

ESTABILIDAD DE ANTOCIANINAS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE JUGOS DE ARÁNDANOS

ANTHOCYANINS STABILITY DURING STORAGE OF BLUEBERRIES JUICE

Luz Marina ZAPATA, PhD¹; Juan Manuel CASTAGNINI, PhD²; Carlos Fabio QUINTEROS, Profesor³; Evelin CARLIER, PhD⁴; Mariana JIMENEZ-VEUTHEY, MSc⁵; Cecilia CABRERA, Bióloga⁶

Recibido: Junio 02 de 2016 Aprobado: Noviembre 11 de 2016

RESUMEN

Antecedentes: Los arándanos y productos de arándano tienen alto valor nutricional, especialmente por su alto contenido de antocianinas. Estas son potentes antioxidantes y poseen alta capacidad de secuestrar radicales libres. Así, los arándanos y productos de arándanos han resultado atractivos para los consumidores interesados en alimentos funcionales. Sin embargo, los tratamientos térmicos y posterior almacenamiento de productos alimenticios influyen en el contenido de antocianinas. La cinética de degradación de las antocianinas puede ser evaluada desde una perspectiva termodinámica, basada en funciones como energía libre, entalpía, entropía y energía de activación. **Objetivos:** Se estudió el efecto de la pasteurización y la estabilidad de antocianinas presentes en jugos de arándanos, sin pasteurizar y pasteurizados, durante el almacenamiento. **Métodos:** Jugos de arándanos sin pasteurizar y pasteurizados fueron almacenados a -18, 0, 5 y 10°C durante 148 días. A intervalos de tiempos se cuantificó la concentración de antocianinas monoméricas totales. Se realizó un Análisis de Componentes Principales y los resultados experimentales se ajustaron a modelos cinéticos de orden cero y uno, y a los modelos de Arrhenius y Eyring. **Resultados:** La pasteurización provocó disminución del 28,5% en la concentración inicial de antocianinas monoméricas totales, mientras que para todas las temperaturas estudiadas, la disminución de antocianinas en función del tiempo de almacenamiento siguió una cinética de primer orden. En el jugo sin pasteurizar, la constante de velocidad de degradación varió entre 0,0080 - 0,0084 días⁻¹ y el tiempo de vida media, entre 75 - 87 días. En el jugo pasteurizado, la constante de velocidad de degradación varió entre 0,0023 - 0,0060 días⁻¹ y el tiempo de vida media, entre 116-301 días. En éste la energía de activación, la energía libre de Gibbs, entalpía y entropía de activación fueron 44,66 kJ/mol, 83,80 kJ/mol, 42,35 kJ/mol y -139,09 J/mol.K, respectivamente. **Conclusiones:** El tratamiento de pasteurización provocó disminución del 28,5% en la concentración de antocianinas monoméricas totales iniciales de los jugos de arándano. La estabilidad de las antocianinas durante el almacenamiento fue mayor en los jugos pasteurizados, siendo mayor cuando

¹ Directora del Laboratorio de Análisis de Metales en Alimentos y Otros Sustratos (LAMAS), Fac. de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos, Concordia, Argentina. Profesor Asociado Química Orgánica.

² Jefe de Trabajos Prácticos Matemática. Integrante del Laboratorio de Análisis de Metales en Alimentos y Otros Sustratos (LAMAS), Fac. de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos, Concordia, Argentina.

³ Jefe de Trabajos Prácticos Química Orgánica. Integrante del Laboratorio de Análisis de Metales en Alimentos y Otros Sustratos (LAMAS), Fac. de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos, Concordia, Argentina.

⁴ Jefe de Trabajos Prácticos Microbiología. Integrante del Laboratorio de Análisis de Metales en Alimentos y Otros Sustratos (LAMAS), Fac. de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos, Concordia, Argentina.

⁵ Integrante del Laboratorio de Análisis de Metales en Alimentos y Otros Sustratos (LAMAS), Fac. de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos, Concordia, Argentina.

⁶ Bióloga y Profesora en Ciencias Biológicas. Integrante del Laboratorio de Análisis de Metales en Alimentos y Otros Sustratos (LAMAS), Facultad de Ciencias de la Alimentación, Universidad Nacional de Entre Ríos, Concordia, Argentina.

* Autor de correspondencia: zapatam@fcal.uner.edu.ar

se almacenaron a 0°C; mientras que en los jugos pasteurizados almacenados a -18°C las antocianinas mostraron menor estabilidad.

Palabras clave: Estabilidad de antocianinas, cinética de degradación, almacenamiento de jugos de arándanos.

ABSTRACT

Background: The blueberries and blueberry products has great nutritional value, primarily because it has high anthocyanin content. Anthocyanins are potent antioxidants and have high radical-scavenging activities. Thus, the blueberry and blueberry products has become very appealing to consumers interested in functional foods. However, the anthocyanins content is affected by heat treatment and subsequent storage. The kinetics degradation of anthocyanins can be evaluated from a thermodynamic perspective, based on activation functions such as free energy, enthalpy, entropy and activation energy. Objectives: pasteurization effect and anthocyanins stability were studied during storage of pasteurized and non-pasteurized blueberries juices. **Methods:** Pasteurized and non-pasteurized blueberries juices were store at -18, 0, 5 and 10°C during 148 days. Total monomeric anthocyanins concentration was quantified at different times. Principal Components Analysis was performed and experimental results were adjusted to zero and first-order kinetic models as well as to Arrhenius and Eyring ones. **Results:** A decrease in total monomeric anthocyanins original concentration was 28.5 % due to pasteurization while for all temperatures studied, the reduction followed a first-order kinetic during storage. Degradation rate constant varied between 0.0080 - 0.0084 days⁻¹ and half-life, 75 - 87 days for non-pasteurized juices, whereas these parameters were among 0.0023 - 0.0060 days⁻¹ and 116 - 301 days, respectively for pasteurized ones. Activation energy was 44.66 kJ/mol while Gibbs free energy, enthalpy and entropy were 83.80 kJ/mol, 42.35 kJ/mol and -139.09 J/mol. K respectively, for the latter juices. **Conclusions:** Pasteurization caused in a 28.5 % loss of initial total monomeric anthocyanins. Anthocyanins stability was higher in pasteurized blueberries juices and resulted even bigger when store at 0°C, while in pasteurized juices stored -18 ° C were less stable anthocyanins.

Keywords: Anthocyanins stability, degradation kinetics, blueberries juice storage.

