la industria de colorantes alimentarios, el costo de los pigmentos naturales es aproximadamente cinco veces más alta que los colorantes sintéticos en promedio, y en algunos casos como en productos de confitería puede ser hasta 20 veces más caro que el sintético. A pesar de estos desafíos, la demanda de los consumidores por productos que tengan una "etiqueta limpia" aumenta, lo que significa que están libres de aditivos artificiales, sigue creciendo y representa el principal factor impulsor de este cambio (Iorizzo *et al.*, 2020).

Es así que, diferentes industrias de pigmentos han buscado la sustitución de los colorantes sintéticos por naturales debido a la creciente demanda en el mercado

actual, conduciendo a la búsqueda de nuevas fuentes de obtención de pigmentos que den como resultado altos rendimientos y coloración.

En este sentido, con anterioridad, en Europa y Asia se ha probado, y ahora también en América, que la zanahoria morada constituye una poderosa fuente de obtención de pigmentos de estructura antocianínica con grandes rendimientos. Debido a que su constitución carnosa es aprovechada en su totalidad para la obtención de pigmentos que son aplicados en diferentes áreas, principalmente en la industria alimentaria (Rodríguez-Amaya, 2015; Vergara *et al.*, 2019). Sin embargo, dado su origen mediterráneo y el desconocimiento de la existencia de ésta coloración en zanahoria como hortaliza por la gran mayoría de la población americana, en México no se cuenta con registros sobre su producción a nivel comercial entre la comunidad agrícola del país; por lo que, la industria de pigmentos en éste, empiezan a interesarse por la posibilidad de cultivarla, entre otros diferentes vegetales, con el propósito de obtener una amplia gama de pigmentos naturales que incluyen a los que contienen estructura antocianínica, con el objetivo de satisfacer la demanda de las industrias del sector de las actividades económicas secundarias en esta competencia.

1.1 Pigmentos naturales

Los pigmentos naturales carecen de sustancias dañinas, como biocidas o plastificantes, y pueden ser de tipo orgánico e inorgánico. Estos últimos están formados por minerales de composición definida como son: silicatos, carbonatos y sales de diferentes metales, que se obtienen de tierras y fósiles. Mientras que los orgánicos son obtenidos de diversas fuentes como vegetales, insectos, bacterias, algas y hongos (Malik *et al.*, 2012). Dentro de las fuentes de obtención del grupo de los vegetales, se incluyen: semillas, cortezas, raíces, flores, frutas, vegetales de hoja y hortalizas, que en muchas ocasiones son alimentos consumidos habitualmente por

los humanos, pero también por algunos animales (Shukla y Vankar, 2013; Iorizzo *et al.*, 2020).

Se ha demostrado que las frutas y verduras poseen ciertos beneficios para la salud, características por ser fuentes prometedoras de polifenoles. Los componentes de estas plantas tienen una capacidad para aliviar el estrés oxidativo y la inflamación, mejorar el perfil de lípidos y aumentar la glucosa en el metabolismo. Además, los polifenoles, como metabolitos secundarios de plantas, proporcionan una protección contra la radiación ultravioleta y normalmente aportan amargura, astringencia, color, sabor, olor y estabilidad oxidativa a una amplia gama de alimentos. Los polifenoles actúan contra una serie de enfermedades y trastornos inducidos por especies reactivas del oxígeno (ROS) como cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes, neurodegeneración, artritis reumatoide y degeneración macular relacionada con la edad (Akhtar *et al.*, 2017). Estudios recientes de Zielinska *et al.* (2015) muestran la posibilidad de aplicar extracto de col roja como suplemento dietético en la terapia de las enfermedades inflamatorias intestinal, que además de las antocianinas aciladas, también los compuestos fenólicos: glucosinolatos, carotenoides y tocoferoles son responsables de sus beneficios para la salud. Muchos autores han señalado que, debido a su coloración intensa y alto contenido de antocianinas (40-188 mg C y 3-glcE /100 g FW), la col lombarda es un excelente vegetal apto para la obtención de pigmentos naturales para productos alimenticios (Mizgier *et al.*, 2016).

El color de los alimentos, se debe principalmente a cuatro grupos de pigmentos, los cuales son: verde por las clorofilas, amarillo-naranja-rojo por los carotenoides, rojo por las betalainas y azul-rojo-púrpura por las antocianinas (Ersus, 2007). Estos compuestos han tenido considerable atención en los últimos años por sus propiedades colorantes y por la promoción de su potencial efecto beneficioso sobre la salud. La literatura sobre el estudio de los carotenoides es voluminosa, pero en los últimos años las investigaciones se han extendido hacia el resto de grupos de pigmentos, centrándose en temas como: composición y factores que los influyen, búsqueda de

riqueza de plantas y fuentes microbianas o el aumento de contenido de pigmento, la extracción, caracterización, evaluación y mejora de su estabilidad y biodisponibilidad, efectos de procesamiento y efectos sobre la salud (Kamiloglu *et al.*, 2015; Rodríguez-Amaya, 2015; Oleinits *et al.*, 2020). Los vegetales rojos, además de las antocianinas, también contienen otros compuestos fenólicos que están presentes en, significativamente, cantidades más pequeñas que en las frutas, pero durante la preparación de los pigmentos rojos, después de la eliminación de azúcares, ácidos carboxílicos alifáticos y otros componentes, aumentan su concentración en los extractos. Las presencias de estos compuestos en los extractos de antocianinas pueden influir favorablemente en el color (debido al efecto intermolecular de co-pigmentación) y potenciar su valor biológico (Mizgier *et al.*, 2016).

Por otro lado, los pigmentos naturales son reconocidos como aditivos alimenticios y cosméticos dentro de diferentes normativas, que se degradan y asimilan rápidamente por los seres vivos y por la naturaleza en pocas horas, por lo cual no requieren de tratamientos complicados y su vertido puede resultar inocuo para el ambiente. Sin embargo, también existen desventajas inherentes a ellos que pueden limitar su aplicación industrial como son: su pronta degradabilidad que impide la conservación del color en el producto, su bajo poder tintóreo, inestabilidad por cambios fisicoquímicos, bajo rendimiento y la extracción convencional con disolventes que pueden causar algunos efectos adversos sobre la salud de los consumidores. Por tanto, investigaciones recientes se han centrado en idear estrategias que ayuden a superar estas limitaciones (Parra, 2011; Chung *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2017).

Químicamente, los pigmentos naturales, se clasifican en varios grupos como son: clorofilas, flavonoides (dentro de éstos las antocianinas), carotenoides, tipo quinona, derivados del indol, derivados de delphinidina, derivados de dihidropilano, betalainas, xantonas, tanino-porogallo y catecol. Las antocianinas y carotenoides son considerados los más importantes por sus aportes nutrimentales, acción antioxidante y antiinflamatoria, prevención en enfermedades degenerativas y algunos tipos de

cáncer (Shukla y Vankar, 2013; Kumar *et al.*, 2015; Zary-Sikorska *et al.*, 2019; Curaba *et al.*, 2020).

1.1.1 Pigmentos de estructura antocianínica

Las antocianidinas, son todos derivados hidroxilados del catión 2-fenilbenzopirilio (flavilio) y pueden poseer también grupos metóxilo. Las más comunes son pelargonidina, cianidina (se encuentran más frecuentemente), delphinidina, peonidina, malvidina y petunidina (se encuentra sólo en raras ocasiones) (Acheson, 1981; Kevin, 2004), de las cuales a continuación en la Figura 1.1 se muestran sus estructuras químicas.

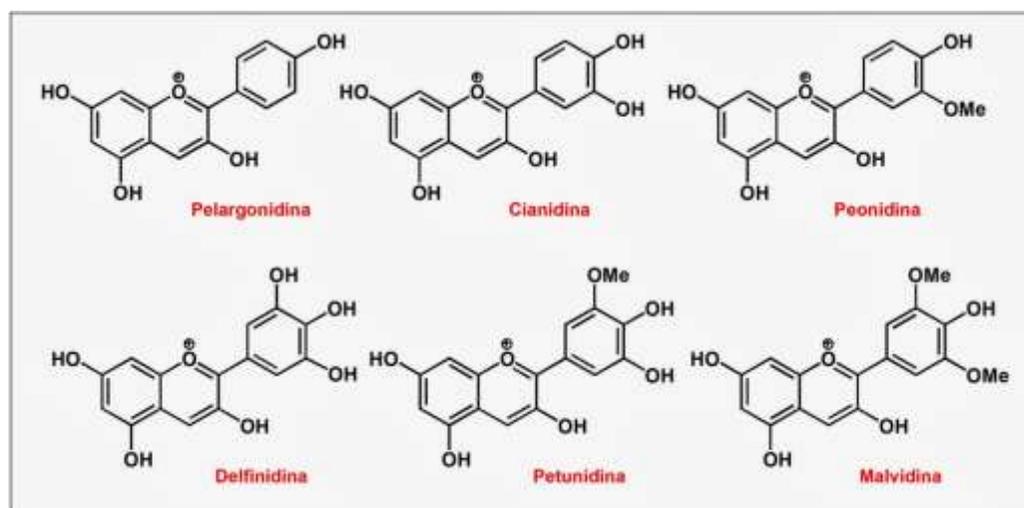


Figura 1.1 Estructuras químicas de antocianinas básicas.

Las antocianidinas no se encuentran como tal en las plantas, sino que están presentes en forma de glucósidos llamados antocianinas, que pertenecen a una amplia clase de flavonoides (compuestos fenólicos), metabolitos vegetales que se almacenan en las vacuolas (Curaba *et al.*, 2020). Los glucósidos están compuestos por dos anillos aromáticos A (flavilio) y otro más B (aglicona) unidos por un enlace C-C sencillo (ver

Figura 1.2). 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 (efecto hipsocrómico) mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas (efecto batocrómico). En la naturaleza, las antocianinas presentan sustituciones glucosídicas en las posiciones 3 y/o 5 con mono, di o trisacáridos que incrementan su solubilidad. Dentro de los sacáridos glucosilantes 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-coumárico, caféico, ferúlico, sinápico, gálico, o p-hidroxibenzóico. Stintzing *et al.*, (2002), demostraron que el tipo de sustitución glucosídica y de acilación producen efectos en el tono de las antocianinas; es así como sustituciones glucosídicas en la posición 5 al igual que acilaciones aromáticas, producen un desplazamiento hacia las tonalidades púrpura (Garzón, 2008). Durst y Wrolstad (2001) representaron de manera general la estructura de una antocianidina con sus posibles sustituciones que dan paso a la formación de las antocianinas básicas y sus coloraciones, tal como se observa en la Figura 1.2.

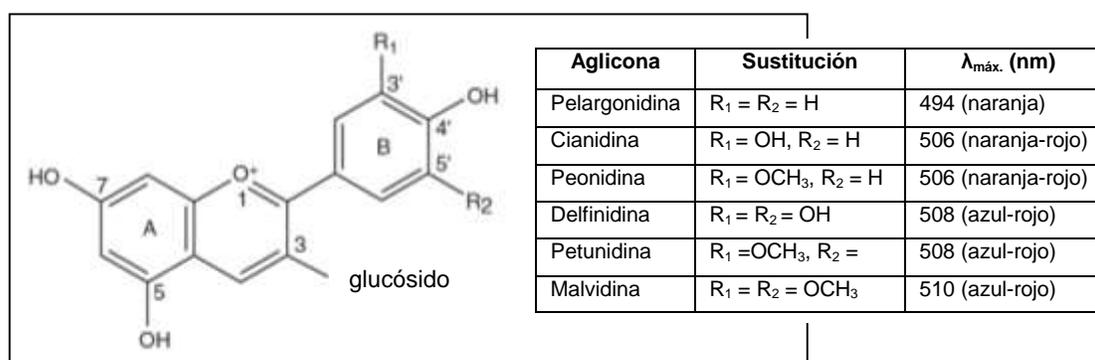


Figura 1.2 Estructura generalizada y sustituyentes para los pigmentos de antocianina.

Desde 1916 se estableció que el precursor de muchas antocianinas y flavonas es la quercetina, la cual es una pentahidroxi flavona relacionada con la mayor parte de las

flavonas naturales que tienen hidroxilos en las posiciones 5 y 7; ésta es un pigmento amarillo que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, a menudo en forma de glucósido como por ejemplo el 3-glucósido. El glucósido de la quercetina es la estructura básica de los flavonoides y que mediante procesos bioquímicos da lugar a la cianidina la cual es precursora de las antocianinas. La posición de los grupos hidroxilo de la quercetina y la cianidina son idénticos; la cianidina no ha podido ser convertida en quercetina, aunque sintéticamente la transformación inversa es posible a partir de reactivos como floroglucinaldehído con cloruro de hidrógeno y cianuro de hidrógeno (Acheson, 1981; Kevin, 2004).

En las plantas, las antocianinas son compuestos que juegan un papel protector al acumularse en respuesta al estrés oxidativo después de la exposición a los rayos UV, frío, sequía, deficiencia de fosfato y senescencia foliar (Curaba *et al.*, 2020).

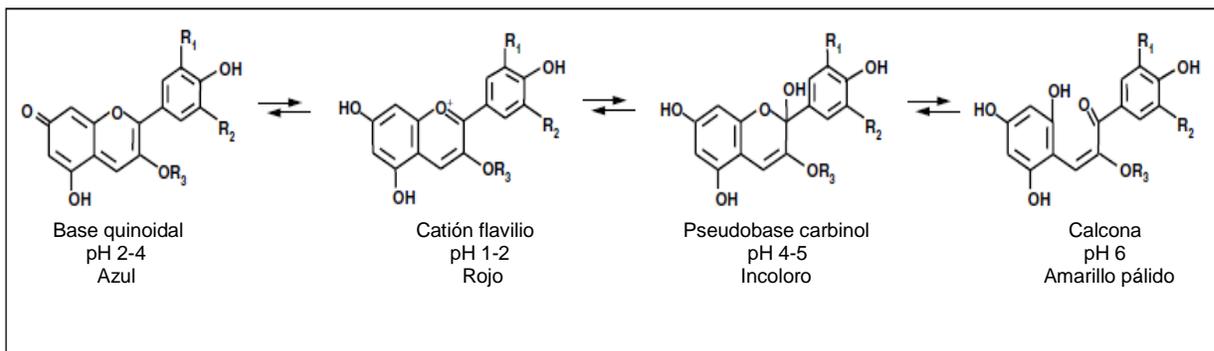


Figura 1.3 Transformaciones estructurales y de color de las antocianinas en función del pH.

Las antocianinas aisladas de las fuentes naturales son muy inestables y susceptible a la degradación, que conduce a la pérdida de bioactividad y desvanecimiento del color. El color de las antocianinas depende del pH (ver Figura 1.3). Los factores que afectan la tasa de degradación incluyen luz, temperatura, pH, oxígeno, enzimas, la presión, presencia de pigmentos, actividad de agua, su estructura y concentración, disolventes, otros flavonoides, proteínas e iones metálicos. La utilización de las antocianinas como

colorantes alimentarios e ingredientes funcionales se ha limitado debido a su baja estabilidad y la interacción con otros compuestos en el alimento (Garzón, 2008; Kamiloglu *et al.*, 2015; Megali *et al.*, 2019).

Avances recientes en alimentación, tecnología e identificación de nuevas fuentes de antocianinas han contribuido a una importante expansión de su uso, especialmente en bebidas. La participación de las antocianinas en los ingresos de la industria ha aumentado significativamente durante los últimos cinco años, alcanzando una cuota estimada del 9,5% en 2018. Es probable que las antocianinas continúen siendo un componente clave de la industria de colorantes alimentarios naturales y sigan siendo una categoría de rápido crecimiento. La continua transición de aditivos artificiales de color rojo, violeta y azul a los pigmentos a base de antocianinas de los fabricantes de alimentos se verán impulsados por mejoras en su estabilidad y versatilidad en formas más amplias de productos alimenticios (Iorizzo *et al.*, 2020).

La lista de la FDA de los aditivos de color sólo considera a la uva, el extracto de uva y el extracto de color a partir de su piel (*Code of Federal Regulations 21 CFR Part 73*). Por lo tanto, las investigaciones se han dirigido hacia la búsqueda de fuentes alternas para mejorar la eficacia de la extracción y la estabilidad, lo cual se ejemplifica con las publicaciones descritas en el siguiente apartado.

Entre las fuentes de obtención de antocianinas estudiadas hasta el momento se encuentran algunos tipos de frutos como: las bayas, la col roja y la papa dulce púrpura. Los resultados de estas investigaciones mostraron que en el caso de la col roja el cultivo y la maduración afectan el color rojo y la estabilidad de los extractos a diferentes valores de pH. Además, algunas variedades acumulan el 30% del pigmento diacilado y monoacilado que disminuye con el tiempo (Ahmadiani *et al.*, 2014). La acilación permite aumentar la estabilidad de la antocianina. Es así que la pulpa púrpura de papas dulces ha logrado tener alto contenido de antocianinas, a partir de la acilación en cianidina 3-p-hydroxybenzoylsophoroside-5-gluco-lado, exhibiendo una buena estabilidad térmica (Xu *et al.*, 2015).

La estabilidad de la antocianina se logra mediante la acilación con p-cumárico, ferúlico, p-hidroxibenzoico y ácidos sinápico, volviéndose más resistente a la hidratación, la luz y el pH. Las características estructurales son responsables de su mejor estabilidad en comparación con los extractos de otras fuentes, tales como el orujo de uva, que presenta un menor grado de acilación. Los efectos intramoleculares de copigmentación de antocianinas aciladas, evita el ataque nucleofílico de agua que conduce a la formación de calconas a través de la escisión hidrolítica del sistema aromático y por lo tanto a una pérdida de color, como lo menciona Kammerer *et al.*, (2004). Estudios clínicos de alimentación humana utilizando alimentos crudos y cocidos con zanahorias moradas revelaron que las antocianinas no aciladas son más biodisponibles que su contraparte acilada (Curaba *et al.*, 2020).

La adición de antocianinas a los productos las convierte en una posibilidad no solo para mejorar el color sino también enriquecerlos en compuestos bioactivos. Las antocianinas aciladas tienen el gran potencial para ser utilizados como pigmentos naturales, porque exhiben su inestabilidad a valores de pH más altos bajo la acción del calor y radiación en comparación con antocianinas no aciladas. Por lo tanto, se puede utilizar para colorear productos de color neutro o pH ligeramente alcalino, como postres en polvo, productos lácteos, y también para teñir lotes de bebidas de frutas o verduras (Mizgier *et al.*, 2016). Por tanto, el contenido relativo de las formas de antocianinas aciladas y no aciladas dirigen su utilización en la industria alimentaria como nutracéuticos y colorantes naturales (Curaba *et al.*, 2020).

Con respecto a los métodos extractivos de estos pigmentos se han utilizado diferentes técnicas, por ejemplo, Medina-Meza y Barbosa-Cánova (2015), utilizaron campos eléctricos pulsados y ultrasonido como alternativas amigables con el medio ambiente, en la extracción con agua a 70°C de la cáscara de ciruela, demostrando que ambas tecnologías fueron capaces de aumentar la extracción de antocianinas a partir de la cáscara de ciruela. Celli *et al.* (2015), observaron que la extracción de antocianinas de cáscara de uva fue eficaz cuando se realizó por ultrasonificación, pero el pulso de

campos eléctricos aumentó la extracción varias veces más. Por otro lado, también concluyeron que la extracción asistida por ultrasonido resultó ser una técnica adecuada para la extracción de antocianinas a partir de bayas haskap. Loypimai *et al.* (2015), demostraron que el polvo de colorante negro obtenido de negro de salvado de arroz glutinoso por extracción a través de calefacción óhmica asistida tuvo mayor rendimiento de colorante, pigmentos de antocianina y compuestos bioactivos que métodos convencionales.

Por otro lado, y dado que, en general, los pigmentos naturales son sensibles a cambios fisicoquímicos, la microencapsulación es una técnica que actualmente se está utilizando para protegerlos de estos factores, tal es el caso de la microencapsulación de antocianinas mediante secado por pulverización con diferentes biopolímeros naturales que se ha utilizado para desarrollar colorantes naturales con alta estabilidad, solubilidad y dispersabilidad (Mahdavi *et al.*, 2014).

La extracción sólido-líquido ocupada para la separación de sustancias de interés, como las antocianinas de sus fuentes naturales, influye en la estabilidad de las antocianinas; los disolventes más comúnmente usados para su extracción son el agua, alcohol, ácido fórmico, metanol, etanol y acetona; utilizándolos individualmente o en combinación de algunos de ellos en proporciones diferentes. Por ejemplo, una mezcla, obtenida por Gras *et al.* (2015), que resultó ser efectiva y con la cual se logró extraer la mayor cantidad de antocianinas de dos diferentes subespecies de zanahoria morada fue una solución de metanol/agua/ácido fórmico en concentración media de 30/70/5 v/v/v.

La extracción puede llevarse a cabo de manera discontinua y continua, mediante extracciones simples o asistidas por ultrasonido o microondas, los cuales son procedimientos valiosos que ayudan a la recuperación exhaustiva del pigmento dentro de un corto plazo de tiempo; tal como lo reportaron Chen *et al.* (2007), quienes determinaron que la ecografía intensa conduce a una rápida ruptura de los tejidos de

color rojo de la frambuesa, por lo tanto, es posible mejorar la transferencia de masa de las antocianinas deseadas en el disolvente preservando el mismo perfil en comparación con la extracción convencional. Gras *et al.* (2015) por medio de ultrasonido extrajeron antocianinas de dos variedades de zanahoria negra, obteniendo un tiempo de extracción efectiva, es decir, la duración de tratamiento con ultrasonido de tres ciclos de extracción, ascendió a 60 s para antocianinas de liofilizado y zanahorias negras en polvo. En estudios publicados anteriormente, la extracción de antocianinas de zanahoria negra en polvo y liofilizadas tardó 30 min usando un baño de ultrasonidos (Hey *et al.*, 2013) en comparación a 15 h en un agitador rotatorio a 400 rpm (Li *et al.*, 2012).

Diversos estudios epidemiológicos han mostrado que las dietas ricas en frutas y hortalizas y otros alimentos de origen vegetal como: té, vino, olivo, ajo, arroz integral, café, brócoli, berenjena, col, sauco, cúrcuma, jengibre, perejil, zanahoria, cebolla, cítricos, semolina, tomates, aceite de semillas de la vid, romero y especies florales, se asocian con un menor riesgo de muerte por patologías crónicas que incluye la reducción de enfermedades coronarias, efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos; además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo. Estos efectos beneficiosos se han atribuido en gran parte al aporte de compuestos que poseen actividad antioxidante, dentro de los que se encuentran el ácido ascórbico (AA, vitamina C), carotenoides, tocoferoles y tocotrienoles (vitamina E) y compuestos fenólicos. En la actualidad, todos ellos se incluyen dentro del grupo de compuestos denominados bioactivos o con capacidad biológica (Zaro, 2014). Los efectos terapéuticos de las antocianinas también están relacionados con su actividad antioxidante contra el peróxido de hidrógeno, radical peróxido, superóxido, hidroxilo y oxígeno (Khandare *et al.*, 2011; Rodríguez-Amaya, 2015).

1.1.2 Legislación de los colorantes y pigmentos naturales

Las autoridades sanitarias que marcan la pauta en normativas de uso de aditivos alimentarios, son la FDA (Food and Drug Administration) en Estados Unidos (EE.UA.) y la EFSA (European Food Safety Authority) en la Unión Europea. Sin embargo, hay países que difieren respecto a las propuestas de los organismos antes mencionados. Además de las regulaciones gubernamentales, las empresas pueden tener sus propias políticas, como es el caso de las cadenas de supermercados Tesco y ASDA del Reino Unido, los que a partir de 2008 no usan colorantes sintéticos en los productos con marca propia (Carmona, 2013). Los colorantes certificados son compuestos sintéticos que no se encuentran en la naturaleza y se clasifican en provisionales y permanentes. Para poder certificarse debe someterse una muestra de cada lote producido a análisis por la FDA y cumplir con las normas de calidad que pueda satisfacer los criterios específicos de pureza, evaluados previamente por el Comité Científico para la Alimentación Humana (SCF), que asigna un límite de Ingesta Diaria Admisible (IDA) y un Número E de identificación considerándolos seguros. La FDA clasifica a los colorantes sintéticos en cuatro clases químicas básicas: Azo, Trifenilmetano, Xantina e Índigo. A nivel mundial, la Comisión del Codex Alimentarius, organización conjunta de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), y la Organización Mundial de la Salud (OMS), se encargan de desarrollar normas internacionales sobre seguridad alimentaria, con el propósito de establecer normas internacionales armonizadas, factibles e incuestionables para su comercio en todo el mundo (EUFIC, 2013).

