

Estabilidad de Antocianinas en Jugo y Concentrado de Agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.)

Stability of Anthocyanins in Juice and Concentrate of Agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.)

José Jobanny Martínez Zambrano¹; Hugo Alfonso Rojas Sarmiento²; Gloria del Carmen Borda Guerra³; Alba Nidia Hastamorir Caro⁴ y Michael Fernando Medina Riaño⁵

Resumen. Se estudió la cinética de la estabilidad térmica y de almacenamiento de las antocianinas en jugo y concentrado de agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.) siguiendo una cinética de primer orden. La degradación de las antocianinas con la temperatura fue modelada adecuadamente con la ecuación de Arrhenius. El efecto del pH en la estabilidad térmica de las antocianinas en los concentrados de agraz se estudió a seis diferentes valores (3,0 – 8,0) en buffer citrato-fosfato. La degradación de las antocianinas fue mayor para el jugo que para el concentrado. Una disminución significativa en la estabilidad de las antocianinas del concentrado se observó a pH cercano a 5,0.

Palabras clave: Cinética, almacenamiento, degradación térmica, energía de activación.

Abstract. The kinetics of thermal and storage stabilities of anthocyanins in agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.) juice and concentrate were studied with first-order reaction kinetics. The temperature-dependent degradation was adequately modeled on the Arrhenius equation. The effect of pH on thermal stability of anthocyanins in concentrate of agraz was studied at six different pHs (3.0 – 8.0) in citrate-phosphate buffer solutions. The results indicated that anthocyanins degradation was higher in juice than concentrate. A significant decrease in anthocyanin stability was observed at pHs above 5.0.

Key words: Kinetics, storage, Thermal degradation, Activation energy.

El contenido de antocianinas frecuentemente se relaciona con la calidad del color y la capacidad antioxidante de frutos y vegetales (Zhonggao *et al.*, 2005), la alta vulnerabilidad de estos compuestos a la temperatura (Kirca y Cemeroglu, 2003; Kirca *et al.*, 2007; Harbourne *et al.*, 2008), presencia de oxígeno (Starr y Francis, 1968), ácido ascórbico (Shrikhande y Francis, 1974) y peróxido de hidrógeno (Özkan M *et al.*, 2002, 2005), así como cambios en el pH (Kirca *et al.*, 2007; Cevallos y Cisneros, 2004; Fossen *et al.*, 1998), permiten valorar la calidad de los productos que los contienen. En este sentido, es frecuente encontrar estudios de cinética de degradación de antocianinas sobre jugos y concentrados de especies ampliamente conocidas (Cemeroglu *et al.*, 1994; Kirca y Cemereglu, 2003; Kirca *et al.*, 2007; Wang y Xu, 2007; Harbourne

et al., 2008), pero pocos estudios se reportan sobre especies tropicales. Una de estas es el agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.), un fruto poco estudiado que se encuentra muy frecuente de forma silvestre y ha sido considerado como especie promisoría de gran interés debido al potencial agroindustrial de sus frutos (Arjona, 2001; Echeverri, 2003).

En este trabajo se exploró la cinética de degradación de antocianinas en jugo y concentrado de agraz para determinar la estabilidad térmica y de almacenamiento de las antocianinas totales presentes. Además, para el concentrado, se indagó el efecto del pH sobre el color resultante de las antocianinas, el cual está en función de la estructura que se encuentre en mayor proporción a determinado pH.

¹ Profesor Asistente. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad de Ciencias Básicas. Grupo de Catálisis. Avenida Norte Tunja. Boyacá, Colombia. <jsjbny@hotmail.com>

² Profesor Titular. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad de Ciencias Básicas. Grupo de Catálisis. Avenida Norte Tunja. Boyacá, Colombia. <hurojas@udec.cl>

³ Profesor Catedrático. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad de Ciencias Básicas. Grupo de Catálisis. Avenida Norte Tunja. Boyacá, Colombia. <gborda@udec.cl>

⁴ Químico de Alimentos. Asistente de Investigación. Grupo de Catálisis Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. <nihasad77@hotmail.com>

⁵ Químico de Alimentos. Asistente de Investigación. Grupo de Catálisis Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. <mikaelfer@gmail.com>