INTRODUCCIÓN

La calidad nutricional de los alimentos procesados es de vital interés para los consumidores y la industria de alimentos debido al impacto que tienen los nutrientes en la salud de los consumidores. Los arándanos constituyen una fuente rica en fitonutrientes, entre los que se destacan las antocianinas, las que poseen una alta capacidad antioxidante (1) y a las que se les atribuyen propiedades beneficiosas para la salud, como la prevención de enfermedades cardiovasculares, neuronales, cáncer y diabetes, entre otras (2, 3).

Las antocianinas son pigmentos-antioxidantes que están constituidas por una aglicona o antocianidina; la que en su estado natural está glicosidada por uno o más azúcares. Las diferencias en la estructura de la aglicona se deben al número de grupos hidroxilo y al grado de metilación de estos grupos (4, 5).

Los procesos de fabricación de ciertos productos alimenticios, que contienen antocianinas, involu-

cran tratamientos térmicos, como son el escaldado o la pasteurización. Estos procesos ayudan a mantener los alimentos seguros y a prolongar su vida útil (6). Sin embargo, los tratamientos térmicos y posterior almacenamiento pueden influir en el contenido de antocianinas de los productos finales al afectar su estructura (6, 7). Así, Sui *et al.* (6) al estudiar la estabilidad química de soluciones acuosas de antocianinas tratadas térmicamente y almacenadas a las temperaturas de 4, 25, 45 y 65°C publicaron que las antocianinas fueron más estables cuando el almacenamiento se realizó a 4°C. Martínez-Zambrano *et al.* (8) estudiaron la cinética de degradación de antocianinas de jugo de agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.) almacenados a 4, 17 y 37°C y observaron que ésta siguió una cinética de primer orden y que la degradación de antocianinas se vio acelerada con el incremento de la temperatura.

La combinación de temperatura y tiempo de almacenamiento son variables importantes que deben ser controladas por los industriales para garantizar

una mínima pérdida de calidad de los alimentos. Además, aproximaciones empíricas de modelos cinéticos basados en el concepto de orden de reacción (orden cero y uno) son adecuados para controlar y predecir cambios en los parámetros físico-químicos durante el almacenamiento (9). Adicionalmente, el conocimiento de parámetros cinéticos como constante de velocidad de degradación y tiempo de vida media; y de parámetros termodinámicos como energía libre, entalpía y entropía, proporcionan información concerniente a la estabilidad de las antocianinas (10).

Varias son las publicaciones sobre el efecto de la temperatura en la concentración de antocianinas durante un tratamiento térmico. Sin embargo, se encontraron pocos trabajos referidos al efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el contenido de antocianinas en jugos de arándanos sin pasteurizar y pasteurizado. En este estudio se planteó la hipótesis de que es posible utilizar enfoques empíricos y enfoques basados en termodinámica estadística para describir el efecto de la temperatura de almacenamiento de jugos de arándanos (*Vaccinium corymbosum* L.).

El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de la pasteurización en el contenido de antocianinas de jugos de arándanos y estudiar aproximaciones empíricas y parámetros cinéticos y termodinámicos para describir la estabilidad de las antocianinas presentes en jugos de arándanos sin pasteurizar y pasteurizado durante el almacenamiento a diferentes temperaturas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de jugo de arándano

Arándanos de la variedad Snowchaser (*Vaccinium corymbosum* L. 'Snowchaser') fueron recolectados, lavados y pesados. A continuación se realizó una molienda y, para mejorar el rendimiento de obtención de jugo, se efectuó un tratamiento enzimático a 50 °C durante 78 min con enzimas poligalacturonasas 4 y 8 mg/100 g de arándanos de 8600 PGNU/g y 5700 PGNU/g, respectivamente. El jugo obtenido fue filtrado y dividido en dos fracciones iguales. Una fracción fue envasada en bolsas de polietileno estériles con cierre hermético de 250 mL, tratando de que no queden espacios de aire. La otra fracción fue pasteurizada a 77±1 °C durante 85 s, previo al envasado. La pasteurización

se realizó en un intercambiador de calor de placas de escala piloto armado en la Facultad de Ciencias de la Alimentación, en el que el agua de calentamiento fue de 95±2 °C y la de enfriamiento de 6±2 °C. La relación temperatura-tiempo de pasteurización se seleccionó según ensayos realizados en laboratorio y cuyo propósito fue encontrar la combinación de estas variables que maximicen la concentración de antocianinas monoméricas totales (resultados aún no publicados).

Estudios durante el almacenamiento

Jugos de arándanos sin pasteurizar ($JA_{S/P}$) y pasteurizado (JA_P) fueron almacenados a las temperaturas de -18, 0, 5 y 10 °C durante 148 días. Se almacenaron 84 envases de jugos sin pasteurizar, 21 envases por cada temperatura de almacenamiento. A intervalos regulares de tiempo fueron retirados 3 envases para evaluar la concentración de antocianinas monoméricas totales (AT). De igual forma se procedió con el jugo pasteurizado.

Cinética de degradación de las antocianinas durante el almacenamiento

El orden de la cinética de degradación de la AT se determinó teniendo en cuenta su variación en los jugos, en función del tiempo de almacenamiento (Ecuación 1). La Ecuación 2 describe una reacción de orden cero y la Ecuación 3, una reacción de primer orden (11).

$$\frac{dC}{dt} = -k \cdot C^n \quad \text{Ecuación 1.}$$

$$C = C_0 - k \cdot t \quad \text{Ecuación 2.}$$

$$C = C_0 \cdot e^{-kt} \Rightarrow \ln C = \ln C_0 - k \cdot t \quad \text{Ecuación 3.}$$

donde $C = AT$ al tiempo t (mg cianidina-3-glucósido L^{-1} jugo), $C_0 = AT$ al inicio del almacenamiento (mg cianidina-3-glucósido L^{-1} jugo), $t =$ tiempo (días), $k =$ constante de velocidad de degradación, ($días^{-1}$) y $n =$ orden de la reacción.

Para analizar el ajuste a una cinética de orden cero, se representó, para cada temperatura de almacenamiento, C en función de t . Para analizar el ajuste a una cinética de orden uno se representó el $\ln C$ en función de t . A continuación se realizó el análisis de regresión para las cinéticas de orden cero y uno. Estos estudios permitieron establecer cuál de los dos modelos anteriores describió mejor la degradación de las antocianinas con el tiempo. Para los análisis posteriores se trabajó únicamente con el modelo de mejor ajuste.