A continuación, se indican aspectos importantes de la legislación vigente para los principales mercados de estos productos:

En la Unión Europea todos los aditivos, incluidos los colorantes y pigmentos, deben contar con autorización y cumplir con el reglamento CE 1333/2008 para poder ser utilizados. Adicionalmente, se les identifica con la letra E seguida de un número, que

en el caso de los colorantes corresponde a los números entre 100 y 199. Son regulados respecto del tipo de alimentos al que pueden ser adicionados, en qué condiciones y las restricciones de venta de cada uno. Por ejemplo, el color rojo natural E120, corresponde a cochinilla y ácido carmínico, el que es extraído del exoesqueleto de un insecto y es usado en bebidas alcohólicas, carbonatadas, sopas y postres. Las antocianinas, en lo general, se identifican como E163 y, aplica para las preparadas con medios físicos a partir de frutas, legumbres y hortalizas, como lo indica la Directiva 94/36/CE del parlamento europeo y del consejo de 30 de junio de 1994 relativa a los colorantes utilizados en los productos alimenticios. Por otro lado, la Directiva 95/45/CE de la comisión de 26 de julio de 1995 establece los criterios específicos de pureza en relación con los colorantes utilizados en los productos alimenticios. (EFSA, 2020).

Desde el siglo XX en Estados Unidos, la FDA clasifica los colores permitidos en dos categorías: 1) Colorantes certificados que son producidos sintéticamente y actualmente hay nueve autorizados en alimentos, los que llevan el prefijo FD&C o D&C, el color y un número. Por ejemplo: FD&C Yellow N° 6 (Tartrazina) y; 2) Colorantes liberados de certificación: son los que incluyen pigmentos derivados de fuentes naturales como frutas, hortalizas, minerales o animales, por ejemplo, el extracto de annatto (amarillo), betarragas deshidratadas, caramelo, beta-caroteno y extracto de piel de uva.

En Japón, la regulación de los aditivos alimentarios se rige bajo la ley de higiene alimentaria y no hace distinción entre sintéticos y naturales. Actualmente hay 345 aditivos aprobados por el Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar.

En nuestros días, la FDA sigue siendo la agencia gubernamental de los Estados Unidos responsable de la regulación de alimentos, incluyendo los aditivos alimentarios. En cuanto a los colorantes sintéticos el Código de Regulación Federal CFR21 Parte 74 enlista los aditivos de color sujetos a certificación para colorantes sintéticos; Especificaciones de pureza y límite máximo permitido (FDA, 2018).

Para los colorantes naturales el CFR21 parte 73, contiene la lista de aditivos de color exentos de certificación y especificaciones de pureza y límite máximo permitido. Las antocianinas a partir de zanahoria negra se encuentran dentro del CFR 21 parte 73.260 denominado como jugo vegetal, pero también pueden ser antocianinas a partir de rábano, col morada, papa morada, etc. (FDA, 2018).

Con el fin de lograr un mercado de “etiqueta limpia” y un sistema de producción de colorantes naturales sostenibles, los extractos ricos en antocianinas se encuentran actualmente entre un grupo de ingredientes de color comercialmente viables y están regulados como un aditivo de color, aunque no se definen como un colorante natural por la FDA (Iorizzo *et al.*, 2020).

En la Unión Europea las especificaciones de pureza que deben cumplir los aditivos en general incluye a los colorantes sintéticos y pigmentos naturales y se encuentran en el Reglamento (UE) No. 231/2012 de la Comisión de 9 de marzo de 2012 por el que se establecen especificaciones para los aditivos alimentarios del Parlamento Europeo y del Consejo. Los límites máximos permisibles y las categorías en las cuales podemos utilizar aditivos que, incluyen colorantes sintéticos y pigmentos naturales, se encuentran en el Reglamento (UE) No. 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre aditivos alimentarios. En ambos Reglamentos encontramos listadas a las antocianinas como E163 y pueden ser de varias fuentes como: rábano, zanahoria morada, col morada, papa morada, etc. Los extractos de plantas a base de agua que contienen antocianinas están ampliamente permitidos por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) para su uso como colorante en alimentos debido a su baja toxicidad, y generalmente se aceptan como seguros. Sin embargo, cuando son extraídas selectivamente, refinadas o concentradas, las antocianinas deben etiquetarse con un número E (E163) como aditivo de color en la UE (Directiva de la Comisión 1333/2008 (CE) (Iorizzo *et al.*, 2020).

El gobierno de Canadá tiene su propia lista de agentes para colorear permitidos, es decir, la lista de aditivos alimentarios permitidos. En esta regulación las antocianinas se encuentran listadas como “Anthocyanins” y pueden ser de varias fuentes como: rábano, zanahoria morada, col morada, papa morada, etc. (Food Additives, 2021).

1.3 Fuentes vegetales de obtención de pigmentos de estructura antocianínica

Las antocianinas responsables de su coloración roja a morada representan el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles, los cuales poseen capacidad colorante y antioxidante. Las antocianinas presentes en diferentes vegetales con estas características son estables en condiciones de pH ácido, y en la actualidad son usadas como colorante natural en diferentes matrices alimentarias tales como jugos, bebidas, yogurt, jaleas y confites (Khandare *et al.*, 2011; Kamiloglu *et al.*, 2014; Murali *et al.*, 2015). Los pigmentos naturales aplican bajo la clasificación de colorantes naturales, del tipo E-163, y se utilizan como reemplazo de colorantes rojos sintéticos y del rojo carmín de cochinilla (Flavorix, 2018; Vergara *et al.*, 2019).

En la Tabla 1.1 se presenta un compendio de fuentes vegetales y la coloración del pigmento que obtuvieron los autores en sus trabajos de investigación.

Tabla 1.1 Coloración de pigmentos extraídos de diferentes fuentes vegetales.

Autor	Coloración del pigmento extraído	Fuente vegetal
Megali <i>et al.</i> , (2019)	rojo	zanahoria roja
Oleinist <i>et al.</i> , (2019)	rojo	zanahoria morada
Vergara <i>et al.</i> , (2019)	rojo cereza	zanahoria morada
Gras <i>et al.</i> , (2017)	rojo	papa dulce morada

Mizgier <i>et al.</i> , (2016)	rojo	col lombarda
	rojo	zanahoria morada
Celli <i>et al.</i> , (2015)	rojo-púrpura	bayas haskap
Gras <i>et al.</i> , (2015)	rojo	zanahoria negra
Kamiloglu <i>et al.</i> , (2015)	rojo	zanahoria negra
Loypimai <i>et al.</i> , (2015)	negro	salvado de arroz glutinoso
Medina-Meza y Barbosa-Cánova, (2015)	rojo carmín	cáscara de ciruela
		cáscara de uva
Xu <i>et al.</i> , (2015)	púrpura	papa dulce
Ahmadiani <i>et al.</i> , (2014)	rojo	repollo o col cerrada
Algarra <i>et al.</i> , (2014)	rojo	zanahoria negra
Assous <i>et al.</i> , (2014)	rojo	zanahoria morada
		zanahoria roja
Aguilera <i>et al.</i> , (2012)	café-rojo	higo
Singh <i>et al.</i> , (2012)	naranja y rojo	zanahoria naranja
Khandare <i>et al.</i> , (2011)	rojo brillante	zanahoria negra
Montilla <i>et al.</i> , (2011)	rojo	papa dulce morada japonesa
Zozio <i>et al.</i> , (2011)	rojo	mora andina
	rojo	acai
	rojo	zanahoria morada
Hillebrand <i>et al.</i> , (2009)	rojo	papa de pulpa azul
Ramos <i>et al.</i> , (2008)	púrpura	árbol guanandí
Ersus <i>et al.</i> , (2007)	rojo-púrpura	zanahoria negra
Guo, (2007)	rojo-púrpura	arroz negro
Cevallos-Casals y Cisneros-	rojo	maíz morado andino

Zevallos, (2004)	rojo	camote rojo
Kammerer <i>et al.</i> , (2004)	rojo	zanahoria morada
Dyrby <i>et al.</i> , (2001)	rojo	col roja
Rodríguez-Saona <i>et al.</i> , (1999)	rojo	rábano rojo
	rojo	papa roja
Giusti y Wrolstad (1996)	rojo	rábano

1.4 Generalidades de la zanahoria y su uso como fuente de antocianinas

El nombre científico de la zanahoria es *Daucus carota* L., en honor a sus descubridores. El médico de Galeno fue el primero en utilizar las palabras de *Daucus* y *Carota* en el siglo II d.C. para distinguirlos de la chirivía (pastinaca). También cultivó zanahoria y determinó que la zanahoria era menos apta para ser consumida en comparación con la doméstica (Grant, 2000; Dalby, 2003). En las regiones del norte del Mediterráneo, la zanahoria fue traída por los árabes y moriscos invasores (Davidson, 1999; Dalby, 2003). Muchos escritores romanos llamaron a la zanahoria como *pastinace* u otros nombres. Los invasores árabes también introdujeron muchos cultivares de zanahoria como púrpura, roja y amarilla en los países europeos de la era moderna. La zanahoria morada y amarilla se extendieron por toda Europa en los años 1300 y 1500 (Banga, 1957). En 1700, Holanda ocupó el primer lugar en la producción de zanahoria y desarrolló los cultivares *Horn* y *Long Orange*. En 1763, las zanahorias se clasificaron en cuatro tipos, incluidos *Long Orange* y *Early Half Long*, *Late Half Long* y *Early Scarlet Horn* (Smartt y Simmonds, 1976). En los siglos XVIII Y XIX, las zanahorias se utilizaron para tratar diversas enfermedades. Luego, en 1609, la zanahoria fue traída a América por los peregrinos y utilizada como dieta básica. Además, los indios adoptaron la zanahoria como fuente de alimento y los británicos llevaron la zanahoria a Australia en 1788. Durante la Segunda Guerra Mundial, la zanahoria se hizo más popular entre los ejércitos debido a su consumo

como alimento para animales. En 1941, el Ministerio de Alimentación del Reino Unido afirmó que la zanahoria era un sustituto de otras verduras. El gobierno británico también alentó a la gente a consumir zanahoria para mejorar la ceguera nocturna y también recuperar la escasez de alimentos durante la Segunda Guerra Mundial (Stolarczyk y Janick, 2011; Akhtar, 2017). En la Figura 1.4 se presenta una imagen con los diferentes tipos de coloración de la zanahoria de acuerdo a las variedades disponibles.



Figura 1.4 Coloración de la zanahoria de acuerdo a sus variedades.

Algunos historiadores ubican a la zanahoria como una especie originaria de Asia Central, particularmente de Afganistán, y los primeros indicios de su domesticación en Irán y Afganistán 3000 años AC. Originalmente, la zanahoria era de raíz negra, blanca, roja y púrpura; fue en el siglo XVII cuando se obtuvo la zanahoria que a nivel internacional se conoce por su coloración naranja de procedencia holandesa (Vergara *et al.*, 2019), que hoy está presente en los mercados de todo el mundo.

Las zanahorias se clasifican en función de su forma y tamaño. Las de raíz corta son variedades de cultivo temprano que pueden presentar forma redondeada, o alargada y cilíndrica. Las zanahorias de raíz larga son variedades de forma alargada y acabadas en punta. Pero las más comunes son las de raíz intermedia, que suelen ser ejemplares

con forma cilíndrica y gruesa, de piel lisa y color naranja oscuro (Brandon y Barnes, 2009).

Algunas de las variedades de zanahoria más comunes son Ardent Parade, cilíndrica, uniforme y muy buena coloración. Iva, es de variedad cilíndrica, dulce y muy jugosa. Morada, zanahoria de color violeta, su tamaño es variado, pero es más larga que las anteriores. Nantesa, es una variedad originaria de Francia. Presenta raíces despuntadas, cilíndricas y semilargas. Preda, es una de las más cilíndricas; es tierna, dulce y jugosa. Tipo Flakkee, es de raíces largas y cónicas con hojas vigorosas. Tipo Chantenay es una variedad de fácil cultivo en suelos pesados (Brandon y Barnes, 2009; Stolarczyk y Janick, 2011).

Durante todo el año, se pueden encontrar zanahorias frescas en el mercado, pero las de temporada son las que se cultivan a finales de primavera, las cuales son pequeñas, dulces y muy tiernas, mientras que las de invierno son más gruesas, por lo que la cocción mejora su sabor y consistencia. Las zanahorias tiernas y de buen color tienen un sabor delicado y son ideales para comerlas crudas. Las más grandes se empacan por separado y se usan para cocinar (Brandon y Barnes, 2009). Los usos de la zanahoria son muy variados. El producto natural, no procesado, es utilizado cocido en ensaladas frías o en guisos, y se reconoce una tendencia creciente a su uso en ensaladas crudas. En la agroindustria se le usa como materia prima para congelados, deshidratados, encurtidos, enlatados y jugos. Además de lo anterior, la zanahoria naranja se usa como fuente para extracción de caroteno, el que se emplea como colorante de margarinas y componente de raciones de ave, para intensificar el color de la carne y de la yema de los huevos. Mientras que la zanahoria morada, blanca y roja ya se utiliza para la extracción y venta de antocianinas y flavonoides en algunos países de Europa y Asia (Arscott y Tanumihardjo, 2010).

En la mayoría de los casos, el color de la zanahoria define el tipo de compuestos que puede aportar, las zanahorias anaranjadas contienen grandes cantidades de α y β

caroteno, mientras que las amarillas y las zanahorias rojas son ricas en luteína y licopeno, respectivamente. Del mismo modo, las antocianinas están presente principalmente en raíces moradas (Akhtar, 2017). Independientemente de la coloración que posea la zanahoria, es un vegetal que se utiliza como alimento y es considerado excelente desde el punto de vista nutricional, debido a que su aporte calórico es mínimo y su poder nutricional es alto. Según la USDA (Departamento de Agricultura de Estados Unidos), tiene 41 calorías por cada 100 g; es baja en colesterol porque tiene poca grasa (0.24 gr por cada 100 g) y una cantidad considerable de fibra, haciéndola muy saciante, gracias a su contenido en vitaminas y minerales como hierro, yodo y potasio. El agua es el componente más abundante en la zanahoria, seguido del alto contenido de hidratos de carbono, superior a otras hortalizas, siendo éste el reservorio de energía para la floración de la planta al año siguiente. A diferencia de la mayor parte de los vegetales, la zanahoria es más nutritiva cuando se come cocida, debido a que cruda tiene paredes celulares firmes, y el organismo sólo puede convertir menos del 25% a vitamina A; al cocerlas éstas paredes se rompen permitiendo al organismo convertir más del 50% a vitamina A (Arscott y Tanumihardjo, 2010; Baranski *et al.*, 2012).

Un análisis nutrimental realizado por Vergara *et al.* (2019), de zanahoria morada fresca cosechada a los 163 días después de siembra, mostró un aporte del 90% de contenido de humedad, 3.7% de azúcares totales y 7.8% de fibras totales, valores que se pueden revisar, entre otros, en la Figura 1.5. Las zanahorias naranjas son ricas en niacina o betacaroteno, vitamina A, E y del grupo B: folatos y Vitamina B3. El aporte en minerales lo hace en forma de potasio, fósforo, magnesio, yodo y calcio. En 1919, se descubrió que los carotenoides son un aporte de provitamina A, la que se degrada a retinol o vitamina A en el organismo humano. Es más, dicha apreciación positiva se ha visto aumentada, especialmente a partir de la década del '70, porque diversos estudios han demostrado que los alimentos ricos en pigmentos como antocianinas, carotenoides, clorofila y otros flavonoides, tienen la capacidad de prevenir ciertas enfermedades cardiovasculares, algunos tipos de cáncer y el envejecimiento celular, debido a sus

propiedades antioxidantes. En el caso de zanahoria, los contenidos de carotenoides son entre 10 hasta 1000 veces más altos que en la mayoría de las hortalizas (Baranski *et al.*, 2012; Ruíz, 2013).

Análisis	Promedio
Energía (kcal/100g)	26,6
Humedad (%)	89,7
Hidratos de carbono disponibles (%)	4,6
Azúcares totales (%)	3,7
Proteínas (%)	1,6
Materia Grasa (%)	0,2
Cenizas (%)	0,3
Fibra cruda (%)	<0,1
Fibra Dietaria total (%)	3,6
Fibra Dietaria soluble (%)	0,8
Fibra Dietaria insoluble (%)	2,8
Azúcares reductores (%)	1

Figura 1.5 Análisis nutrimental de una variedad de zanahoria morada (híbrido DP) cultivada en Vilcún, Chile (Tomada de Vergara *et al.*, 2019).

Se pueden encontrar variaciones en la composición de antocianinas de la raíz en el germoplasma de zanahoria. Las zanahorias moradas tienen, predominantemente, cinco glucósidos de cianidina, dos de los cuales no están acilados y tres son monoacilados. Sin embargo, en algunos estudios, las trazas de pelargonidina y peonidina se ha informado en algunos antecedentes genéticos. El porcentaje de antocianinas aciladas (AA) en relación con el contenido total de antocianinas encontrado en diferentes estudios, varió del 25% al 99%, aunque en la mayoría de los cultivares comerciales, los AA predominan sobre las antocianinas no aciladas (NAA), y las primeras representan generalmente más del 60% del total de antocianinas. En

términos de concentración absoluta, hasta 155 mg/100 g pf de AA y ~ 36 mg / 100 g pf de NAA en las líneas de zanahoria morada. En todo los cultivares de zanahoria morada estudiados, cianidin-3-(2"-xilosa-6"-sinapoil-glucosa-galactósido) (Cy3XSGG), cianidin-3-(2"-xilosa-6"-feruloil-glucosa-galactósido) (Cy3XFGG) son siempre las dos formas principales de antocianinas aciladas presente en la raíz y cianidin-3- (2"-xilosa-galactósido) (Cy3XG) y cianidin-3- (2"-xilosa-6-glucosa-galactósido) (Cy3XGG), las dos formas principales de antocianinas no aciladas (Iorizzo *et al.*, 2020).

1.4.1 Datos botánicos de la zanahoria

Botánicamente, la zanahoria, está clasificada dentro de la familia *umbelliferae*, es una planta bienal que requiere dos periodos anuales de crecimiento; el primero para desarrollar follaje y raíz y el segundo para el tallo floral y la etapa de formación de semilla, mediante la acumulación de horas-frío. Presenta estadio de vernalización de 60 días iniciando en la fase de la raíz ya formada, cuya característica permite autoabastecerse de semillas de la misma. En la Figura 1.6 se pueden observar gráficamente los estados fenológicos del cultivo bianual de la zanahoria, cuyas etapas de desarrollo pueden variar de acuerdo a la zona geográfica, época de siembra y variedades. La propiedad más importante de esta planta hortícola de raíz carnosa, es la de concentrar las sustancias nutritivas de reserva en la parte superior de la raíz primaria y del hipocótilo, con el propósito de asegurar nutrientes asimilables para la rápida constitución del tallo y de los órganos generativos durante las fases tempranas de su desarrollo hasta convertirse en una formación jugosa y tierna. Externamente, está formada por tres partes principales, que a continuación se describen (Prohens *et al.*, 2008; Vergara *et al.*, 2019).

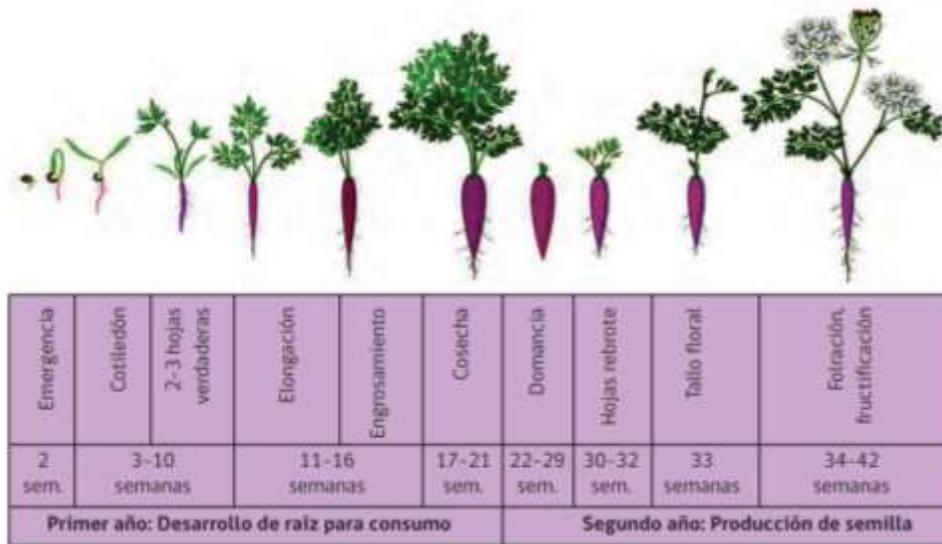


Figura 1.6 Fenología del cultivo bianual de zanahoria (Tomado de Vergara *et al.*, 2019).

La cabeza es la parte que está formada a partir del epicótilo y el tallo que es sumamente corto sobre el cual está dispuesta la roseta de hojas (Prohens *et al.*, 2008).

El cuello es la parte que se forma del hipocótilo, en la cual se forman raíces adventicias. A alta temperatura y con insuficiente intensidad de luz, el hipocótilo se ahíla y el cuello puede ser mayor o la parte superior de la raíz carnosa puede aparecer deformada. Por otro lado, un aumento de la formación de malas hierbas debido a la poca densidad de siembra de la zanahoria, provoca un alargamiento inadecuado, durante las fases tempranas del hipocótilo, y la parte superior de la misma se vuelve más tosca y disminuyen sus cualidades para el consumo (Prohens *et al.*, 2008).

La raíz verdadera es la porción de la raíz carnosa que se forma de la raíz. Sobre ella se encuentran parte de las raíces de la planta que están situadas en 2-4 hileras longitudinales. La zanahoria se caracteriza por presentar un sistema de raíces bien desarrollado, muy ramificado y profundamente situado. Durante el primer año, con el completo crecimiento de la planta, algunas raíces llegan a alcanzar una profundidad de 2 m, las raíces laterales que se extienden de la primaria de 60 a 90 cm, se dirigen

hacia abajo y alcanzan la profundidad de 120-150 cm. Debido a lo anterior, la zanahoria se propaga solamente por el método de siembra directa ya que, en el trasplante se parte la raíz primaria y, a causa de ello, se forman raíces carnosas ramificadas (Prohens *et al.*, 2008).

Si se cortan transversalmente a las zanahorias se observan claramente dos regiones: la parte interior -cilindro central o corazón- y la parte exterior -corteza- (ver Figura 1.7). En el límite entre ellas está situado el *cambium*. El cilindro central (xilema secundario) se encuentra diferentemente desarrollado y tiene también distinto corte transversal, lo que frecuentemente se aprovecha como carácter distintivo de la variedad. Sus tejidos son muy toscos, con tonalidades más claras y menor cantidad de sustancias nutritivas. La corteza (floema) es más blanda, rica en sustancias nutritivas y de color más intenso (Prohens *et al.*, 2008).

El tallo, durante el primer año es muy corto y crece después de los estadios de vernalización y de iluminación durante el segundo año. Las hojas son bipinnati sectas, marcadamente hendidas y más o menos vellosas, están bien adaptadas para soportar la sequía. Las flores son blancas y poseen 5 pétalos y 5 estambres, son hermafroditas, pero se encuentran unisexuales hembras y machos; los estambres maduran antes de que los estigmas estén aptos para recibir el polen por lo que, la polinización de esta especie es cruzada. Las semillas son convexas de un lado y planas del otro, y elípticas; en la parte convexa se encuentran 4-5 aristas longitudinales sobre las que se forman espinas encorvadas, por éstas, las semillas se unen, y sin la debida preparación, que consiste en separar sus espinas con una máquina especial, no se pueden esparcir ni sembrar. Las semillas están cubiertas con una capa dura, que contiene aceites esenciales, por la cual, se dificulta la penetración del agua y su imbibición (Prohens *et al.*, 2008).



Figura 1.7 Partes que conforman la raíz carnosa de la zanahoria.