Recibido: Noviembre 6 de 2009; Aceptado: Marzo 31 de 2011.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron frutos de agraz provenientes de Chiquinquirá (Boyacá, Colombia), los cuales fueron almacenados a una temperatura de 4 °C. Para la preparación del jugo y el concentrado se siguió la metodología propuesta por Wang *et al.* (2007); de manera general, la fruta en estado de madurez se sometió a licuado con posterior filtración, las enzimas fenoloxidasas se inactivaron por medio de calentamiento (escaldado breve a 60 °C por 45 s) y enfriado rápido a 45 °C; el jugo obtenido se despectinizó usando Pectinex® Ultra SP-L en proporción de 0,065 mL/kg, incubando durante 2 h a 45 °C. Posteriormente el jugo fue centrifugado a 3.000 rpm por 15 min. El sobrenadante se llevó a un proceso de pasteurización a 85 °C por 15 min, seguido rápidamente de un enfriamiento en baño de hielo. El contenido de sólidos solubles del jugo obtenido fue de 2,5 °Brix. El concentrado se obtuvo a partir del jugo pasteurizado llevándolo a presión reducida a 55 °C, hasta conseguir un valor de 19,5 °Brix.

Para la evaluación de la estabilidad térmica de las antocianinas del agraz, se tomaron alícuotas de 10 mL de jugo y concentrado en tubos Pyrex®, se sellaron herméticamente y se sometieron a calentamiento a 70, 80 y 90 °C en un baño termostatzado, los tubos fueron retirados a intervalos de tiempo y rápidamente enfriados en un baño de hielo y se realizó el análisis del contenido de antocianinas totales.

Para el estudio de la estabilidad durante el almacenamiento, muestras previamente pasteurizadas a 85 °C por 15 min de jugo y concentrado, fueron cerradas herméticamente y sometidas a 4, 17 y 37 °C, el contenido de antocianinas de cada una de las muestras fue valorado durante 4 semanas.

El efecto del pH en la estabilidad térmica del concentrado de agraz fue estudiado ajustando el pH con soluciones buffer de citrato-fosfato a valores entre 3,0 y 8,0 previo al tratamiento a temperaturas de 70 a 90 °C.

El contenido de antocianinas totales se determinó según el método de pH diferencial, descrito por Giusti y Wrolstad (2001), usando dos sistemas buffer: cloruro de potasio (KCl); pH 1,0 (0,025M), y acetato de sodio (CH₃COONa), pH 4,5 (0,4M). Las muestras fueron diluidas con las respectivas soluciones buffer y

la absorbancia fue medida a 510 y 700 nm, usando un espectrofotómetro UV-Vis. El contenido total de antocianinas se expresó de acuerdo con la ecuación 1:

$$[AC_t] = \frac{A \times M \times FD \times 1000}{\epsilon \times l} \quad (1)$$

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

Los °Brix fueron medidos con un refractómetro Hanna® a 17 °C y el pH con un potenciómetro Orión®. La acidez titulable fue determinada según el método estándar 979.09B (AOAC, 1990) expresada como g de ácido cítrico/100 mL de jugo por ser el más predominante en bayas de Vaccinium (Hermann, 2001). Todos los análisis fueron realizados por triplicado.

Los datos se modelaron siguiendo una cinética de orden uno; las constantes de velocidad (k) y los tiempos de vida media (t_{1/2}), se hallaron a partir de los datos experimentales de concentración versus tiempo, usando un programa de regresión no lineal con un método iterativo de Gauss-Newton. Por otra parte la dependencia de la temperatura en la degradación de antocianinas de agraz fue determinada por el cálculo de la energía de activación (E_a) y el cociente de temperatura (Q₁₀).

RESULTADOS

La Tabla 1 resume algunas características del jugo y concentrado obtenido. Se puede observar que el proceso de concentración del jugo no afecta drásticamente el contenido de antocianinas y ocasiona sólo una pérdida del 22,16%. Para evaluar la cinética de las antocianinas durante el calentamiento, el logaritmo del contenido de antocianinas (mg/L) de jugo y concentrado de agraz se graficó en función del tiempo (Figuras 1 y 2). La relación lineal indica que la degradación térmica de las antocianinas de jugo y concentrado de agraz sigue una cinética de orden uno (Kirca y Cemereglu, 2003; Kirca *et al.*, 2007; Garzón y Wrolstad, 2002; Wang y Xu, 2007; Özkan, *et al.*, 2005).

