UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Aprovechamiento de biomasa residual de mora de Castilla (*Rubus glaucus*) como aditivo colorante en bebidas lácteas

Wilson David Martínez Niño

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Bogotá, Colombia

2021

Aprovechamiento de biomasa residual de mora de Castilla (*Rubus glaucus*) como aditivo colorante en bebidas lácteas

Wilson David Martínez Niño

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Directora:

PhD., Consuelo Díaz-Moreno

Codirector:

PhD., Carlos Alberto Fuenmayor Bobadilla

Línea de Investigación:

Desarrollo de nuevos productos

Grupo de Investigación:

BIOALIMENTOS

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Bogotá, Colombia

2021

Después de un largo proceso de aprendizaje, no solo académico sino personal, concluyo esta etapa de mi vida agradeciéndole a Dios primeramente por darme las fuerzas para continuar ante todas las circunstancias y demás eventualidades que se presentaron durante la realización de este trabajo.

Agradezco también:

A mi familia y a mi perrita por estar en todos los momentos acompañándome, a la Universidad Nacional de Colombia y específicamente al Instituto de Ciencia y Tecnología de alimentos que junto con mis directores de tesis y el personal de apoyo me brindaron todos los implementos necesarios para realizar este proyecto, también a la gestión realizada por mi entidad financiadora Colciencias, Colfuturo y la Gobernación de Boyacá por darme los recursos suficientes para concluir esta tesis exitosamente, por ultimo agradezco a todos mis amigos por el gran apoyo brindado en los momentos de dificultad y por haber vivido este proceso a mi lado. Bendiciones a todos…

Declaración de obra original

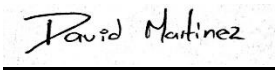
Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.



Wilson David Martínez Niño

C.C 1052401752 de Duitama

01/04/2022

Aprovechamiento de biomasa residual de mora de Castilla *(Rubus glaucus)* como aditivo colorante en bebidas lácteas

Resumen

El aprovechamiento de biomasa residual obtenida de productos hortofrutícolas que contienen componentes bioactivos cuya revalorización aumenta la sostenibilidad de los procesos productivos fue el objeto central del trabajo, se estudió el caso de la mora de castilla (*Rubus glaucus*), fruto altamente perecedero, evaluando su etapa de senescencia en el sector productivo y realizando un seguimiento de la concentración de antocianinas totales del producto, siendo esta condición un aspecto potencial para obtener extractos colorantes con aplicaciones en la industria de alimentos, se optimizaron las condiciones de extracción convencional sólido-líquido, extracción asistida por ultrasonido y extracción asistida por microondas, siendo la extracción asistida por ultrasonido la mejor condición para obtener el extracto colorante. Posteriormente, se evaluaron condiciones de encapsulación y se realizó una aplicación en yogur, validando el comportamiento del extracto colorante frente a un producto sintético, con resultados satisfactorios en el seguimiento del color del yogur durante su periodo de vida útil.

Palabras clave: mora, subproducto, color, extractos

Use of residual biomass of blackberry from Castile *(Rubus glaucus)* as a coloring additive in dairy drinks

Abstract

The use of residual biomass obtained from fruit and vegetable products that contain bioactive components whose revaluation increases the sustainability of the production processes was the central objective of the work in the case of the blackberry of Castile (Rubus glaucus), a highly perishable fruit, was studied, evaluating its stage of senescence in the productive sector and monitoring the concentration of total anthocyanins in the product, this condition being a potential aspect to obtain coloring extracts with applications in the food industry, the conditions of conventional solid-liquid extraction, assisted extraction by ultrasound and microwave-assisted extraction, with ultrasound-assisted extraction being the best condition to obtain the coloring extract. Subsequently, encapsulation conditions were evaluated, and an application was made in yogur, validating the behavior of the coloring extract against a synthetic product, with satisfactory results in monitoring the color of the yogur during its shelf life.

Keywords: blackberry, residual biomass, color, extract

Contenido

Pág.

Lista de figuras.....¡Error! Marcador no definido.

Lista de tablas .....¡Error! Marcador no definido.

Lista de Símbolos y abreviaturas.....¡Error! Marcador no definido.

Introducción .....¡Error! Marcador no definido.

1. Caracterización fisicoquímica y bioactiva de biomasa residual de mora de castilla (*Rubus glaucus)* 3
1.1 Poscosecha de mora de Castilla (*Rubus glaucus*)..... 3
1.2 Metodología 10
1.3 Resultados y discusión..... 20
1.4 Conclusiones parciales 31
1.5 Bibliografía 32

2. Procesos de extracción sólido-líquido, asistida por ultrasonido y microondas de biomasa residual de mora de castilla en soluciones hidroalcohólicas.....39
2.1 Extracción Sólido Líquido 39
2.2 Extracción de antocianinas por métodos convencionales..... 40
2.3 Extracción asistida por Ultrasonido (UAE) 41
2.4 Extracción asistida por microondas (MAE) 42
2.5 Metodología 43
2.6 Resultados y discusión de resultados..... 53
2.7 Conclusiones parciales 61
2.8 Bibliografía 61

3. Proceso de microencapsulación y aplicación del aditivo colorante derivado de biomasa residual de mora de castilla en yogur 67
3.1 Microencapsualción por secado por aspersión (spray drying) 67
3.2 Aplicación de aditivos colorantes en bebidas lácteas 71
3.3 Metodología 72
3.4 Resultados y discusión de resultados..... 79
3.5 Conclusiones parciales 87
3.6 Bibliografía 87

4. Conclusiones y recomendaciones.....95
4.1 Conclusiones..... 95
4.2 Recomendaciones..... 95

Lista de figuras

Figura 1-1. Clasificación para la madurez de mora de Castilla . Fuente NTC 4106. 4
Figura 1-2. Diagrama de torta que representa el porcentaje de pérdida en los diferentes eslabones de la cadena alimentaria. Fuente: (DNP, 2016). 5
Figura 1-3. Estructura de las Antocianinas 9
Figura 1-4. Eslabones de la cadena de suministro de mora de Castilla.....10
Figura 1-5. Diagrama de proceso para adecuación extracción y cuantificación de antocianina 17
Figura 1-6. Contenido de antocianinas manométricas reportadas en cyn-3-glu/g de fruta fresca.....24
Figura 1-7. Coordenadas L* a* y b* para biomasa residual de mora de castilla en las tres condiciones de almacenamiento. 26
Figura 1-8. Contenido de sólidos solubles totales en las tres condiciones de almacenamiento.....28
Figura 1-9. Comportamiento del pH en las tres condiciones de almacenamiento. 29
Figura 1-10. Contenido de acidez titulable en las tres condiciones de almacenamiento.30
Figura 2-1. Mora de Castilla en su punto óptimo de madurez comercial NTC4106 y en su punto óptimo de senescencia.....44
Figura 2-2. Cuantificación de antocianinas monoméricas por el método de pH-diferencial. 44
Figura 2-3. Determinación de Sólidos totales 45
Figura 2-4. Filtración al vacío de la muestra.....46
Figura 2-5. Vessel y panel de control para el ajuste de condiciones para microondas ...48
Figura 2-6. Vessel puestos en el sistema de microondas. 48
Figura 2-7. Optimización y gráfica de efectos principales para el rendimiento AMT, Saturación y CAMT-MSE. 57
Figura 2-8. Optimización y gráfica de efectos principales para la tasa de extracción antocianinas por 100 g fruta fresca. 60

Lista de tablas

Tabla 1-1. Criterios de madurez de mora de Castilla 4
Tabla 1-2. Composición química de mora de Castilla..... 8
Tabla 1-3. Principales antocianinas encontrado en mora de Castilla..... 8
Tabla 1-4. Sustituyentes de las antocianinas. 9
Tabla 1-5. Diseño experimental para evaluar muestras de biomasa residual de mora de Castilla en cuatro eslabones de la cadena de suministro 13
Tabla 1-6. Diseño experimental para evaluar muestras de mora senescentes en almacenamiento en condiciones controladas 14
Tabla 1-7. Almacenamiento de muestras de mora de castilla senescente en condiciones controladas..... 15
Tabla 1-8. Extracción y cuantificación de antocianinas monoméricas 18
Tabla 1-9. Contenido de antocianinas y propiedades fisicoquímicas en los 4 eslabones de la cadena de suministro..... 20
Tabla 1-10. Principales causas de pérdidas y desperdicios en los 4 niveles de la cadena de suministro..... 22
Tabla 2-1. Relaciones biomasa residual/solvente evaluadas en extracción asistida con ultrasonido..... 46
Tabla 2-2. Relaciones biomasa residual/solvente evaluadas en la extracción asistida con microondas..... 48
Tabla 2-3. Evaluación de las variables de tiempo y agitación para extracción convencional. 49
Tabla 2-4. Ensayos para selección de variables en la extracción asistida por UAE. 50
Tabla 2-5. Diseño experimental para la selección de variables en la extracción UAE. ... 50
Tabla 2-6. Diseño experimental tipo Box-Benkhen para la extracción UAE..... 51
Tabla 2-7. Ensayos para la selección de las variables en la extracción MAE. 51
Tabla 2-8. Diseño experimental para selección de variables de la extracción MAE 52
Tabla 2-9. Diseño experimental para la optimización de la extracción MAE. 52
Tabla 2-10. Concentración de antocianinas totales y color en la extracción convencional 54
Tabla 2-11. Concentración de antocianinas, rendimiento y eficiencia en la extracción UAE 55
Tabla 2-12. Concentración de antocianinas, rendimiento, color y la eficiencia en la extracción MAE. 58
Tabla 3-1. Clasificación de encapsulantes utilizados en la industria de alimentos según su origen. 70
Tabla 3-2. Diseño experimental secado por aspersión (spray dryer). 73

Tabla 3-3. Diseño concentración similar a un producto comercial (spray dryer)..... 78
Tabla 3-4. Diseño almacenamiento de la aplicación en yogur 78
Tabla 3-5. Propiedades fisicoquímicas de los microencapsulados..... 79
Tabla 3-6. Propiedades de color de los microencapsulados 80
Tabla 3-7. Evaluación microbiológica de los microencapsulados..... 81
Tabla 3-8. Colorimetría L* a* b* para color del yogur en almacenamiento 84

Introducción

En todas las cadenas productivas de la agroindustria se genera biomasa residual, que también se conoce como “pérdida” o “desperdicio” de acuerdo al eslabón de la cadena de suministro del cual provenga (DNP, 2016), las frutas y verduras sufren deterioro durante la cosecha, manipulación, transporte, transformación y disposición (Sena, 2014; Villacrez, 2013), generando residuos que llegan al 58% de la masa total de alimentos disponibles (DNP, 2016).

La Mora de Castilla *(Rubus glaucus),* es una fruta tropical con aceptación a nivel nacional e internacional principalmente por sus propiedades sensoriales, destinada al consumo directo y utilizada como materia prima en la agroindustria para producción de zumos, mermeladas, entre otros subproductos transformados (Villacrez, 2013). ,Es un fruto morfológicamente sensible, con una vida útil corta, pierde con facilidad su calidad comercial debido a factores como humedad, temperatura, plagas, hongos o incluso daños mecánicos, que se presentan durante la cadena de producción, los residuos generados en la producción y comercialización del fruto pueden llegar a ser del 40% (Leiva, Arévalo, Díaz, Galindo, & Rivero, 2011; Sena, 2014).

En Colombia existen varios nichos ecológicos apropiados para su cultivo, en particular, zonas alto andinas como el Departamento de Boyacá, que lo convierten en un fruto con grandes posibilidades agroindustriales (Dane & Antioaquia, 2013), varios estudios demuestran el potencial que tiene este fruto como colorante, por su alto contenido de antocianinas, responsables de brindar su color característico rojo-morado (Bernal, Melo, & Díaz, 2014; Osorio & Almanza, 2013; Villacrez, 2013), sin embargo este tipo de compuestos han sido estudiados durante las etapas de precosecha y madurez comercial (Ayala & Valenzuela, 2013; Garzón et al., 2009; Osorio & Almanza, 2013), por lo cual no se conoce como se comportan estas propiedades durante la senescencia o sobre maduración.