Las variedades de la zanahoria se diferencian entre sí con relativa facilidad por sus características propias, es decir, por el carácter y el tamaño de las rosetas de las hojas; el color, la forma y la vellosoidad de las hojas; por el color, la forma, la textura interior y el carácter de la superficie de cada una; por la longitud del periodo vegetativo, etc. Estos índices son más típicos cuando las plantas están cultivadas en suelos apropiados y cuando han crecido y formado completamente, pudiéndose entonces apreciar visiblemente las características morfológicas particulares de cada una de las variedades de zanahoria de los diferentes colores que existen como son blanco, amarillo, naranja, rojo, morado y negro (Prohens *et al.*, 2008).

En la Figura 1.8 se pueden observar algunas variedades de zanahoria naranja de acuerdo a su morfología.

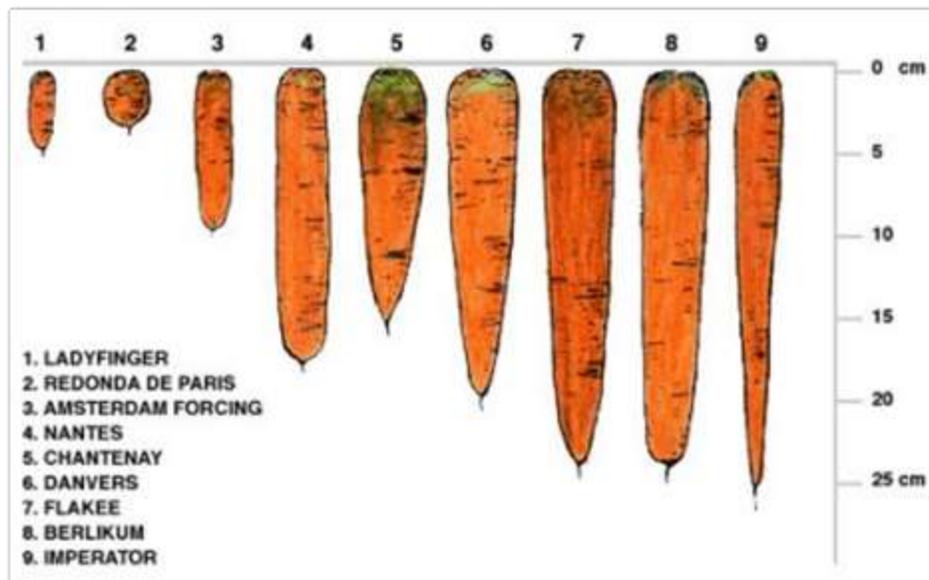


Figura 1.8 Morfología de algunas variedades de zanahoria naranja.

1.4.2 Condiciones edafoclimáticas para el cultivo de zanahoria

Las condiciones edafoclimáticas a considerar para lograr una buena producción de zanahoria son la temperatura, humedad, luminosidad, nutrición, tipo de suelo y las características particulares de las zonas geográficas donde se establecen los cultivos.

La temperatura óptima para que ocurra el proceso de germinación de las semillas de zanahoria fluctúa entre 18 y 25 °C tardando de 10 a 12 días para que se lleve a cabo y, hasta 21 días para su total emergencia. La temperatura entre 20 y 22 °C es la más favorable para el crecimiento de la raíz carnosa, y para las hojas, de 23 a 25 °C. Temperaturas menores a 10 °C provoca crecimiento alargado con poca consistencia de la raíz y a alta temperatura el crecimiento de la zanahoria es muy lento o se paraliza y éstas se vuelven más toscas con una superficie más irregular y con mal sabor; estas fluctuaciones de temperatura originan una coloración pálida en las zanahorias. La vernalización ocurre con mayor rapidez a temperaturas entre 3 y 8 °C (Uribe, 2004). La zanahoria es capaz de tolerar heladas ligeras; en reposos las raíces no se ven

afectadas hasta -5°C lo que permite su conservación en el terreno, siempre que el suelo no sea demasiado húmedo, para evitar la aparición de enfermedades fúngicas y bacterianas. Las temperaturas elevadas (sobre 28°C), provocan una aceleración en los procesos de envejecimiento de la raíz y en consecuencia pérdida de coloración (Vergara *et al.*, 2019).

Con respecto a la humedad, a causa del intenso y profundo desarrollo del sistema radicular, así como también a la estructura xeromórfica del sistema de hojas, la zanahoria es una planta adaptada a la sequedad. Sin embargo, cuando las semillas germinan, la capa superficial del suelo debe estar moderadamente húmeda durante todo el periodo de germinación. El crecimiento de las plantas durante las fases iniciales después de la germinación es muy lento y su sistema de raíces es débil, por lo que el riego regular es muy importante. Grandes oscilaciones del riego las agrietará, por otro lado, el sobre humedecimiento asfixia a la raíz, se pudre y muere (Uribe, 2004).

En cuanto a la luminosidad, la zanahoria es considerada una planta de día largo. El comportamiento de las diferentes variedades con relación a este factor no es igual, es decir, con temperaturas más bajas y días más largos, los estadios son más largos; mientras que, con temperaturas más altas y días más cortos, los estadios son más cortos. La zanahoria es exigente en cuanto a la intensidad de la luz, por lo que se desarrolla mejor en áreas abiertas (Uribe, 2004).

En lo que se refiere a la fertilización o nutrición, la zanahoria tiene un ciclo vegetativo relativamente largo por lo que, durante ese tiempo el suelo debe contener en suficiente cantidad las sustancias nutritivas fundamentales. Los fertilizantes de mayor solubilidad no deben entrar en contacto con las semillas germinantes. De manera natural, las zanahorias pueden abonarse con materia orgánica bien descompuesta para evitar raíces ramificadas o con abono de caballo (sin orina del mismo), con el cual no se producen raíces deformadas debido al amoníaco que si contienen otras fuentes de abonos orgánicos (Uribe, 2004).

Utilizando nutrición química, ha sido reportado que las aplicaciones de fertilizantes a base de N^3 son necesarias para un buen desarrollo del cultivo. Sin embargo, altas concentraciones de los compuestos de N^3 pueden modificar la cantidad de los carotenoides, vitamina C y de ácidos fenólicos totales en la zanahoria. Por otro lado, si se aplican mayores cantidades de fertilizantes nitrogenados, las raíces pierden su dulzura y se agrietan (Singh *et al.*, 2012).

Los nutrientes minerales también son esenciales para el crecimiento, la supervivencia y el éxito reproductivo de las zanahorias. El boro (B^{-1}) y el calcio (Ca^{2+}) son los dos elementos más importantes para mantener la integridad estructural de la pared celular y la función de las membranas plasmáticas de la raíz, principalmente debido a su capacidad de interactuar con polisacáridos pépticos. El boro incrementa el rendimiento y mejora la tolerancia a la deshidratación de las células de la zanahoria, mientras que su deficiencia resulta en pequeñas raíces con el exterior de color amarillo con un núcleo blanco. Pero, también en exceso, puede conducir a una disminución de las concentraciones de otros macronutrientes (Mg^{2+} , Ca^{2+} y K^{1+} o del contenido de nitrato en la raíz) y a la acumulación de compuestos fenólicos. Para obtener zanahorias de buenas propiedades de conservación y de excelente calidad gustativa, deberán recibir suficiente fósforo y calcio y una cantidad moderada de potasio. Un aumento de Ca^{2+} tiene un impacto negativo en éstos fitonutrientes, provocando una reducción en su propiedad antioxidante (Singh *et al.*, 2012).

En la agricultura orgánica, la fertilización consiste en la aplicación de abonos basados en residuos de cultivo, abonos de origen animal, leguminosas, desechos orgánicos y humus de lombriz. Además, los agricultores orgánicos evitan la utilización de semillas modificadas genéticamente mediante la tecnología de transferencia de genes y el uso de marcadores moleculares (Ortega, 2009).

Por otro lado, la zanahoria necesita para un óptimo desarrollo y crecimiento un suelo con buena aireación; un contenido menor del 6% de oxígeno reduce el engrosamiento de las raíces carnosas y la intensificación de su color, debido a esto necesita suelos ligeros, arcillosos-arenosos o franco-arenosos, con un pH de 6-6.5 (Uribe, 2004). Vergara *et al.*, (2019) menciona 5.8-7 el rango óptimo de pH para el cultivo de zanahoria, además de que los suelos compactos y pesados originan raíces fibrosas, de menor peso, calibre y longitud, incrementando además el riesgo de podredumbres.

Particularmente, la información necesaria para la realización del cultivo de zanahoria en el Estado de México, está basada en el paquete tecnológico que fue desarrollado por Uribe (1994) en el Centro de Investigación y Capacitación Hortoflorícola del Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado de México (ICAMEX), el cual sigue vigente hasta estos días y puede ser consultado en los archivos del mismo. La información recabada por el autor, encuentra su origen en el método establecido por los productores de la región sur del Valle de Toluca y cuya zona productora de zanahoria se encuentra entre Tenango del Valle y Santiago Tianguistenco, en donde se establece el cultivo de temporal, del 15 de junio al 15 de agosto, y se cultivan, actualmente, alrededor de 3000 hectáreas.

De acuerdo a lo anterior, en México, también existen lugares con condiciones climáticas y edafológicas adecuadas para el establecimiento del cultivo de zanahoria, como son los estados de Puebla, Guanajuato y México; de los cuales actualmente el Estado de México es considerado el mejor, a pesar de ocupar el tercer lugar en producción nacional, debido a que cuenta con suelos ricos en materia orgánica, lo cual permite el desarrollo y crecimiento de zanahorias con un alto nivel nutricional, a diferencia de las zanahorias producidas en Puebla o Guanajuato que para lograr alcanzar la misma nutrición en las zanahorias es necesario el uso excesivo, en muchos casos, de agroquímicos que pueden e incluso provocar bioacumulación afectando la calidad de los suelos y del producto final, esto debido a la producción intensiva de esta hortaliza tan consumida en el país.

1.4.3 Características de la zanahoria morada. *Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.

Dentro de las especies vegetales que pudieran ser fuente de obtención de antocianinas, para la extracción de un pigmento de un tono rojo o azul-púrpura, se encuentra la zanahoria morada *Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef o zanahoria negra. La señal más reveladora del color de las zanahorias originales viene del Egipto antiguo, donde se encontró evidencia de su cultivo y uso en las tumbas de faraones y en las pinturas jeroglíficas, las cuales muestran que el color más popular fue el púrpura. Se descubrió además que la zanahoria se usaba no sólo como alimento, sino también para tratar enfermedades (Prohens *et al.*, 2008; Vergara *et al.*, 2019).

El germoplasma de zanahoria morada presenta una amplia diversidad genética, con respecto a la concentración total de antocianinas y distribución de estos pigmentos a través de diferentes tejidos radiculares. Hasta la fecha, varios estudios han caracterizado los pigmentos de antocianina, mediante análisis de HPLC, en más de 30 líneas de zanahoria, incluyendo accesiones de bancos de germoplasma y variedades comerciales híbridas y de polinización abierta, reportando un rango general para el contenido total de antocianinas de 0.5-191 mg/100 g de peso fresco. En las raíces de zanahoria morada, el contenido total de antocianinas se correlaciona fuerte y positivamente con el contenido de fenólicos totales, con valores de correlación (r) que oscilan entre 0.85 y 0.99, lo que sugiere que las antocianinas representan una gran fracción de los compuestos fenólicos en las zanahorias moradas. Es de destacar que la intensidad del color púrpura y la extensión de los tejidos de la raíz cubiertos de púrpura están directamente asociados con el total de antocianinas de la raíz. En la mayoría de los antecedentes genéticos de raíz púrpura, las antocianinas se expresan principalmente en la capa epidérmica externa de la raíz, pero también se pueden expresar en la corteza (floema externo), floema y xilema (núcleo), que presentan diferentes patrones de pigmentación en estos tejidos, hasta el extremo de tener toda la sección de la raíz completamente saturada con el pigmento púrpura. Por lo tanto,

las accesiones de zanahoria con color púrpura oscuro en toda la sección de la raíz tienden a presentar el mayor contenido de antocianinas, mientras que aquellos con pigmentación púrpura solo en la parte más externa los tejidos suelen tener niveles bajos de antocianinas (Iorizzo *et al.*, 2020).

En la mayor parte del genotipo púrpura evaluado hasta la fecha, la superficie de la raíz es total y uniformemente púrpura. Sin embargo, Cavagnaro *et al.*, 2014, mostró que el color de la superficie de la raíz no era uniformemente púrpura, y el color púrpura se estimó como un porcentaje de la superficie de la raíz. El análisis visual de la raíz realizado hasta la fecha ha indicado que el germoplasma púrpura de Siria (p. Ej., Tipo Homs) y China (p. Ej., Tipo Ping Ding) acumulan antocianina en el extremo de la capa de células epidérmicas, corteza y/o xilema, pero no son completamente moradas. Las raíces de zanahoria moradas en todas sus capas de tejido son típicamente de Turquía. Según Bannoud *et al.*, 2018 y 2019, cuando tanto el floema como los tejidos del xilema estaban pigmentados, el contenido total de antocianinas en el floema era mayor que en el xilema. Además de la pigmentación de la raíz, las antocianinas pueden acumularse en otros tejidos y órganos de la planta de la zanahoria, incluidas las brácteas de las inflorescencias, los pétalos de las flores, la semilla, el pecíolo de la hoja y lámina, y los nudos y entrenudos del tallo de la flor (Cavagnaro *et al.*, 2019; Iorizzo *et al.*, 2020).

Dentro de la subespecie que la zanahoria morada, existen variedades que se identifican por su tonalidad, dureza de la corteza, contenido de antocianinas y algunos aspectos agronómicos (Gras *et al.*, 2015).

La Figura 1.9 muestra el rango de variación fenotípica de la raíz que puede encontrarse en el germoplasma de zanahoria morada, presentando una imagen de algunas variedades de zanahoria existentes en el mercado.



Figura 1.9 Ejemplos de variedades de zanahoria morada disponibles en el mercado.
(Adaptado de Gras *et al.*, 2015).

Particularmente, la variedad *Deep Purple* F1 (marca Bejo) es zanahoria tipo Flakee producida en Holanda. Presenta follaje alto, muy fuerte y sano, de color verde oscuro. Produce zanahorias de color púrpura externo e interno muy intenso, con recolección en todo el año, fácil de crecer, ideal para la industria de jugos, mermeladas y platos gourmet. Se recomienda también para zanahorias minis. Tolera altas densidades de siembra, tiene excelente tolerancia al rajado, es muy vigorosa, alcanza una longitud de 25-35 cm y 4-8 cm de diámetro, tiene una excelente capacidad de campo, buena lisura, es apta para sembrarse en secas y lluvias y su ciclo vegetativo dura 100-130 días. Se requieren 1.5-2.5 millones de semillas por hectárea. Tiene un rendimiento de 35-60 Ton/Ha y se puede sembrar en un rango de altitud de 500-2800 MSNM. Cuenta con un 85% de germinación y 99.2% de pureza (Bejo Zaden B. V., 2018).

El extracto de la zanahoria morada ofrece un excelente tono rojo cereza brillante a valores de pH ácidos y violeta y tonos azules a pH más altos; es una buena opción

para colorear jugos y néctares de frutas, refrescos, conservas, jaleas y confitería (Khandare *et al.*, 2011). Por esa razón la pigmentación y propiedades de alto poder antioxidante de la zanahoria morada resultan hoy en día, de gran interés para la industria alimenticia, farmacéutica y cosmética, Sin embargo, son escasas las publicaciones de esta especie y acerca de este tema (Ruíz, 2013). Aunque no existen estadísticas oficiales de la producción mundial de zanahoria morada, las estimaciones de la industria de alimentos, basada en sus necesidades anuales, contempla 10,000 toneladas de antocianinas derivadas su cultivo en todo el mundo, lo que requiere una producción de zanahoria morada aproximada de 100 000 ha (Iorizzo *et al.*, 2020).

En la actualidad, la zanahoria morada, se cultiva en Europa y Asia en reducidas explotaciones, ejemplos de ello es Mallorca (la huerta valencia), en Cataluña y en Málaga, Cuevas Bajas, donde los campesinos locales crearon una Asociación de Productores de Zanahoria Morada; con la ventaja de que son cultivos ecológicos (no reconocidos) de campesinos que no quisieron perder la semilla a pesar de que su beneficio sería menor al no ser tan apreciada como la de color naranja. En el mercado puede conseguirse bajo el nombre de zanahoria morada o Safàrnaria, la cual tienen un sabor similar al de la zanahoria naranja, con características dulces más agudas y un cierto toque picante que podría recordar al jengibre (Gras *et al.*, 2015).

Juan Casado, investigador de la Universidad de Málaga (UMA), en 2011 comenzó un estudio al que tituló *Perfil de antocianinas y la capacidad antioxidante de zanahorias moradas de Cuevas Bajas*, publicado en la revista especializada *Journal of Food Composition and Analysis*. Un trabajo cuya principal conclusión revela que, teniendo en cuenta los beneficios para la salud asociados con el consumo de alimentos ricos en antocianinas, la zanahoria morada aparece como un importante alimento vegetal con un gran valor nutricional. El trabajo demuestra que la hortaliza cueveña tiene un poder antioxidante seis veces superior a la zanahoria naranja (Gras *et al.*, 2015), regula la función intestinal por su alto contenido en fibra, protege de enfermedades cardíacas y potencia el sistema inmunológico, entre otras ventajas. "Esta zanahoria

nace en un entorno hostil: en tierras muy permeables a hongos y bacterias de todo tipo, con gran humedad, pequeños insectos... Tiene que defenderse de todo ello y de ahí surge su gran capacidad antioxidante", explica el profesor de la UMA (Corbacho, 2016).

En la Figura 1.10 se puede observar la imagen de la zanahoria morada cultivada en Cuevas Bajas, pequeño municipio del suroeste español. La zanahoria morada que se ha cultivado en esta región cuenta con un clima mediterráneo, caracterizado por largos veranos e inviernos cortos. La temperatura media que ronda los 15 °C y las riberas del río Genil, donde se siembra esta hortaliza, crean el perfecto escenario para la cría de tubérculos. Se propaga con semillas autóctonas y se recoge una vez al año entre finales de noviembre y principios de diciembre. Necesita más espacio entre plantas de lo habitual y su tamaño es casi el doble de las zanahorias naranjas, pesando casi 1 Kg y midiendo más de 30 cm de largo. Características que la diferencian bien de otras variedades de zanahorias moradas que se desarrollan en otras zonas de España, principalmente en las Islas Baleares (Corbacho, 2016).



Figura 1.10 Zanahoria morada cultivada en Cuevas Bajas, España (Adaptado de https://www.eldiario.es/andalucia/pasaporte/mejor-secreto-cuevas-bajas_1_3714116)

A comienzo del invierno, cuando se realiza la recogida, la zanahora *morá* se puede encontrar fresca en numerosos establecimientos de Cuevas Bajas, así como en mercados cercanos de Córdoba y Málaga. Sus posibilidades en la cocina son muchas: desde ensaladas a cremas pasando por su consumo asado, al que basta añadir aceite de oliva virgen extra y especias para convertirla en toda una delicia. El mejor momento para conocer las recetas y otros aspectos sobre esta peculiar hortaliza es el primer domingo de diciembre, cuando Cuevas Bajas celebra la Fiesta de la Zanahoria Morá. Cita a la que acuden cada año entre 5.000 y 6.000 personas y en la que se prepara de diferentes formas y se degustan también otros productos de la zona como los mantecados o las migas. Este año alcanza su duodécima edición: una perfecta ocasión para conocer el pueblo y su producto más apreciado (Corbacho, 2016).

1.5 Técnicas para cuantificar e identificar antocianinas de pigmentos naturales

La espectrofotometría UV-Vis es una herramienta útil para determinar propiedades colorimétricas y cuantificación de antocianinas de los pigmentos de origen vegetal. La espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-Vis) se utiliza para la caracterización y cuantificación de los colorantes, la cual utiliza las regiones del ultravioleta (UV cercano, de 195-400 nm) y el visible (400-780 nm). En esta región del espectro electromagnético, las moléculas se someten a transiciones electrónicas, midiendo transiciones desde el estado basal al estado excitado (Faraldos y Goberna, 2011; Pérez, 2014).

Esta técnica se utiliza habitualmente en la determinación cuantitativa de soluciones de compuestos orgánicos muy conjugados; los disolventes para compuestos orgánicos son a menudo el agua y el etanol. La polaridad del disolvente, el pH de la solución, la temperatura, la concentración de electrolitos y la presencia de sustancias interferentes

pueden influir en los espectros de absorción de los compuestos, pueden afectar la absorción en el espectro de un compuesto orgánico (Faraldos y Goberna, 2011; Pérez, 2014).

La ley de Lambert-Beer establece que la absorbancia de una solución es directamente proporcional al camino recorrido por la radiación electromagnética y a la concentración de la misma (Faraldos y Goberna, 2011; Pérez, 2014), y se expresa según la ecuación:

$$A = abC \quad (1.1)$$

Donde:

A = Absorbancia

a = Absortividad de la especie absorbente (L/mg cm)

b = Espesor del medio absorbente (celda) (cm)

C = Concentración de la especie absorbente en la solución (mg/L)

De acuerdo con la ley de Lamber-Beer una gráfica de concentración vs absorbancia será una línea recta con pendiente igual a ab , sin embargo con frecuencia las mediciones de los sistemas químicos reales arrojan gráficas que no son lineales en todo el rango de concentración que se desea evaluar, por lo que se realizan curvas de calibración relacionando concentración vs. absorbancia para calcular concentraciones de analitos (ecuación 1.2) (Day y Underwood, 1989).

$$C = \frac{A}{m} \quad (1.2)$$

Donde:

C = Concentración del analito (mg/L)

A = Absorbancia

m = Pendiente de la curva de calibración

2. MÉTODO

A continuación, en la Figura 2.1 se presenta el esquema general del método en el que se basó la investigación.

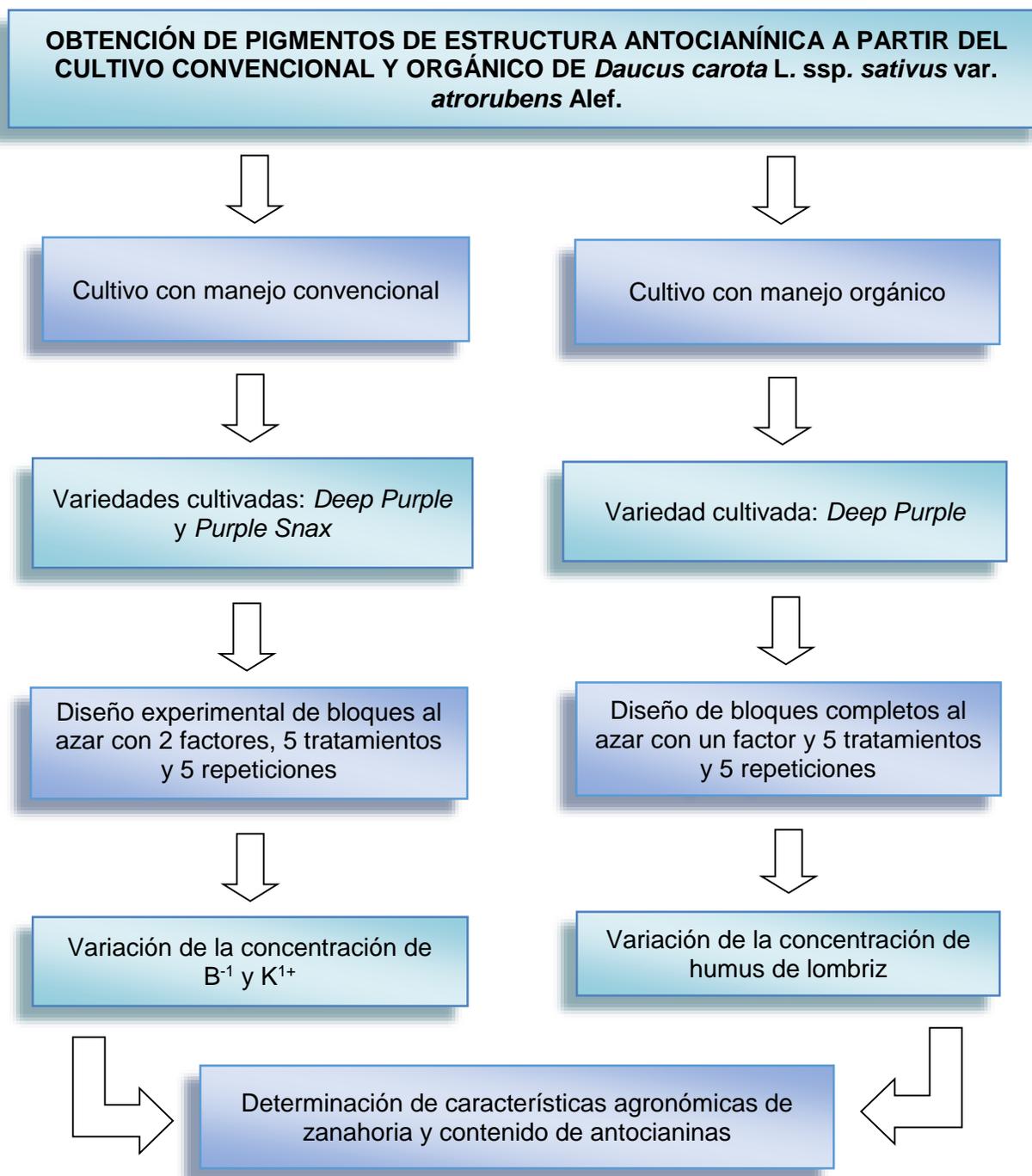


Figura 2.1 Diagrama general del método.