Tabla 1. Datos analíticos de jugo y concentrado de agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.).

Características fisicoquímicas	Jugo	Concentrado
°Brix	2,5 ± 0,1	19,5 ± 0,1
pH	3,0 ± 0,1	2,6 ± 0,1
Acidez titulable (g/100mL)	0,7 ± 0,04	0,8 ± 0,04
Antocianinas (mg/L)	1224 ± 1,45	952,7 ± 2,01

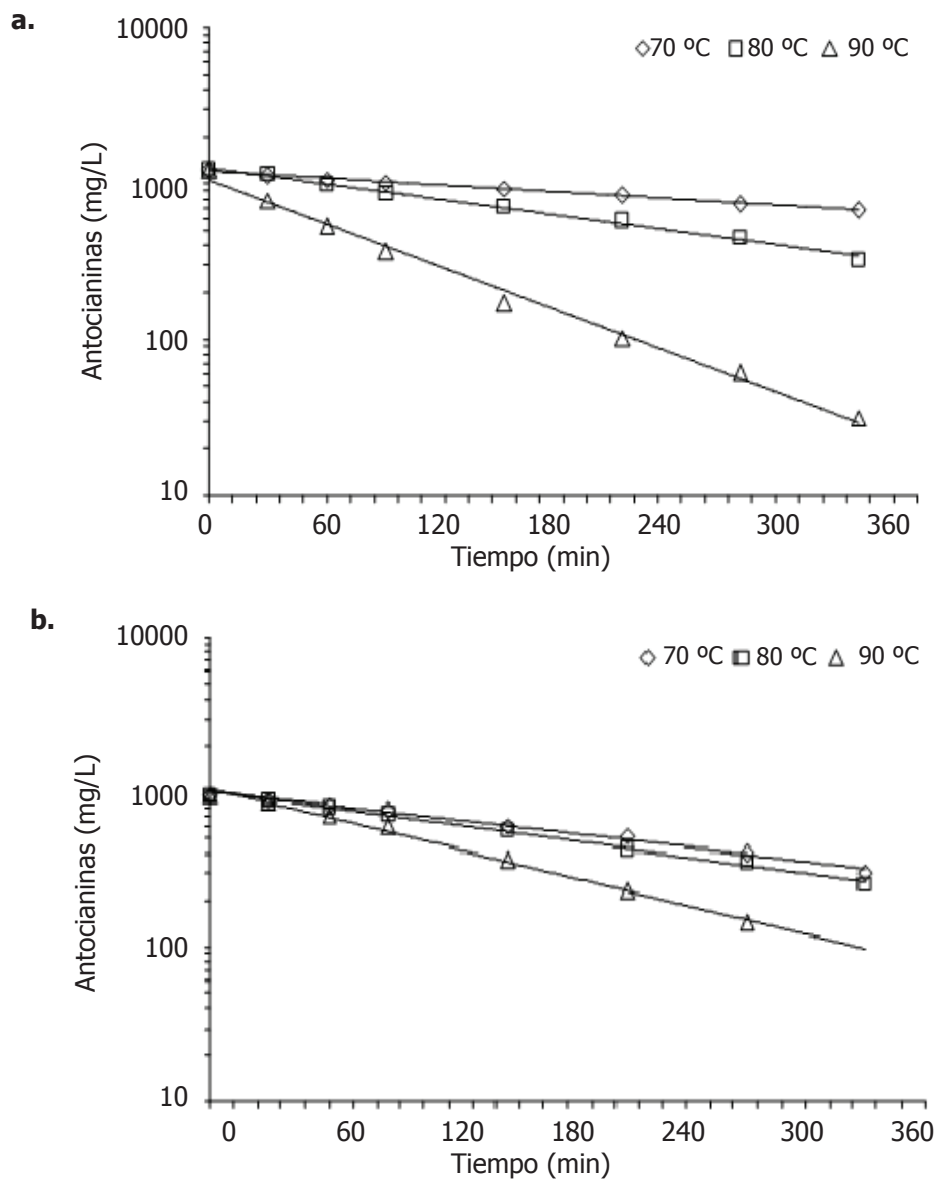


Figura 1. Degradación de las antocianinas en jugo (a) y concentrado (b) de agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.) durante el calentamiento a 70, 80 y 90 °C.