Parámetros cinéticos de degradación de antocianinas

Constante de velocidad de degradación

A partir de la pendiente de la curva que describe la variación de la AT en función del tiempo de almacenamiento (Ecuación 3) se obtuvieron los valores de las constantes de velocidad de degradación (k) de las AT presentes en los JA_{S/P} y JA_P, a las temperaturas de -18, 0, 5 y 10 °C (11, 12).

Tiempo de vida media

El tiempo de vida media ($t_{1/2}$) es el tiempo necesario para que la concentración de un reactivo descienda a la mitad de su valor inicial (13). Para determinar el tiempo de vida media de las AT en los jugos se reemplazó en la Ecuación 4, para cada temperatura estudiada, los valores de k en el modelo de mejor ajuste (12).

$$t_{1/2} = \frac{\ln C_0 - \ln \frac{C_0}{2}}{k} = \frac{\ln 2}{k} = \frac{0,693}{k} \quad \text{Ecuación 4.}$$

Energía de activación

La diferencia entre la energía de los reactivos y la energía mínima que deben alcanzar para reaccionar es lo que se conoce como energía de activación. Ésta se puede calcular a partir de la expresión de Arrhenius (Ecuación 5) (11).

$$k = k_0 \cdot e^{\frac{-E_a}{R.T}} \quad \text{Ecuación 5.}$$

donde k = constante de velocidad de degradación de AT (días⁻¹), k_0 = factor de frecuencia o factor preexponencial (días⁻¹), E_a = energía de activación (kJ/mol), R = constante universal de los gases (8,314 J/mol . K) y T = temperatura absoluta (K).

La Ecuación de Arrhenius se puede escribir en forma logarítmica (Ecuación 6).

$$\ln k = \ln k_0 - \frac{E_a}{R.T} \quad \text{Ecuación 6.}$$

La E_a se obtuvo a partir del cálculo de la pendiente ($-E_a/R$) entre la representación de $\ln k$ en función de $1/T$.

Funciones termodinámicas

El modelo de Eyring está basado en la teoría del estado de transición. Esta teoría, también llama

da del complejo activado, describe la reacción entre dos especies pasando por la formación de un complejo activado inestable y en equilibrio con los reactivos, que se descompone en los productos. Sus parámetros son la entalpía de activación (ΔH^*) y la entropía de activación (ΔS^*). La Ecuación 7 muestra el modelo de Eyring, que relaciona las funciones termodinámicas mencionadas (14).

$$k = \frac{k_B \cdot T}{h} \cdot e^{\frac{\Delta G^*}{RT}} = \frac{k_B \cdot T}{h} \cdot e^{\frac{\Delta S^*}{R}} \cdot e^{\frac{-\Delta H^*}{RT}} \quad \text{Ecuación 7.}$$

donde k_B = constante de Boltzmann ($1,381 \cdot 10^{-23}$ J/K), T = temperatura absoluta (K), h = constante de Planck ($6,626 \cdot 10^{-34}$ J . s), ΔS^* = entropía de activación (J/mol . K), ΔH^* = entalpía de activación (kJ/mol) y R = constante universal de los gases (8,314 J/mol . K).

La Ecuación de Eyring se puede escribir en forma logarítmica (Ecuación 8):

$$\ln \frac{k}{T} = \ln \frac{k_B}{h} + \frac{\Delta S^*}{R} - \frac{\Delta H^*}{R.T} \quad \text{Ecuación 8.}$$

Para obtener la entalpía de activación (ΔH^*) y la entropía de activación (ΔS^*) se representó la relación $\ln(k/T)$ en función de $1/T$. Con el valor de la pendiente ($\Delta H^*/R$) y de la constante universal de los gases se calculó ΔH^* y con la ordenada en el origen [$\ln(k_B/h) + \Delta S^*/R$] se obtuvo ΔS^* .

La energía libre de Gibbs de activación puede ser expresada en términos de la entalpía y la entropía de activación. A partir de la Ecuación 9 se determinó ΔG^* (15).

$$9. \Delta G^* = \Delta H^* - T \cdot \Delta S^* \quad \text{Ecuación 9.}$$

donde ΔG^* = Energía libre de Gibbs de activación (kJ / mol), ΔH^* = Entalpía de activación (kJ / mol), ΔS^* = Entropía de activación (J/mol . K) y T = Temperatura (K).

Análisis de la concentración de antocianinas monoméricas totales

La concentración de antocianinas monoméricas totales (AT) se cuantificó por espectroscopía UV-Visible, mediante el método pH diferencial. Una alícuota de jugo se diluyó con buffer de pH 1,0 y otra alícuota con buffer de pH 4,5 y se registró la absorbancia a 510 y 700 nm. La AT fue calculada mediante las Ecuaciones 10 y 11 (16).

$$\Delta A = [(A_{510} - A_{700})]_{(pH=1)} - [(A_{510} - A_{700})]_{(pH=4.5)} \quad \text{Ecuación 10.}$$

$$AT = (\Delta A \cdot PM \cdot FD \cdot 1000) / (\epsilon \cdot l) \quad \text{Ecuación 11.}$$

dónde ΔA = cambio en la absorbancia, AT = concentración de antocianinas monoméricas totales (mg cianidina-3-glucósido L^{-1} de jugo); PM = masa molecular para cianidina-3-glucósido (449,2 g/mol), FD = factor de dilución, ϵ = coeficiente de extinción molar para cianidina-3-glucósido (26900), l = longitud de paso de celda (1cm), 1000 = factor de conversión de gramos a miligramos. Los ensayos se realizaron por triplicado ($n=3$).

Todas las determinaciones analíticas se realizaron por triplicado.

Análisis estadísticos

Análisis de componentes principales

Se utilizó la herramienta de exploración análisis de componentes principales (ACP) de software STATGRAPHICS Centurión XV para analizar la posible existencia de agrupaciones naturales entre las AT correspondientes a $JA_{S/P}$ y JA_P , almacenados a temperaturas de -18, 0, 5 y 10°C y a diferentes tiempos de almacenamiento (17).

Análisis de regresión

Este análisis estadístico se utilizó para determinar el orden de la cinética de degradación de AT (orden cero o uno) que mejor se ajustó a los datos experimentales. La calidad del ajuste sobre los datos experimentales se evaluó con las pruebas: determinación de la significancia de la regresión (modelo significativo: p de regresión $< 0,05$), coeficiente de correlación (r) (Ecuación 12); media del error absoluto (MEA) (Ecuación 13) y prueba de Durbin-Watson (DW) (residuos independientes: p -valor $DW > 0,05$) (18).