2.1 Cultivo de *Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.

Este trabajo se llevó a cabo durante el ciclo agrícola otoño-invierno-primavera 2017-2018 en la localidad de Villa Guerrero, Estado de México. Se hizo uso del Campo Experimental del Centro de Investigación y Transferencia de Tecnología (CITT) Rancho “El Islote”, perteneciente al Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado de México (ICAMEX) el cual, se localiza a 18° 58' 14" latitud norte, 99° 39' 38" longitud oeste y 2217 msnm y cuenta con un clima templado subhúmedo con lluvias en verano que inician regularmente en el mes de mayo y concluyen en los primeros días de octubre, registrándose raramente helados durante el invierno (Guadarrama, 1999).

Se establecieron dos ensayos de fertilización bajo diseño experimental, uno con manejo convencional o químico a cielo abierto y otro con manejo orgánico en invernadero rústico, ambos a siembra directa; con el propósito de determinar las condiciones óptimas de fertilización para obtener los resultados que involucren la mejor relación de rendimiento de producción y pigmentación de las zanahorias moradas sembradas con estos esquemas de prueba.

De cada ensayo se evaluaron los parámetros agronómicos: longitud de la raíz y diámetro, peso en fresco de raíz, altura, peso de follaje y número de hojas, así como el contenido de antocianinas y la variación en la estabilidad del pigmento de acuerdo a los tratamientos establecidos.

En la Figura 2.2 se muestra el esquema de las actividades que involucraron los cultivos desde el análisis de suelo hasta el análisis estadístico.

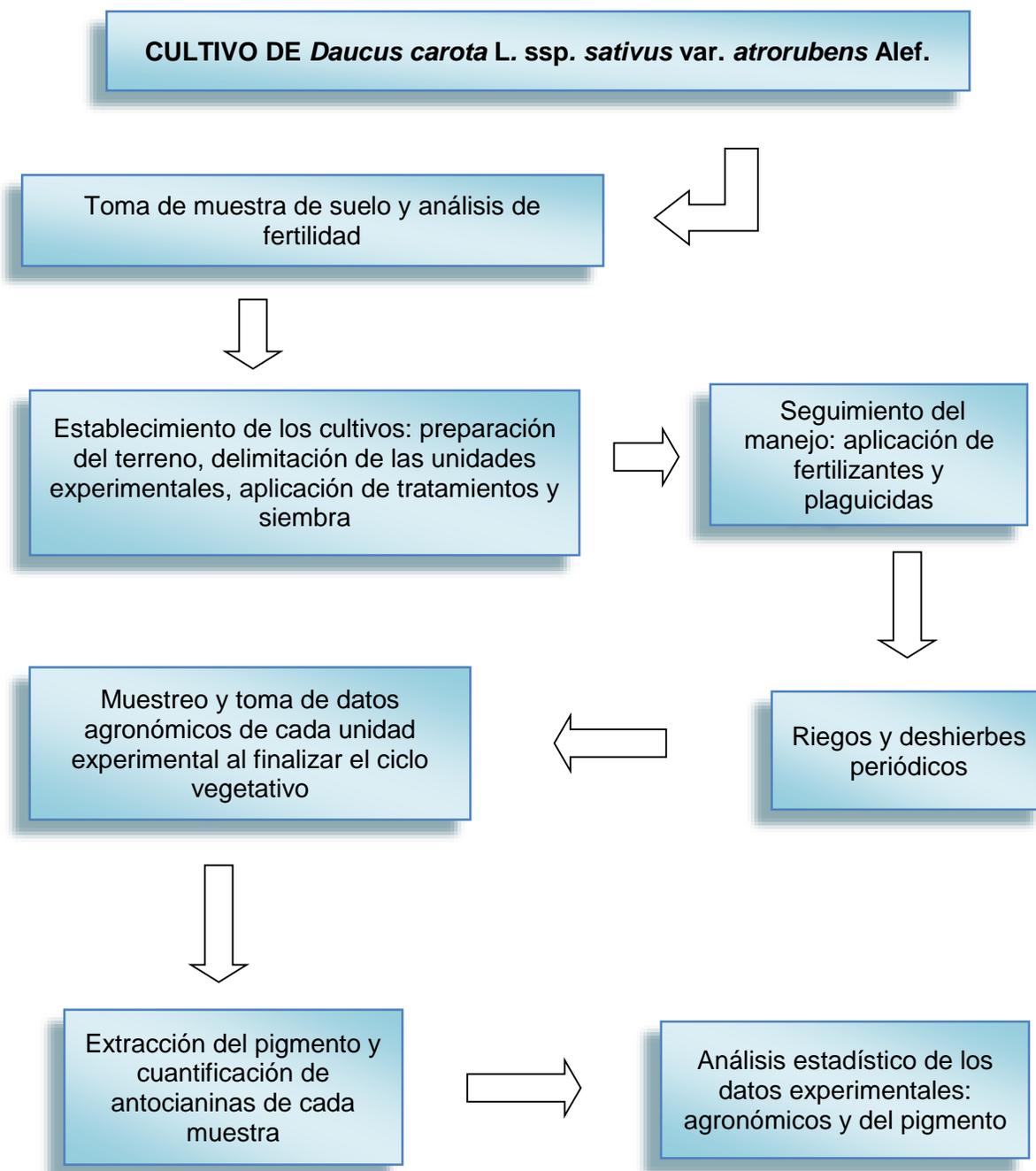


Figura 2.2 Diagrama de actividades efectuadas desde el análisis del suelo hasta el análisis estadístico de resultados.

Antes del establecimiento de los cultivos, independientemente del tipo de manejo, se realizó un análisis de suelo de cada terreno para conocer las condiciones iniciales de fertilidad de los mismos, a partir de las cuales se definió el programa de fertilización. También es importante mencionar que fue relevante la preparación minuciosa de los terrenos a utilizar, aspectos que a continuación se describen.

Los análisis de suelo fueron llevados a cabo en el Laboratorio de suelos del ICAMEX. Las determinaciones realizadas tuvieron su fundamento en la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, sanidad y clasificación de suelos. Estudio, muestreo y análisis. Las determinaciones consideradas fueron el pH, conductividad eléctrica, textura del suelo, materia orgánica fácilmente oxidable, concentración de micro y macro nutrientes.

Para realizar cada análisis de suelo en particular, en campo se utilizó un muestreo aleatorio de cinco muestras distribuidas en el terreno con la técnica "cinco oros". En cada punto se retiró la capa superficial y con ayuda de una pala plana se abrió la tierra a una profundidad de 20 cm para poder extraer una "rebanada" de suelo. Una vez obtenidas las submuestras, se mezclaron, homogeneizaron, dentro de una cubeta perfectamente limpia, extendieron y secaron completamente a temperatura ambiente. En el laboratorio, de la muestra seca total se tomaron 0.5 Kg, se tamizó (utilizando un tamiz con orificios de 2 mm de diámetro interno) y se continuo con las determinaciones correspondientes.

El pH y la conductividad eléctrica fueron medidos en medio acuoso, para lo cual se pesaron 11 g de muestra cribada y se adicionaron a 20 mL de agua destilada, se agitó por un minuto y en seguida se realizó la medición. Esta determinación se debe realizar inmediatamente después del muestreo. La clasificación textural del suelo se basó en el método densitométrico de Bouyocos, que consiste en medir las densidades de las diferentes texturas de la muestra y a través de cálculos específicos se determinó el porcentaje de arena, arcilla y limo.

La determinación de materia orgánica fácilmente oxidable se realizó por el método volumétrico de Walkey-Black. La extracción de micro y macro nutrientes se hizo a través del método de Merlich 3. El fósforo y boro se determinaron por colorimetría y los metales por absorción atómica.

Con respecto a la preparación de los terrenos, ésta consistió en realizar un barbecho dejando el área libre de piedras, terrones y melazas, bien desmenuzados, pero sin llegar a la pulverización, hasta una profundidad de 30 cm, utilizando un motocultor o rotocultivador para arado (2 pases) o azadón. Después el terreno se nivela para facilitar que la humedad tome una distribución uniforme y la emergencia de la semilla también lo sea; en seguida se formaron las camas o tinas. Esta preparación permitió airear el suelo, reducir la incidencia de malezas e incorporar los residuos de la cosecha anterior.

2.1.1 Cultivo de zanahoria morada con manejo de fertilización química

El cultivo de zanahoria morada mediante manejo con fertilización química se llevó a cabo durante el ciclo agrícola otoño-invierno-primavera 2017-2018. El experimento se estableció bajo un diseño experimental de bloques completos al azar en un arreglo bifactorial, considerando como factores tipo de semilla y dosis de fertilización con 5 niveles de tratamiento, 5 repeticiones, que conformaron 50 unidades experimentales de 1.8 m² cada una, las cuales se distribuyeron en cinco camas de plantación de 50 m de largo por 0.9 m de ancho, 20 cm de alto y, pasillos de 50 cm de ancho.

En la Tabla 2.1 se presenta la distribución y dimensiones de las unidades experimentales.

Tabla 2.1 Croquis de distribución de los tratamientos en la parcela experimental.

		Dimensiones del terreno (cm)									
		90	50	90	50	90	50	90	50	90	cm
U n i d a d e x p e r i m e n t a l	10	1.2		1.5		1.1		2.2		1.3	200
											50
	9	2.1		1.4		2.4		1.1		1.5	200
											50
	8	2.2		1.2		1.3		2.5		2.5	200
											50
	7	2.4		2.5		2.2		1.2		1.1	200
											50
	6	2.5		2.3		1.4		1.4		2.4	200
											50
	5	1.5		2.2		1.2		2.3		2.1	200
											50
	4	1.4		2.4		2.1		1.3		2.2	200
											50
	3	2.3		1.3		2.5		1.5		1.4	200
										50	
2	1.1		2.1		2.3		2.4		1.2	200	
										50	
1	1.3		1.1		1.5		2.1		2.3	200	
		R1		R2		R3		R4		R5	
		Repeticiones experimentales									

Previo al establecimiento del cultivo, un mes antes de la siembra, se hizo la limpieza del terreno, la preparación del suelo y se conformaron cinco camas de plantación. Posteriormente, se aplicaron y distribuyeron los tratamientos de fertilización, en las proporciones mostradas en la Tabla 2.1, en la parcela experimental; realizando a continuación la siembra al día siguiente. Inmediatamente después de la siembra se efectuó un riego ligero para asegurar la germinación de las semillas. Antes de la emergencia de las plántulas se hizo una aplicación al suelo de una mezcla de un insecticida y un fungicida para evitar el ataque de plagas rizófagas y de patógenos de la raíz y tallo. La segunda aplicación de los tratamientos (fertilización) se hizo cumplido

el mes de la primera aplicación y consistió de la otra mitad del nitrógeno, potasio y boro.

Como factor 1, se consideró las variedades de zanahoria morada, utilizando dos variedades de semilla, *Deep Purple* y *Purple Snax*, conformando dos niveles o tratamientos.

Como factor 2, se estableció la fertilización química, considerando seis fertilizantes comerciales para proporcionar los nutrientes requeridos para el desarrollo y crecimiento del cultivo: nitrógeno (N^{-3}), Fósforo (P^{-3}), Calcio (Ca^{2+}), Magnesio (Mg^{2+}), Boro (B^{-1}) y Potasio (K^{1+}). Las dosis de N^{-3} , P^{-3} , Ca^{2+} y Mg^{2+} , se utilizaron en cantidades fijas; mientras que las dosis de B^{-1} y K^{1+} se variaron en cinco niveles o tratamientos.

En la Tabla 2.2, se especifican los fertilizantes utilizados para proporcionar dichos nutrientes y la dosis establecida en kilogramos (Kg) por los 10 bloques de terreno para los cinco tratamientos de fertilización, especificados como 1, 2, 3, 4 y 5. En la Tabla 2.3 se indican los factores 1 y 2, con sus tratamientos y las combinaciones utilizadas en el diseño experimental.

Tabla 2.2 Fertilizantes comerciales utilizados y su dosificación (Kg) para cada tratamiento (1-5), en el cultivo convencional de zanahoria *Deep Purple* y *Purple Snax*.

Fertilizantes comerciales	Nutriente	Ion	Tratamientos por fertilización/concentración (Kg/ha)				
			1	2	3	4	5/testigo
Urea	Nitrógeno	N^{-3}	120	120	120	120	0
Superfosfato de calcio triple 46%	Fósforo	P^{-3}	85	85	85	85	0
Nitrato de calcio	Calcio	Ca^{2+}	50	50	50	50	0
Sulfato de magnesio	Magnesio	Mg^{2+}	20	20	20	20	0
Ácido bórico	Boro	B^{-1}	10	8	6	4	0
Cloruro de potasio	Potasio	K^{1+}	200	300	350	400	0

Tabla 2.3 Factores, tratamientos y combinaciones utilizadas para el diseño experimental del cultivo con manejo convencional de zanahoria morada.

Variedad de zanahoria morada	Simbología del tratamiento	Variación de dosis de B ⁻¹ (g/1.8 m)	Variación de dosis de K ¹⁺ (Kg/ha)	Simbología del tratamiento	Simbología de la combinación de los tratamientos
<i>Deep Purple</i>	1	1.8	200	1	1.1
		1.4	300	2	1.2
		1.1	350	3	1.3
		0.72	400	4	1.4
		0	0	5	1.5
<i>Purple Snax</i>	2	1.8	200	1	2.1
		1.4	300	2	2.2
		1.1	350	3	2.3
		0.72	400	4	2.4
		0	0	5	2.5

Dentro de la conducción del experimento, se practicaron riegos periódicos, una o dos veces por semana durante todo el ciclo del cultivo. A continuación, en las Figuras 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9 y 2.10, se presentan las siguientes imágenes que describen: la preparación del terreno y conformación de las camas de siembra de manera manual con ayuda de rastrillos agrícolas como herramienta; la realización del pesado y mezcla de los fertilizantes por tratamiento usando una balanza analítica para mayor precisión; el trazado del experimento y distribución del fertilizante químico por unidad experimental y la aplicación de los tratamientos; el tapado del fertilizante aplicado por unidad experimental y la siembra de las variedades de zanahoria morada, *Deep Purple* y *Purple Snax*; la cubierta superficial de la semilla sembrada con ayuda de herramienta agrícola manual y aplicación de riego ligero sobre la superficie sembrada; el proceso de siembra de las variedades de zanahoria, tapado de la semilla y riego; la segunda aplicación de los tratamientos de fertilización química; el deshierbe manual de la parcela experimental en diferentes momentos del ciclo vegetativo; y la aplicación de plaguicidas químicos y botánicos para el control de plagas y enfermedades de la zanahoria morada, respectivamente.



Figura 2.3 Preparación del terreno y conformación de las camas de siembra.



Figura 2.4 Pesada y mezcla de los fertilizantes por tratamiento usando una balanza analítica para mayor precisión.



Figura 2.5 (a) Trazo del experimento y distribución del fertilizante químico por unidad experimental y (b) aplicación de los tratamientos.



Figura 2.6 (a) Tapado del fertilizante aplicado por unidad experimental y (b) Siembra de las variedades de zanahoria morada, *Deep Purple* y *Purple Snax*.



Figura 2.7 (a) Cubierta superficial de la semilla sembrada y (b) aplicación de riego ligero sobre la superficie sembrada.



Figura 2.8 Segunda aplicación de los tratamientos de fertilización química: (a) pesada de los fertilizantes químicos, (b) surcado manual entre líneas de siembra, (c) aplicación del fertilizante y (d) tapado manual del fertilizante.



Figura 2.9 Deshierbe manual de la parcela experimental: (a), (b) y (c) durante las primeras etapas de desarrollo de los cultivos y (d) al finalizar el ciclo vegetativo.



Figura 2.10 Aplicación de plaguicidas químicos y botánicos para el control de plagas y enfermedades de la zanahoria morada: (a) en las primeras semanas del cultivo y (b) en el punto medio del desarrollo de las plantas.

Las malezas se controlaron de forma manual con azadón; la prevención y control de plagas y enfermedades de la raíz, tallo y follaje, se hizo con aplicaciones periódicas de productos químicos, los cuales son mostrados en la Tabla 2.4, donde se puede apreciar información como: el nombre del producto comercial, ingrediente activo o agente de biocontrol, la dosis de aplicación recomendada por el fabricante y la plaga o patógeno que controla.

Tabla 2.4 Productos químicos utilizados para la prevención y control de plagas y enfermedades para el cultivo de semillas *Deep Purple* y *Purple Snax*.

Producto comercial	Ingrediente activo/agente de biocontrol	Dosis/L de agua	Plaga o patógeno que controla
Engeo	Tiametoxan + Lambda cialotrina	1.0 mL	Gallina ciega (<i>Phyllophaga</i> spp.) y gusanos trozadores (<i>Agrotis</i> sp., <i>Feltia</i> sp. y otros)
Ampligo	Lambda cialotrina	0.5-1.0 mL	Gusano defoliador (<i>Spodoptera</i> sp.), mosquita blanca y (<i>Trialeurodes vaporariorum</i>)
PHC Neem	Azadiractina	3.0 mL	Gusano defoliador (<i>Spodoptera</i> sp.), mosquita blanca y (<i>Trialeurodes vaporariorum</i>)
PHC Bug-balancer	Extracto de ricino	3.0 mL	Gusano defoliador (<i>Spodoptera</i> sp.), mosquita blanca y (<i>Trialeurodes vaporariorum</i>)
Allium	Extracto de ajo	4.0 mL	Gusano defoliador (<i>Spodoptera</i> sp.), y mosquita blanca (<i>Trialeurodes vaporariorum</i>)
Velonil	Clorotalonil	2.0 g	Mancha foliar (<i>Alternaria dauci</i> y <i>Cercospora</i> sp.)
Oxicob 85	Oxicloruro de cobre	3.0 g	Mancha foliar (<i>Alternaria dauci</i> y <i>Cercospora</i> sp.)
Vitavax 200	Carboxim + Thiram	2.5 mL	Marchitez (<i>Fusarium oxysporum</i>), picado o mancha undida por <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Tielavipsis baticola</i> , <i>Pythium violae</i> , <i>P. sulcatum</i> , <i>P. intermedium</i> , <i>P. rostratum</i>)
Amistar 50	Azoxystrobin	0.5 g	Picado o mancha undida por <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Tielavipsis baticola</i> , <i>Pythium violae</i> , <i>P. sulcatum</i> , <i>P. intermedium</i> , <i>P. rostratum</i>); mancha foliar (<i>Alternaria dauci</i> y <i>Cercospora</i> sp.)

Al final del ciclo vegetativo de los cultivos se determinó rendimiento en campo de zanahoria cosechada, se tomaron los datos agronómicos de los productos obtenidos: longitud, peso fresco, diámetro de la raíz y altura de follaje entre otros. Además, se determinaron características de pigmentación, mediante la medición del contenido de antocianinas y la estabilidad del pigmento. Para obtener los datos anteriores se recolectaron 10 plantas de la zona central de cada unidad experimental de cada uno de los cultivos. En las Figuras 2.11 y 2.12, se puede apreciar el momento de la extracción de las zanahorias del suelo y la toma de datos agronómicos, respectivamente.



Figura 2.11 Muestreo: (a) Extracción de las zanahorias moradas de las líneas centrales de siembra de cada unidad experimental y (b) eliminación del exceso de tierra incrustada en las raíces.



Figura 2.12 Toma de datos para la determinación de variables agronómicas: a) medición del diámetro de la raíz y b) medición del largo del follaje.

2.1.2 Cultivo de zanahoria morada con manejo de fertilización orgánica

El cultivo orgánico de zanahoria morada, se estableció en un invernadero rústico del Campo Experimental del Centro de Investigación y Transferencia de Tecnología (CITT) Rancho “El Islote”, perteneciente al Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado de México (ICAMEX) ubicado en Villa Guerrero, Estado de México.

El cultivo se estableció bajo un diseño experimental de bloques al azar con una sola variedad de semilla, *Deep Purple* y 5 tratamientos de fertilización, utilizando tres dosis de humus de lombriz, fertilización química y un testigo al que no se le colocó ningún tratamiento. Los tratamientos de fertilización basados en humus de lombriz fueron los siguientes.

Los tratamientos representados por T1-T5 fueron: T1 Humus de lombriz con dosis de 20 t/ha; T2 Humus de lombriz, 25 t/ha; T3 Humus de lombriz, 30 t/ha. En T4 se utilizó un testigo basado en fertilización química, considerando el tratamiento que contempló 120 kg/ha de Urea, 85 kg/ha de superfosfato de calcio triple y 200 kg/ha de cloruro de potasio, representado por 120N-85P-200K. El segundo testigo fue un cultivo al que no se colocó ningún tratamiento. En los 4 tratamientos indicados, se realizaron dos aplicaciones adicionales a) una del nutriente orgánico Supra Carb Plus, utilizando una disolución acuosa de 5 mL/L en drench dirigido al cuello de la planta y suelo para la prevención del ataque de plagas y patógenos de la raíz y, b) otra aplicación de Boro utilizando ácido bórico en solución acuosa a dosis de 5mL/L. Dicha solución fue colocada mediante una aplicación por aspersion dirigida hacia el follaje de las plantas.

Cada experimento se llevó a cabo con 5 repeticiones (R1, R2, R3, R4 y R5), conformando 25 unidades experimentales de 2 m², separadas por pasillos de 50 cm de ancho. Las unidades experimentales se distribuyeron en cinco camas de plantación de 18 m de largo por 80 cm de lomo de cama, 20 cm de alto y pasillos de 50 cm de ancho. La distribución de los tratamientos en la parcela experimental se ilustra en la Tabla 2.5.

Tabla 2.5. Croquis de distribución de los tratamientos en la parcela experimental.

		Dimensiones del terreno (cm)									
		80	50	80	50	80	50	80	50	80	cm
e x p e r i m e n t a l	5	3		1		2		1		5	250
											50
	4	5		4		1		4		1	250
											50
	3	2		5		3		5		2	250
											50
	2	4		2		5		3		4	250
											50
	1	1		3		4		2		3	250
		R5		R4		R3		R2		R1	
		Repeticiones experimentales									

Para el establecimiento del experimento, una semana antes de la siembra se preparó el suelo y conformaron cinco camas de plantación. Primero se aplicó yeso agrícola y luego los abonos orgánicos; ambas enmiendas se incorporaron al suelo con azadón y rastrillo; posteriormente se practicó un riego moderado y se hizo la siembra. A continuación, en la Figura 2.13 se pueden observar las actividades que se realizaron durante la preparación del terreno y la aplicación de los tratamientos; así mismo, en la Figura 2.14 se muestran las imágenes correspondientes a la aplicación de productos biológicos para la prevención de patologías radiculares, tapado de enmiendas, siembra de la semilla de la variedad *Deep Purple* y aplicación de un riego ligero por goteo.



Figura 2.13. Establecimiento del experimento: (a) preparación del terreno utilizando un rotocultivador, (b) conformación manual de las camas de plantación, (c) aplicación de yeso agrícola y (d) aplicación de los tratamientos orgánicos.



Figura 2.14 Establecimiento del experimento: (a) aplicación de productos biológicos, (b) tapado manual de las enmiendas, (c) siembra de zanahoria morada *Deep Purple* y (d) aplicación de riego ligero por goteo.