Por lo anterior, genera interés en la investigación del fruto como biomasa residual. Este estudio las características fisicoquímicas y bioactivas, con el fin de evaluar técnicas de extracción por medio de tecnologías verdes, conocer la estabilidad de sus componentes y estudiar la posibilidad de obtener un pigmento natural fuente de antocianinas a partir del aprovechamiento del residuo generado en mora de Castilla *(Rubus glaucus)* como aditivo colorante para aplicación en bebidas lácteas.

1. Caracterización fisicoquímica y bioactiva de biomasa residual de mora de castilla (*Rubus glaucus)*

1.1 Poscosecha de mora de Castilla (*Rubus glaucus*)

La mora de Castilla es un fruto proveniente de una planta arbustiva con espinas, que produce flores y frutos permanentemente (Dane & Antioquia, 2013), se cultiva en un rango óptimo entre los 1800 y 2400 msnm, con temperaturas entre 12 y 18 °C, humedad relativa entre el 80 - 90 %, y un requerimiento de suelos ricos en materia orgánica con pH entre los 5,5 y 6,5 (Leiva et al., 2011). Las épocas de cosecha se ven determinadas generalmente por la precipitación en las zonas productivas, por esta razón en los mercados mayoristas de Colombia se observa una mayor oferta entre los meses de marzo a mayo, una oferta normal de abastecimiento de junio a septiembre, mientras que de octubre a febrero puede llegar a presentar escasez (Sena, 2014).

La poscosecha está comprendida en el periodo donde se presenta el desprendimiento de la fruta del racimo floral, hasta donde inicia el proceso de transporte al mercado, centro de acopio, supermercado, industria, procesadora o intermediario (Grijalba, Calderón, & Pérez, 2010). Los indicadores de madurez de la mora más empleados son:

Imagen 1-1. Mora de Castilla (Rubus glaucus Benth

Índice de cosecha: la selección del estado óptimo de maduración garantiza la calidad, condiciones y vida útil del producto, por esta razón de acuerdo a la Norma Técnica Colombiana NTC 4106, se clasifican 6 estados de madurez con respecto a su color (Ayala & Valenzuela, 2013).

Figura 1-1. Clasificación para la madurez de mora de Castilla . Fuente NTC 4106.

La madurez de la mora se evidencia por el cambio de color, también existen otros criterios para la selección del punto óptimo de madurez, como lo son:

Tabla 1-1. Criterios de madurez de mora de Castilla

Métodos físicos	Tamaño, peso, firmeza, facilidad de abscisión o desprendimiento de la planta.
Análisis fisicoquímicos	Acidez titulable, °Brix, Índice de madurez (relación entre los °Brix y la acidez titulable).
Métodos sensoriales	Sabor, aroma, color.

Estos criterios se encuentran estrechamente ligados con el carácter no climatérico de la mora de Castilla, puesto que la maduración del fruto se ve interrumpida al momento que el fruto es cosechado; por esta razón, el fruto debe ser retirado cuando su color sea rojo vino tinto brillante y no negro, ya que provocaría una sobre maduración del fruto y un aumento en la velocidad de deterioro, además de tener en cuenta los diferentes cuidados que conlleva cosechar una fruta tan perecedera (Leiva et al., 2011), como lo son:

- Realizar la cosecha después de secado del rocío para evitar el exceso de humedad.
- El producto debe ser transportado y entregado máximo de 8 a 12 horas después de la recolección para no perder su calidad.
- Evitar mantener un contacto directo con el cuerpo humano luego de ser recolectado el fruto.
- Evitar daños por compactación o magullamiento.
- Preferiblemente utilizar el empaque en el cual se comercializará para mitigar la manipulación del fruto.
- Utilizar empaques adecuados generalmente plásticos o de cartón, de poco volumen para evitar el aplastamiento de los frutos (Soria, 2014; Stella & Meneses, 2009).

1.1.1 Biomasa residual de mora de Castilla

Los residuos alimenticios se pueden clasificar en: **Pérdidas** que hacen referencia a la disminución de los alimentos disponibles para el consumo humano por ineficiencias en la cadena de producción y **Desperdicios** que corresponden a la disminución de los alimentos relacionado con el comportamiento, la oferta, la demanda, y la manipulación de los mismos.

Los anteriores residuos corresponden a la masa de alimentos que se pueden encontrar disponibles en los diferentes eslabones de la cadena alimentaria, que no tuvieron un fin útil, como se aprecia en la siguiente figura (Gaviria et al., 2016) ocasionando que al año se pierdan y desperdicien el 34% de los alimentos, correspondiendo el 58% precisamente a frutas y verduras, es decir 6’081.134 toneladas (DNP, 2016).

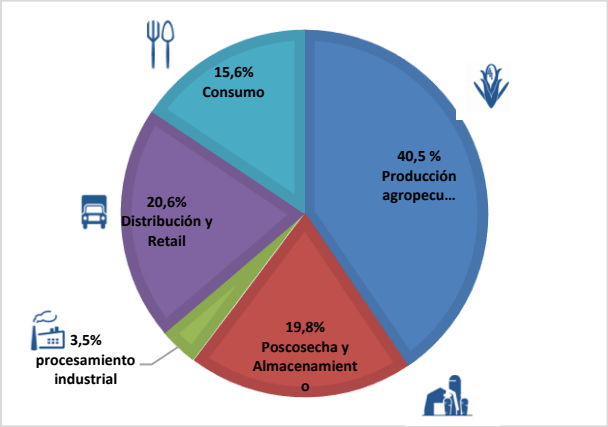


Figura 1-2. Diagrama de torta que representa el porcentaje de pérdida en los diferentes eslabones de la cadena alimentaria. Fuente: (DNP, 2016).

En el caso de la mora de Castilla se generan residuos durante las operaciones de selección, clasificación, limpieza y desinfección, además de verse afectadas por agentes externos como plagas, humedad, carencia de tecnología, infraestructura, canales de distribución y poca demanda de consumo (Gaviria et al., 2016), estos factores bióticos en campo y pos-cosecha ocasionan pérdidas del alrededor de 40% dentro de proceso productivo, siendo el moho gris, la enfermedad de mayor incidencia en el deterioro del fruto, y representando pérdidas de casi 10 millones de pesos en ingresos por hectárea (Sena, 2014). Los residuos solo pueden ser almacenados por tiempos cortos y generalmente no tienen un uso posterior, en la mayoría de los casos es desechado (Dane & Antioquia, 2013).

En la Universidad Nacional de Colombia, sede Manizales, se ha adelantado la investigación sobre el contenido de vitaminas, antioxidantes y minerales para la fabricación de productos farmacéuticos y cosméticos con residuos de mora, pero estos

fueron realizados a partir de la semilla (Dávila, 2016), y no con la biomasa generada por las pérdidas y desperdicios del fruto durante la cadena de suministro, no existen estudios que evalúen el aprovechamiento de este residuo como materia prima en la elaboración de un aditivo colorante.

1.1.2 Contexto Nacional

La Mora de Castilla *(Rubus glaucus)* es uno de los frutos más cultivados en Colombia por su adaptabilidad (Dane & Antioaquia, 2013), con altos contenidos de compuestos orgánicos y bioactivos (Ayala & Valenzuela, 2013). El fruto tiene aceptación por parte de los consumidores locales y en otras regiones del mundo con potencial para impulsar el desarrollo económico a nivel de pequeños y grandes productores en el país (Stella & Meneses, 2009).

El fruto tiene un gran potencial agroindustrial dentro del panorama nacional (Sena, 2014), durante los últimos 20 años, el volumen de producción y área sembrada en el país ha crecido de manera constante, pasando de 22.476 ton en el año 1992 a una producción de aproximadamente 110.000 ton para el año 2013 y en área de 275 hectáreas a 1.220 hectáreas cultivadas (Cámara de Comercio de Bogotá, 2015; Sandoval & Bonilla-, 2015) teniendo un crecimiento de casi el 500%.

Los rendimientos pueden variar ampliamente de 6 a 16 toneladas por hectárea con un promedio nacional de 11 toneladas (Leiva, Arévalo, Díaz, Galindo, & Rivero, 2011) siendo el departamento de mayor producción Cundinamarca con 24.239 toneladas (24%), seguido de Santander con 19.190 toneladas (19%), Antioquia con 13.728 toneladas (14%) (Escobar, 2015) y estando Boyacá el sexto departamento de mayor producción de mora de Castilla con 984 hectáreas de cultivo y una producción de 9.371 toneladas por año (Dane & Antioquia, 2013; MADR, FNFH, Asohofrucol, & SAG, 2006) ya que el limitado nivel de investigación en la poscosecha, suministro y transformación de productos hortofrutícolas ocasiona pérdidas en poscosecha que llegan al 40% de la materia prima, lo cual reduce el ingreso hasta 10’000.000 de pesos Colombianos por hectárea (Leiva et al., 2011).

1.1.3 Producción de mora de Castilla en el Departamento de Boyacá

El departamento de Boyacá está distribuido en 12 provincias, la mayor parte de su geografía puede considerarse montañosa, pero también cuenta con partes llanas en donde se puede cultivar la mora. Según Fomento Agropecuario de la Gobernación de Boyacá, se registra producción de mora, en la provincia de Ricaurte en los municipios de Moniquirá, Gachantivá, Arcabuco, Ráquira, Sutamarchán y Villa de Leiva, siendo esta la más grande en producción, seguida por la provincia Centro con Tunja, Siachoque, Sotaquirá y Ventaquemada, provincia Sugamuxi con Nobsa, Tibasosa e Iza, provincia Tundama con

Paipa y Floresta, provincia Lengupá con Zetaquirá y Miraflores, provincia Márquez con Rondón y Ramiriquí, provincia de Occidente con Buena Vista y Saboya y por último la provincia Neira con Pachavita y Macanal.

El mercado destino principal del producto es Bogotá, por la comunicación vial, siendo una oportunidad para el departamento cerrar brechas productivas y tecnológicas en el efectivo y oportuno aprovechamiento de la fruticultura, para ofrecer productos innovadores con valor agregado (MADR et al., 2006).

1.1.4 Composición química de mora de Castilla

La mora de Castilla presenta altos contenidos de compuestos orgánicos y bioactivos (Ayala & Valenzuela, 2013), es fuente de fibra dietética, pectina, vitaminas C y E, minerales y polifenoles (Freire & Brito, 2012), sin embargo factores como la cosecha, el punto de madurez durante la recolección, la variedad y la procedencia juegan son aspectos que influyen en la composición química y nutricional del fruto (Dane & Antioaquia, 2013), además se caracteriza por su escaso aporte de carbohidratos, alto contenido de antocianinas que aportan el color, la glucosa, la fructosa y la sacarosa junto con los ácidos cítrico y málico que le confieren su sabor particular (Garzón, Riedl, & Schwartz, 2009; Grijalba et al., 2010).

Para la mora los parámetros fisicoquímicos pueden variar dependiendo del origen del producto y la especie (Bernal, Melo, & Díaz, 2014), sin embargo en la tabla 2 hay una composición promedio del fruto.

Tabla 1-2. Composición química de mora de Castilla.