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}} \quad \text{Ecuación 12.}$$

dónde x_i e y_i = valores observados y
 e = medias muestrales. Ecuación 13.

donde y_i = valor observado, \hat{y}_i = valor predicho o estimado y n = número de observaciones.

Análisis de comparación de medias

Mediante análisis de varianza (ANOVA) y procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher se compararon las medias de AT con software STATGRAPHICS Centurión XV. Se consideró que hubo diferencias estadísticas significativas entre medias cuando el p de la tabla de ANOVA fue menor que 0,05.

RESULTADOS

Análisis de componentes principales

La temperatura y el tiempo de almacenamiento son parámetros importantes a tener en cuenta durante el almacenamiento del jugo de arándanos. Así, Martínez *et al.* (19) al investigar la estabilidad de antocianinas en jugo concentrado de Agrad (Vaccinium meridionale Sw.) almacenado a 4, 17 y 37 °C, señalaron que la elevación de la temperatura de almacenamiento produce un claro efecto de degradación de las mismas. Es por esto que, se consideró conveniente determinar en qué medida la concentración de antocianinas en jugos de arándanos se vio afectada por la temperatura y el tiempo de almacenamiento.

En un ACP (Figura 1), con 2 componentes quedó explicado el 70 % de la varianza. Los 168 ensayos se agruparon en 5 poblaciones, las que se describen a continuación.

Población 1. Inicio del ensayo ($t= 0$ días) del $JA_{S/P}$.

Población 2. $JA_{S/P}$ almacenados durante 12 días a las temperaturas de 0, 5 y 10 °C.

Población 3. $JA_{S/P}$ almacenados durante 12 días a -18 °C y $JA_{S/P}$ almacenados durante 23, 54, 91, 119 y 148 días a todas las temperaturas ($T= -18, 0, 5$ y 10 °C).

Población 4. Inicio del ensayo ($t= 0$ días) del JA_P .

Población 5. JA_P a todas las temperaturas y tiempos de almacenamiento.

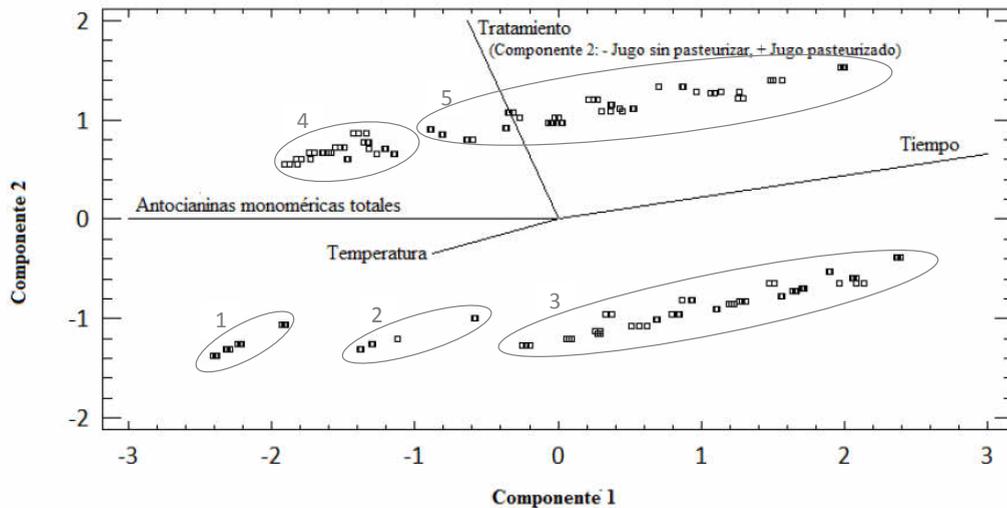


Figura 1. Análisis de componentes principales del estudio de degradación de antocianinas durante el almacenamiento a diferentes temperaturas de jugos de arándanos sin pasteurizar y pasteurizado.

El análisis de la Figura 1 mostró que el tratamiento de pasteurización influyó en el contenido de AT inicial del jugo de arándanos, como así también la temperatura y el tiempo de almacenamiento. El contenido inicial de AT en el JA fue 804,82 mg cianidina-3-glucósido L⁻¹ y en el JA_p, 575,24 mg cianidina-3-glucósido L⁻¹ de jugo; por lo que la pasteurización provocó una disminución del 28,5% en la concentración de antocianinas.

Evolución de la concentración de antocianinas monoméricas totales durante el almacenamiento

Las AT presentes en los jugos se fueron degradando paulatinamente a medida que fue

transcurriendo el tiempo de almacenamiento (Figuras 2 a y b). Los JA_{S/P} presentaron una importante disminución de la concentración de AT en los primeros 23 días, para luego disminuir de manera menos acusada; al igual que los JA_P almacenados a -18 °C. Sin embargo, la degradación de los pigmentos-antioxidantes fue gradual en los JA_P almacenados a 0, 5 y 10 °C. Al final de los 148 días la degradación de AT en el JA_{S/P} estuvo comprendida entre 72 y 81 % y en el JA_P, entre 30 y 69 %, dependiendo de la temperatura de almacenamiento (Tabla 1).

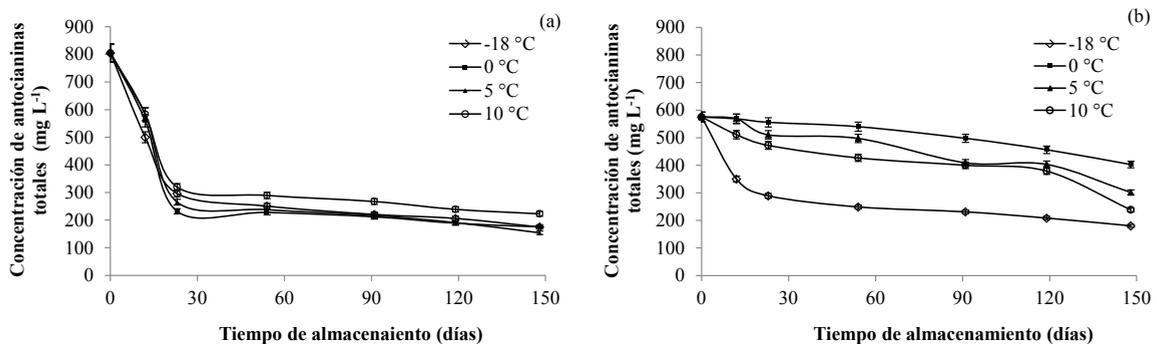


Figura 2. Evolución de la concentración de antocianinas en jugos de arándanos sin pasteurizar (Figura 2a) y en jugos de arándanos pasteurizados (Figura 2b) durante el almacenamiento. Cada punto representa el promedio de 3 réplicas (n=3).