El seguimiento del experimento consistió en practicar riegos periódicos, una o dos veces por semana, durante todo el ciclo del cultivo. Las malezas se controlaron de forma manual o con ayuda de un azadón como herramienta de cultivo, labores que se realizaron constantemente para eliminar las hierbas que pudieran interferir con el aprovechamiento de los nutrientes aportados por los fertilizantes aplicados y los minerales y materia orgánica propios del suelo; tal como se ejemplifica en la Figura 2.15.



Figura 2.15 Deshierbe manual del cultivo: (a) durante la etapa de emergencia de los dos cotiledones de las plantas, (b) y (c) al presentarse las primeras hojas verdaderas y (d) hacia la mitad del ciclo vegetativo.

Para la prevención y control de plagas y enfermedades de la raíz, tallo y follaje, se realizaron aplicaciones periódicas de productos químicos, botánicos y biológicos recomendados para cultivos orgánicos. La información de los productos utilizados se presenta en la Tabla 2.6, donde se puede consultar la información referente a: el nombre del producto comercial, ingrediente activo o agente de biocontrol, la dosis de aplicación recomendada por el fabricante que respeta los límites de seguridad alimentaria, y la plaga o patógeno que controla o previene.

Tabla 2.6 Productos sugeridos para la prevención y control de plagas y enfermedades de zanahoria morada *Deep Purple* permitidos por la agricultura orgánica.

Producto comercial	Ingrediente activo/agente de biocontrol	Dosis/L de agua	Plaga o patógeno que controla
PHC Meta Tron	<i>Metarhizium anisopliae</i>	2.0 g	Gallina ciega (<i>Phyllophaga</i> spp.) y gusanos trozadores (<i>Agrotis</i> sp., <i>Feltia</i> sp. y otros).
PHC Bea Tron	<i>Beauveria bassiana</i>	2.0 g	Mosquita blanca (<i>Trialeurodes vaporariorum</i>) y trips (<i>Frankliniella occidentalis</i>).
PHC T-22	<i>Trichoderma harzianum</i>	1.0 g	Marchitez vascular (<i>Fusarium oxysporum</i>) y pudrición de la raíz y tallo (<i>Rhizoctonia solani</i>)
Serenade	<i>Bacillus sibtillis</i>	2.0 g	Marchitez vascular (<i>Fusarium oxysporum</i>)
PHC Neem	Azadiractina	3.0 mL	Gusano defoliador (<i>Spodoptera</i> sp.), mosquita blanca y (<i>Trialeurodes vaporariorum</i>)
PHC Bug-balancer	Extracto de ricino	3.0 mL	Gusano defoliador (<i>Spodoptera</i> sp.), mosquita blanca y (<i>Trialeurodes vaporariorum</i>)
Allium	Extracto de ajo	4.0 mL	Gusano defoliador (<i>Spodoptera</i> sp.), y mosquita blanca (<i>Trialeurodes vaporariorum</i>)
Oxicob 85	Oxícloruro de cobre	3.0 g	Mancha foliar (<i>Alternaria</i> sp. y <i>Cercospora</i> sp.)

Los productos insecticidas y fungicidas microbianos se aplicaron al suelo para prevenir el ataque de plagas y patógenos de la raíz y tallo, inmediatamente después de la siembra y posterior a ésta durante el crecimiento de la planta. En la Figura 2.16 se aprecia algunas de las aplicaciones de plaguicidas realizadas durante el ciclo vegetativo del cultivo de zanahoria morada *Deep Purple*, a las 10 y 15 semanas después de la siembra (sds), aproximadamente.



Figura 2.16 Aplicación de plaguicidas para el control de plagas y prevención de enfermedades del follaje de Deep Purple bajo manejo orgánico: (a) a las 10 sds y (b) a las 15 sds.

2.1.3 Recolección de la zanahoria morada y obtención de datos de estudio

Al final del ciclo vegetativo de cada cultivo, es decir, de las variedades *Deep Purple* y *Purple Snax*, con manejo de fertilización química y orgánica, en ambos casos se realizó la cosecha de las zanahorias y se determinó el rendimiento en campo.

Previamente, se recolectaron 10 plantas seleccionadas de la zona central de cada unidad experimental para la obtención de datos agronómicos de las zanahorias y extractos de pigmento para la determinación del contenido de antocianinas como se indicó anteriormente. Los datos agronómicos fueron los siguientes y se obtuvieron de acuerdo con lo indicado.

Peso en fresco de la raíz. Se tomaron 10 raíces de cada unidad experimental. En seguida, se separaron las partes de las plantas; raíz y hojas a los 150 días después de la plantación. Cada una de las partes de las plantas, se pesaron en una balanza digital de 4500 g de capacidad; el peso en fresco se expresó en gramos.

Peso en fresco del follaje. Se tomaron 10 plantas de cada unidad experimental. En seguida, se separaron las partes de las plantas; raíz y hojas a los 150 días después de la siembra (dds). Cada una de las partes de las plantas, se pesaron en una balanza digital de 4500 g de capacidad; el peso en fresco se expresó en gramos.

Peso de la planta. Se calculó sumando los promedios de los datos recabados en campo y sometidos a análisis estadístico mediante la prueba estadística Duncán de los pesos frescos de raíz y de follaje.

Longitud de la raíz. Con un flexómetro se tomó la longitud de 10 plantas, midiendo desde la base de la cabeza hasta la punta de la raíz pivotante.

Diámetro de la raíz. Se le realizó un corte transversal de 10 zanahorias a 2 cm de la base de la cabeza para en seguida con ayuda de un flexómetro medir transversalmente el diámetro interno de la raíz carnosa.

Altura de follaje. Con una regla graduada se tomó la altura de 10 plantas escogidas al azar de la parte central de cada unidad experimental, midiendo desde la base del tallo hasta el ápice de la hoja de mayor longitud.

Número de hojas. Se contaron manualmente las hojas que conformaron el follaje de 10 zanahorias por cada unidad experimental.

En la Figura 2.17, se puede visualizar como se realizó la toma de datos agronómicos por planta y tratamiento del estudio, incluyendo las muestras extraídas, la medición del peso de la raíz, la medición del peso del follaje, la medición de la longitud de la raíz, la medición del diámetro de la raíz y la medición de la longitud del follaje, particularmente del cultivo con manejo de fertilización orgánica.



Figura 2.17 Toma de datos agronómicos por planta y tratamiento de estudio: (a) muestras extraídas, (b) medición del peso de la raíz, (c) medición del peso del follaje, (d) medición de la longitud de la raíz, (e) medición diámetro de la raíz y (f) medición de la longitud del follaje.

2.2 Obtención del extracto de zanahoria morada y determinación del contenido de antocianinas

Previamente al proceso de extracción, las zanahorias moradas fueron llevadas al laboratorio, lavadas y desinfectadas con una sal de amonio cuaternaria concentrada. El desinfectante se preparó en disolución a una concentración de 2mL/L, en la cual se sumergieron las zanahorias durante 1h. A continuación, en la Figura 2.18 se pueden apreciar zanahorias obtenidas del suelo y de una muestra de zanahoria lavada y desinfectada.



Figura 2.18 Zanahoria morada *Deep Purple*: a) muestra obtenida en campo y b) zanahoria lavada y desinfectada.

La extracción de las antocianinas de la zanahoria morada se realizó llevando a cabo dos extracciones consecutivas de pigmento por muestra. En la primera extracción se pesó una muestra de 500 g de zanahoria morada y se licuó con 2 L de agua destilada acidificada a pH 3, en seguida se colocó el licuado en agitación por 1 h. Pasado el tiempo se separó el sobrenadante con ayuda de un colador y se enjuagó ligeramente el bagazo con el agua acidificada y se prensó manualmente.

Para la segunda extracción, el residuo prensado fue colocado en agitación en un recipiente hasta completar 1.5 L de volumen total de agua acidificada, durante media hora. Terminado el tiempo, el zumo y el bagazo se separaron de la misma forma que se realizó después de la primera extracción. Una vez obtenido el extracto se procedió a su clarificación mediante filtración a vacío con tierra Diatomea.

A partir de los extractos de zanahoria se realizó la medición del porcentaje del contenido de antocianinas mediante la técnica espectrofotométrica UV-Vis.

Para la determinación de antocianinas se preparó una disolución madre del extracto al 1 % v/v usando como disolvente una solución buffer con pH 3. A partir de la disolución madre se realizó una disolución del pigmento al 20% v/v preparada con la misma solución buffer, de la cual se tomó una alícuota de pigmento de 3 mL para determinar la absorbancia en cada caso. Como blanco se utilizó la solución buffer.

Para determinar el contenido de antocianinas de cada muestra, se utilizó la absorbancia medida a través del espectrofotómetro Uv-vis y se multiplicó por un factor de conversión para obtener la intensidad de luz; la cual a su vez se dividió por un segundo factor de conversión, obteniéndose así el porcentaje de antocianinas.

El porcentaje de antocianinas se expresó, en cumplimiento del Reglamento Europeo 231/2012, sobre la base de la intensidad del color bajo “E 163 antocianina”, por el que se establecen criterios específicos de pureza de aditivos.

A continuación, en las Figuras 2.19, 2.20, 2.21 y 2.22, se presentan evidencias fotográficas que muestran los pasos seguidos durante el proceso extractivo y de purificación del pigmento de zanahoria morada de las variedades en estudio, las cuales incluyen: la pesada y molienda de la muestra; la primera y segunda extracción del pigmento de zanahoria morada; la preparación de la torta de filtrado para la clarificación del extracto; la clarificación de los extractos de zanahoria morada; y el extracto del pigmento y bagazo en proceso de secado de la zanahoria morada de las variedades *Deep Purple* y *Purple Snax*, respectivamente.



Figura 2.19 Preparación de la muestra: (a) pesada de la muestra de zanahoria morada y (b) molienda de la masa pesada hasta obtener una trituración fina.



Figura 2.20 Proceso de extracción del pigmento de la zanahoria morada: (a) primera extracción del pigmento y reposo del primer macerado y (b) segunda extracción de las misma muestra y separación del sobrenadante después del tiempo de maceración.



Figura 2.21 Clarificación de los extractos de zanahoria morada mediante filtración a vacío con tierra Diatomea.



Figura 2.22 Productos finales extractivos. (a) pesada de la mezcla de los extractos de pigmento y (b) residuo de bagazo de las zanahorias moradas *Deep Purple* y *Purple Snax* en proceso de secado.

2.3 Análisis de degradabilidad del pigmento antocianínico por efecto de la temperatura

Para el análisis de degradabilidad por temperatura se mantuvieron las muestras de los extractos a 4 °C y a 12.5 °C, en recipientes bien tapados durante 6 meses; al cabo de ese tiempo se monitoreo la intensidad de color de cada muestra por espectrofotometría UV-Vis y se determinó el porcentaje de antocianinas presentes en los extractos.

2.4 Análisis estadístico

El rendimiento en campo, los datos agronómicos recolectados, así como el porcentaje de antocianinas determinado de cada una de las muestras, fueron analizados

estadísticamente para encontrar posibles diferencias significativas entre las variables de estudio por efecto de los diferentes tratamientos de fertilización.

Los datos obtenidos de cada diseño experimental se sometieron a un análisis de varianza (ANAVA), empleando el paquete estadístico InfoStat para determinar la existencia de diferencias entre medias estadísticas de los tratamientos (Di Rienzo *et al.*, 2015).

En las pruebas de fertilización química, la comparación de promedios de las variables se hizo mediante la prueba estadística de comparación múltiple, LSD (Least significant difference, por sus siglas en inglés) de Fisher al 5% de probabilidad de error. Mientras que en la fertilización orgánica la comparación de promedios de las variables se hizo mediante la prueba estadística de comparación múltiple, Duncan al 10% de probabilidad de error (Steel y Torrie, 1986).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta sección se presentan los resultados obtenidos de los cultivos manejados con fertilización química y orgánica de zanahoria morada, de las variedades *Deep Purple* y *Purple Snax*, analizados mediante las pruebas estadísticas de comparaciones múltiples LSD de Fisher y Duncan; los cuales fueron establecidos a cielo abierto y bajo agricultura protegida, respectivamente, en las instalaciones del ICAMEX en Villa Guerrero, Estado de México. Para una mejor comprensión de los resultados se presentan por separado en los siguientes apartados por tipo de manejo de fertilización y datos de pigmentación de los extractos obtenidos, correspondiente a cada cultivo, seguido del análisis de degradabilidad por temperatura de las antocianinas de los pigmentos extraídos y finalmente, algunas pruebas de aplicación del pigmento en alimentos.

3.1 Cultivo de *Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef. con manejo de fertilización química

En este apartado se exponen los resultados obtenidos del cultivo de zanahoria morada que consideró las variedades *Deep Purple* y *Purple Snax* como factores de estudio y sus características agronómicas como factores de respuesta, las cuales fueron: altura de follaje, longitud y diámetro de raíz, peso fresco de raíz, peso fresco de follaje y rendimiento y antocianinas expresadas como unidades de color; los cuales fueron analizados mediante la prueba estadística LSD de Fisher y se describen a continuación.

3.1.1 Altura de follaje, longitud y diámetro de raíz

Se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas ($p \geq 0.01$) entre dosis de fertilización y el testigo para altura de planta y diámetro de raíz y, significativas ($p \geq 0.05$) para longitud de raíz; Se encontraron diferencias altamente significativas ($p \geq 0.01$) entre la interacción variedad x dosis de fertilización y el testigo T2.5 para, altura de follaje, longitud de raíz y diámetro de raíz y, significativas ($p \geq 0.05$) entre la interacción variedad x dosis de fertilización y el testigo T1.5 para longitud de raíz, diámetro de raíz y altura de follaje. No hubo significancia estadística ($p \geq 0.05$) en la interacción variedad x dosis de fertilización para longitud de raíz con la variedad *Deep Purple*.

A continuación, en la Tabla 3.1 se aprecia que no hubo efecto varietal sobre altura de planta, longitud y diámetro de raíz, ya que los valores de estas tres variables de estudio fueron estadísticamente iguales en las dos variedades de zanahoria morada.

Tabla 3.1 Medias estadísticas de altura de planta, longitud de raíz y diámetro de raíz por variedad de zanahoria.

Variedad	Altura de planta (cm)	Longitud de raíz (cm)	Diámetro de raíz (cm)
1. <i>Deep Purple</i>	55.24 a	25.06 a	3.30 a
2. <i>Purple Snax</i>	49.81 a	25.37 a	3.04 a

LSD de Fisher ($p > 0.05$). Medias con una letra común no son significativamente diferentes.

Por el contrario, se observó un efecto positivo de las dosis de fertilización sobre estos componentes. Para altura de planta las cuatro dosis ensayadas superaron al testigo y el mejor tratamiento fue $120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}300\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{-}20\text{Mg}^{2+}\text{-}8\text{B}^{-1}$ (T2); para diámetro de raíz, $120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}200\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{-}20\text{Mg}^{2+}\text{-}10\text{B}^{-1}$ (T1) y T2, resultaron ser los mejores tratamientos sin significancia entre ellos, sin embargo, para longitud de raíz, aunque los cuatro tratamientos de fertilización química superaron al testigo y no hubo diferencia estadística significativa entre ellos, tal como se muestra en la Tabla 3.2., la

mayor longitud de raíz promedio se obtuvo con la aplicación del tratamiento T1. Del análisis estadístico también se puede apreciar que, en promedio, las plantas alcanzaron la mayor altura de planta, longitud de raíz y diámetro de raíz, al incrementar la dosis de K^{1+} de 200 a 300 Kg/ha y disminuir la dosis de B^{-1} de 10 a 8 Kg/ha; efecto que no se cumplió para dosis mayores de K^{1+} y menores de B^{-1} ya que, los valores de las variables de respuesta tendieron a disminuir.

Tabla 3.2 Medias estadísticas de altura de planta, longitud de raíz y diámetro de raíz debido a la dosis de fertilización química.

T	Dosis de fertilización química (Kg/ha)	Altura de planta (cm)	Longitud de raíz (cm)	Diámetro de raíz (cm)
1	120N ⁻³ -85P ⁻³ -200K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -10B ⁻¹	55.67 ab	26.71 a	3.35 a
2	120N ⁻³ -85P ⁻³ -300K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -8B ⁻¹	60.08 a	26.29 a	3.35 a
3	120N ⁻³ -85P ⁻³ -350K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -6B ⁻¹	49.38 bc	25.19 a	3.02 bc
4	120N ⁻³ -85P ⁻³ -400K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -4B ⁻¹	54.52 ab	25.73 a	3.30 ab
5	Testigo	42.98 c	22.14 b	2.75 c

LSD de Fisher ($p>0.05$). Medias con una letra común no son significativamente diferentes. T=tratamiento.

Al hacer la comparación de promedios de la interacción variedad x dosis de fertilización, se encontró que para el factor de respuesta altura de planta, la combinación de T1.2 (*Deep Purple* + 120N⁻³-85P⁻³-300K¹⁺-50Ca²⁺+20Mg²⁺-8B⁻¹) mostró la mayor diferencia de medias significativa, seguido de los tratamientos T2.1 (*Purple Snax* + 120N⁻³-85P⁻³-200K¹⁺-50Ca²⁺-20Mg²⁺-10B⁻¹), T1.1 (*Deep Purple* + 120N⁻³-85P⁻³-200K¹⁺-50Ca²⁺-20Mg²⁺-10B⁻¹), T1.4, T2.2 y T2.4. Para longitud de raíz, todas las combinaciones de variedad x dosis de fertilización fueron mejores que el testigo; pero, la combinación T2.1 (*Purple Snax* + 120N⁻³-85P⁻³-200K¹⁺-50Ca²⁺-20Mg²⁺-10B⁻¹) fue la que produjo la mayor longitud de raíz, seguida de T1.2 (*Deep Purple* + 120N⁻³-85P⁻³-300K¹⁺-50Ca²⁺-20Mg²⁺-8B⁻¹), T2.4 (*Purple Snax* + 120N⁻³-85P⁻³-400K¹⁺-50Ca²⁺-20Mg²⁺-4B⁻¹), T2.3, T2.2, T1.1, T1.4 y T1.3 que mostraron igualdad estadística y por tanto no se detectó una diferencia de medias significativa. Mientras

que, para diámetro de raíz T1.2 (*Deep Purple* + 120N⁻³-85P⁻³-300K¹⁺-50Ca²⁺-20Mg²⁺-8B⁻¹) presentó la mayor diferencia de medias significativa, los demás tratamientos químicos combinados con la variedad *Deep Purple* presentaron igualdad estadística con el testigo T1.5.

Tabla 3.3 Medias estadísticas de altura de planta, longitud y diámetro de raíz debido a la interacción variedad x dosis de fertilización química.

T	Variedad + dosis de fertilización química (Kg/ha)	AP (cm)	LR (cm)	DR (cm)
1.1	<i>Deep Purple</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -200K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -10B ⁻¹	55.63 ab	25.91 ab	3.29 ab
1.2	<i>Deep Purple</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -300K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -8B ⁻¹	65.40 a	26.64 ab	3.66 a
1.3	<i>Deep Purple</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -350K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -6B ⁻¹	50.41 b	24.31 ab	3.15 ab
1.4	<i>Deep Purple</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -400K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -4B ⁻¹	54.93 ab	24.94 ab	3.26 ab
1.5	Testigo 1	49.86 b	23.48 bc	3.15 ab
2.1	<i>Purple Snax</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -200K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -10B ⁻¹	55.72 ab	27.50 a	3.41 ab
2.2	<i>Purple Snax</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -300K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -8B ⁻¹	54.76 ab	25.94 ab	3.20 ab
2.3	<i>Purple Snax</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -350K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -6B ⁻¹	48.35 b	26.07 ab	2.88 b
2.4	<i>Purple Snax</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -400K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -4B ⁻¹	54.10 ab	26.52 ab	3.35 ab
2.5	Testigo 2	36.11 c	23.92 c	2.70 c

LSD de Fisher (p>0.05). Medias con una letra común no son significativamente diferentes.

T=tratamiento. AP= Altura de planta, LR= Longitud de raíz, DR= Diámetro de raíz.

En resumen, las combinaciones T1.2 (*Deep Purple* + 120N⁻³-85P⁻³-300K¹⁺-50Ca²⁺-20Mg²⁺-8B⁻¹) y T2.1 (*Purple Snax* 120N⁻³-85P⁻³-200K¹⁺-50Ca²⁺-20Mg²⁺-10B⁻¹) tuvieron mayor efecto sobre la altura de planta, longitud y diámetro de raíz de zanahoria morada, como se aprecia en la Tabla 3.3. Por lo tanto, aunque las dos variedades de zanahoria morada en estudio pertenecen a la misma especie, el requerimiento nutricional de K y de B depende de cada variedad en particular, para alcanzar su máximo desarrollo y crecimiento.

García, (2014), en su trabajo de investigación para evaluar la dinámica nutrimental en el cultivo de zanahoria morada (*Daucus carota* L. hibr. *Deep purple* F1), mediante muestreos de raíz y hojas, durante las etapas fenológicas del cultivo que tomó como las épocas de aplicación de fertilizantes, siguiendo tres tratamientos: tratamiento I (programa nutricional recomendado de una casa comercial, 126N⁻³-142P⁻³-243K¹⁺-136Ca²⁺-66Mg²⁺-1B⁻¹ Kg/ha, más: microelementos; ácidos orgánicos, húmicos y fúlvicos; aminoácidos y enzimas orgánicas), tratamiento II (programa de nutrición tradicional de una finca, 165N⁻³-144P⁻³-243K¹⁺-84Ca²⁺-8Mg²⁺-1B⁻¹ Kg/ha, más: microelementos, ácidos orgánicos y aminoácidos) y tratamiento III (1117 Kg/ha de materia orgánica incorporada en la preparación del suelo); encontró que al analizar la longitud de raíz, mediante un análisis de varianza y la prueba de Turkey, con el tratamiento I (14.75 cm promedio), estadísticamente obtuvo un aumento del 4.3%, sobre el tratamiento II (14.13 cm promedio), y valores parciales de diámetro que no fueron sujetos de muestreos completos que oscilaron entre los 2.5 y 3.0 cm. Atribuyó la mayor homogeneidad en la longitud de raíz, principalmente al P⁻³ que aceleró el crecimiento de las raíces y la maduración; la homogeneidad del engrosamiento con el mayor nivel de Ca²⁺, debido a que el calcio es necesario para el desarrollo apropiado de raíces y membranas celulares; el aumento de N⁻³ con una disminución de longitud de raíz; y al B⁻¹, con el índice de cosecha en menor tiempo.

Comparando los resultados obtenidos de la variedad *Deep Purple* con los de García (2014) encontramos que, al disminuir la dosis de Ca²⁺ (de 136 a 50 Kg/ha) y aumentar

la dosis de B⁻¹ (de 1 a 8 Kg/ha), incrementó 44.63% la longitud de raíz y 33.09% el diámetro de la raíz. Resultados que concuerdan con Singh *et al.*, (2012), al indicar que la deficiencia de B⁻¹ conduce al crecimiento de raíces pequeñas y la concentración de otros micronutrientes como el Ca²⁺ disminuye. Además, altas dosis de N⁻³ pueden conducir a un desarrollo desequilibrado entre la altura de follaje y la longitud de raíz, produciendo una disminución del tamaño y la concentración de azúcares, ya que la transferencia de azúcares hacia las raíces queda afectada de alguna manera. Díaz *et al.*, (2011), mencionan que las plantas absorben NO₃⁻¹ desde el suelo y son capaces de mantener concentraciones mayores de este ion en sus células o en la savia xilemática. Para esto, el NO₃⁻¹ atraviesa la membrana plasmática de células epiteliales de la raíz mediante transportadores específicos con gasto de energía (ATP), lo que puede llevar a un excesivo desarrollo de follaje y un crecimiento rezagado en la raíz.

3.1.2 Peso fresco de planta y sus componentes

Se observaron diferencias estadísticas altamente significativas ($p \geq 0.01$) entre las dosis de fertilización y el testigo para peso fresco de raíz y planta, y significativas ($p \geq 0.05$) en peso fresco de follaje. También se observaron diferencias altamente significativas ($p \geq 0.01$) entre la interacción variedad x dosis de fertilización y el testigo T2.5 para, peso fresco de raíz, peso fresco de follaje y peso fresco de planta y, significativas ($p \geq 0.05$) entre la interacción variedad x dosis de fertilización y el testigo T1.5 para peso fresco de planta, peso fresco de raíz y peso fresco de follaje. No se observaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre variedades y ni entre bloques.