Parámetro	Rango	Unidad
Humedad	85-87	% Agua (g/100 g)
pH	2,6-3,1	$[H^+]$
Acidez	1-5,88	% (g equivalente ácido málico/100 g)
Sólidos solubles totales	4-16	°Brix
Índice de madurez	0,29-0,33	°Brix/% ácido málico
Cenizas	3,9-4,88	g/100 g en base seca
Proteína	5,9-9,82	g/100 g de fruta seca
Fibra	432-859	mg/g de fruta seca
Carbohidratos totales	72,1-76,5	g/100 g de fruta seca
Azúcares totales	150-221	mg/g de fruta fresca
Vitamina C	76,6-117,16	mg/100 g de ácido ascórbico
Antocianinas monoméricas totales	25,3-326,6	mg equivalentes cianidina-3-glucósido/100 g fruta fresca
Polifenoles Totales	26,8-46,1	mg equivalentes de ácido gálico/g
Color	L*	31,23
	a*	56,02
	b*	11,13
	C^*_{ab}	57,1
	h_{ab}	11,34

Fuente: (Acosta-Montoya et al., 2010; Ayala & Valenzuela, 2013; Bernal et al., 2014; Freire & Brito, 2012; Soria, 2014; Villacrez, 2013)

1.1.5 Contenido de antocianinas en mora de Castilla

Investigaciones recientes han mostrado los perfiles de los componentes químicos de la mora de Castilla de zona andina, en donde se identifica que las principales antocianinas en este fruto son:

Tabla 1-3. Principales antocianinas encontrado en mora de Castilla

Número	Tipos de antocianinas presentes
1	Cianidina-3-*O*-glucósido
2	Cianidina-3-*O*-rutinósido
3	Cianidina-3-*O*-malonilglucósido
4	Cianidina-3- *O* – (2 “- O –β- d –xylopyranosyl-6”- *O* –α- l – ramnopiranosil-β- d –glucopiranósido)
5	Cianidina-3- *O*- (6 “- *O* –α-ramnopiranosil) –β-glucopiranósido
6	Derivados de pelargonidina

Fuente: (Acosta-Montoya et al., 2010; Garzón et al., 2009; Santacruz, Carriazo, Almanza, & Osorio, 2012)

- ***Estructura química de las antocianinas***

Estructuralmente las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, conformadas por dos anillos aromáticos A,B y su color depende del número y orientación de grupos metoxilo e

hidroxilo, mostrando tonalidades azules cuando hay un aumento en la hidroxilación y produciendo tonalidades rojizas con el incremento en las metoxilaciones (Garzón et al., 2009; Guerrero & Moreno, 2011; Zapata, Carcel, & Clemente, 2014). Estas se pueden encontrar en frutas tipo baya como la mora, sin embargo según la FDA solo se tienen estandarizados extracto de color de uva y extracto de piel de uva, lo que dirige la búsqueda hacia otras fuentes, en este caso la mora de Castilla *(Rubus glaucus)* (FAO & OMS, 2017; Rodriguez Amaya, 2016; Zapata et al., 2014).

Estructura de la molécula de antocianina y sus posibles sustituyentes:

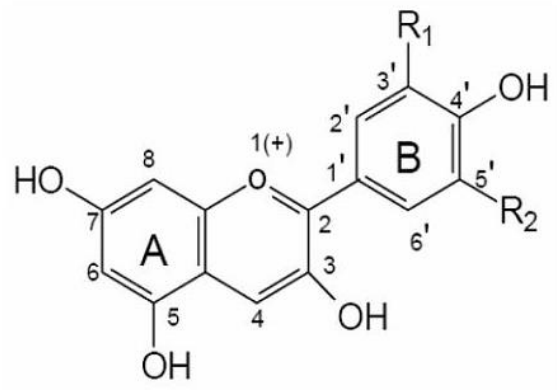


Figura 1-3. Estructura de las Antocianinas

Fuente: (Garzón et al., 2009; Osorio et al., 2010; Zapata et al., 2014)

Tabla 1-4. Sustituyentes de las antocianinas.

Aglicona	Substitución		λ max Espectro visible
	R1	R2	
Pelargonidina	H	H	494 (Naranja)
Cianidina	OH	H	506 (Naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (Azul-rojo)
Peonidina	OCH3	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH3	OH	508 (Azul-rojo)
Malvinidina	OCH3	OCH3	510 (Azul-rojo)

Fuentes: *(Garzón et al., 2009; Guerrero & Moreno, 2011; Zapata et al., 2014)*

1.1.6 Cadena de suministro típica para la mora de Castilla

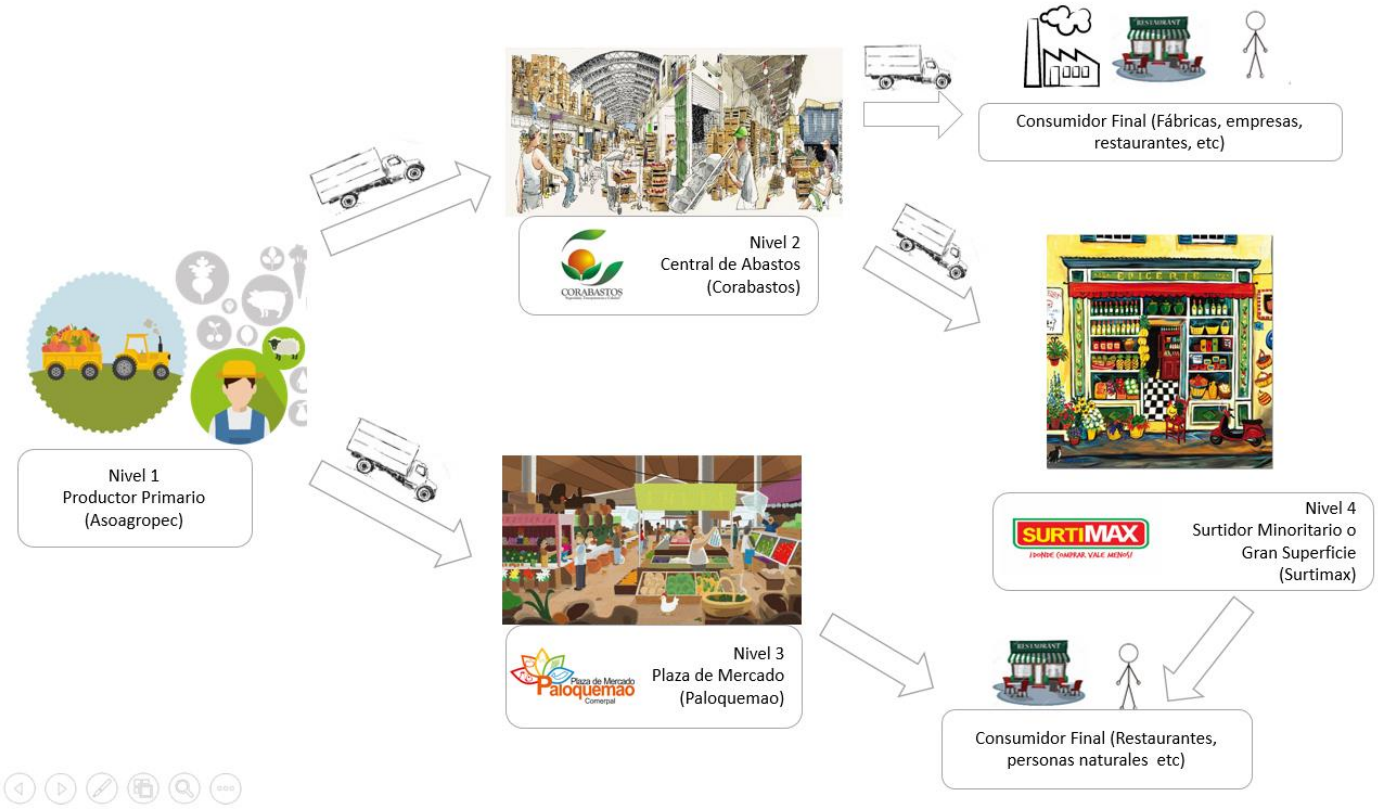


Figura 1-4. Eslabones de la cadena de suministro de mora de Castilla

La mora de Castilla es cultivada y cosechada generalmente en el campo aledaño a pueblos o ciudades con el fin de que su distribución sea más sencilla; es llevada por medio de camiones o carros en canastillas de 25 kg a las centrales de abasto y suministro como lo son Corabastos y Paloquemao, este primero distribuye y vende al por mayor a fábricas y tiendas minoristas (Surtimax) (por lo general no se vende al detal o personas naturales) mientras en la plaza de mercado (Paloquemao) y los negocios minoristas se vende en bolsas a consumidores finales.

1.2 Metodología

1.2.1 Evaluación de mora de castilla en estado de senescencia a diferentes temperaturas.

La mora de Castilla fue recolectada de un cultivo ubicado en la vereda El Carmen del municipio de Combita (Boyacá), perteneciente a una asociación de agricultores llamada AsoAgropec, el fruto se recolectó en condiciones óptimas de madurez según la NTC 4106.

Las muestras en alto grado de madurez fueron dispuestas en canastillas termo formadas y se sometieron a tres condiciones de almacenamiento: Temperatura ambiente de Bogotá con variaciones entre los 9 °C y los 25 °C (IDEAM) y en cámara en condiciones controladas a temperatura de 20°C y temperatura de refrigeración 4°C. Los ensayos se realizaron por triplicado en bandejas dispuestas en espacio libre dentro del laboratorio, cada muestra con peso de 20 g.

El trabajo también hizo un análisis de las principales razones por las que la mora se convierte en un desperdicio se evaluaron diferentes orígenes dentro de la cadena de suministro.

1.2.2 Análisis fisicoquímicos

- ***Acidez titulable***

La acidez titulable se determina por medio de potenciometría siguiendo el procedimiento estándar (A.O.A.C 942.15, A.O.A.C 981.26), a partir de 20 g de fruta homogeneizada con 100 mL de agua des ionizada y el resultado fue expresado como porcentaje de ácido málico.

Para el cálculo de la acidez se utiliza la siguiente fórmula:

$$Acidez\,[g/100\,ml] = \left[\frac{V * C * F * 100}{C_1 * M_g}\right]$$

Donde:

Mg: Masa de la muestra.
F: factor de conversión equivalente (1 mL de NaOH Acido málico: 0,06704).
V: Volumen de NaOH gastado.
C_1: Concentración ideal de NaOH.

- ***Determinación de pH***

  - Para la determinación del pH se tomaron 20 g de muestra y 100 mL de agua desionizada, se homogeneizaron en ultraturrax a velocidad 4. Luego de la homogeneización de muestra se midio el pH por medio de un pH-metro 704 (Schott Gerate, Berlin, Alemania).

- *Sólidos solubles totales (°Brix)*

Los sólidos solubles totales (°Brix) se midieron por refractometría usando un refractómetro Atago® pocket PAL-1 con el método internacional (AOAC, 932.14C). En el cual se coloca una gota de la pulpa de la fruta el lente del refractómetro, previamente calibrado con agua destilada.

- ***Análisis de color***

Las muestras fueron adecuadas y homogeneizadas por medio de un mortero sin perder la consistencia de la fruta.

Se dispuso la muestra en media caja de Petri ubicándola en el colorímetro Minolta® con un D 90 para frutas con el fin de que tapara totalmente el obturador del equipo pero que la superficie y las paredes de las frutas mantuvieran en si toda la carga del deterioro sufrido en la fruta por su descomposición incluyendo hongos y demás agentes normalmente presentes durante la senescencia del fruto.

Obteniéndose así las coordenadas de color L*, a* y b* en el espacio CIE.

El color de la mora de Castilla es determinado por el porcentaje de transmitancia (%T) con el uso de un colorímetro Minolta CM5 y reportando en el sistema CIE 1976 (L* a* b*); con el fin de calcular los parámetros y las coordenadas.

Donde,
L∗ = Claridad o luminosidad.
a∗= Coordenada cromática Rojo-Verde.
b∗= Coordenada cromática Amarillo-Azul.

La interpretación de la diferencia de color, se realiza por medio del tono (h_{ab}) y el croma (C^*_{ab}), definido como:

$$h_{ab} = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

$$C^*{}_{ab} = \{(a^*)^2 + (b^*)^2\}$$

- ***Cuantificación de antocianinas monoméricas***

Se preparan 2 soluciones buffer, una de cloruro de potasio pH 1.0 y la otra de acetato de sodio pH 4.5, las diferencias de absorbancias de los pigmentos a una longitud de onda de 520 nm y 700 nm es proporcional a la concentración del pigmento, debido a que a 520 nm aproximadamente las antocianinas presentan un mayor espectro de absorción según la ley de Beer-Lambert (Ötles, 2012). Los resultados se expresados como mg de cianidina-3-glucosido / 100 g fruta fresca.

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH1} - (A_{520} - A_{700})_{pH4.5}$$

Y para el cálculo de concentración.

$$ACY\,[mg/l] = \left[\frac{A * MW * DF * 1000}{\varepsilon * 1}\right]$$

Dónde:

MW: peso molecular de la antocianina de referencia = 449.2 g/mol

DF: factor de dilución.