Tabla 1. Degradación de antocianinas en jugos de arándanos al final de 148 días de almacenamiento.

Temperatura de almacenamiento (°C)	Degradación de antocianinas (%)	
	Jugo sin pasteurizar	Jugo pasteurizado
-18	78	69
0	78	30
5	81	48
10	72	59

Cinética de degradación de las antocianinas durante el almacenamiento

Con el propósito de determinar cuál de los jugos ($JA_{S/P}$ y JA_P) fue más estable frente al almacenamiento y cuantificar el efecto de la temperatura en la estabilidad de las antocianinas, se recurrió a la modelización matemática de las cinéticas de degra-

dación con modelos empíricos de distinto orden. A continuación se muestran los resultados, se analiza el orden de la cinética de la reacción de degradación de AT y se estudian distintos parámetros de modelos empíricos y de termodinámica estadística.

En primer lugar, se ajustaron los valores experimentales (VE) a un modelo de orden cero (M0) y a un modelo de orden uno (M1) (Figura 3). En los $JA_{S/P}$, las pendientes de las curvas de las Figuras 3 fueron similares para todas las temperaturas estudiadas, lo que estaría indicando que la velocidad de deterioro de las antocianinas fue similar a todas las temperaturas de almacenamiento. En los JA_P , las pendientes de las curvas fueron mayores cuanto más elevada fue la temperatura de trabajo, con excepción del jugo almacenado a -18°C en los que la pendiente fue mayor.

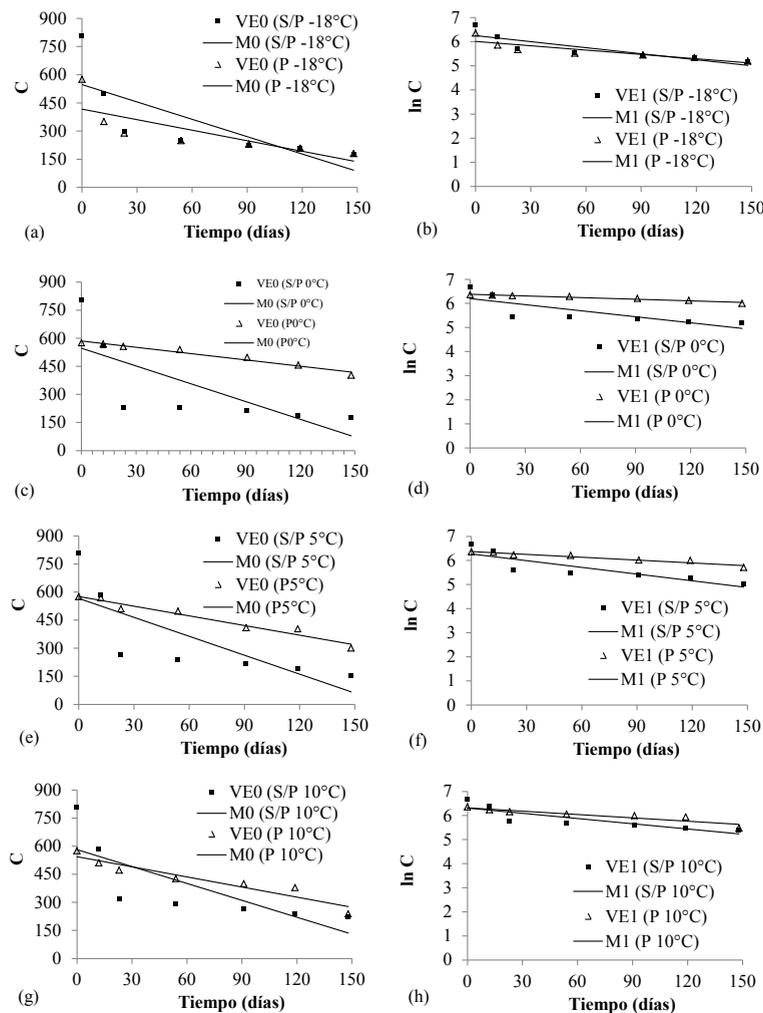


Figura 3. Degradación de antocianinas en los jugos de arándanos sin pasteurizar y pasteurizado durante el almacenamiento a -18 , 0 , 5 y 10°C . VE se refiere a los valores experimentales, donde cada punto representa el promedio de 3 réplicas. M0 muestra los datos obtenidos con el modelo de cinética de orden cero y M1, los datos obtenidos con el modelo de cinética de orden uno. Las unidades de C están expresadas en $\text{mg cianidina-3-glucósido L}^{-1}$ jugo.

Para evaluar cuál de los modelos fue el que mejor describió la degradación de AT en función del tiempo de almacenamiento, se realizó un análisis de regresión y se obtuvieron los criterios de calidad del ajuste que figuran en la Tabla 2. Para los JA_{S/P} y JA_P a todas las temperaturas ensayadas, los valores de p de regresión de los modelos de orden cero y uno indicaron que hubo una relación significativa ($p < 0,05$) entre las variables C ó ln C, según el modelo analizado, y el tiempo de almacenamiento.

Tabla 2. Modelo de regresión de orden cero y uno y parámetros estadísticos de bondad de ajuste a distintas temperaturas de almacenamiento de jugos de arándanos sin pasteurizar y pasteurizado.