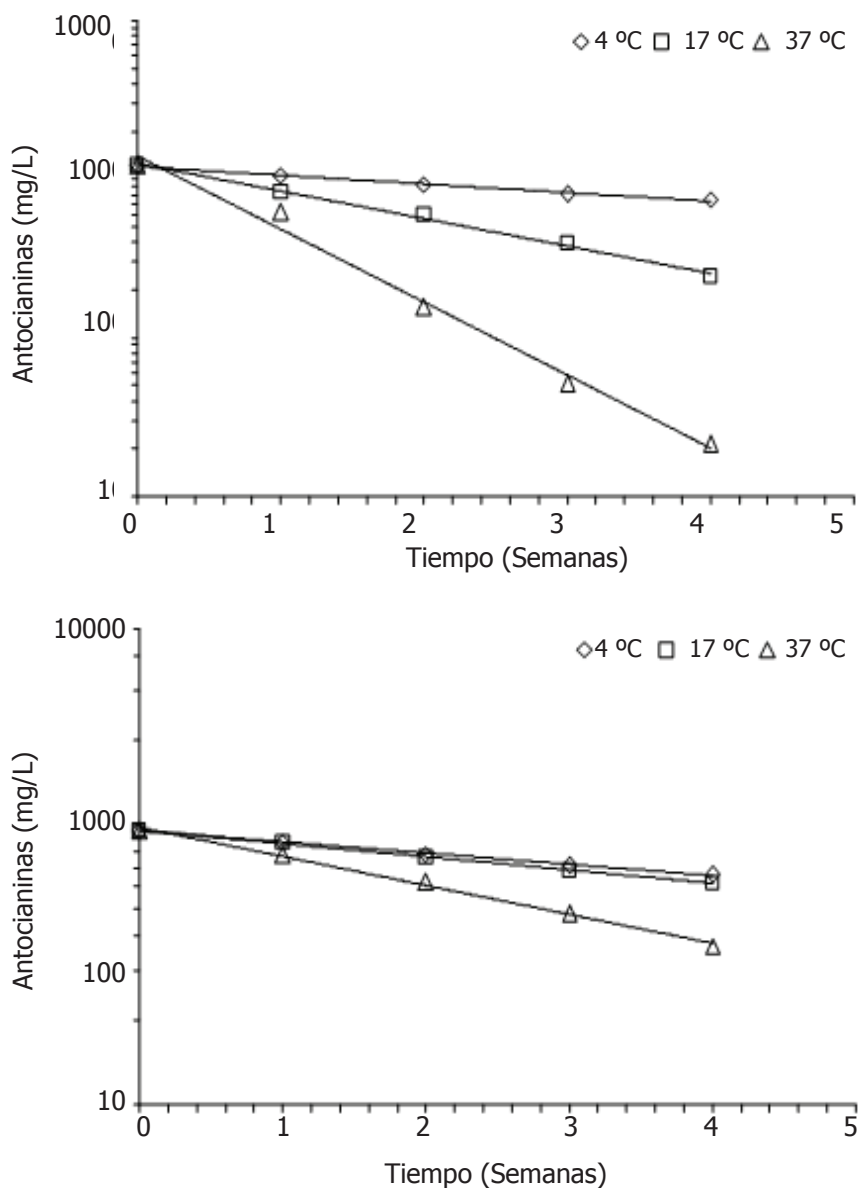


Figura 2. Degradación de las antocianinas en jugo (a) y concentrado (b) de agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.) durante el almacenamiento a 4, 17 y 37 °C.

Los parámetros cinéticos de la degradación térmica de antocianinas de 70 a 90 °C obtenidos se muestran en la Tabla 2. Al incrementar la temperatura y el tiempo, se aumenta la velocidad de degradación de las antocianinas como se demuestra por las constantes de velocidad (k) obtenidas. Los valores de $t_{1/2}$ son dependientes de la temperatura analizada; a 70 °C resultan más estables los jugos que los concentrados, pero a medida que la temperatura se incrementa esta relación cambia, siendo los concentrados más estables. A mayor contenido de

sólidos se evidenciaron valores más bajos de E_a , similares a los reportados por Cemeroglu *et al.* (1994) en cerezas agrias y por Kirca y Cemeroglu (2003) en naranja de pulpa roja, donde el comportamiento de degradación de antocianinas es más pronunciado en concentrado que en jugo. Aunque la degradación de antocianinas a 70 °C es más pronunciada en concentrado que en jugo, este último, sufre mayor degradación de las antocianinas totales entre 80 y 90 °C, como se infiere de los valores Q_{10} obtenidos.