1 corresponde al ancho de la celda.

ε: Coeficiente molar de extinción: 26900 L mol^{-1} cm^{-1}.

1000 es el factor de conversión de g a mg

La concentración final de antocianinas (mg de cianidina-3-glucósido/100 g fruta fresca) se calcula con base en el volumen de extracto y peso de muestra (Bernal & Diaz, 2012; Garzón et al., 2009; Villacrez, 2013).

1.2.3 Contenido de antocianinas y propiedades fisicoquímicas en muestras de biomasa residual de mora de castilla analizada en diferentes eslabones de la cadena de suministro.

Para esto se seleccionaron muestras clasificadas como biomasa residual en cada uno de los cuatro eslabones de la cadena de suministro de la mora de Castilla. Se tomaron 2 tiempos para el muestreo para comparar sus propiedades dependiendo de la época del año. El diseño de experimentos se describe a continuación.

Tabla 1-5. Diseño experimental para evaluar muestras de biomasa residual de mora de Castilla en cuatro eslabones de la cadena de suministro

Variables independientes	Niveles	Variables dependientes	Numero de repeticiones
Niveles	N_1,N_2,N_3,N_4	pH, Acidez, Color, Antocianinas Totales, Brix°, Mohos y levaduras.	3
Tiempos	t_1,t_2		

Los cuatro eslabones de la cadena de suministro son: N_1 Productor primario (Aso-Agropec), N_2 Central de abasto (Corabastos), N_3 Plaza de mercado (Paloquemao) y N_4 Grandes superficies (SurtiMax).

- ***Adecuación y muestreo***

Se tomaron muestras de biomasa residual de los vendedores de cada uno de los eslabones de la cadena de suministro, en dos momentos diferentes con el fin de comparar el contenido de antocianinas, color y propiedades fisicoquímicas como °Brix, pH y acidez.

Luego de haber seleccionado los cuatro niveles de la cadena de suministro de mora, se realizó una visita en cada uno de ellos para realizar una encuesta (Ve anexo 1). con el fin de determinar las principales causales de perdida y deterioro del fruto.

1.2.4 Efecto de la senescencia de mora sobre el color y contenido total de antocianinas en almacenamiento a condiciones controladas

Para esta actividad se describió las propiedades fisicoquímicas como el color y el contenido de antocianinas durante la senescencia de mora de Castilla después de que esta, deja de tener un valor comercial óptimo.

Para el diseño de experimentos se evaluaron 3 tratamientos a diferentes temperaturas con 10 días de almacenamiento a temperatura ambiente de Bogotá, 9 días a 20 °C y 16 días de almacenamiento a temperatura de refrigeración 4 °C. Se le realizaron análisis de antocianinas totales, color, pH, acidez y °Brix con el fin de poder tener una referencia inicial de su contenido. Descritas por el siguiente recuadro.

Tabla 1-6. Diseño experimental para evaluar muestras de mora senescentes en almacenamiento en condiciones controladas

Variables independientes	Niveles	Variables dependientes	Numero de repeticiones
Tiempo	T_{10},t_{16},t_9	pH, acidez titulable, color, antocianinas monoméricas totales, Brix°	3
Temperatura	T_{amb} ,$T_{4°C}$, $T_{20°C}$		

- ***Extracción y determinación de contenido de antocianinas monoméricas.***

Adecuación y muestreo

Se selecciono la fruta siempre teniendo en cuenta el mayor estado de madurez posible, donde su color sea vino tinto con visos negros como lo indica la NTC 4106, quitando la corona de hojas y cualquier otro material extraño a la mora.

- La mora se dispuso en canastillas termoformadas, en las cuales se colocaron aproximadamente 65 g de fruta, esta cantidad con el fin de obtener un triplicado de la muestra de aproximadamente 20 g cada uno, y dispuestas sin marcar dependiendo el tratamiento en cabinas de vida útil para así realizarse el muestreo día a día de manera aleatoria.

Tabla 1-7. Almacenamiento de muestras de mora de castilla senescente en condiciones controladas

Almacenamiento de mora de castilla a temperatura ambiente de Bogotá	
Almacenamiento temperatura controlada 20°C.	
Almacenamiento temperatura controlada 4°C.	

Para el caso del tratamiento a temperatura de refrigeración de permitió mantener las frutas hasta un máximo de 16 días.

Al comenzar el procedimiento se tomó una canastilla diaria y se guardó dentro de una bolsa plástica con el fin de evitar el contacto y posible contaminación cruzada de las muestras; fueron dispuestas a temperatura de congelación para su posterior medición del contenido de antocianinas, el color y las demás propiedades fisicoquímicas de la totalidad de las muestras previamente marcadas por día para cada tratamiento.

- En el momento que se tuvieron todas las muestras completas se prosiguió a tomar en orden, día a día para medir y cuantificar sus propiedades fisicoquímicas como pH, Brix° y acidez junto con el contenido de antocianinas y su color.

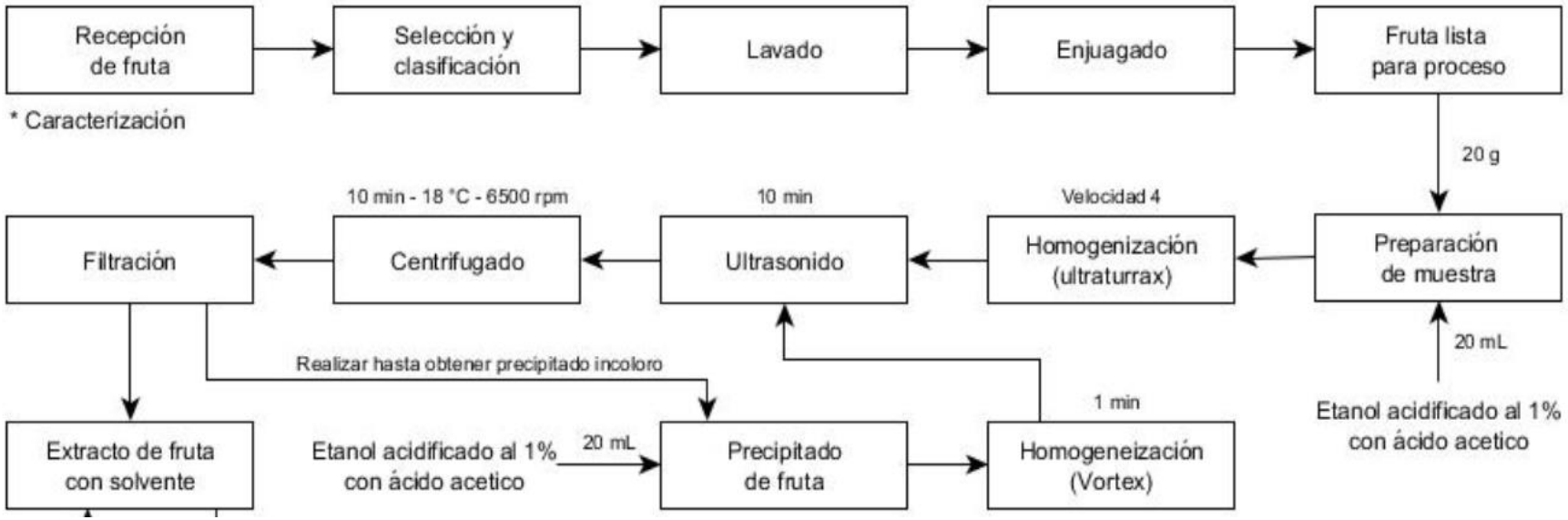
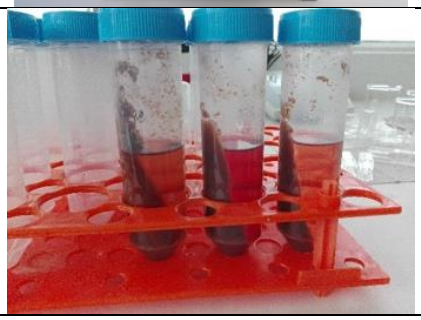


Figura 1-5. Diagrama de proceso para adecuación extracción y cuantificación de antocianina

Tabla 1-8. Extracción y cuantificación de antocianinas monoméricas

	Se pesó 20 g de muestra y se le adicionó 20 mL de etanol al 96 % acidificado con un 1 % de ácido acético v/v. La mezcla de 20 g de fruta con 20 mL de solución de extracción se homogeniza por medio de ultraturrax a velocidad 4.
	Luego de la homogenización, se pasó el contenido a unos tubos Falcon con el fin someter las muestras a un baño ultrasonido durante 10 minutos.
	Posteriormente los tubos Falcon se pesan para asegurar que todos tengan la misma cantidad de muestra y así llevar a cabo una centrifugación durante 10 min a 6500 rpm.

	La separación de fases se realiza mediante un proceso de filtración en el cual la fase líquida se separa de fase sólida, en balones aforados de 100 mL acoplados con un respectivo embudo y previamente protegidos de la luz natural con papel aluminio con el fin de evitar la degradación de los pigmentos. La fase sólida que todavía contiene pigmentos se le agrega de nuevo 20 mL de solución de extracción y se somete a vortex durante 1 minuto. Luego la muestra se sometió al proceso descrito anteriormente, repitiendo la etapa del sonicado y centrifugado con el fin de retirar la mayor cantidad de pigmentos de la muestra o hasta que la fase orgánica ya no presente color, este procedimiento tuvo que ser repetido mínimo 3 veces con el fin de extraer el mayor contenido de pigmento posible.

Medición y cuantificación:

La cuantificación fue realizada según A.O.A.C. 2005.2 usando el método de pH diferencial y los resultados fueron expresados en mg de cianidina-3-glucosido / 100 g fruta fresca.

Para ello se preparan las soluciones buffer, una de cloruro de potasio pH 1.0 y la otra de acetato de sodio pH 4.5.

Para el buffer pH 1,0 se usó un vaso de precipitado de aproximadamente 1 L, se agregaron 800 mL de agua y 1,86 g de cloruro de potasio; al disolverse se midió el pH y se ajustó con ácido clorhídrico (35%) a un valor de 1,0 ± 0,05 gastándose en cada caso aproximadamente 6,5 mL de ácido.

Para el buffer pH 4,5 también se usa un vaso de precipitado de aproximadamente 1L, se agregaron 800 mL de agua y 54,43 g de acetato de sodio trihidratado y de la misma forma se midió el pH y se ajustó con ácido clorhídrico (35%) a un valor de 4,5 ± 0,05 gastando aproximadamente 22,3 mL.

Luego de tener preparado las soluciones buffer, para una misma muestra se toman dos balones de 50mL, y en cada uno se agrega un volumen determinado previamente de

extracto. Uno de los balones se lleva a volumen con el buffer de pH 1.0 y el otro con el buffer de pH 4.5.

Luego se deja reaccionar la muestra durante 20 minutos para leer las absorbancias por medio de un espectrofotómetro UV-Visible doble haz. Marca Thermo Scientific, modelo Genesys 10S, para cada balón a 520 nm y a 700 nm.

Se realizan los cálculos correspondientes según las formulas descritas en la sección 1.3.7. tomando en cuenta como factor de conversión el volumen de extracto obtenido y la cantidad de fruta utilizada.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos durante el almacenamiento fueron analizados por medio de análisis PCA usando software Matlab R2017b, adicionalmente se realizaron análisis de varianza (ANOVA) unidireccional para cada uno de los parámetros fisicoquímicos junto con el color y el contenido de antocianinas monoméricas con un α de 0.05, con el fin de comparar el comportamiento de los diferentes tratamientos. Los análisis de las muestras tomadas en los diferentes eslabones de la cadena de suministro en dos tiempos diferentes se realizó un ANOVA de un factor junto con unas pruebas de comparación múltiple de Tukey usando software RSTUDIO®, v. 3.4.4 y para las gráficas se utilizó un software SigmaPlot for Windows V. 14.0 Build 14.0.3.192 2017.