Jugo	Orden modelo	Temp. (°C)	Modelo	p regresión	r	MEA	pDW
JA _{S/P}	0	-18	$C = 547,53 - 3,08 \cdot t$	0,0423	-0,59	104,87	0,0089
	0	0	$C = 544,66 - 3,16 \cdot t$	0,0493	-0,54	123,30	0,0107
	0	5	$C = 565,90 - 3,37 \cdot t$	0,0384	-0,61	117,42	0,0100
	0	10	$C = 581,71 - 3,01 \cdot t$	0,0394	-0,60	10,71	0,0186
	1	-18	$\ln C = 6,25 - 0,0083 \cdot t$	0,0115	-0,75	0,10	0,0070
	1	0	$\ln C = 6,20 - 0,0084 \cdot t$	0,0305	-0,64	0,70	0,0508
	1	5	$\ln C = 6,27 - 0,0083 \cdot t$	0,0122	-0,75	0,40	0,0506
	1	10	$\ln C = 6,31 - 0,0080 \cdot t$	0,0164	-0,72	0,00	0,0524
JA _P	0	-18	$C = 416,90 - 1,87 \cdot t$	0,0346	-0,62	60,60	0,0248
	0	0	$C = 585,24 - 1,12 \cdot t$	0,0001	-0,97	9,64	0,0195
	0	5	$C = 576,05 - 1,72 \cdot t$	0,0001	-0,96	16,75	0,9469
	0	10	$C = 543,92 - 1,80 \cdot t$	0,0010	-0,90	28,75	0,2040
	1	-18	$\ln C = 6,01 - 0,006 \cdot t$	0,0091	-0,77	0,13	0,0194
	1	0	$\ln C = 6,38 - 0,0023 \cdot t$	0,0002	-0,95	0,02	0,0570
	1	5	$\ln C = 6,37 - 0,0039 \cdot t$	0,0004	-0,93	0,04	0,7308
	1	10	$\ln C = 6,32 - 0,0046 \cdot t$	0,0026	-0,86	0,08	0,2458

Para el modelo de primer orden los coeficientes de correlación próximos a -1 señalaron que existió una fuerte relación lineal negativa entre ln C y el tiempo de almacenamiento, por lo que, cuanto mayor fue el tiempo de almacenamiento, menor fue la AT y, en consecuencia, mayor fue el deterioro de las antocianinas. Además, para este modelo, las MEA fueron pequeñas y los p DW ($> 0,05$) señalaron independencia entre los residuos, con excepción del JA_P almacenado a -18°C.

Por lo tanto, dado que este modelo, en general, cumplió con los criterios de calidad de ajuste, se propone que la variación de la AT, en los JA_{S/P} y JA_P, en función del tiempo de almacenamiento siguió una cinética de primer orden.

Consecuentemente, los siguientes análisis de esta investigación se realizaron para un modelo de primer orden.

Parámetros cinéticos de degradación de antocianinas

En los JA_{S/P} la k no mostró diferencias a las distintas temperaturas estudiadas, mientras que en los JA_P la k aumentó con el incremento de la temperatura de almacenamiento, con excepción de los JA_P almacenado a -18°C, que mostraron el valor más alto de esta constante (Tabla 3). Para una misma temperatura, k siempre fue menor en los JA_P.

Letras minúsculas diferentes en una misma columna indican que el ANOVA señaló diferencias significativas entre las medias de k a distintas temperaturas, mientras que letras mayúsculas distintas en una misma fila señalan diferencias entre las medias de k del jugo de arándano sin pasteurizar y pasteurizado.

Tabla 3. Efecto de la temperatura en la k y el $t_{1/2}$ de las antocianinas en los jugos de arándanos sin pasteurizar y pasteurizado a distintas temperaturas de almacenamiento.

Temperatura de almacenamiento (°C)	Jugo de arándano sin pasteurizar		Jugo de arándano pasteurizado	
	k (días ⁻¹)	$t_{1/2}$ (días)	k (días ⁻¹)	$t_{1/2}$ (días)
-18	0,0083 ± 0,0002 aA	83	0,0060 ± 0,0001 aB	116
0	0,0084 ± 0,0002 aA	83	0,0023 ± 0,0001 bB	301
5	0,0083 ± 0,0002 aA	75	0,0039 ± 0,0001 cB	178
10	0,0080 ± 0,0002 aA	87	0,0046 ± 0,0001 dB	151

Los JA_p tuvieron un $t_{1/2}$ entre 1,4 y 3,6 veces superior a los $JA_{S/P}$; siendo más alto cuando los JA_p se almacenaron a 0 °C y más bajo cuando se almacenaron a -18 °C (Tabla 3).

Teniendo en cuenta los resultados anteriores, los estudios de los modelos de Arrhenius y Eyring se realizaron para los JA_p almacenados a 0, 5 y 10 °C.

Para estudiar el ajuste de la Ecuación de Arrhenius se obtuvo la relación entre las k identificadas y cada una de las temperaturas de tratamiento (Figura 4a). El alto coeficiente de correlación obtenido (-0,92) estaría indicando una alta correlación entre $\ln k$ y $1/T$ y por lo tanto un buen ajuste del modelo de Arrhenius. La E_a obtenida fue de 44,66 kJ/mol.

Las funciones termodinámicas del modelo de Eyring fueron calculadas representando $\ln(k/T)$ en función de $1/T$ (Figura 4b). El coeficiente de correlación obtenido fue -0,91; poniendo de manifiesto una alta correlación entre las variables señaladas.

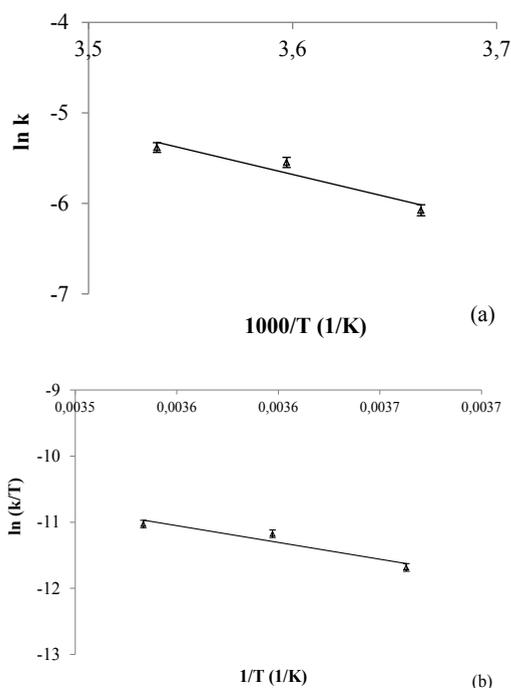


Figura 4. Efecto de la temperatura sobre la constante de velocidad de degradación de las antocianinas presentes en el jugo de arándano pasteurizado (Figura 4a). Relación entre la velocidad de degradación de las antocianinas en jugo de arándano pasteurizado en función de la temperatura (Ecuación de Eyring) (Figura 4b).

El valor de ΔG^* (calculado a 25 °C) fue 83,80 kJ/mol, el de ΔH^* , 42,35 kJ/mol y el de ΔS^* , -139,09 J/mol.K.