Tabla 2. Parámetros cinéticos de la degradación térmica de antocianinas de jugo y concentrado de agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.).

°Brix	Temp. °C	-k x 10 ³ , min ⁻¹	t _{1/2} , h	E _a , (kJmol ⁻¹)	Q ₁₀
2,5	70	1,83 (0,9955)*	6,3	94,7 (0,9819)	2,07
	80	3,80 (0,9937)	3,0		
	90	11,49 (0,9929)	1,0		
19,5	70	3,23 (0,991)	3,6	37,5 (0,9994)	1,16
	80	3,77 (0,9945)	3,1		
	90	6,68 (0,9933)	1,7		

* Los números en paréntesis son los coeficientes de correlación.

La degradación de antocianinas durante el almacenamiento a 4, 17 y 37 °C se linealizó siguiendo una cinética de orden uno (Figura 2), los valores cinéticos se muestran en la Tabla 3. Se puede apreciar que la temperatura de almacenamiento tiene un claro efecto en la degradación de las antocianinas, tal como puede observarse por las constantes k obtenidas. El almacenamiento a 37 °C resultó en una mayor degradación de las antocianinas respecto a la temperatura de refrigeración (4 °C); así, el tiempo de vida media t_{1/2} para las antocianinas a 19,5 °Brix fue de 7,5 semanas a 4 °C y sólo de 3,0 semanas

a 37 °C, este efecto también fue registrado por Plochanski y Zbrozyczk (1992). Esto significa, que para una misma temperatura de almacenamiento la velocidad de degradación de las antocianinas en el concentrado es menor que en el jugo. Además se pudo evidenciar que las constantes Q₁₀ obtenidas cambian de manera mas drástica con el aumento de temperatura, en el almacenamiento respecto del proceso de calentamiento; valores similares de Q₁₀ entre 11 – 64 °Brix a pH 4,3 fueron obtenidos para la degradación de antocianinas de col roja (Dyrby *et al.*, 2001).

Tabla 3. Parámetros cinéticos de la degradación de antocianinas de jugo y concentrado de agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.) durante almacenamiento.

°Brix	Temp. °C	-k x 10 ³ (min ⁻¹)	t _{1/2} (semanas)	E _a , (kJmol ⁻¹)	Q ₁₀
2,5	4	131,08 (0,9913) **	5,3	43,78 (0,9838)	2,25
	17	388,94 (0,9957)	1,8		
	37	1013,65 (0,9911)	0,7		
19,5	4	92,86 (0,9979)	7,5	19,33 (0,9804)	1,16
	17	108,52 (0,9984)	6,4		
	37	229,35 (0,9967)	3,0		

** Los números en paréntesis son los coeficientes de correlación.

Los parámetros cinéticos de estabilidad de las antocianinas del concentrado de agraz en sistemas modelos a distintos pH en soluciones buffer citrato-fosfato (pH 3 a 8) se indican en la Tabla 4. De manera general se puede advertir que la degradación de antocianinas de agraz se ve acelerada por las altas temperaturas y pH altos, tal como se demuestra por los valores de k obtenidos y de t_{1/2}; además de los resultados presentados en esta tabla, se resalta la mayor estabilidad de las antocianinas a pHs bajos.

DISCUSIÓN

Si se compara el contenido de antocianinas de distintas fuentes expresado como mg/L de cianidina-3-glucósido obtenido por el método de pH diferencial, se puede observar que el agraz presenta un mayor contenido de antocianinas totales encontrándose valores de 1224 mg/L para el jugo (2,5 °Brix) y 953,7 mg/L para el concentrado (19,5 °Brix). Al comparar el contenido de antocianinas totales para algunos frutos, se nota para jugos de

fresa (*Fragaria vesca* L), granada (*Prunica granatu*) y arándano (*Vaccinium vitis-idaea*) valores de 55,7 mg/L (Torreggiani, 1999), 250,87 mg/L (Pérez et

al., 2004) y 424,1-518,2 mg/L (Lee et al., 2002), respectivamente, se puede señalar que el contenido de antocianinas en jugo de agraz es más alto.