Al igual que en altura de planta, longitud y diámetro de raíz, tampoco se observó efecto varietal sobre el peso fresco de planta y sus componentes, como se indica en la Tabla 3.4.

Tabla 3.4 Medias estadísticas de peso fresco de raíz, follaje y planta por variedad de zanahoria morada.

Variedad	Peso fresco raíz (g)	Peso fresco follaje (g)	Peso fresco planta (g)
1. <i>Deep Purple</i>	92.19 a	21.37 a	114.10 a
2. <i>Purple Snax</i>	94.19 a	18.47 a	112.66 a

LSD Fisher ($p > 0.05$). Medias con una letra común no son significativamente diferentes.

Aunque, nuevamente la fertilización química influyó en los pesos frescos de raíz, follaje y planta; para peso fresco de raíz y peso fresco de planta, los tratamientos T2 ($120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}300\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{-}20\text{Mg}^{2+}\text{-}8\text{B}^{-1}$) y T1 ($120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}200\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{-}20\text{Mg}^{2+}\text{-}10\text{B}^{-1}$) fueron los mejores en lo que respecta a la interacción variedad x dosis de fertilización, medias que no mostraron diferencias significativas entre ellas, seguidos por el tratamiento T4 ($120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}400\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{-}20\text{Mg}^{2+}\text{-}4\text{B}^{-1}$). En cambio, para peso fresco de follaje, el mejor tratamiento fue T2 ($120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}300\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{-}20\text{Mg}^{2+}\text{-}8\text{B}^{-1}$), seguido de T1 ($120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}200\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{-}20\text{Mg}^{2+}\text{-}10\text{B}^{-1}$), el resto de los tratamientos y el testigo no mostraron diferencias significativas entre ellos. En la Tabla 3.5, se puede observar que el tratamiento T2 ($120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}300\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{-}20\text{Mg}^{2+}\text{-}8\text{B}^{-1}$) presentó el mayor efecto sobre los factores de respuesta peso fresco de raíz, follaje y planta.

Del análisis estadístico también se puede apreciar que, al incrementar la dosis de K^{1+} de 200 a 300 Kg/ha y disminuir la dosis de B^{-1} de 10 a 8 Kg/ha, las raíces de zanahoria alcanzaron los valores máximo promedio de peso fresco de raíz, peso fresco de follaje y peso fresco de planta, y los pesos aumentaron en 6.88%, 23.98% y 10.39%, respectivamente; efecto no observable para dosis mayores de K^{1+} y menores de B^{-1} ya que, los valores de las variables de respuesta tendieron a disminuir 41.29%, 95.96% y 49.90% para peso fresco de raíz, peso fresco de follaje y peso fresco de planta, respectivamente.

Tabla 3.5 Medias estadísticas de peso fresco de raíz, peso fresco de follaje y peso fresco de planta debido a la dosis de fertilización química.

T	Dosis de fertilización química (Kg/ha)	Peso fresco raíz (g)	Peso fresco follaje (g)	Peso fresco planta (g)
1	120N ⁻³ -85P ⁻³ -200K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -10B ⁻¹	104.61 a	22.51 ab	127.11 a
2	120N ⁻³ -85P ⁻³ -300K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -8B ⁻¹	112.24 a	29.61 a	141.84 a
3	120N ⁻³ -85P ⁻³ -350K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -6B ⁻¹	79.51 bc	15.11 b	94.62 bc
4	120N ⁻³ -85P ⁻³ -400K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -4B ⁻¹	102.72 ab	19.47 b	122.19 ab
5	Testigo	68.23 c	12.92 b	81.15 c

LSD Fisher (p>0.05). Medias con una letra común no son significativamente diferentes. T=tratamiento.

En la Tabla 3.6, se puede observar que se realizó la comparación de medias de la interacción variedad x dosis de fertilización y resultó que para el factor de respuesta peso fresco de raíz, la combinación de los tratamientos T1.2 (*Deep Purple* + 120N⁻³-85P⁻³-300K¹⁺-50Ca²⁺+20Mg²⁺-8B⁻¹) y T2.1 (*Purple Snax* + 120N⁻³-85P⁻³-200K¹⁺-50Ca²⁺-20Mg²⁺-10B⁻¹) y mostraron la mayor diferencia de medias significativa al resto de los tratamientos, pero sin diferencia entre ellas; seguidos de T2.4 (*Purple Snax* + 120N⁻³-85P⁻³-400K¹⁺-50Ca²⁺-20Mg²⁺-4B⁻¹), los cuales superaron a los testigos T1.5 y T2. Para peso fresco de follaje, el tratamiento T1.2 (*Deep Purple* + 120N⁻³-85P⁻³-300K¹⁺-50Ca²⁺-20Mg²⁺-8B⁻¹), observó la mayor diferencia estadística, seguida de las combinaciones T2.1, T2.2 y T1.4, que no presentaron diferencias estadísticas entre ellas. Para peso fresco de planta, la interacción T1.2 (*Deep Purple* + 120N⁻³-85P⁻³-300K¹⁺-50Ca²⁺-20Mg²⁺-8B⁻¹), tuvo el mayor efecto sobre dicho factor de respuesta, seguido de las combinaciones T2.1, T2.4 y T2.2, las cuales no fueron significativamente diferentes entre las mismas. Cabe mencionar que, por bloques, todos los tratamientos superaron a los testigos T1.5 y T2.5, para los tres factores de respuesta. De estos resultados se puede destacar que, dado que las combinaciones T1.2 y T2.1 fueron las que tuvieron mayor efecto sobre el peso fresco de raíz de las zanahorias, podría ser predecible que estas mismas combinaciones tengan un fuerte impacto sobre el rendimiento biológico de las raíces.

Tabla 3.6. Medias estadísticas de peso fresco de raíz, peso fresco de follaje y peso fresco de planta debido a la interacción variedad x dosis de fertilización química.

T	Variedad + dosis de fertilización química (Kg/ha)	PFR (g)	PFFo (g)	PFP (g)
1.1	<i>Deep Purple</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -200K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -10B ⁻¹	88.38 abc	18.49 b	106.87 abc
1.2	<i>Deep Purple</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -300K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -8B ⁻¹	121.89 a	35.91 a	157.80 a
1.3	<i>Deep Purple</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -350K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -6B ⁻¹	81.08 bc	15.44 b	96.52 bc
1.4	<i>Deep Purple</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -400K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -4B ⁻¹	93.07 abc	20.44 ab	113.52 abc
1.5	Testigo 1	79.23 bc	16.57 b	95.80 bc
2.1	<i>Purple Snax</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -200K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -10B ⁻¹	120.83 a	26.53 ab	147.36 ab
2.2	<i>Purple Snax</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -300K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -8B ⁻¹	102.59 abc	23.31 ab	125.89 ab
2.3	<i>Purple Snax</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -350K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -6B ⁻¹	77.94 bc	14.78 b	92.72 bc
2.4	<i>Purple Snax</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -400K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -4B ⁻¹	112.37 ab	18.49 b	130.56 ab
2.5	Testigo 2	57.23 c	9.27 b	66.49 c

LSD Fisher (p>0.05). Medias con una letra común no son significativamente diferentes. T=Tratamiento, PFR= Peso fresco de raíz, PFFo= Peso fresco de follaje, PFP = Peso fresco de planta.

3.1.3 Rendimiento y contenido de antocianinas en fresco

Únicamente hubo diferencias estadísticas altamente significativas (p≥0.01) entre variedades para el contenido de antocianinas en las raíces. Mientras que, existieron diferencias estadísticas altamente significativas (p≥0.01) entre dosis de fertilización y el testigo para rendimiento y significativas (p≥0.05) en contenido de antocianinas. En

cambio, se observaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) en la interacción variedad x dosis de fertilización para rendimiento de raíz y contenido de antocianinas en la raíz de las zanahorias moradas.

Estadísticamente, no se encontraron diferencias en las medias para rendimiento en fresco de raíz entre las dos variedades de zanahoria morada estudiadas *Deep Purple* y *Purple Snax*, ya que, solo hubo una diferencia de 1,988.32 kg de peso por hectárea. Por el contrario, para el contenido de antocianinas, *Deep Purple* superó a *Purple Snax* en un 59%, como se puede ver en la Tabla 3.7. La variedad de zanahoria morada *Deep Purple* presentó un efecto positivo tanto en rendimiento como en contenido de antocianinas.

Tabla 3.7 Medias estadísticas de rendimiento en fresco de raíz y contenido de antocianinas por variedad de zanahoria morada.

Variedad	Rendimiento (kg/ha)	Antocianinas (unidades de color)
1. <i>Deep Purple</i>	69821.56 a	12.38 a
2. <i>Purple Snax</i>	67833.24 a	5.06 b

LSD Fisher ($p > 0.05$). Medias con una letra común no son significativamente diferentes.

En cuanto al efecto de la dosis de fertilización química sobre el rendimiento y el contenido de antocianinas, en la Tabla 3.8 se puede apreciar como el tratamiento T2 ($120N^{-3}-85P^{-3}-300K^{1+}-50Ca^{2+}-20Mg^{2+}-8B^{-1}$) provocó el mayor contenido de antocianinas en la raíz, tratamiento de fertilización química que consistió de 300 Kg/ha de potasio (K^{1+}) y 8 Kg/ha de boro (B^{-1}). Singh y colaboradores (2012), reportaron que el B^{-1} y el calcio Ca^{2+} funcionan como nutrientes inductores de la producción de antocianinas en zanahoria morada. Seguido del tratamiento T2, el tratamiento T4 ($120N^{-3}-85P^{-3}-400K^{1+}-50Ca^{2+}-20Mg^{2+}-4B^{-1}$) presentó diferencias significativas con T1 y T3, pero no con el testigo T5 con el que resultó estadísticamente igual. Estos dos tratamientos T1 y T4, con las más altas diferencias significativas, consistieron de dosis altas de K^{1+} y bajas de B^{-1} , por lo que es posible que también el K^{1+} en dosis altas influya en el incremento de antocianinas en la raíz de zanahoria morada. Para

rendimiento, T1 ($120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}200\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{-}20\text{Mg}^{2+}\text{-}10\text{B}^{-1}$) y T2 ($120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}300\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{-}20\text{Mg}^{2+}\text{-}8\text{B}^{-1}$) observaron las mayores diferencias significativas, respecto al resto de los tratamientos, pero con igualdad estadística entre ellos mismos; seguidos del tratamiento T4 ($120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}400\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{-}20\text{Mg}^{2+}\text{-}4\text{B}^{-1}$), que también resultó estadísticamente diferente. Todos los tratamientos superaron al testigo T5.

Tabla 3.8 Medias estadísticas de rendimiento en fresco de raíz y contenido de antocianinas en raíces por dosis de fertilización química.

T	Dosis de fertilización química (Kg/ha)	Rendimiento (kg/ha)	Antocianinas (unidades de color)
1	$120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}200\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{-}20\text{Mg}^{2+}\text{-}10\text{B}^{-1}$	89403.00 a	7.96 b
2	$120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}300\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{-}20\text{Mg}^{2+}\text{-}8\text{B}^{-1}$	87928.53 a	10.08 a
3	$120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}350\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{-}20\text{Mg}^{2+}\text{-}6\text{B}^{-1}$	56500.41 bc	8.35 b
4	$120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}400\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{-}20\text{Mg}^{2+}\text{-}4\text{B}^{-1}$	72449.65 ab	8.61 ab
5	Testigo	37855.42 c	8.61 ab

LSD Fisher ($p>0.05$). Medias con una letra común no son significativamente diferentes. T=tratamiento.

En la Tabla 3.9 se puede observar que se realizó la comparación de medias de la interacción variedad x dosis de fertilización, en donde para el factor de respuesta rendimiento fresco de raíz, la combinación del tratamiento T2.1 (*Purple Snax* + $120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}200\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{-}20\text{Mg}^{2+}\text{-}10\text{B}^{-1}$) produjo la mayor diferencia significativa, seguida del tratamiento T1.2 (*Deep Purple* + $120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}300\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{-}20\text{Mg}^{2+}\text{-}8\text{B}^{-1}$). La aplicación del tratamiento T2.1 al cultivo, permitió producir 106333.04 Kg/ha, superando al testigo del segundo bloque T2.5 en un 72.01%; mientras que la aplicación del tratamiento T1.2 al cultivo, permitió producir 99945.65 Kg/ha, superando al testigo del primer bloque T1.5 en un 46.02%. Por bloques se observa que todos los tratamientos superaron a los testigos. Además, estos resultados confirman la relación directa que existe entre los factores de respuesta peso fresco de raíz y rendimiento fresco de raíz, ya que los valores promedio de ambos tratamientos T2.1 y T1.2 registraron las más altas diferencias significativas, es decir que estas dosis de

fertilización química favorecieron el crecimiento de las zanahorias, lo que impactó directa y positivamente el rendimiento biológico de los cultivos. Para el contenido de antocianinas, la interacción variedad x dosis de fertilización que mostró mayor diferencia significativa fue la combinación del tratamiento T1.2 (*Deep Purple* + 120N^{-3} - 85P^{-3} - 300K^{1+} - 50Ca^{2+} - 20Mg^{2+} - 8B^{-1}), siguiéndole T1.4 (*Deep Purple* + 120N^{-3} - 85P^{-3} - 400K^{1+} - 50Ca^{2+} - 20Mg^{2+} - 4B^{-1}) y el testigo T1.5. Por otro lado, la combinación de la variedad *Purple Snax* y los diferentes tratamientos de fertilización química T2.1, T2.2, T2.3 y T2.4, incluyendo el testigo T2.5, no presentaron medias con diferencia significativa, es decir, no influyeron en la producción de antocianinas en las raíces, ya que presentaron igualdad estadística entre ellos mismos.

Dado el análisis de los resultados anteriores, se puede decir que no hubo efecto varietal sobre el contenido de antocianinas en las raíces de las zanahorias, pero si lo hubo en cuanto al rendimiento biológico en fresco; de manera que, la combinación de la variedad *Deep Purple* y el tratamiento de fertilización T1.2 (120N^{-3} - 85P^{-3} - 300K^{1+} - 50Ca^{2+} - 20Mg^{2+} - 8B^{-1}), no solo incrementó el rendimiento fresco de raíz, sino también la producción de antocianinas en las mismas. Además, a partir del análisis estadístico también se puede decir que, al incrementar la dosis de K^{1+} de 200 a 350 Kg/ha y de B^{-1} de 8 a 10 Kg/ha, las raíces de zanahoria alcanzaron los valores mínimos promedio del rendimiento y unidades de color de antocianinas, disminuyendo 58.23% y 26.63%, respectivamente.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Singh *et al.* (2012), quienes encontraron que la combinación de la interacción de variedades de zanahoria morada x dosis de fertilización química incrementó el contenido de antocianinas en las raíces efecto positivo de la nutrición química que lo atribuyeron a la sinergia de los elementos Ca^{2+} y B^{-1} .

Tabla 3.9 Medias estadísticas de rendimiento en fresco de raíces y contenido de antocianinas debido a la interacción variedad x dosis de fertilización química.

T	Variedad + dosis de fertilización química (Kg/ha)	Rendimiento (kg/ha)	Antocianinas (unidades de color)
1.1	<i>Deep Purple</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -200K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -10B ⁻¹	72472.97 bc	11.10 b
1.2	<i>Deep Purple</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -300K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -8B ⁻¹	99945.65 ab	14.15 a
1.3	<i>Deep Purple</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -350K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -6B ⁻¹	60001.17 cd	11.31 b
1.4	<i>Deep Purple</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -400K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -4B ⁻¹	70735.99 bc	12.83 ab
1.5	Testigo 1	45999.05 cd	12.51 ab
2.1	<i>Purple Snax</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -200K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -10B ⁻¹	106333.04 a	4.82 c
2.2	<i>Purple Snax</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -300K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -8B ⁻¹	75911.42 bc	6.00 c
2.3	<i>Purple Snax</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -350K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -6B ⁻¹	52999.65 cd	5.40 c
2.4	<i>Purple Snax</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -400K ¹⁺ -50Ca ²⁺ -20Mg ²⁺ -4B ⁻¹	74163.32 bc	4.38 c
2.5	Testigo 2	29758.79 d	4.71 c

LSD Fisher ($p > 0.05$). Medias con una letra común no son significativamente diferentes. T=tratamiento.

En cuanto a la determinación del rendimiento biológico del cultivo de *Deep Purple* L. hybr. F1, García *et al.* (2014), reportaron que el tratamiento I (programa nutricional recomendado de una casa comercial, 126N⁻³-142P⁻³-243K¹⁺-136Ca²⁺-66Mg²⁺-1B⁻¹ Kg/ha, más: microelementos; ácidos orgánicos, húmicos y fúlvicos; aminoácidos y enzimas orgánicas), incrementó el rendimiento en un 16% sobre el tratamiento II (programa de nutrición tradicional de una finca, 165N⁻³-144P⁻³-243K¹⁺-84Ca²⁺-8Mg²⁺-1B⁻¹ Kg/ha, más: microelementos, ácidos orgánicos y aminoácidos), y un menor

porcentaje de rechazo, debido a causas como: una deficiente coloración de la raíz, poca extensión en diámetro (engrosamiento) de la raíz y bifurcación de raíces, observación que atribuyó a la aplicación de dosis altas de Ca^{2+} , debido a que el calcio es necesario para el desarrollo apropiado de raíces y membranas celulares.

Al comparar los resultados de la variedad *Deep Purple* con los obtenidos de García (2014) se encontró que, al disminuir la dosis de P^{-3} (de 142 a 85 Kg/ha) y Ca^{2+} (de 136 a 50 Kg/ha), y aumentar las dosis de B^{-1} (de 1 a 8 Kg/ha) y K^{1+} (de 243 a 300 Kg/ha), el rendimiento biológico incrementó 91.32%, de 8672 a 99945 Kg/ha, diferencia significativa que se atribuye principalmente a la deficiencia de B^{-1} ya que, el boro y el calcio son los elementos más importantes para mantener la integridad estructural de la pared celular y la función de las membranas plasmáticas de la raíz, principalmente debido a su capacidad de interactuar con polisacáridos pépticos (Singh *et al.*, 2012), en donde interviene directamente el fósforo, ya que una vez dentro de la raíz se incorpora a compuestos orgánicos como: como ácidos nucleicos (ADN y ARN), fosfoproteínas, fosfolípidos, enzimas y compuestos fosfatados ricos en energía como la adenosina trifosfato (ATF) (IPNI, 2012).

Además, si bien es cierto que el B^{-1} incrementa el rendimiento y mejora la tolerancia a la deshidratación de las células de las zanahorias, también se sabe que su deficiencia resulta en la disminución de las concentraciones de Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^{1+} y NO_3^{-1} , y a la acumulación de compuestos fenólicos (Singh *et al.*, 2012); por lo tanto, en dosis muy bajas de B^{-1} , el resto de los elementos no serán aprovechados por las plantas de zanahoria, afectando negativamente en su crecimiento, rendimiento en consecuencia y cantidad de antocianinas. Paralelamente, Singh *et al.*, 2012, también menciona que, el aumento de Ca^{2+} tiene un impacto negativo sobre estos fitonutrientes, provocando una reducción en su propiedad antioxidante, así como un exceso de N^{-3} podría modificar las concentraciones de carotenoides, vitamina C y de ácidos fenólicos totales en las raíces de zanahoria.

3.1.4 Datos de pigmentación de los extractos obtenidos del cultivo con manejo químico de *Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.

Con respecto a las características de pigmentación de los extractos de zanahoria morada de las variedades *Deep Purple* y *Purple Snax*, en la Tabla 3.10, se presenta las medias estadísticas del porcentaje de antocianinas resultados de las combinaciones por las interacciones variedad x dosis de fertilización química, de acuerdo a los tratamientos establecidos en el diseño experimental.

Tabla 3.10 Medias estadísticas del porcentaje de antocianinas debido a la interacción variedad x dosis de fertilización química.

T	Variedad + dosis de fertilización química (Kg/ha)	Antocianinas (%)
1.1	<i>Deep Purple</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -200K ¹⁺ -10B ⁻¹	0.0438 b
1.2	<i>Deep Purple</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -300K ¹⁺ -8B ⁻¹	0.0542 a
1.3	<i>Deep Purple</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -350K ¹⁺ -6B ⁻¹	0.0428 b
1.4	<i>Deep Purple</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -400K ¹⁺ -4B ⁻¹	0.0502 ab
1.5	Testigo 1	0.0461 ab
2.1	<i>Purple Snax</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -200K ¹⁺ -10B ⁻¹	0.0306 c
2.2	<i>Purple Snax</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -300K ¹⁺ -8B ⁻¹	0.0314 c
2.3	<i>Purple Snax</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -350K ¹⁺ -6B ⁻¹	0.0294 c
2.4	<i>Purple Snax</i> + 120N ⁻³ -85P ⁻³ -400K ¹⁺ -4B	0.0237 c
2.5	Testigo 2	0.0219 c

Duncan (p>0.05). Medias con una letra común no son significativamente diferentes. T=tratamiento.

Se observa que se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas (p≥0.01) entre variedades y el contenido porcentual de antocianinas y significativas (p≥0.05) en contenido de antocianinas en el bloque 1 con la variedad *Deep Purple*. En cambio, no se percibieron diferencias significativas (p≥0.05) en el contenido de

antocianinas en el bloque 2 con la variedad *Purple Snax*. Las diferentes fertilizaciones propuestas en los distintos tratamientos para la variedad *Purple Snax* no influyeron en la producción de antocianinas, ya que presentaron igualdad estadística ($p \geq 0.01$), incluyendo el testigo. El estudio comparativo del contenido de antocianinas entre las dos variedades de semilla de zanahoria, indicó que el mayor porcentaje se encuentra en los extractos de la zanahoria *Deep Purple*, pero también la diferencia entre los datos de las variedades es alta.

Para el contenido de antocianinas, al realizar la comparación de medias estadísticas de la interacción variedad x dosis de fertilización química, la combinación del tratamiento T1.2 (*Deep Purple* + $120\text{N}^{-3}-85\text{P}^{-3}-300\text{K}^{1+}-50\text{Ca}^{2+}-20\text{Mg}^{2+}-8\text{B}^{-1}$), tuvo la mayor diferencia significativa, seguida de T1.4 (*Deep Purple* + $120\text{N}^{-3}-85\text{P}^{-3}-400\text{K}^{1+}-50\text{Ca}^{2+}-20\text{Mg}^{2+}-4\text{B}^{-1}$), tratamiento que presentó igual diferencia significativa con el testigo T1.5, por lo tanto, la aplicación de 300 Kg/ha de K^{1+} y 8 Kg/ha de B^{-1} favoreció el contenido porcentual de antocianinas en las raíces de zanahoria morada para el cultivo de la variedad *Deep Purple*.

3.2 Cultivo de *Daucus carota* L. ssp. *Sativus* con manejo orgánico

En este apartado se presentan los resultados obtenidos del cultivo de zanahoria morada que consideró la variedad *Deep Purple* como factor de estudio y sus características agronómicas como factores de respuesta, las cuales fueron: altura de follaje, longitud y diámetro de raíz, número de hojas, peso fresco de raíz, peso fresco de follaje, peso fresco de planta y rendimiento; los cuales fueron analizados mediante la prueba estadística de Duncan y se describen a continuación.

3.2.1 Altura de follaje, longitud y diámetro de raíz

Se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas ($p \geq 0.01$) entre los tratamientos y el testigo en altura de follaje, longitud y diámetro de raíz, pero no hubo diferencias estadísticas ($p < 0.05$) para número de hojas por planta de zanahoria morada. Para altura de follaje el mejor tratamiento fue T1 (Humus de lombriz 20 t/ha), seguido de T4 (Fertilización química, $120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}200\text{K}^{1+}$) y T2 (Humus de lombriz, 25 t/ha); el tratamiento T3 (Humus de lombriz, 30 t/ha) superó al testigo T5.

En cuanto a longitud de raíz, todos los tratamientos superaron al testigo, y presentaron igualdad estadística. Mientras que, para diámetro de raíz T1 fue mejor que los demás tratamientos y el testigo; T2 y T4 tuvieron el mismo efecto sobre esta variable y fueron mejores que T3 y el testigo T5, como se puede revisar en la Tabla 3.11.