1.3 Resultados y discusión

1.3.1 Contenido de antocianinas y características fisicoquímicas en muestras de biomasa residual de mora de Castilla tomada de diferentes eslabones de la cadena de suministro.

Los resultados encontrados para cada uno de los diferentes niveles de la cadena de suministro en los dos tiempos de muestreo ya establecidos fueron:

Tabla 1-9. Contenido de antocianinas y propiedades fisicoquímicas en los 4 eslabones de la cadena de suministro.

Nivel	Mes de muestreo	Antocianinas (Cyn-3-glu/100 g)		°Brix		pH		Acidez g ácido málico/100 g		Índice de madurez
1. Productor Primario (Asoagropec)	Febrero	79,6 a	±8,43	9,4 a	±0,30	3,04 a	±0,070	3,2 a	±0,079	2,96
	Julio	85,8 a	±7,06	8,1 ab	±0,65	3,01 a	±0,025	2,12 a	±0,072	2,89
	Febrero	74,17 ab	±1,00	6,3 b	±0,05	2,99 a	±0,061	2,09 a	±0,061	2,99

2. Central de abastos (Corabastos)	Julio	78,05 ab	±15,62	7,1 b	±1,62	3,02 a	±0,010	2,22 a	±0,055	3,16
3. Plaza de mercado (Paloquemao)	Febrero	65,04 b	±7,85	7,2 b	±0,17	3,17 a	±0,021	2,44 b	±0,080	2,94
	Julio	74,66 ab	±2,78	6,9 b	±1,07	3,12 a	±0,036	2,17 a	±0,062	3,25
4. Surtidor minorista (SurtiMax)	Febrero	80,15 a	±15,33	7,3 b	±0,36	3,04 a	±0,064	3,41 a	±0,048	2,35
	Julio	75,3 ab	±3,17	6,9 b	±0,32	2,94 a	±0,070	2,70 ab	±0,158	2,56

Como punto de referencia se tiene en cuenta el índice de madurez, puesto que este define el estado de proximidad a la completa madurez fisiológica del fruto. Los resultados obtenidos por (Ayala & Valenzuela, 2013; Bernal & Diaz, 2012) muestran un rango en el índice de madurez que según la NTC 4106 de 2.5-4.2, que es comparable con los resultados obtenidos en cada uno de los eslabones de la cadena de suministro y deja entrever que la fruta se encuentra en los últimos estados de madurez comercial y sobre maduración del mismo, exceptuando los valores de madurez encontrados para Surtimax®, en ambos meses los valores obtenidos están cercanos o por fuera del rango (Febrero 2.35, Julio 2.56) y esto puede ser debido a que la fruta se encontraba todavía en estado anterior al punto de madurez comercial 6 según la NTC 4106, sin embargo cumple con la norma puesto que los frutos después de un índice de madurez de 2.0, o sea un estado superior al punto 4 se consideran consumibles.

Las propiedades fisicoquímicas muestran una dimensionalidad comparable con los valores de °Brix (4-16°) , pH (2.7-3.1), acidez (1.0-5,88) (Acosta-Montoya et al., 2010; Ayala & Valenzuela, 2013; Bernal & Diaz, 2012). El contenido de antocianinas encontrado durante el mes de Julio fue superior para los eslabones de productor primario, Paloquemao y Corabastos mostrándose un aumento aproximado del 3-5 % en cada uno de los casos, sin embargo para el eslabón Surtimax este contenido decreció en un 6%.

Según la comparación de muestras por medio de Tukey con un α 0,05 no se encontraron diferencias significativas en el contenido de antocianinas para el productor primario, Corabastos y Surtimax si se encontraron diferencia con respecto al valor obtenido en el mes de febrero para Paloquemao. Para los °Brix no se encontraron diferencias significativas en los diferentes eslabones de la cadena pero si para los grados brix° con respecto a los valores obtenidos en el productor primario en ambos meses. En el caso del pH no se encontraron diferencias significativas entre los dos tiempos de muestreo y entre los 4 eslabones de la cadena de suministro mientras que para la acidez se encontraron diferencias significativas para cada uno de los meses dentro de cada eslabón de la cadena como se puede observar en la tabla 7.

Tabla 1-10. Principales causas de pérdidas y desperdicios en los 4 niveles de la cadena de suministro

Nivel	Descripción
Productor primario	• La fruta debe ser cosechada cuando su color sea vino tinto con visos negros según la NTC 4106 como punto máximo en su madurez (estado 6), si es cosechada en sobre maduración la vida útil del producto decrece drásticamente. • Es recolectada y almacenada a temperatura ambiente en canastas de 25 kg con las siguientes dimensiones: largo: 50cm, ancho: 35 cm y profundidad: 12cm (esta profundidad es óptima para evitar daño mecánicos por aplastamiento); Además este almacenamiento no debe durar más de un día para evitar afectar la calidad de la fruta. • La fruta se distribuye el mismo día en que fue cosechada por medio de camiones a los pueblos cercanos, tomando en cuenta la demanda en cada uno de estos con el fin de evitar que se desperdicie el producto. • Durante la cosecha se presentan diferentes factores que deterioran el cultivo y el fruto como lo pueden ser: los daños mecánicos durante el transporte, disposición y adecuación de la materia prima, enfermedades como la botrytis, mohos, plagas como los ácaros, babosas entre otras, además también se ve afectada por la humedad del ambiente (puesto que si la fruta es recolectada durante en un día soleado su calidad perdurará más a comparación si es recolectada en un día lluvioso o con rocío). • Después de la recolección la mora tiene una vida útil con calidad óptima máxima de 3 días, pero en el caso de que se generen desperdicios generalmente se adecua como fertilizante o en el peor de los casos se desecha sin valor útil el residuo. • Generalmente la fruta se vende al por mayor en canastas, pero dado el caso se vende en cantidades menores por medio de bolsas plásticas (polietileno de baja densidad).
Surtimax	• El producto es transportado por medio de camiones adecuados en algunos casos con refrigeradores o sin ellos, teniéndose mucho cuidado con la calidad de la fruta que se seleccione para la venta, esta debe cumplir con todos los estándares de manufactura (BPDM). • Unos de los factores cruciales que afecta al fruto en este punto de la cadena de suministro es la humedad, sin embargo si la fruta llegase con demasiada humedad, esta se dispone en congeladores con el fin de impedir el deterioro de la fruta. • Pueden llegarse a presentar diferentes factores que afectan la calidad de la fruta como lo puede ser daños mecánicos y poca demanda. • La fruta se almacena y se vende al clima, en refrigeración o congelación y esta puede estar disponible para la venta hasta 1 semana dependiendo de la demanda de los consumidores. • Las plagas, los hongos y mohos son controlados y exterminados, no se acepta producto que no cumpla con estándares de manufactura puesto que en este eslabón de la cadena de suministro, este tipo de factores son inaceptables.

	• El producto se presentan en refrigeradores y es comercializado por medio de bolsas plásticas, casi no se producen desperdicios del fruto y por tal razón una de las principales causales de pérdida es la poca demanda. • Los supermercados emplean bolas plásticas (Poliestireno de baja densidad) de 11 cm de diámetro de boca, 7 cm de alto y 9 cm de diámetro base y capacidad de 1 Kg o de 11 cm de diámetro de boca, 5 cm de alto, 10 cm de diámetro de base y capacidad de 1 libra.
Paloquemao 	• La fruta se transporta en carros o camiones desde veredas y cultivos de Cundinamarca y Boyacá, se recibe en canastas plásticas o cajas de cartón y se almacena y se vende a temperatura ambiente. • Existen varios factores que afectan la calidad del producto en este eslabón, como principal, la humedad puesto que si la fruta llega húmeda, su tiempo de vida útil para la venta no superará 1 día. • La fruta pierde su calidad debido a daños mecánicos sufridos en las cajas de cartón o las canastillas plásticas, lo que junto con la humedad puede generar la presencia de plagas como hormigas, mohos y una posible fermentación del fruto que causa malos olores y que provoca su desperdicio. • El producto puede durar a la venta máximo 2 días, al cabo de ellos, la fruta al perder calidad comercial, en la medida de lo posible se vende más barata, se regala a los restaurantes aledaños o sencillamente se vota a la basura. • La demanda puede ser uno de los factores cruciales para el desperdicio de este fruto aunque este factor depende mucho del consumo de la fruta, además esta se vende generalmente en bolsas plásticas, recipientes plásticos o en algunos casos cajas de cartón. • El tipo de empaques son canastillas plásticas de 48 cm de largo, 32 cm de ancho 13 cm de alto y 7 kg de capacidad.
Corabastos CORABASTOS®	• Las frutas son transportadas por medio de camiones o mulas directamente desde los puntos de cultivo y las veredas de Santander, Cundinamarca y Boyacá, se transportaban en canecas plásticas que poco a poco se ha mitigado su uso por los daños mecánicos que causaba en el fruto, y ahora se usa canastillas plásticas de 25 kg, en las cuales es almacenado y puesto en venta a temperatura ambiente. • Se vuelven a presentar factores cruciales que afectan la calidad del fruto como lo es la humedad, el moho gris, daños mecánicos y la fermentación que se puede presentar en el lixiviado. • El fruto es distribuido y vendido en lo posible el mismo día en el que llega a las bodegas, máximo puede durar 3 días y esto dependiendo del estado y la calidad en la que llegue. • La poca demanda puede llegar a ser crucial puesto que como tal, se prefiere que el producto se comercialice el mismo día que llegue, sin embargo si al final este no se vende, generalmente estos residuos se regalan a fundaciones o son enviados a fábricas de agroindustrias y en caso de estar muy descompuesto se vota a la basura.

	• El producto se comercializa y es vendido al por mayor por medio de la caja tradicional de madera (10kg) o en canastillas plásticas (25 kg) aunque dado el caso se pueden vender cantidades más bajas como por ejemplo 1 kg utilizando bolsas de plástico. • Contenedores plásticos de 53 cm de largo, 35 cm de ancho, 15 cm de alto y 25 kg de capacidad

1.3.2 Efecto de la senescencia de mora sobre el color y contenido total de antocianinas en almacenamiento a condiciones controladas.

- ***Contenido de antocianinas monoméricas en muestras de mora de castilla senescentes***

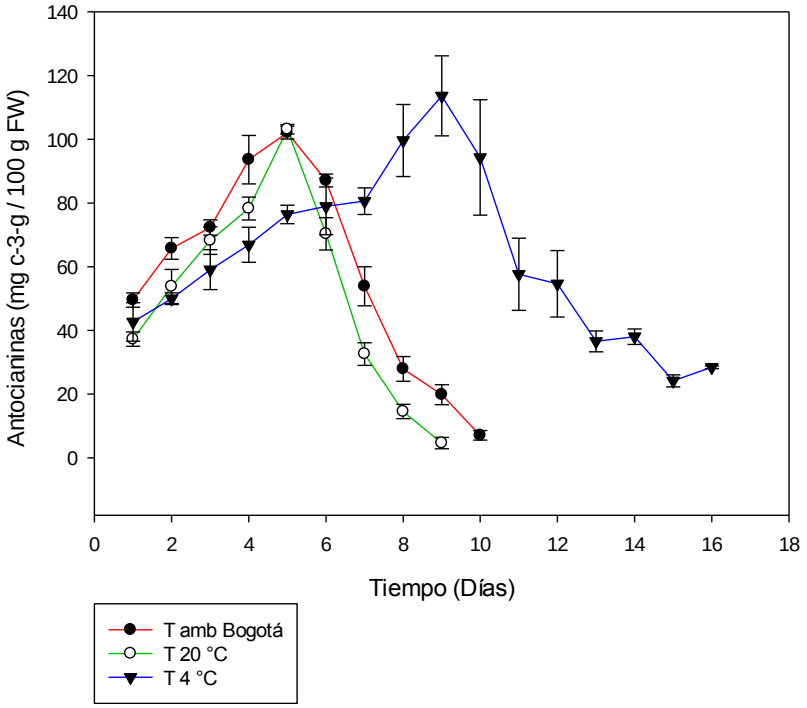


Figura 1-6. Contenido de antocianinas manométricas reportadas en cyn-3-glu/g de fruta fresca

Las antocianinas son sintetizadas en las vacuolas de las células a partir de la fenilalanina que por medio de reacciones enzimáticas permite la formación de antocianidina sintasa y flavonoide 3-O-glucosiltransferasa (Q. Chen, Yu, Tang, & Wang, 2012), que junto a otros ácidos orgánicos como ácido shikímiko y ácido malónico permite la formación de antocianinas y flavan-3-oles (Acosta-Montoya et al., 2010; Bernal & Diaz, 2012); el

contenido de antocianinas aumenta durante la maduración y el llenado de los frutos (Acosta-Montoya et al., 2010; Bernal & Diaz, 2012; Garzón et al., 2009).