Tabla 4. Parámetros cinéticos de la degradación térmica de antocianinas de concentrado de agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.) a distintos pH.

pH	Temp. °C	-k x 10 ³ , min ⁻¹	t _{1/2} , h	E _a (kJmol ⁻¹)	Q ₁₀
3	70	1,75 (0,9988)*	6,6	76,43 (0,942)	
	80	5,13 (0,9966)	2,3		2,92
	90	7,63 (0,9939)	1,5		1,49
4	70	0,84 (0,9928)	13,7	108,74 (0,972)	
	80	3,34 (0,9956)	3,5		3,97
	90	6,81 (0,9919)	1,7		2,04
5	70	0,67 (0,9983)	17,3	90,38 (0,9251)	
	80	2,50 (0,9925)	4,6		3,75
	90	3,79 (0,9954)	3,1		1,51
6	70	1,16 (0,9948)	9,9	82,11 (0,9977)	
	80	4,38 (0,9900)	2,6		3,77
	90	5,65 (0,9927)	2,0		1,30
7	70	2,10 (0,9939)	5,5	58,35 (0,9936)	
	80	4,04 (0,9922)	2,9		1,92
	90	6,45 (0,9927)	1,8		1,60
8	70	2,69 (0,9969)	4,3	54,25 (0,9484)	
	80	5,67 (0,9909)	2,0		2,11
	90	7,62 (0,991)	1,5		1,34

* Los números en paréntesis son los coeficientes de correlación.

En la literatura consultada no se mencionan datos cinéticos sobre la degradación térmica de antocianinas de agraz. Aunque la degradación de antocianinas durante el calentamiento a 70 °C, es mayor en el concentrado que en el jugo, se explica al considerar que las moléculas reactantes están más cercanas, así la velocidad de reacción se incrementa, similares tendencias fueron estimadas por Kirca y Cemeroglu (2003) en la degradación de antocianinas de cerezas agrias. Pero a una mayor temperatura (80 y 90 °C), los valores cinéticos demuestran que el jugo es menos estable y por tanto los valores de tiempos de vida media disminuyen, es decir no se presenta una relación directa con el valor de sólidos totales presentes (°Brix). Una posible explicación puede ser el mayor contenido de ácido ascórbico en el jugo que en el concentrado; en el calentamiento este ácido

reacciona con las antocianinas dando como resultado la degradación de ambos compuestos (Shrikhande y Francis, 1974).

Otra causa posible es el valor de pH del medio de reacción; está bien documentado que el pH tiene una fuerte influencia en la estabilidad de las antocianinas (Fossen et al., 1998; Cevallos y Cisneros, 2004; Lee et al., 2002). Con base en esta característica, se estudió la estabilidad del color de las antocianinas de los concentrados en función del pH. Los menores tiempos de vida media obtenidos para el concentrado de agraz a diferentes pH son similares a los obtenidos de antocianinas de la cáscara de uva a pH altos (6,0; 7,0 y 8,0) (Downham y Collins, 2000), explicación que se ha dado porque las antocianinas presentes no muestran acilación (Rodríguez et al., 1999). Estos

resultados indican que las matrices de antocianinas tienen un notable efecto sobre la estabilidad y que a la vez el pH puede favorecer ó retrasar dicho fenómeno, por ejemplo, el valor de la E_a a pH bajos fue significativamente alto en comparación con el valor a pH altos.

CONCLUSIONES

Se describió la cinética de antocianinas en jugo y concentrado de agraz, usando una cinética de orden 1. Según los parámetros cinéticos obtenidos, se determinó que a condiciones de calentamiento y almacenamiento la degradación de antocianinas en el concentrado es menor que en el jugo, tal como lo demuestran los valores obtenidos de k , $t_{1/2}$, E_{act} y Q_{10} .

El pH tiene un efecto importante en la degradación del contenido de antocianinas y dicha degradación se hace menor a bajos valores de pH. Se dispone por primera vez un estudio cinético de antocianinas en agraz.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Dirección de Investigaciones (DIN) de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia por la financiación del proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. Official methods of analysis. 15th edition. Washington, DC. 1213 p.

Arjona, B. 2001. El mortiño o agraz (*Vaccinium meridionale*, Ericaceae): como planta promisoría en la región del Parque Arví (Antioquia, Colombia). En: Seminario de Plantas Promisorias. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. 15 p.