Para altura de follaje, los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con los reportados por Rodríguez (2016), quien adicionó abono verde de nabo aventurero (*Brassica* spp.) para la biofumigación del suelo y con ello incrementó la altura de planta de jitomate con respecto al testigo; esta diferencia de altura se apreció desde las etapas tempranas de desarrollo del cultivo hasta la etapa de fructificación y cosecha de fruto.

También coinciden con lo reportado por Matheus (2004) y Ramírez (2009), quienes encontraron un efecto positivo en altura de planta de maíz y brócoli, respectivamente, con la aplicación de abonos orgánicos; en los dos casos, la fertilización química fue mejor que la orgánica, pero esta última superó al testigo. En coliflor, Ramírez (2009), reportó que la altura de planta alcanzada con la fertilización orgánica fue estadísticamente igual a la lograda con la fertilización química.

Tabla 3.11 Medias estadísticas de altura de planta, longitud de raíz, diámetro de raíz y número de hojas por dosis de fertilización orgánica.

T	Dosis de fertilización orgánica (t/ha)	Altura de follaje (cm)	Longitud de raíz (cm)	Diámetro de raíz (cm)	Número de hojas
1	Humus de lombriz 20	67.66 a	23.37 a	3.48 a	9.40 a
2	Humus de lombriz 25	62.69 ab	24.26 a	3.04 ab	9.50 a
3	Humus de lombriz 30	54.93 b	21.42 a	2.76 bc	8.28 a
4	Fertilización química (120N ⁻³ -85P ⁻³ -200K ¹⁺)	62.95 ab	22.38 a	3.26 ab	9.80 a
5	Testigo	42.25 c	18.20 b	2.18 c	7.30 a

Duncan ($P \leq 0.05$). Medias con una letra común no son significativamente diferentes. T=tratamiento.

Al evaluar el comportamiento agronómico de cuatro hortalizas de fruto con tres abonos orgánicos, Arriaga (2013), reporta una mayor altura de planta en tomate (*Lycopersicum*) a los 60 días con la mezcla 50% humus + 50% lirio acuático con 119.40 cm, el mayor número de frutos en la tercera cosecha en el tratamiento humus de lombriz con 2.83 frutos por planta. Calero *et al.* (2019), evaluaron el efecto de tres bioestimulantes en el comportamiento morfológico y productivo del cultivo de rábano, entre éstos, humus de lombriz lixiviado; los resultados mostraron que la utilización de los tres bioestimulantes en la producción del cultivo de rábano en condiciones organopónicas fue benéfica, ya que mostró efectos positivos en el incremento de la producción media de hojas por planta, en el diámetro de las raíces, la producción de biomasa y el rendimiento biológico. Cofre y Saltos, (2018), evaluaron el rendimiento y la calidad de la zanahoria (*Daucus carota* L.) en dos sistemas de producción orgánico y convencional. Utilizaron un diseño de bloques completos al azar con los tratamientos: T1= 25 t/ha abono orgánico (Sistema orgánico); T2= 92 kg/ha de N, 21 kg/ha de P₂O₅ y 79.5 kg/ha de Ca (Sistema convencional); testigo (T3). Evaluaron variables agronómicas y financieras: altura de planta, incidencia de plagas, longitud de raíz, calidad, rendimiento y la relación Beneficio-Costo (B/C) Las etapas fenológicas del cultivo de la zanahoria como altura de plantas a los 55, 80, 100 y 120 días, diámetros

y longitud de la raíz tuvieron similar comportamiento, tanto en el sistema orgánico como convencional, pero sí hubo diferencias frente al testigo.

3.2.2 Peso fresco de planta y sus componentes

Existieron diferencias estadísticas significativas ($p \geq 0.05$) entre los tratamientos para peso en fresco de raíz y planta, y altamente significativas ($p \geq 0.01$) en peso fresco de follaje de zanahoria morada. En las tres variables de respuesta, el tratamiento T1 (Humus de lombriz, 20 t/ha) fue mejor que el resto de los tratamientos y el testigo T5; en peso fresco de raíz T4 (Fertilización química, $120N^{-3}-85P^{-3}-200K^{1+}$) fue el segundo mejor tratamiento, mientras que T2 (Humus de lombriz, 25 t/ha) y T3 (Humus de lombriz, 30 t/ha) presentaron igualdad estadística; para peso fresco de follaje no hubo diferencia significativa entre T2 y T4, pero si superaron a T3; en lo que se refiere al peso fresco de la planta T2, T3 y T4 fueron estadísticamente igual. Para las tres variables todos los tratamientos superaron significativamente al testigo T5. El peso de raíz influyó en el peso de la planta, ya que tuvieron un comportamiento estadísticamente muy semejante, datos que se pueden apreciar en la Tabla 3.12.

Tabla 3.12 Medias estadísticas de peso en fresco de raíz, follaje y planta de por dosis de fertilización orgánica.

T	Dosis de fertilización orgánica (t/ha)	Peso fresco raíz (g)	Peso fresco follaje (g)	Peso fresco planta (g)
1	Humus de lombriz 20	103.25 a	28.61 a	131.86 a
2	Humus de lombriz 25	75.78 ab	24.69 ab	100.47 ab
3	Humus de lombriz 30	69.45 ab	18.90 b	88.35 ab
4	Fertilización química ($120N^{-3}-85P^{-3}-200K^{1+}$)	91.86 a	26.44 ab	118.30 ab
5	Testigo	37.72 b	9.15 c	46.88 b

Duncan ($P \leq 0.05$). Medias con una letra común no son significativamente diferentes. T=tratamiento.

Resultados similares fueron obtenidos por Bueno y Mendoza (2003), Arcos (2007) y Ramírez (2009), quienes reportaron incrementos significativos de peso fresco de planta en cabezuela de brócoli, lechuga y brócoli, y brócoli y coliflor, respectivamente, con la aplicación de abonos orgánicos. Ramírez (2009), reportó incrementos en el peso fresco de tallo y hojas de brócoli y coliflor. También Rodríguez (2016), logró el aumento de peso fresco de plantas y sus componentes incorporando abono verde de nabo aventurero para la biofumigación del suelo en jitomate. Durand *et al*, (2013), evaluaron la respuesta en el crecimiento y productividad del cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum*) con el empleo de abonos orgánicos y el biofertilizante en producción protegida, encontraron que el mayor número de flores a los 21 días se registró con el tratamiento micorrizas más humus de lombriz con 22.57 flores, el mayor número de frutos a los 63 días se obtuvo en micorrizas más humus de lombriz con 37.28 frutos, el mayor peso de fruta se encontró en micorrizas más humus de lombriz con 295,68 g y con humus 210,48 g.

3.2.3 Rendimiento

En relación al rendimiento del cultivo, se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y el testigo. Los tratamientos T1 (Humus de lombriz, 20 t/ha) y T4 (Fertilización química, $120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}200\text{K}^{1+}$), superaron significativamente a los demás tratamientos de nutrición orgánica y testigo, produciendo 51408 y 45206 kg/ha, respectivamente; seguidos de los tratamientos T2 (Humus de lombriz, 25 t/ha) y T3 (Humus de lombriz, 30 t/ha), que fueron mejores que el testigo T5, tal como se observa en la Tabla 3.13. Estos resultados concuerdan con los resultados reportados por Bueno y Mendoza (2003), Arcos (2007) y Ramírez (2009), quienes lograron incrementos significativos en el rendimiento de cabezuelas de brócoli, brócoli y coliflor, respectivamente, con la aplicación de fertilizantes orgánicos.

Tabla 3.13 Medias estadísticas de rendimiento de raíz en fresco por dosis de fertilización orgánica.

T	Dosis de fertilización (t/ha)	Rendimiento (kg/ha)
1	Humus de lombriz 20	51408 a
2	Humus de lombriz 25	36776 ab
3	Humus de lombriz 30	35706 ab
4	Fertilización química (120N ³ -85P ³ -200K ¹⁺)	45206 a
5	Testigo	20832 b

Duncan ($P \leq 0.05$). Medias con una letra común no son significativamente diferentes. T=tratamiento.

Además de las hortalizas, se han logrado resultados similares en otros cultivos, como maíz (López-Martínez, 2001; Matheus, 2004; Arrieche y Mora, 2005) y algodón (López-Martínez, 2002). En jitomate, Rodríguez (2016), reportó el incremento del rendimiento de frutos con la aplicación de abonos verdes para la biofumigación del suelo. En zanahoria (*Daucus carota* L.), Cofre y Saltos, (2018), evaluaron el rendimiento y su calidad en dos sistemas de producción orgánico y convencional; el rendimiento de los tratamientos fueron diferentes, el orgánico obtuvo 17.81 t/ha, seguido del convencional con 16.11 t/ha y 12.54 t/ha del testigo. De los costos de producción el sistema orgánico fue el más costoso con 3.83 dólares por quintal, luego el convencional con 3.66 dólares por quintal. La mayor rentabilidad se alcanzó con el tratamiento orgánico que tuvo un 109.13%.

3.2.4 Datos de pigmentación del extracto obtenido del cultivo con manejo orgánico de *Daucus carota* L ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.

Con respecto a las características de pigmentación de los extractos de zanahoria morada de la variedad *Deep Purple*, no se encontraron diferencias estadísticas significativas en relación al contenido de antocianinas ($P \geq 0.05$) entre los tratamientos con humus de lombriz (en las tres dosis propuestas), el tratamiento con fertilización

química y el testigo. Sin embargo, el contenido porcentual de antocianinas fue ligeramente mayor en los extractos provenientes del cultivo de la zanahoria sometido al tratamiento T1 (Humus de lombriz, 20 t/ha). A continuación, en la Tabla 3.14 se presentan los resultados promedio sobre el contenido porcentual de antocianinas en los extractos de zanahoria morada provenientes de cada tratamiento.

Tabla 3.14. Porcentaje de antocianinas de los extractos de zanahoria morada *Deep Purple* proveniente del cultivo con manejo orgánico.

T	Dosis de fertilización orgánica (t/ha)	Antocianinas (%)
1	Humus de lombriz 20	0.0543 a
2	Humus de lombriz 25	0.0536 a
3	Humus de lombriz 30	0.0523 a
4	Fertilización química (120N ⁻³ -85P ⁻³ -200 K ¹⁺)	0.0435 a
5	Testigo	0.0461 a

Duncan ($P \leq 0.05$). Medias con una letra común no son significativamente diferentes. T=tratamiento.

No se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P \geq 0.05$) entre los tratamientos y el testigo en relación al contenido de antocianinas en las raíces de zanahoria. Sin embargo, los tratamientos orgánicos superaron ligeramente al tratamiento químico convencional y al testigo, en ese entendido, el valor más alto de antocianinas lo presentó el tratamiento T1 (Humus de lombriz, 20 t/ha).

Cofre y Saltos, (2018), al evaluar el rendimiento y la calidad de *Daucus carota* L. en dos sistemas de producción orgánico y convencional; en cuanto a la calidad, reportaron que la zanahoria orgánica tuvo mejor apariencia con un color naranja brillante característico.

3.3 Degradabilidad de las antocianinas por temperatura de almacenamiento

A continuación, en las Figuras 3.1 y 3.2 se muestran las gráficas comparativas de las diferentes medias estadísticas de los porcentajes de antocianinas calculados por cada unidad experimental y determinados al momento de la extracción del pigmento, tanto del cultivo con manejo químico como del orgánico, que durante 6 meses fueron expuestos a 4 °C y 12.5 °C de temperatura, partiendo de 4°C como temperatura inicial desde el momento de las extracciones de los pigmentos.

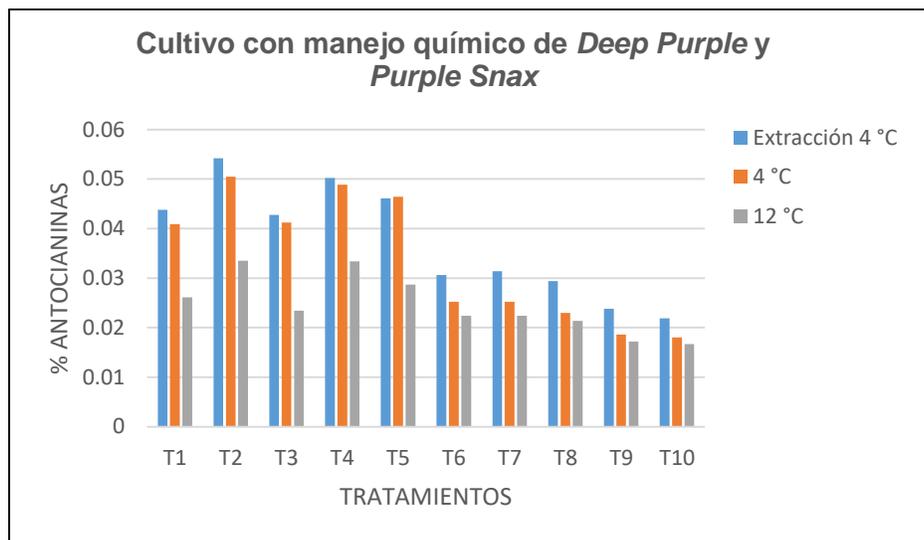


Figura 3.1 Porcentaje de antocianinas calculado por cada unidad experimental al momento de la cosecha y 6 meses después, del cultivo con manejo químico.

Tanto en el cultivo con manejo químico como en el cultivo con manejo orgánico, los extractos conservados a 12.5 °C presentaron degradación, sin embargo, la variedad *Deep Purple* manifestó una menor disminución en el porcentaje de antocianinas, cuando el cultivo se manejó con fertilización orgánica. Por lo que se puede decir que, la variedad *Purple Snax* tuvo mejor respuesta de conservación a esas condiciones de temperatura. Los tratamientos que mayor efecto tuvieron sobre la conservación de las

antocianinas fueron los tratamientos T1 (120N⁻³-85P⁻³-200K¹⁺-10B) y T6 (120N⁻³-85P⁻³-200K¹⁺-10B⁻¹) para las variedades *Deep Purple* y *Purple Snax*, respectivamente, en el cultivo con manejo convencional y el tratamiento T1 (120N⁻³-85P⁻³-200K¹⁺-10B⁻¹) para la variedad *Deep Purple* en el cultivo con manejo orgánico.

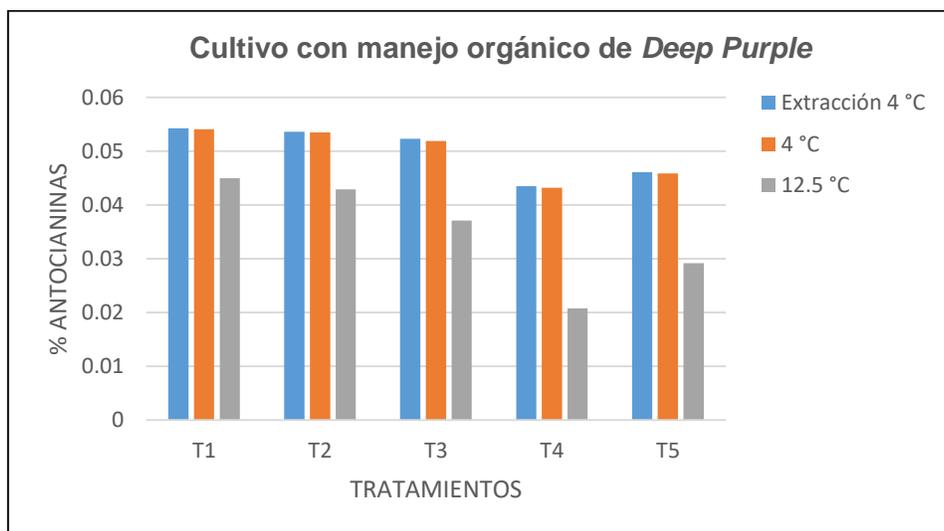


Figura 3.2 Porcentaje de antocianinas calculado por cada unidad experimental al momento de la cosecha y 6 meses después, del cultivo con manejo orgánico.

Recientemente, Kamiloglu *et al.*, (2015) estudiaron la estabilidad de las antocianinas en función de la temperatura y el tiempo de almacenamiento. Los resultados revelaron que el contenido de antocianinas monoméricas y la densidad de color disminuyeron con el tiempo, mientras que se observó un aumento en el porcentaje de color polimérico y mayor pardeamiento.

3.4 Pruebas de aplicación del pigmento en alimentos

A continuación, se muestran imágenes sobre dos aplicaciones alimenticias del extracto del pigmento de zanahoria morada de la variedad *Deep Purple*. En la figura 3.2 se

pueden apreciar las imágenes de dos tortillas fabricadas a base de harina de maíz, celulosa microcristalina, pigmento y agua, que se pueden apreciar en las coloraciones morado y rojo, a un pH alcalino y pH ácido, respectivamente. Se mezclaron todos los ingredientes y se formó una masa homogénea, en seguida se formaron las tortillas con ayuda de una prensa manual y se hornearon a 70 °C por una hora.



Figura 3.3 Aplicación del pigmento de zanahoria morada en una mezcla de panificación para obtener dos tortillas de color: a) morado y b) rojo.

En la Figura 3.4 se observan las imágenes de dos composiciones de perlas de alginato en diferentes colores, elaboradas y listas para ser agregadas a un yogurt comercial, para una empresa de lácteos conocida. Todas las esferas fueron producidas a base de alginato, pigmento, saborizante, ácido cítrico y ácido málico, que una vez formadas se agregaron en suspensión a una disolución de goma xantana. Las esferas de color rojo, rosa y azul se utilizaron en su composición pigmento de zanahoria morada.



Figura 3.4 Aplicación del pigmento de zanahoria morada en una composición de perlas de alginato suspendidas en una disolución de goma xantana en color a) rojo y b) rojo, rosa y azul.

La zanahoria negra es una opción prometedora para usarse en diversas preparaciones alimenticias. Kamiloglu *et al.*, (2015) estudiaron el efecto de altas concentraciones de antocianinas en mermeladas procesadas y encontraron que, varios atributos como: alteraciones en las propiedades de color, el contenido de antocianinas y la capacidad antioxidante de las mermeladas de zanahoria negra, convierte a la zanahoria negra una alternativa viable que, además podría servir como una nueva fuente de alimentos funcionales.

Así mismo, Giusti y Wrolstad, (1996), Kirca *et al.*, (2006) y Kirca y Cemeroglu (2003) investigaron el efecto del calentamiento en la degradación de las antocianinas en jugos y néctares coloreados. Observaron que las antocianinas de zanahoria negra tienen una mayor estabilidad en los jugos de manzana y uva en comparación con los

jugos cítricos a 70 y 80 °C, como en el jugo de naranja, donde las antocianinas fueron menos estables durante el calentamiento y el almacenamiento. También reportaron que las antocianinas procedentes de la zanahoria negra tienen mayor estabilidad térmica en comparación con las de la cereza ácida y la naranja sanguina. Esto es debido al hecho de que las antocianinas de zanahoria negra y naranja sanguina contienen antocianinas aciladas que muestran una estabilidad inusual en medios neutros o débilmente ácidos.

Turker *et al.*, (2004) y Sadilova *et al.* (2009), estudió la estabilidad de diferentes jugos, incluido el jugo de zanahoria negra, a pH 3.5, calentando a 95 ° C durante 2 y 4 h. Los resultados revelaron que la estabilidad del pigmento y los cambios de color dependen de la estructura de las antocianinas y matriz de jugo. Adicionalmente, el estudio validó aún más que los jugos de zanahoria negra exhiben los valores más altos de vida media de antocianinas totales, seguidos por la baya del saúco y fresa. La mejor estabilidad del jugo de zanahoria negra en comparación con los extractos de la baya del saúco y la fresa pueden atribuirse a la presencia de antocianinas aciladas presentes en zanahoria negra en comparación con los pigmentos no acilados que se encuentran en otros jugos.

Los datos disponibles relacionados con la estabilidad de las antocianinas de zanahoria negra sugieren el uso de antocianinas de zanahoria negra como colorantes en diversas formulaciones de alimentos y jugos como un posible sustituto de colorantes alimentarios sintéticos (Akhtar *et al.*, 2017).

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Los tratamientos de fertilización tuvieron un efecto positivo sobre la altura de planta, longitud y diámetro de raíz, así como, en peso fresco de raíz, follaje y planta de zanahoria morada. Mientras que, la variedad *Deep Purple* produjo la mayor cantidad de antocianinas. La combinación de la variedad *Deep Purple* más el tratamiento de fertilización $120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}300\text{K}^{1+}\text{-}50\text{Ca}^{2+}\text{+}20\text{Mg}^{2+}\text{-}8\text{B}^{-1}$, no solo incrementó el rendimiento biológico y económico, sino que también produjo mayor cantidad de antocianinas. La mezcla de potasio, calcio y boro, incidió en el rendimiento de y contenido de antocianinas en la raíz de zanahoria morada.

2. En el cultivo con manejo químico, la combinación de la variedad *Deep Purple* $120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}300\text{K}^{1+}\text{-}8\text{B}^{-1}$ (T2) y *Purple Snax* $120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}200\text{K}^{1+}\text{-}10\text{B}^{-1}$ (T6) tuvieron el mayor efecto sobre la altura de planta, longitud y diámetro de raíz; así como, peso fresco de raíz, follaje y planta de zanahoria morada. La mezcla de dosis bajas de potasio y altas de boro, incidieron en el rendimiento de raíz de las dos variedades de zanahoria morada fertilizadas químicamente, pero solo la variedad *Deep Purple* produjo la mayor cantidad de antocianinas.

3. La nutrición orgánica mostró un efecto superior o similar a la fertilización química en altura de planta, longitud y diámetro de raíz. La aplicación de humus de lombriz (20 t/ha) superó significativamente a la fertilización química ($120\text{N}^{-3}\text{-}85\text{P}^{-3}\text{-}200\text{K}^{1+}$) y al resto de los tratamientos orgánicos en peso fresco de planta y sus componentes. Los mejores rendimientos de raíz se lograron con la aplicación de humus de lombriz en (20 t/ha) y fertilización química.

4. La fertilización orgánica no incrementó el contenido de antocianinas en la raíz, pero puede sustituir parcial o totalmente a la fertilización química convencional en la

nutrición de zanahoria morada y representan una buena alternativa para la reducción de agroquímicos en la producción este cultivo.

5. El aumento de la longitud y diámetro de raíz y número de hojas influye directamente en el rendimiento biológico, ya que cuando en la planta aumenta la altura del follaje dará lugar a un aumento del número de hojas, que tendrá efecto directo sobre las variables de respuesta peso fresco de raíz, de follaje y de planta.

6. Valores bajos de temperatura cercanos a 0 °C favorecen la conservación de los extractos de zanahoria morada, haciendo más lento el proceso de fermentación de los azúcares presentes naturalmente en los pigmentos naturales.

7. El pigmento obtenido a partir de zanahoria negra, es apto para ser aplicado en lácteos y productos de panificación manteniendo su estabilidad molecular en condiciones de pH ácidas y básicas, a temperatura de horneado de 70 °C.

5. REFERENCIAS

- Acherson, R.M. (1981). *Química heterocíclica*. México: Publicaciones Cultural, S.A. Primera edición en español. pp. 356-369.
- Ahmadiani, N., Robbins, R. J., Collins, T. M. & Giusti, M.M. (2014). Anthocyanins contents, profiles, and color characteristics of red cabbage extracts from different cultivars and maturity stages. *J Agric Food Chem*, 62, 7524-7531.
- Aguilera, M., Alanis, M., García, C. & Hernández, C. (2012). Caracterización y estabilidad de antocianinas de higo, variedad Mission. *Ujat publicaciones, Universidad y ciencia; trópico húmedo*, 25(2), 151-158.
- Akhtar, S., Rauf, A., Imran, M., Qamar, M., Riaz, M., & Mubarak, M. S. (2017). Black carrot (*Daucus carota* L.), dietary and health promoting perspectives of its polyphenols: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 66, 36-47.
- Algarra, M., Fernandes, A., Mateus, N., Freitas, V., Esteves da Silva, J. G. C. & Casado, J. (2014). Anthocyanin profile and antioxidant capacity of black carrots (*Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) from Cuevas Bajas, Spain. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33, 71–76.
- Arango, R. A. & Garcés, G. L. (2009). Remoción del colorante azoico amaranto de soluciones acuosas mediante electrocoagulación. *Revista Lasallista de investigación*, 6(2), 31-38.
- Arcos, S.M. (2007). *Evaluación de la tasa de tierra equivalente para lechuga y brócoli en unicultivo y asociación, bajo manejo orgánico e inorgánico, en Tenango del Valle, México*. Tesis Profesional no publicada. Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Ciencias Agrícolas. Toluca, México, México.