En la Figura 1-6 se observa que para los 3 tratamientos realizados el contenido de antocianinas de la fruta en el punto de madurez comercial varia aproximadamente entre los 40 mg y los 50 mg de cyn-3-glu /100 g fruta fresca, que es comparable con los contenidos reportados para mora de Castilla por (Acosta-Montoya et al., 2010; Bernal & Diaz, 2012; Q. Chen et al., 2012; Gancel, Feneuil, Acosta, Pérez, & Vaillant, 2011), sin embargo este valor puede variar debido al procedimiento de extracción de antocianinas, el método de cuantificación utilizado fue el mismo en todos los estudios referenciados.

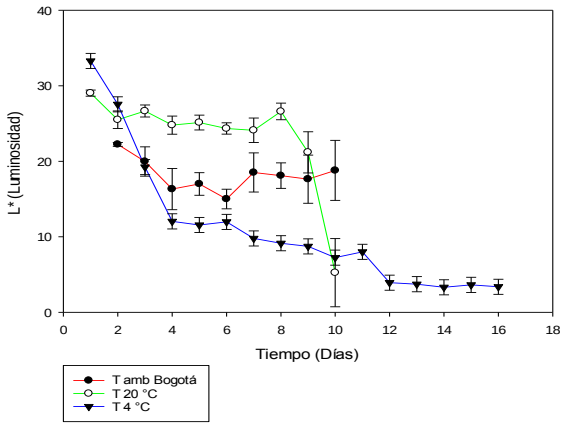
Durante la senescencia de la mora de Castilla para cada uno de los tratamientos se evidencio un incremento total del contenido de antocianinas monoméricas de 2 y 2,1 veces para los tratamientos a temperatura ambiente de Bogotá y a 20 °C en el día 5 y para el tratamiento a 4 °C se da un aumento de 2,21 veces en el día 9 con respecto al día 0, demostrando que el fruto aumenta el contenido de antocianinas durante la senescencia. Estos resultados indican que las perdidas y desperdicios de fruto durante la cadena de suministro pueden ser utilizados para la extracción de un pigmento de mayor concentración.

El incremento se debe a que la síntesis de moléculas de antocianinas están ligadas a los azúcares, ambos metabolitos secundarios van en aumento debido a que se emplean ácidos orgánicos como sustratos de la respiración para la síntesis de nuevos componentes (Perkins-Veazie, Clark, Huber, & Baldwin, 2000), este comportamiento respiratorio ratifica a la mora como un fruto no climatérico, que al momento de ser cosechada afecta la síntesis de dichos azúcares y otros compuestos, aún cuando se presenten cambio en la coloración por síntesis de pigmentos (Ayala & Valenzuela, 2013) lo que significaría que durante la senescencia del fruto, las enzimas aprovechan dicho contenido de glucosa y fructosa y se continúan expresando dentro de las vacuolas, continuando con la producción de antocianinas.

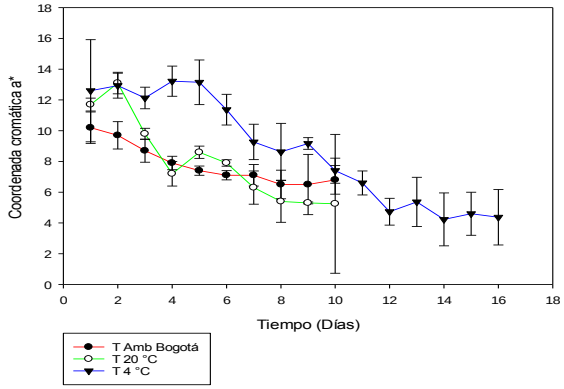
Por otro lado (Q. Chen et al., 2012) afirma que las antocianinas y las pro antocianinas son metabolitos secundarios involucrados en la maduración de la fruta y son inversamente proporcionales, a medida que madura el fruto el contenido de antocianinas aumenta drásticamente y el contenido de pro antocianinas disminuye, sin embargo en el punto de maduración comercial se pueden detectar residuos de pro antocianinas en los tejidos de la fruta que puede ocasionar que las enzimas se sigan expresando y sintetizando antocianinas.

- ***Color***

  - Luminosidad L*



  - Coordenada a*



  - Coordenada b*

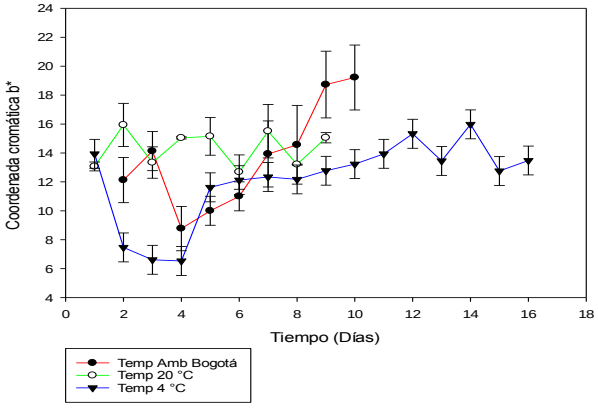


Figura 1-7. Coordenadas L* a* y b* para biomasa residual de mora de castilla en las tres condiciones de almacenamiento.

El color de la biomasa residual de mora de Castilla en el espacio CIE L* a* b* con respecto a la maduración del fruto en los tres tratamientos dio como resultado valores comparables con los obtenidos por (Rimac, Sabolović, Zlabur, & Jelovecki, 2015; Villacrez, 2013), adicionalmente se puede observar una tendencia similar para cada una de las coordenadas color.

La coordenada L* que hace referencia a la claridad disminuye en cada uno de los tratamientos variando en un rango de 40 a 15 unidades, el el fruto en sus últimas etapas de madurez presenta una coloración cada vez más oscura, durante su senescencia presenta diferentes tipos de mohos en la superficie, que ocasionan una clara disminución en la luminosidad del fruto.

Con respecto a la coordenada a* se presentan valores positivos en el rango de 30 unidades en el espectro, lo que significa que se encuentra dentro de las tonalidades rojas, sin embargo este valor disminuye hasta 15 unidades a medida que pasa el tiempo, esto puede producirse a la presencia de hongos que claramente opacan el color de la mora durante la senescencia.

Para la coordenada b* se presentan valores positivos en el rango de 6 a 22 unidades, haciendo referencia a tonalidades amarillas, estos valores aumentan en los tres tratamientos, mostrando que durante la senescencia del fruto su color tiende a volverse pardo, debido a la pérdida de pigmentación durante la pudrición del fruto y debido a la degradación casi completa en los últimos puntos de medida de cada uno de los tratamientos.

Los valores obtenidos para cada una de las coordenadas del espacio CIELAB, fueron tomados en puntos donde la fruta se encontraba en proceso de degradación, por tal razón es evidente que la presencia de hongos y cualquier otro tipo de materia producido durante la putrefacción afecte la lectura de la medida instrumental del color (Rodríguez & Villegas, 2015)(Rimac, Sabolović, Zlabur, & Jelovecki, 2015; Santacruz, Osorio, González-miret, & Heredia, 2012; Villacrez, 2013).

- ***Contenido de sólidos solubles totales (°Brix)***

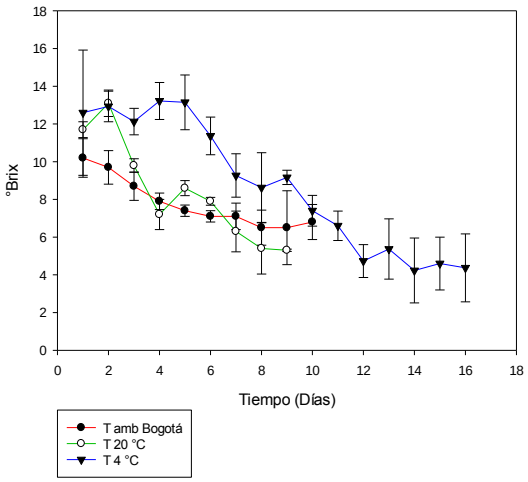


Figura 1-8. Contenido de sólidos solubles totales en las tres condiciones de almacenamiento.

Los valores para los °Brix son comparables con los obtenidos en la literatura por (Acosta-Montoya et al., 2010; Ayala & Valenzuela, 2013; Bernal & Diaz, 2012; Villacrez, 2013) que varían entre los 4-16 °Brix. El contenido de sólidos solubles disueltos en la mora durante la maduración tiene una tendencia ascendente, durante el desarrollo y la maduración del fruto la síntesis de azúcares y otros compuestos aumenta (Ayala & Valenzuela, 2013) y esta tendencia corresponde a la acumulación de sacarosa y glucosa durante el llenado de los frutos (Ayala & Valenzuela, 2013; Bernal & Diaz, 2012; Dai, Gupte, & Mumper, 2009).

Sin embargo como se puede observar en la Figura 1-8, durante la senescencia de mora de Castilla para los 3 tratamientos, los sólidos solubles totales (°Brix) se reducen, esto se debe a la condición de respiración de fruto que lo caracteriza como no climatérico, afecta directamente la síntesis de azúcares, que al final terminan degradándose en otros compuestos y ocasionando la disminución en los sólidos solubles totales, aún cuando se presenten cambios en la coloración (Ayala & Valenzuela, 2013; Perkins-Veazie et al., 2000).

- ***pH***

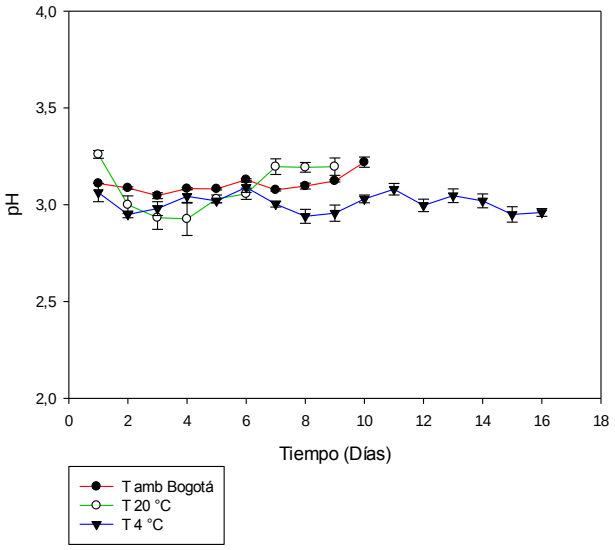


Figura 1-9. Comportamiento del pH en las tres condiciones de almacenamiento.

El pH evaluado para cada uno de los tratamientos presentó un rango de valores entre 2,86 y 3,11, que es comparable con los resultados obtenidos por (Acosta-Montoya et al., 2010; Ayala & Valenzuela, 2013; Bernal & Diaz, 2012; Villacrez, 2013), durante el proceso de maduración como de senescencia ocurren diferentes procesos bioquímicos dentro del fruto tanto con la síntesis como con la degradación de los ácidos orgánicos y azúcares, haciendo que la concentración a nivel vacuolar de H^+ aumente y disminuya, ocasionando así que los cambios de pH no sean notorios durante la senescencia del fruto, sin embargo se presenta un rango de medición y variación que puede ser debido a las características edafológicas de la zona de cultivo (Acosta-Montoya et al., 2010; Ayala & Valenzuela, 2013; Bernal & Díaz, 2012).