Cemeroglu, B., S. Velioglu and S. Isik. 1994. Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. *Journal of Food Science* 59(6): 1216-1218.

Cevallos-Casals, B.A. and Cisneros-Zevallos, L. 2004. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of *Andean purple* corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry* 86(1): 69-77.

Downham, A. and P. Collins. 2000. Colouring our foods in the last and next millennium. *International Journal of Food Science and Technology* 35(1):5-22.

Dyrby, M., N. Westergaard and H. Stapelfeldt. 2001. Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. *Food Chemistry* 72(4): 431-437.

Echeverri, A. 2003. Conozcamos y usemos el mortiño. Corporación Autónoma Regional del Centro de Antioquia (CORANTIOQUIA), Medellín. 24 p.

Fossen, T., L. Cabrita and O. Andersen. 1998. Colour and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline region. *Food Chemistry* 63(4): 435-440.

Garzón, G.A. and R.E. Wrolstad. 2002. Comparison of the stability of pelargonidin-based anthocyanins in strawberry juice and concentrate. *Journal of Food Science* 67(5): 1288-1299.

Giusti, M. and R. Wrolstad. 2001. Anthocyanins. characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. Unit F1.2. In: Wrolstad, R. and S. Schwartz (eds.). *Current protocols in food analytical chemistry*. John Wiley and Sons, Inc. New York. pp. F1.2.1-F.1.2.13.

Harbourne, N., J. Jacquier, D. Morgan and J. Lyng. 2008. Determination of the degradation kinetics of anthocyanins in a model juice system using isothermal and non-isothermal methods. *Food Chemistry* 111(1): 204-208.

Herrmann, K. 2001. *Inhaltsstoffe von obst und gemüse*. Verlag Ulmer, Stuttgart. 200 p.

Kirca, A., M. Özkan and B. Cemeroglu. 2007. Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. *Food Chemistry* 101(1): 212-218.

Kirca, A. and B. Cemeroglu. 2003. Thermal degradation of blood orange anthocyanins. *Food Chemistry* 81(4): 583-587.

Lee, J., R. Durst and R. Wrolstad. 2002. Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics: comparison of two pretreatments. *Journal of Food Science* 67(5): 1660-1667.

- Özkan, M., A. Yemenicioglu, N. Asefi, and B. Cemeroglu. 2002. Degradation kinetics of anthocyanins from sour cherry, pomegranate and strawberry juices by hydrogen peroxide. *Journal of Food Science* 67(2): 525-529.
- Özkan, M., A. Yemenicioglu and B. Cemeroglu. 2005. Degradation of various fruit juice anthocyanins by hydrogen peroxide. *Food Research International* 38(8-9): 1015-1021.
- Pérez, A., P. Serrano, P. Abellán and C. García. 2004. Influence of packaging material on pomegranate juice colour and bioactive compounds, during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84(7): 639-644.
- Plocharski, W. and J. Zbrozyczk. 1992. Aronia fruit (*Aronia melanocarpa*, Elliot) as a natural source for anthocyanin colorants. *Fruit Processing* 59(6): 85-89.
- Rodríguez, L., M. Giusti and R. Wrolstad. 1999. Color and pigment stability of red radish and red-fleshed potato anthocyanins in juice model systems. *Journal of Food Science* 64(3): 451-456.
- Shrikhande, A. and F. Francis. 1974. Effect of flavonols on ascorbic acid and anthocyanin stability in model systems. *Journal of Food Science* 39(5): 904-906.
- Starr, M.S. and F. Francis. 1968. Oxygen and ascorbic acid effect on the relative stability of four anthocyanin pigments in cranberry juice. *Food Technology* 22(10): 91-93.
- Torreggiani, D., E. Forni, I. Guercilena, A. Maestrelli, G. Bertolo, G. Archer, C. Kennedy, S. Bone, G. Blond, E. Contreras and D. Champion. 1999. Modification of glass transition temperature through carbohydrates additions: effect upon colour and anthocyanin pigment stability in frozen strawberry juices. *Food Research International* 32(6): 441-446.
- Wang, W.D. and S.Y. Xu. 2007. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of Food Engineering* 82(3): 271-275.
- Zhonggao, J., J. Liu and S. Wang. 2005. Antioxidant activities of total pigment extract from blackberries. *Food Technology Biotechnology* 43: 97-102.