- Arriaga, L. (2013). Comportamiento agronómico de cuatro hortalizas de fruto con tres abonos orgánicos en el Centro Experimental La Playita, de la Universidad Técnica de Cotopaxi- La Maná, Tesis de Ingeniería Agropecuaria, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Unidad de Estudios a Distancia, Quevedo.
- Arrieche, I. & Mora, O. (2005). Efecto de la aplicación de residuos orgánicos sobre el cultivo de maíz en suelos degradados del Estado de Yaracuy, Venezuela. *Bioagro* 17: 155-159.
- Arcott, S. A., & Tanumihardjo, S. A. (2010). Carrots of many colors provide basic nutrition and bioavailable phytochemicals acting as a functional food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 223-239.
- Assous, M.T.M., Abdel-Hady, M.M. & Medany, G.M. (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.
- Banga, O. (1957). Origin and distribution of the western cultivated carrot. *Genética Agraria*, 17, 357-370.
- Bannoud, F., Da Peña Hamparsomián, J., Insani, M., Chamorro, V., Pazos, A., Pérez, M.B., Yildiz, M., Iorizzo, M., Simon, P.W. & Cavagnaro, P.F. (2018). Assessment of genetic diversity for root anthocyanin composition and phenolic content in purple carrots. In Proceedings of the II International Symposium on Carrot and Other Apiaceae, Cracow, Poland, 19–22 September 2018.
- Bannoud, F., Ellison, S., Paolinelli, M., Horejsi, T., Senalik, D., Fanzone, M., Iorizzo, M., Simon, P.W. & Cavagnaro, P. (2019). Dissecting the genetic control of root and leaf tissue-specific anthocyanin pigmentation in carrot (*Daucus carota* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 132, 2485–2507.

- Baranski, R., Allender, C. & Klimek-Chodacka, M. (2012). Towards better tasting and more nutritious carrots, carotenoid and sugar content variation in carrot genetic resources. *Food Research International*, 47, 182–187.
- Bejo Zaden B.V. (2018). Ficha técnica de la zanahoria negra *Deep Purple F1*. Recuperado de <https://www.bejo.com.mx/zanahoria/deep-purple-f1-conventio-nal>. Fecha de consulta: 13 de octubre de 2019.
- Brandon, T. M., & Barnes, D. M. (2009). Polyacetylene Diversity and Bioactivity in Orange Market and Locally Grown Colored Carrots (*Daucus carota* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 11134–11139.
- Bueno, E.I., & Mendoza, V.P. (2003). *Efecto de la aplicación de abonos orgánicos y fertilizantes inorgánicos en el rendimiento de brócoli en el municipio de Tenango del Valle, México*. Tesis de Licenciatura no publicada. Autónoma del Estado de México, Facultad de Ciencias Agrícolas. El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México, México.
- Calero, H. A., Pérez, D. Y., Peña, C. K., Quintero, R. E., & Olivera, V. D. (2019). Efecto de tres bioestimulantes en el comportamiento morfológico y productivo del cultivo del rábano (*Raphanus sativus* L.). *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*., 36, 54-73. Enero-Marzo.
- Carmona, I. 2013. *De colorantes sintéticos a naturales en la industria alimentaria. Oficina de estudios y políticas agrarias de Chile*. Recuperado de <https://www.agrimundo.cl>. Fecha de consulta: 15 de diciembre de 2015.
- Cavagnaro, P.F., Iorizzo, M., Yildiz, M., Senalik, D., Parsons, J., Ellison, S. & Simon, P.W. (2014). A gene-derived SNP-based high resolution linkage map of carrot

- including the location of QTL conditioning root and leaf anthocyanin pigmentation. *BMC Genom.*, 15, 1118.
- Cavagnaro, P., Bannoud, F., Iorizzo, M., Senalik, D., Ellison, S. & Simon, P. (2019). Carrot anthocyanins: Nutrition, diversity and genetics. *Acta Hortic.*, 101–106.
- Celli, G. B., Ghanen, A. & Brooks, M. S.-L. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from haskap berries (*Lonicera caerulea* L.) using response surface methodology. *Ultrason Sonochem*, 27, 449-455.
- Cevallos-Casals, B. A. & Cisneros-Zevallos, L. (2004). Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chem.*, 86, 69–77.
- Chen, F., Sun, Y., Zhao, G., Liao, X., Hu, X., Wu, J. & Wang, Z. (2007). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography–mass spectrometry. *Ultrason. Sonochem*, 14, 767–778.
- Chung, C., Rojanasasithara, T., Mutilangi, W., & McClements, D. J. (2016). Stabilization of natural colors and nutraceuticals: Inhibition of anthocyanin degradation in model beverages using polyphenols. *Food Chem.*, 212, 596–603.
- Code of Federal Regulations 21 CFR Part 73. *Listing of color additives exempt from certification*. US Food Drug Admin. Retrieved from <https://www.fda.gov/ForIndustry/ColorAdditives/default.htm>. Advised on December 19, 2016.
- Cofre, S. F. & Saltos, E. R. D. (2018). Evaluación del rendimiento y la calidad de la zanahoria (*Daucus carota* L.) en dos sistemas de producción orgánico y

- convencional. *Revista Iberoamericana Ambiente & Sustentabilidad*, 1(1), 5-16.
<https://doi.org/10.46380/rias.v1i1.11>
- Cooperstone, J.L. & Schwartz, S. (2016). Recent Insights into Health Benefits of Carotenoids. In Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages. *Elsevier BV*: London, UK, 473–497.
- Corbacho, N. S. (2016, 29 de noviembre). La zanahoria morada: el mejor secreto de Cuevas Bajas. *elDiario.es*. Andalucía. Recuperado de https://www.eldiario.es/andalucia/pasaporte/mejor-secreto-cuevas-bajas_1_3714116.html. Fecha de consulta: 23 noviembre de 2021.
- Curaba, J.; Bostan, H., Cavagnaro, P.F., Senalik, D., Mengist, M.F., Zhao, Y., Simon, P.W. & Iorizzo, M. (2020). Identification of an SCPL Gene Controlling Anthocyanin Acylation in Carrot (*Daucus carota* L.) Root. *Front. Plant. Sci*, 10, 1770.
- Day, R. A. Jr. & Underwood, A. L. (1989). *Química analítica cuantitativa*. México: Quinta Edición. Prince Hall Hispanoamericana, S.A., pp. 459-474.
- Dalby, A. (2003). *Food in the Ancient World from A to Z*. London and New York: Routledge Taylor and Francis Group.
- Davidson, A. (1999). *Oxford Companion to Food*. London: Oxford Univ. Press, Oxford.
- Diario Oficial de la Federación. 2002. *NOM-021-RECNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis*. Recuperado de https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=717582&fecha=31/12/2002. Fecha de consulta: 22 de abril de 2017.

- Díaz, P., Borsani, O., Signorelli, S. & Monza, J. (2011). *Metabolismo de nitrógeno en plantas*. Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Laboratorio de Bioquímica. Uruguay, p. 42-48. Recuperado de <https://www.fagro.edu.uy/~bioquimica/docencia/material%20nivelacion/METABOLISMO%20%20DEL%20NITROGENO.pdf>. Fecha de consulta: 2 de octubre de 2021.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., González, L., Tablada, M., & Robledo, C.W. (2015). *InfoStat versión 2015*. Grupo InfoStat, Universidad Nacional de Córdoba, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Recuperado de <https://www.infostat.com.ar>. Fecha de consulta: 18 de junio de 2019.
- Durand, J., Riera, M., Fernández, A., & Goulet, J. (2013). Respuesta del tomate al uso de alternativas orgánicas y micorriza en producción protegido en Guantánamo. La Habana: Feijoo.
- Durst, R. W. & Wroldstad, R.E. (2001). Separation and Characterization of Anthocyanins by HPLC. In: *Handbook of Food Analytical Chemistry*. New Jersey: John Wiley & Sons, 33-45.
- Dyrby, M., Westergaard, N. & Stapelfeldt, H. (2001). Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. *Food Chemistry*, 72, 431–437.
- EFSA, (2020). Aditivos Alimentarios. Recuperado de <https://www.efsa.europa.eu/es/topics/topic/food-additives>. Fecha de consulta: 12 de septiembre de 2019.
- Ersus, S. & Yurdagel, U. (2007). Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucuscarota* L.) by spray drier. *Journal of Food Engineering*, 80, 805-812.

- EUFIC, Consejo Europeo de información alimentaria, (2013). *Documentos básicos, 06/2006, aditivos alimentarios*. Recuperado de <https://www.eufic.org/article/es/seguridad-alimentaria-calidad/aditivos-alimenticios/expid/basics-aditivos-alimentarios/>. Fecha de consulta: 16 de diciembre de 2016.
- Faraldos, M. & Goberna, C. (2011). *Técnicas de análisis y caracterización de materiales*. Recuperado des http://www.researchgate.net/profile/M_Faraldos/publication/220020569. Fecha de consulta: 23 de mayo de 2015.
- FDA, U.S. Food & Drug Administration, (2018). FD&C Act Chapter IV: Food, Sec. 409, Title Sec. 348. Retrieved from <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=74>. Advised on September 10, 2019.
- Flavorix, (2018). *Colorante natural antocinaina E-163*. Recuperado de <https://flavorix.com/producto/colorante-natural-antocianina-e-163/>. Fecha de consulta: 13 de junio de 2020.
- Food Additives, (2021). List of Permitted Colouring Agents in Food Additives. Marketing Authorization for Food Additives That May Be Used as Colouring Agents. Retrieved from <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/food-safety/food-additives/lists-permitted/3-colouring-agents.html>. Advised on September 10, 2019.
- García, N. S.M. (2014). *Evaluación de la dinámica nutrimental en el cultivo de zanahoria morada (Daucus carota L. hibr. Deep purple F1) en Finca La Suiza, San Lucas Sacatepéquez, Guatemala, C. A.* Tesis de licenciatura. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía, Instituto de Investigaciones Agronómicas. Guatemala.

- Garzón, G. A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta biol. Colomb.*, 13(3), 27-36.
- Giusti, M. M. & Wrolstad, R. E. (1996). Radish anthocyanin extract as a natural red colorant for Maraschino cherries. *Journal of Food Science*, 61, 688–694.
- Global Natural Food Colors Market. 2018–2022*; Infiniti Research Limited: London, UK, 2018; p. 108.
- Grant, M. (2000). *Galen on Food and Diet (translation and notes)*. London and New York: Routledge Taylor and Francis Group.
- Gras, C. C., Carle, R. & Schweiggert, R. M. (2015). Determination of anthocyanins from black carrots by UHPLC-PDA after ultrasound-assisted extraction. *Journal of Food Composition and Analysis*, 44, 170–177.
- Guadarrama, G.R. 1999. *Monografía municipal de Villa Guerrero*. Gobierno del Estado de México, Instituto Mexiquense de Cultura. Toluca, México, México. p.160.
- Guo, H., Ling, W. & Wang, Q. (2007). Effect of anthocyanin-rich extract from black rice 655 (*Oryza sativa* L. *indica*) on hyperlipidemia and insulin resistance in fructose-fed rats. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62, 1-6.
- Gupta, V. K., Jain, R., Mittal, A., Saleh, T. A., Nayak, A., Agarwal, S. & Sikarwar, S. (2012). Photo-catalytic degradation of toxic dye amaranth on TiO₂/UV in aqueous suspensions. *Materials Science and Engineering C*, 32, 12–17.
- Hey, M., Patz, C.-., Kurbel, P. & Dietrich, H. (2013). Primary and secondary components in black carrots (*Daucus carota* ssp. *sativus*) and juices produced

- out of these with vintage impact and watering. *Dtsch. Lebensm. Rundsch*, 109, 209–216.
- Hillebrand, S., Naumann, H., Kitzinski, N., Köhler, N. & Winterhalter, P. (2009). Isolation and characterization of anthocyanins from blue-fleshed potatoes (*Solanum tuberosum* L.). In Potato III; Yee, N., Bussel, W., Eds., Food, 3 (Special Issue 1), 96-101.
- Iorizzo, M., Curaba, J., Pottor, M., Ferruzzi, M. G., Philipp Simon, P. & Cavagnaro, P. F. (2020). Review: Carrot Anthocyanins Genetics and Genomics: Status and Perspectives to Improve Its Application for the Food Colorant Industry. *Genes*. 11: 906.
- IPNI, International Plant Name Index, US, (2012). *Funciones del fósforo en las plantas*. Informaciones Agronómicas 2(3),9. Recuperado de [http://www.ipni.net/publication/ialahp.nsf/0/542916612D123EFE852579A3007A3286/\\$FILE/Funciones%20del%20F%C3%B3sforo.pdf](http://www.ipni.net/publication/ialahp.nsf/0/542916612D123EFE852579A3007A3286/$FILE/Funciones%20del%20F%C3%B3sforo.pdf). Fecha de consulta 3 de noviembre de 2020.
- Kammerer, D., Carle, R. & Schieber, A. (2004). Quantification of anthocyanins in black carrot extracts (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) and evaluation of their color properties. *Eur. Food Res. Technol.*, 219, 479–486.
- Kamiloglu, S, Pasli, A. A., Ozcelik, B., Camp, J. V. & Capanoglu, E. (2015). Colour retention, anthocyanin stability and antioxidant capacity in black carrot (*Daucus carota*) jams and marmalades: Effect of processing, storage conditions and in vitro gastrointestinal digestion. *Journal of functional foods*, 13, 1–10.
- Kevin, M. D. (2004). *Plant Pigments and their Manipulation*. Ed. Blackwell Publishing, CRC Press. Ltd New Zealand.

- Khandare, V., Walia, S., Singh, M. & Kaurb, C. (2011). Black carrot (*Daucus carota* ssp. *sativus*) juice: Processing effects on antioxidant composition and color. *Food and bioproducts processing*, 8(9), 482–486.
- Kirca, A. & Cemeroglu, B. (2003). Thermal degradation of blood orange anthocyanins. *Food Chemistry*, 81, 583-587.
- Kirca, A., Ozkan, M. & Cemeroglu, B. (2006). Stability of black carrot anthocyanins in various fruit juices and nectars. *Food Chemistry*, 97, 598-605.
- Kumar, A., Vishwakarma, H. S., Singh, J., Dwivedi, S., & Kumar, M. (2015). Microbial pigments: production and their applications in various industries. *International journal of pharmaceutical, chemical and biological sciences*, 5(1), 203-212.
- Li, H., Deng, Z., Zhu, H., Hu, C., Liu, R., Young, J.C. & Tsao, R. (2012). Highly pigmented vegetables: anthocyanin compositions and their role in antioxidant activities. *Food Res. Int.*, 46, 250–259.
- López-Martínez, J.D., Díaz-Estrada, A., Martínez-Rubín, E., & Valdez-Cepeda, R.D. (2001). Abonos orgánicos y su efecto en propiedades físicas y químicas del suelo y rendimiento en maíz. *Tierra Latinoamericana*, 19: 293-299.
- López-Martínez, J.D., Gallegos-Robles, M., Serrato, C.S.S., Valdez-Cepeda, R.D., & Martínez-Rubín, E. (2002). Producción de algodónero transgénico fertilizado con abonos orgánicos y control de plagas. *Tierra Latinoamericana*, 20: 321-327.
- Loypimai, P., Moongngarm, A., Chottanom, P. & Moontree, T. (2015). Ohmic heating-assisted extraction of anthocyanins from black rice bran to prepare a natural food colourant. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 27, 102-110.

- Mahdavi, S. A., Jafari, S. M. & Ghorbani, M. (2014). Spray-drying microencapsulation of anthocyanins by natural biopolymers: a review. *Dry Technol*, 32, 509-518.
- Malik, K., Tokkas, J. & Goya, S. (2012). Microbial Pigments: A review. *International Journal of Microbial Resource Technology*, 1(4), 361-365.
- Matheus, L.J.E. (2004). Evaluación agronómica del uso de compost de residuos de la industria azucarera (biofertilizante) en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.). *Bioagro*, 16: 219-224.
- McCann, D., Barrett, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., Kitchin, E., Lok, K., Porteous, L., Prince, E., Sonuga-Bayke, E., Warner, J. O. & Stevenson, J. (2007). Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *Lancet*, 370(9598), 1560-1567.
- Medina-Meza, I. G. & Barbosa-Cánovas, G. V. (2015). Assisted extraction of bioactive compounds from plum and grape peels by ultrasonics and pulsed electric fields. *J. Food Eng.*, 166, 268-275.
- Megali, H.K.H., Soumia, M.I. D., Abedel-Hakim, H.I. & Abd-EL-Rahman, M.A. (2019). Utilization of Red Carrot Roots (*Daucus carota* L.) By-products as A Source of Natural Pigments. *Assiut J. Agric. Sci.*, 50(1), 50-61.
- Mizgier, P., Kucharska, A. Z., Sokól-Letowska, A., Kolniak-Ostek, J., Kindon, M. & Fecka, I. (2016). Characterization of phenolic compounds and antioxidant and anti-inflammatory properties of red cabbage and purple carrot extracts. *Elsevier*. 21, 133-146.

- Montilla, E. C., Arzaba, M. R., 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. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(7), 3385–3390.
- Murali, S., Kar, A., Mohapatra, D. & Kalia, P. (2015). Encapsulation of black carrot juice using spray and freeze drying. *Food Science and Technology International*, 21(8), 604-612.
- Noroozi, B. & Sorial, G. A. (2013). Applicable models for multi-component adsorption of dyes: A review. *Journal of Environmental Sciences*, 25(3), 419–429.
- Oleinits, E., Hatem, M. A. & Deineka, V. (2019). Determination of Anthocyanins of Purple Carrot Two Cultivars. *Atlantis Press*, 7, 231-234.
- Ortega, G. (2009). *Agroecología vs. Agricultura Convencional*. Paraguay. ISSN: 1810-584X, Volumen: 128b. Recuperado de <https://www.baseis.org.py/wpcontent/uploads/2014/03/1395155082.pdf>. Fecha de consulta: 5 de junio de 2018.
- Parra, H. R. A. (2011). Microencapsulación de alimentos: Revisión. *Rev. Fac. Nat. Agr. Medellín*, 63(2), 5669-5684.
- Pérez, P. G. (2014). *Espectrometría ultravioleta-visible*. Recuperado de https://www.espectrometria.com/espectrometra_ultravioleta-visible. Fecha de consulta: 23 de diciembre de 2015.
- Prohens, J., Nuez, F., & Carena, M. J. (2008). Vegetables II in Handbook of plant breeding. *New York: Springer*, 327-357.

- Ramírez, G.M. (2009). *Efecto de la fertilización orgánica y combinada en el rendimiento de brócoli (Brassica oleracea L. var. italica) y coliflor (Brassica oleracea L. var. botrytis), y características del suelo*. Tesis de Maestro en Fitomejoramiento no publicada. Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Ciencias Agrícolas. El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México.
- Ramos, E., Castañeda, B. & Ibañez, L. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. *Revista académica Perú salud*, 15(1), 42-46.
- Rodríguez, S.C. (2016). Biofumigación del suelo con nabo aventurero (*Brassica* spp.) para el control de *Meloidogyne enterolobii* en jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) bajo invernadero. Tesis Profesional no publicada. TESVG; La Finca, Villa Guerrero, México, México.
- Rodríguez-Amaya, D. B. (2015). Natural food pigment and colorants. *Science Direct*, 7, 20-26.
- Rodríguez-Saona, L. E., Guisti, M. M. & Wrolstad, R. E. (1999). Color and Pigment stability 815 of red radish and red fleshed potato anthocyanins in juice model systems. *Journal of 816 Food Science*, 64, 451-456.
- Ruíz, M. (2013). La zanahoria morada, una raíz que se recupera del olvido. *Noticias de Zanahoria morada en Directo al Paladar*. Recuperado de <https://www.directoalpaladar.com/tag/zanahoria-morada>. Fecha de consulta: 17 de septiembre de 2017.
- Sadilova, E., Stintzing, F. C., Kammerer, D. R. & Carle, R. (2009). Matrix dependent impact of sugar and ascorbic acid addition on color and anthocyanin stability of

- black carrot, elderberry and strawberry single strength and from concentrate juices upon thermal treatment. *Food Research International*, 42, 1023-1033.
- Shukla, D. & Vankar, P. S. (2013). Natural Dyeing with Black Carrot: New Source for Newer Shades on Silk. *Journal of Natural Fibers*, 10(3), 207-218.
- Singh, D. P., Beloy, J., McInerney, J. K. & Day, L. (2012). Impact of boron, calcium and genetic factors on vitamin C, carotenoids, phenolic acids, anthocyanins and antioxidant capacity of carrots (*Daucus carota*). *Food Chemistry*, 132, 1161-1170.
- Steel, R.G.D. & Torrie, J. H. (1986). *Bioestadística*. Principios y procedimientos. McGraw-Hill; México, D. F., p. 622.
- Stintzing, F. C., Stintzing, A. S., Carle, R., Frei, B. & Wrolstad, R. E. (2002). Color and Antioxidant Properties of Cyanidin-based Anthocyanin Pigments. *J Agric Food Chem.*, 50, 6172-6181.
- Stolarczyk, J., & Janick, J. (2011). Carrot, History and Iconography. *Chronica horticulturae*, 51.
- Turker, N., Aksay, S. & Ekiz, H. I. (2004). Effect of Storage Temperature on the Stability of Anthocyanins of a Fermented Black Carrot (*Daucus carota* var. L.) Beverage, Shalgam. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 3807-3813.
- Uribe, J. S. (2004). *Guía para cultivar zanahoria de temporal*. Centro de Investigación y Capacitación Hortoflorícola, Departamento de Capacitación y Difusión, Conjunto SEDAGRO, Metepec, México. Desplegable 4.

- Vergara, C., Zamora, O., Álvarez, F., Kehr, E. & Pino, M. T., (2019). Zanahoria morada: potencial materia prima para color y antioxidante en Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuaria, Informativo N° 38.
- Wang, R., Chang, Y., Tan, Z, & Li, F. (2017). A novel combined process for extracting, separating and recovering flavonoids from flos sophorae immaturus. *Separation and Purification Technology*, 172, 422-432.
- Wrolstad, R.E. & Culver, C.A. (2012). Alternatives to those artificial FD&C food colorants. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, 3, 59–77.
- Xu, J., Su, X., Lim, S., Griffin, J., Carey, E., Katz, B., Tomich, J., Smith, J. C. & Wang, W. (2015). Characterization and stability of anthocyanins in purple-fleshed sweet potato P40. *Food Chem*, 186, 90-96.
- Yu, J. G., Zhao, X. H., Yang, H., Chen, X. H., Yang, Q., Yu, L. Y., Jiang, J. H. & Chen, X. Q. (2014). Aqueous adsorption and removal of organic contaminants by carbon nanotubes. *Science of the Total Environment*, 482-483, 241-251.
- Zar, M. J. (2014). *Análisis de factores que afectan la acumulación, distribución y estabilidad de antioxidantes de naturaleza fenólica en berenjena (Solanum melongena L.)*. La Plata, Argentina. Tesis doctoral del Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA-UNLP-CONICET). p. 31-46
- Żary-Sikorskaa, E., Fotschkib, B., Fotschkib, J., Wiczrowskib, W. & Juśkiewicz J. (2019). Preparations from purple carrots containing anthocyanins improved intestine microbial activity, serum lipid profile and antioxidant status in rats. *Elsevier, Journal of Functional Foods*, 60, 103442.

Zielinska, M., Lewandowska, U., Podsedek, A., Cygankiewicz, A. I., Jacenik, D., Sałaga, M., Kordek, R., Krajewska, W. M., & Fichna, J. (2015). Orally available extract from *Brassica oleracea* var. *capitata rubra* attenuates experimental colitis in mouse models of inflammatory bowel diseases. *Journal of Functional Foods*, 17, 587–599.

Zozio, S., Pallet, D. & Dornier, M. (2011). Evaluation of anthocyanin stability during storage of a coloured drink made from extracts of the Andean blackberry (*Rubus glaucus* Benth.), acai (*Euterpe oleracea* Mart.) and black carrot (*Daucus carota* L.). *Fruits*, 66, 203-215.