DISCUSIÓN

En la presente investigación se logró cuantificar el efecto de la pasteurización y del almacenamiento en el contenido de antocianinas de jugos de arándanos, determinándose que la estabilidad de los pigmentos-antioxidantes fue mayor en los JA_p almacenados a 0 °C.

El tratamiento térmico de pasteurización a 77 ± 1 °C durante 85 s, provocó una disminución de la AT inicial del jugo de arándanos de 28,5 %; en coincidencia con lo publicado por otros autores, que señalan que temperaturas elevadas ocasionan una degradación de antocianinas monoméricas debido a su fácil oxidación, provocando degradación de color y pérdidas en el valor nutricional de productos alimenticios (10, 20). La disminución de la AT obtenida en el presente estudio fue ligeramente superior al obtenido por Pozo-Insfran *et al.* (21), quienes reportaron una pérdida de 24% de AT durante la pasteurización de jugo de uva a 75 °C durante 15 s.

Durante el almacenamiento también se observó degradación de la AT, tanto en el $JA_{S/P}$ como en el JA_p . Sin embargo, el deterioro de los pigmentos-antioxidantes durante los primeros 23 días fue mucho mayor en el $JA_{S/P}$. Probablemente esto fue debido a la presencia de enzimas nativas de las frutas que también se encuentran en jugos sin pasteurizar, tales como polifenol oxidasa, peroxidasa y β -glucosidasas; las que pueden causar una rápida oxidación de las antocianinas (1, 20).

El deterioro de las antocianinas presentes en los JA_p almacenados a -18 °C no fue gradual como los demás JA_p almacenados a 0, 5 y 10 °C; sino que tuvo un comportamiento similar al de $JA_{S/P}$. La pérdida de antocianinas monoméricas totales, desde el inicio hasta el final del almacenamiento en los JA_p almacenados a -18 °C fue 69 %. Esta pérdida fue superior a las señaladas por Reque *et al.* (27), quienes para frutos de arándano almacenados a -18 °C durante 6 meses publicaron 59 % de degradación de antocianinas; mientras que Chaovanalikit y Wrolstad (28) obtuvieron para cerezas, almacenadas a -23 °C durante 6 meses, una degradación de antocianinas mayor que las obtenidas en la presente investigación, alcanzando valores de hasta 87 %.

Los estudios de cinética de degradación de antocianinas durante el almacenamiento de los $JA_{S/P}$ y JA_p señalaron que la variación de la AT en función del tiempo de almacenamiento siguió una cinética de primer orden, para todas las temperaturas estudiadas.

A la misma conclusión llegaron los autores Martínez-Zambrano *et al.* (8) en sus investigaciones referidas a estabilidad de antocianinas de jugos de agraz almacenados a 4, 17 y 37 °C. En los JA_{S/P} la velocidad de deterioro de las antocianinas fue similar a todas las temperaturas de almacenamiento, probablemente debido a la rápida degradación provocada por enzimas nativas (20). Sin embargo, con excepción de los JA_p almacenados a -18 °C, en los JA_p el deterioro fue menor cuanto más bajas fueron las temperaturas de almacenamiento. Estos resultados coinciden con los obtenidos por los investigadores Kamiloglu *et al.* (22), quienes publicaron que la estabilidad de antocianinas de confituras y mermeladas de zanahorias almacenadas a 4 y 25 °C fue mayor cuando la temperatura de almacenamiento fue de 4 °C. También Sui *et al.* (6) obtuvieron que el color de soluciones de antocianinas almacenadas a 4, 25, 45 y 65 °C disminuyó durante el almacenamiento, encontrándose menor degradación a la más baja temperatura.

Los parámetros de los modelos empíricos también pusieron de manifiesto el efecto adverso que provocó la elevación de la temperatura de almacenamiento sobre la AT. En los JA_p las *k* tomaron valores de: 0,0023, 0,0039 y 0,0046 días⁻¹, para las temperaturas de almacenamiento de 0, 5 y 10 °C, respectivamente. Estos resultados fueron más bajos que los publicados por Reyes y Cisneros-Zevallos (23), quienes para extractos acuosos de antocianinas de batatas a pH 3 y almacenados a 25 °C calcularon *k* de 0,0168 y 0,0072 días⁻¹, dependiendo de la variedad. Un estudio similar realizaron en extractos acuosos concentrados de uva y zanahoria morada, en los que las *k* fueron 0,1585 y 0,0024 días⁻¹, respectivamente. Por lo tanto, la velocidad de degradación de antocianinas durante el almacenamiento de JA_p fue menor que para los extractos acuosos.

En cuanto a los parámetros de termodinámica estadística, no se encontraron publicaciones comparables que hagan referencia a ΔH^* , ΔS^* y ΔG^* . Referido a la *E_a*, un valor más alto de ésta indica una mayor sensibilidad de las antocianinas a la elevación de la temperatura (24). En el JA_p la *E_a* (44,66 kJ/mol) fue similar a la reportada por Albarici y Pessoa (25) para bebida de açai (49,24 kJ/mol) y menor que la publicada por Wang y Xu (26) para jugos de mora a 8,90°Brix (75,5 kJ/mol) y a 65°Brix (65,06 kJ/mol). En consecuencia, durante el almacenamiento, las antocianinas en los JA_p tuvieron una estabilidad similar que las presentes en la bebida de açai y mayor estabilidad que las de jugos de mora.

Si bien la proporción de antocianinas deterioradas en los JA_p almacenados a -18 °C fue comparable a los publicados por diferentes autores para frutos de arándanos y cerezas, una limitación del presente estudio es que no se logró justificar porque la degradación de las antocianinas en estos jugos fue superior que las demás temperaturas de almacenamiento estudiadas.

CONCLUSIONES

El tratamiento de pasteurización provocó una disminución del 28,5% en la concentración de antocianinas monoméricas totales iniciales de los jugos de arándano. La degradación de las antocianinas durante el almacenamiento, en los jugos de arándanos sin pasteurizar y pasteurizados, se ajustó a un modelo de primer orden, mientras que los modelos de Arrhenius y Eyring se ajustaron a los resultados experimentales de los jugos de arándanos pasteurizados. La estabilidad de las antocianinas, durante el almacenamiento, fue mayor en los jugos de arándanos pasteurizados que en los jugos sin pasteurizar, siendo mayor la estabilidad cuando los jugos pasteurizados se almacenaron a temperaturas de 0°C.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de Entre Ríos por el financiamiento de la investigación, en el marco del proyecto PID-UNER 8068 “Diseño de jugo de arándanos con propiedades antioxidantes y probióticas”.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses en esta investigación.