- ***Acidez titulable***

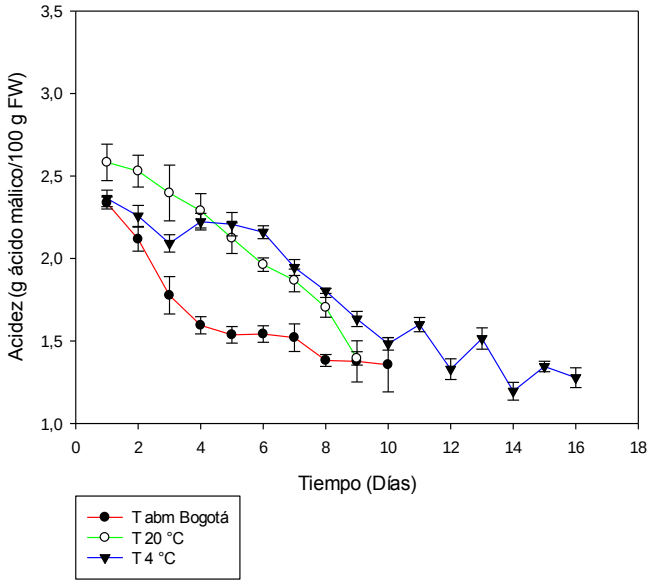
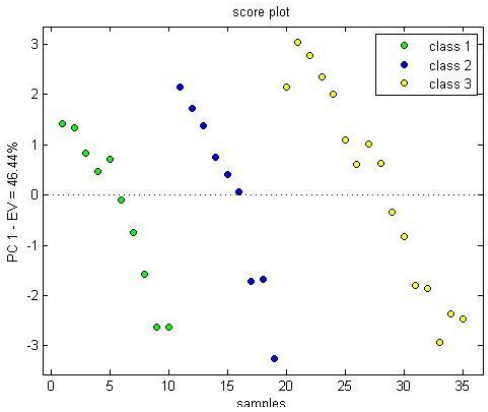


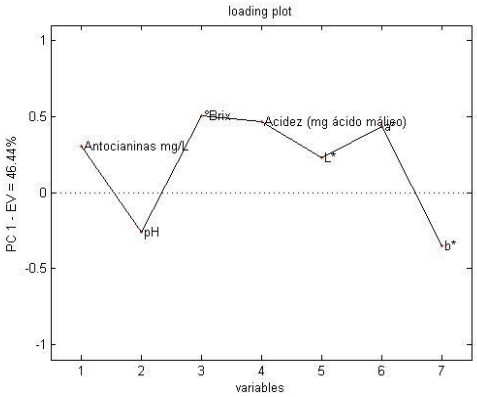
Figura 1-10. Contenido de acidez titulable en las tres condiciones de almacenamiento

La acidez de la fruta en % de ácido málico es comparable con los valores obtenidos para mora de Castilla por parte de (Ayala & Valenzuela, 2013; Bernal & Diaz, 2012; Villacrez, 2013) que varían entre 4,00 y 1,00 g de ácido málico / 100 g fruta fresca sin embargo se tienen en cuenta que la tendencia de esta propiedad es descendente y el contenido es mucho menor al encontrado para mora de castilla durante su madurez comercial lo que muestra que durante la senescencia la biomasa residual se desacidifica llegando a valores cercanos a 1 g ácido málico /100 g de fruta fresca.

En el proceso de maduración, y durante la senescencia del fruto, el contenido de acidez muestra un descenso debido a los cambios naturales que sufre durante su proceso de degradación, en los estados verde, pintón y maduro se presenta un aumento en la concentración de ácidos orgánicos y otros compuestos que aportan hidrogeniones ocasionando que la acidez del fruto sea elevada, sin embargo a medida que los procesos oxidativos dentro el fruto y la actividad de enzimas específicas es llevada a cabo, se promueve la acumulación de glucosa y sacarosa que ocasionan un descenso de los hidrogeniones de las vacuolas que se ve reflejado en el aumento de azúcares y disminución de la acidez durante la madurez (Acosta-Montoya et al., 2010; Ayala & Valenzuela, 2013; Bernal et al., 2014) que continua durante la senescencia de la fruta debido al uso y degradación de dichos azúcares en otros compuestos (Q. Chen et al., 2012).

Análisis de Componentes principales (PCA)





Se realizó un análisis de componentes principales en donde se obsevar que en el score plot se evidencia una clasificación de las muestras entre los tratamientos de almacenamiento realizados amarillo = T 4°C, azul = T 20 °C y verde = T amb de Bogotá, esta tendencia en el comportamiento se debe a que las principales variables que afectan el comportamiento de la mora en las primeras etapas de senescencia son °Brix, Acidez y las coordenadas L* y a* del color, tienen un comportamiento decreciente. A medida que aumenta el tiempo de senescencia se aprecia un aumento en el contenido de antocianinas hasta un punto óptimo en el cúal las variables anteriormente mencionadas continúan decreciendo mientras que las variables correspondientes al pH y la coordenada b* aumenta, posteriormente el contendido de antocianinas empieza a decrecer.

1.4 Conclusiones parciales

- Durante el almacenamiento en tres condiciones (Temperatura ambiente, 20°C y 4°C de la mora de Castilla, partiendo desde su punto de madurez comercial óptimo NTC 4106, evidencio un aumento de 2 a 3 veces en el contenido de antocianinas monoméricas, lo que demuestra la factibilidad que tiene este residuo para aprovecharse como potencial aditivo colorante.
- No se logró evidenciar diferencias o relaciones significativas entre los tratamientos a diferentes temperaturas, sin embargo, las variables analizadas mostraron proporcionalidad y tendencias similares.
- En el estado de maduración óptimo se obtuvo un contenido de antocianinas de 40 a 50 mg cyn-3-glu /100 g fruta fresca para el tratamiento 1, que es dos veces al valor de 25,7 mg cyn-3-glu /100 g fruta fresca obtenido por (Bernal & Diaz, 2012), este valor aumentó durante la senescencia hasta aproximadamente 100,55 mg cyn-3-glu /100 g fruta fresca superando el valor descrito por (Bernal, 2012).

- Las propiedades fisicoquímicas durante la senescencia del fruto mostraron independencia aunque mantuvieron la dimensionalidad con los resultados obtenidos por otros autores en la literatura, los grados brix se mostraron valores entre los 6-14 °, el pH mostro valores entre 2,86-3,21 y la acidez titulable, valores entre los 4,0-1,0 g de ácido málico/100g fruta fresca.
- Las propiedades fisicoquímicas de la mora, junto con el contenido de antocianinas cambian levemente con respecto al punto de cosecha en el año, el contenido de antocianinas evaluada en los 4 eslabones de la cadena de suministro aumento en casi un 8% en el mes de Julio con respecto al muestreo realizado durante el mes de Febrero.
- Las coordenadas de color CIELAB muestran como a medida que el producto entra en etapa de senescencia la luminosidad y la tonalidad roja se ve afectada por la carga microbiológica que sufre el fruto por el crecimiento de hongos y demás contaminantes, de esta misma manera la coordenada b* muestra un aumento hacia las tonalidades amarillas.
- Los factores críticos que afectan la calidad de la mora de Castilla en la cadena de suministro son la humedad, los daños mecánicos y la poca demanda que pueda presentarse.

1.5 Bibliografía

Acosta-Montoya, Ó., Vaillant, F., Cozzano, S., Mertz, C., Pérez, A. M., & Castro, M. V. (2010). Phenolic content and antioxidant capacity of tropical highland blackberry (Rubus adenotrichus Schltdl.) during three edible maturity stages. *Food Chemistry*, *119*(4), 1497–1501. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.032

Aguilera, M., DelCarmen, M., Reza-Vargas, C., Gerardo, R., Madinaveitia, C., Valenzuela, J. A., & Baca, P. R. (2012). Antocianinas de higo como colorantes para yogur natural. *Bio Revista Tecnia*. Retrieved from www.biotecnia.uson.mx

Albuquerque, B. R., Pinela, J., Barros, L., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2020). Anthocyanin-rich extract of jabuticaba epicarp as a natural colorant: Optimization of heat- and ultrasound-assisted extractions and application in a bakery product. *Food Chemistry*, *316*, 126364. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126364

Ayala, L., & Valenzuela, C. (2013). Caracterización fisicoquímica de mora de castilla (rubus glaucus benth) en seis estados de madurez. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, *11*(2), 10–18. Retrieved from http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n2/v11n2a02.pdf

Bernal, L., & Diaz, C. (2012). *Evaluación de las Propiedades Bioactivas de Mora (Rubus glaucus) y Agraz (Vaccinium meridionale Swartz), en Fresco y Durante Procesos de Transformación*. Nacional de Colombia. Retrieved from http://www.bdigital.unal.edu.co/8376/1/17208.2012.pdf

Bernal, L., Melo, L., & Díaz, C. (2014). Evaluation of the Antioxidant Properties and Aromatic Profile During Maturation of The Blackberry (Rubus glaucus Benth) and The

Bilberry (Vaccinium meridionale Swartz). *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, *67*(1), 7209–7218. https://doi.org/10.15446/rfnam.v67n1.42649

Celli, G. B., Ghanem, A., & Brooks, M. S. L. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from haskap berries (Lonicera caerulea L.) using Response Surface Methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, *27*, 449–455. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.06.014

Chen, M., Zhao, Y., & Yu, S. (2015). Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses. *Food Chemistry*, *172*, 543–550. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.110

Chen, Q., Yu, H., Tang, H., & Wang, X. (2012). Identification and expression analysis of genes involved in anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in the fruit of blackberry. *Scientia Horticulturae*, *141*, 61–68. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.04.025

Dai, J., Gupte, A., & Mumper, R. . (2009). A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: Extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*, *47*(4), 837–847. https://doi.org/10.1016/J.FCT.2009.01.016

Dane, & Antioaquia, G. de. (2013). *El cultivo de la mora de Castilla (Rubus glucus Benth) frutal de clima frío moderado, con propiedades curativas para la salud humana*. Colombia. Retrieved from https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/insumos_factores_de_produccion_nov_2013.pdf

Dávila, J. (2016). *Residuos de mora y aguacate con potencial para la industria farmacéutica - UNIMEDIOS: Universidad Nacional de Colombia*. Manizales. Retrieved from http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle/article/residuos-de-mora-y-aguacate-con-potencial-para-la-industria-farmaceutica.html

DNP. Estudio de perdida y Desperdicio de alimentos en Colombia (2016). Retrieved from https://colaboracion.dnp.gov.co/CDT/Prensa/Presentaciones/Perdidas y Desperdicios de alimentos en Colombia.pdf

Elisia, I., Hu, C., Popovich, D. G., & Kitts, D. D. (2006). Antioxidant assessment of an anthocyanin-enriched blackberry extract. *Food Chemistry*, *101*(3), 1052–1058. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.060

Escobar, C. (2015). *Cadenas Productivas*.

Espada-Bellido, E., Ferreiro-González, M., Carrera, C., Palma, M., Barroso, C. G., & Barbero, G. F. (2017). Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (Morus nigra) pulp. *Food Chemistry*, *219*, 23–32. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.122

FAO, & OMS. (2017). Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios (GSFA) Base de Datos en Línea. Retrieved October 8, 2017, from http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/gsfa/en/

Figueroa Martínez, P. M., Hurtado Benavides, A. M., & Ceballos Ortíz, M. A. (2016). Microencapsulación mediante secado por aspersión de aceite de mora (Rubus glaucus) extraido con CO2 supercrítico. *Revista Colombiana de Química*, *45*(2), 39. https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v45n2.57481

Flores, E. (2017). Extracción de Antioxidantes de las Bayas del Sauco (Sambucus nigra L. subsp. peruviana) con Ultrasonido, Microondas, Enzimas y Maceración para la Obtención de Zumos Funcionales. *Informacion Tecnologica*, *28*(1), 121–132. https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000100012

Freire, V., & Brito, B. (2012). *Alternativas de mejora en el manejo de poscosecha y comercialización de la mora de Castilla Proveniente de la provincia de Tungurahua*. Escuela Politécnica Nacional. Retrieved from http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/4609/1/CD-4242.pdf

Gancel, A. L., Feneuil, A., Acosta, O., Pérez, A. M., & Vaillant, F. (2011). Impact of industrial processing and storage on major polyphenols and the antioxidant capacity of tropical highland blackberry (Rubus adenotrichus). *Food Research International*, *44*(7), 2243–2251. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.06.013

García, A., & López, A. (2012). Biopolimeros utilizados en la encapsulación. *Temas Selectos de Ingenieria En Alimentos*. Retrieved from http://www.udlap.mx/

Garcia Chacón, J. (2017). Desarrollo de microencapsulados enriquecidos en carotenoides a partir de residuos de frutas tropicales para uso como colorantes naturales en alimentos. Tesis Maestría., 129. Retrieved from http://www.bdigital.unal.edu.co/57481/7/julianamariagarciachacon.2017.pdf

Garzón, G. A., Riedl, K. M., & Schwartz, S. J. (2009). Determination of Anthocyanins, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity in Andes Berry (Rubus glaucus Benth). *Journal of Food Science*, *74*(3), C227–C232. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01092.x

Gaviria, S., Mejia, F., Castro, M., Gómez, E., & Castro, F. (2016). *Pérdida y Desperdicio de alimentos en Colombia*. *Departamento Nacional de Planeación* (Vol. 39).