Limitaciones del estudio

Es de sumo interés realizar investigaciones complementarias que permitan explicar el mayor deterioro de antocianinas en jugos de arándanos pasteurizados almacenados a -18 °C.

REFERENCIAS

1. Buckow R, Kastell A, Terefe NS, Versteeg C. Pressure and temperature effects on degradation kinetics and storage stability of total anthocyanins in blueberry juice. *J. Agric. Food Chem.* 2010; 58 (18): 10076-10084.

2. Castañeda-Ovando A, Pacheco-Hernández ML, Páez-Hernández ME, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chem.* 2009; 113: 859-871.
3. Moldovan B, David L, Chişbora C, Cimpoiu C. Degradation kinetics of anthocyanins from european cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit extracts. Effects of temperature, pH and storage solvent. *Molecules.* 2012; 17: 11655-11666.
4. Aguilera Ortíz M, Reza Vargas MC, Chew Madinaveitia RG, Meza Velázquez JA. Propiedades funcionales de las antocianinas. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud.* 2011; XIII: 16-22.
5. Garzón, GA. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta Biol Colomb.* 2008; 13: 27-36.
6. Sui X, Bary S, Zhou W. Changes in the color, chemical stability and antioxidant capacity of thermally treated anthocyanin aqueous solution over storage. *Food Chem.* 2016; 192: 516-524.
7. Jie L, Xiao-ding L, Yun Z, Zheng-dong Z, Zhi-ya Q, Meng L, Shao-hua Z, Shuo L, Meng W, Lu Q. Identification and thermal stability of purple-fleshed sweet potato anthocyanins in aqueous solutions with various pH values and fruit juices. *Food Chem.* 2013; 136: 1429-1434.
8. Martínez-Zambrano JJ, Rojas-Sarmiento HA, Borda-Guerra GC, Hastamorir-Caro AN, Medina-Riaño MF. Estabilidad de Antocianinas en Jugo y Concentrado de Agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.). 2011; *Rev Fac Nal Agr Medellín.* 2011; 64(1): 6015-6022.
9. Remini H, Mertz Ch, Belbahi A, Achir N, Dornier M, Madani K. Degradation kinetic modelling of ascorbic acid and colour intensity in pasteurised blood orange juice during storage. *Food Chem.* 2015; 173: 665-673.
10. Martynenko A, Chen Y. Degradation kinetics of total anthocyanins and formation of polymeric color in blueberry hydrothermodynamic (HTD) processing. *J Food Eng.* 2016; 171: 44-51.
11. Loypimai P, Moongnarm A, Chottanom P. Thermal and pH degradation kinetics of anthocyanins in natural food colorant prepared from black rice bran. *J Food Sci Technol.* 2016 Jan; 53(1): 461-70.
12. Casp A, Abril J. Procesos de conservación de alimentos. 2ª edición. Madrid, España: Ediciones Mundi-prensa; 1999.
13. Brown TE, LeMay HE, Bursten BE, Burdge JE. Química. La ciencia central. 9ª edición. México: Editorial Pearson; 2004.
14. Cisse M, Vaillant F, Acosta O, Dhuique-Mayer C, Dornier M. Thermal degradation kinetics of anthocyanins from blood orange, blackberry, and roselle using the Arrhenius, Eyring and Ball Models. *J Agric Food Chem.* 2009; 57: 6285-6291.
15. Atkins PW. Química Física. 6ª edición. Barcelona: Omega SA; 1999.
16. Mercali GD, Gurak PD, Schmitz F, Ferreira-Marczak LD. Evaluation of non-thermal effects of electricity on anthocyanin degradation during ohmic heating of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) juice. *Food Chem.* 2015; 171: 200-205.
17. Hernández-Martínez V, Salinas-Moreno Y, Ramírez-Díaz JL, Vázquez-Carrillo G, Domínguez-López A, Ramírez-Romero AG. Color, phenolic composition and antioxidant activity of blue tortillas from Mexican maize races. [Internet]. *CyTA-Journal of Food.* 2016. [Citado 28 de marzo de 2016] Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2015.1136842>
18. Gutiérrez-Pulido H, Vara-Salazar H. Análisis y diseño de experimentos. 2ª edición. México: McGraw-Hill; 2008.
19. Martínez JJ, Rojas HA, Borda G, Hastamorir AN, Medina MF. Estabilidad de antocianinas en jugo y concentrado de agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.). *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín.* 2011; 64: 6015-6022.
20. Sarkis JR, Jaeschke DP, Tessaro IC, Marczak LDF. Effects of ohmic and conventional heating on anthocyanin degradation during the processing of blueberry pulp. *LWT - Food Sci Technol.* 2013; 51: 79-85.
21. Pozo-Insfran DD, Balaban MO, Talcott ST. Enhancing the retention of phytochemicals and organoleptic attributes in Muscadine grape juice through a combined approach between dense phase CO2 processing and copigmentation. *J Agric Food Chem.* 2006; 54: 6705-6712.
22. Kamiloglu S, Pasli AA, Ozcelik B, Camp JV, Capanoglu E. 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. *J Funct Foods.* 2015; 13: 1-10.
23. Reyes FL, Cisneros-Zevallos L. Degradation kinetics and colour of anthocyanins in aqueous extracts of purple- and red-flesh potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Food Chem.* 2007; 100: 885-894.
24. Danişman G, Arslan E, Toklucu AK. Kinetic analysis of anthocyanin degradation and polymeric colour formation in grape juice during heating. *Czech J Food Sci.* 2015; 33: 103-108.
25. Albarici TR, Pessoa JDC. Effects of heat treatment and storage temperature on the use of açai drink by nutraceutical and beverage industries. *Ciênc Tecnol Aliment, Campinas.* 2012; 32: 9-14.
26. Wang WD, Xu SY. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *J Food Eng.* 2007; 82: 271-275.
27. Reque PM, Steffens RS, Jablonski A, Flôres SH, Rios AO, Jong EV. Cold storage of blueberry (*Vaccinium* spp.) fruits and juice: Anthocyanin stability and antioxidant activity. *J Food Compos Anal.* 2014; 33: 111-116.
28. Chaovanalikit A, Wrolstad RE. Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *J Food Sci.* 2004; 69:73-83.