Golmohamadi, A., Möller, G., Powers, J., & Nindo, C. (2013). Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. *Ultrasonics Sonochemistry*, *20*(5), 1316–1323. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.01.020

Grijalba, C., Calderón, L., & Pérez, M. (2010). Rendimiento y calidad de la fruta en mora de castilla (rubus glaucus benth), con y sin espinas, cultivada en campo abierto en Cajicá. *ResearchGate*, 25–31. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Maria_Perez-Trujillo/publication/277264501_Rendimiento_y_calidad_de_la_fruta_en_mora_de_castilla_rubus_glaucus_benth_con_y_sin_espinas_cultivada_en_campo_abierto_en_Cajica_Cundinamarca_Colombia/links/55c8926408aeca747d

Guerrero, D., & Moreno, N. (2011). *Extracción y evaluación de un colorante natural a partir de la pepa de aguacate para el teñido de las fibras de algodón y poliéster*. Ténica de Ambato. Retrieved from

http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/1757/1/SBQ 2 Ref.3396

Guevara, L. L. (2007). Microencapsulación de algunos compuestos bioactivos mediante secado por aspersión Microencapsulation of some bioactive compounds through spray drying, *5*.

He, B., Zhang, L. L., Yue, X. Y., Liang, J., Jiang, J., Gao, X. L., & Yue, P. X. (2016). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (Vaccinium ashei) wine pomace. *Food Chemistry*, *204*, 70–76. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.094

Ivanovic, J., Tadic, V., Dimitrijevic, S., Stamenic, M., Petrovic, S., & Zizovic, I. (2014). Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar "Čačanska Bestrna." *Industrial Crops and Products*, *53*, 274–281. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.048

Leiva, L., Arévalo, E., Díaz, A., Galindo, J., & Rivero, M. (2011). *Manejo fitosanitario del cultivo del mora (Rubus glaucus Benth) Medidas para la temporada invernal*. *Ica*. Bogotá D.C.

Li, X., Chen, F., Li, S., Jia, J., Gu, H., & Yang, L. (2016). An efficient homogenate-microwave-assisted extraction of flavonols and anthocyanins from blackcurrant marc: Optimization using combination of Plackett-Burman design and Box-Behnken design. *Industrial Crops and Products*, *94*, 834–847. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.063

Li, Y., Han, L., Ma, R., Xu, X., Zhao, C., Wang, Z., … Hu, X. (2012a). Effect of energy density and citric acid concentration on anthocyanins yield and solution temperature of grape peel in microwave-Assisted extraction process. *Journal of Food Engineering*, *109*(2), 274–280. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.021

Li, Y., Han, L., Ma, R., Xu, X., Zhao, C., Wang, Z., … Hu, X. (2012b). Effect of energy density and citric acid concentration on anthocyanins yield and solution temperature of grape peel in microwave-Assisted extraction process. *Journal of Food Engineering*, *109*(2), 274–280. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.021

Mane, S., Bremner, D. H., Tziboula-Clarke, A., & Lemos, M. A. (2015). Effect of ultrasound on the extraction of total anthocyanins from Purple Majesty potato. *Ultrasonics Sonochemistry*, *27*, 509–514. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.06.021

Mera, C., & Fernández, B. (2015). *Desarrollo de técnicas de extracción y análisis de antocianinas y compuestos fenólicos en Jaboticaba (Myrciaria Cauliflora)*. Universidad de Cadiz. Retrieved from http://rodin.uca.es/xmlui/bitstream/handle/10498/17722/TFG Celia Final.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Navas, M. J., Jiménez-moreno, A. M., Bueno, J. M., Sáez-plaza, P., Asuero, A. G., Mar, A., … Asuero, A. G. (2012). Critical Reviews in Analytical Chemistry Analysis and Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments . Part IV : Extraction of Anthocyanins Analysis and Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments . Part IV : Extraction of Anthocyanins, *8347*. https://doi.org/10.1080/10408347.2012.680343

Oancea, S., Grosu, C., Ketney, O., & Stoia, M. (2013). Conventional and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from blackberry and sweet cherry cultivars. *Acta Chimica Slovenica*, *60*(2), 383–389.

Osorio, C., Acevedo, B., Hillebrand, S., Carriazo, J., Winterhalter, P., & Morales, A. L. (2010). Microencapsulation by spray-drying of anthocyanin pigments from corozo (Bactris guineensis) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(11), 6977–6985. https://doi.org/10.1021/jf100536g

Otálora, M. C., Carriazo, J. G., Iturriaga, L., Osorio, C., & Nazareno, M. A. (2016). Encapsulating betalains from Opuntia ficus-indica fruits by ionic gelation: Pigment chemical stability during storage of beads. *Food Chemistry*, *202*, 373–382. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.115

Ötles, S. (2012). *Methods of analysis of food components and additives*. (Z. Sikorski, Ed.), *FOODnetBASE* (Second, Vol. 2). CRC Press Taylor & Francis Group.

Perkins-Veazie, P., Clark, J. R., Huber, D. J., & Baldwin, E. A. (2000). *Ripening Physiology in "Navaho" Thornless Blackberries: Color, Respiration, Ethylene Production, Softening, and Compositional Changes*. *J. AMER. SOC. HORT. SCI* (Vol. 125). Retrieved from http://journal.ashspublications.org/content/125/3/357.full.pdf

Pinela, J., Prieto, M. A., Pereira, E., Jabeur, I., Barreiro, M. F., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Optimization of heat- and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from Hibiscus sabdariffa calyces for natural food colorants. *Food Chemistry*, *275*, 309–321. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.09.118

Prieto, G., & Acevedo, B. (2014). *Proceso de microencapsulación de colorantes naturales presentes en la fresa (Fragaria vesca)*. *AVANCES Investigación en Ingeniería - No. 1 (2014) I*.

Puertas-Mejía, M. A., Ríos-Yepes, Y., & Alberto Rojano, C. B. (2013). Determinación de antocianinas mediante extracción asistida por radiación de microondas en frijol (Phaseolus vulgaris L.) de alto consumo en Antioquia-Colombia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, *18*(2), 288–297. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000200012

Revelo, D. (2014). Microencapsulación de tomate de árbol rojo (Solanum betaceum cav.) mediante spray drying para aplicación en productos lácteos. Retrieved from http://www.bdigital.unal.edu.co/46091/1/1113639059.2014.pdf

Rimac, S., Sabolović, M. B., Zlabur, J. Š., & Jelovecki, M. (2015). Colour stability and antioxidant activity of some berry extracts, *11*, 115–119.

Rodriguez Amaya, D. B. (2016). Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science*, *7*, 20–26. https://doi.org/10.1016/J.COFS.2015.08.004

Rodríguez, C., & Villegas, B. (2015). *Caracterización de los cultivos de mora de castilla (rubus glaucus benth) con espinas, en dos fincas del municipio de guática, risaralda.* Tecnoógica de Pereira. Retrieved from http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/6118/63438R696.pdf?sequence=1

Rojas, Z., Delgadillo, R., & Moreno, R. (2015). Extraction of antioxidants of blackberry (rubus fruticosus) residue using conventional and emerging technology. *Revistas y Boletines Científicos*, 1–14. Retrieved from https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/icsa/n7/p3.html

Rosero, G., Corral, A., Álvarez, C., Serna, L., & Ordoñez, L. (2013). Evaluación del color en yogur elaborado con extracto de residuos de uvas Isabella como colorante natural, 3. https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v34n1supl.57898

Sabino, L. B. de S., Filho, E. G. A., Fernandes, F. A. N., de Brito, E. S., & Júnior, I. J. da S. (2021). Optimization of pressurized liquid extraction and ultrasound methods for recovery of anthocyanins present in jambolan fruit (Syzygium cumini L.). *Food and Bioproducts Processing*, *127*, 77–89. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.02.012

Sanchez-Reinoso, Z., Osorio, C., & Herrera, A. (2017). Effect of microencapsulation by spray drying on cocoa aroma compounds and physicochemical characterisation of microencapsulates. *Powder Technology*, *318*, 110–119. https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.05.040

Santacruz, L., Carriazo, J. G., Almanza, O., & Osorio, C. (2012). Anthocyanin Composition of Wild Colombian Fruits and Antioxidant Capacity Measurement by Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(6), 1397–1404. https://doi.org/10.1021/jf2042533

Sena. (2014). *Manual Ténico del Cultivo de Mora Bajo Buenas Practicas Agricolas*. Medellín. Retrieved from http://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/mora enero 2015 liviano.pdf

Shah, N. P. (2017). *Yogurt in Health and Disease Prevention*. Academic Press, an imprint of Elsevier.

Soria, R. (2014). *Cuantificación y logística de la biomasa en el cultivo de mora (rubus glaucus benth cv. de castilla)*. Universidad Técnica de Ambato. Retrieved from http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8473/1/Tesis-89 Ingeniería Agronómica -CD 304.pdf

Stella, L., & Meneses, B. (2009). Caracterización, evaluación y producción de material limpio de mora con alto valor agregado. In *MADR, Corpoica* (1st ed., pp. 5–19). Corpoica. Retrieved from http://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/2009122101453_Caracterizacion_mora.pdf

Villacrez, J. (2013). *Desarrollo de microencapsulados por SPRAY DRYING a partir de frutos de mora de castilla (Rubus glaucus Benth)*. Universidad Nacional de Colombia. Retrieved from http://www.bdigital.unal.edu.co/47240/1/197569.2013.pdf

Wang, W., Jung, J., Tomasino, E., & Zhao, Y. (2016). Optimization of solvent and ultrasound-assisted extraction for different anthocyanin rich fruit and their effects on anthocyanin compositions. *LWT - Food Science and Technology*, *72*, 229–238. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.041

Wen, Y., Chen, H., Zhou, X., Deng, Q., Zhao, Y., Zhao, C., & Gong, X. (2015). Optimization

of the microwave-assisted extraction and antioxidant activities of anthocyanins from blackberry using a response surface methodology. *RSC Advances*, *5*(25), 19686–19695. https://doi.org/10.1039/c4ra16396f

Zapata, L., Carcel, J., & Clemente, G. (2014). *Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria*. Universidad Politécnica de Valencia. Retrieved from http://www.blueberrieschile.cl/wp-content/uploads/2016/05/obtenciondeextracto.pdf

Zhu, Z., Guan, Q., Koubaa, M., Barba, F. J., Roohinejad, S., Cravotto, G., … He, J. (2017). HPLC-DAD-ESI-MS2 analytical profile of extracts obtained from purple sweet potato after green ultrasound-assisted extraction. *Food Chemistry*, *215*, 391–400. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.157

2. Procesos de extracción sólido-líquido, asistida por ultrasonido y microondas de biomasa residual de mora de castilla en soluciones hidroalcohólicas.

Una vez estudiadas las propiedades fisicoquímicas de la mora de Castilla en condiciones de senescencia se evaluaron tres técnicas de extracción (extracción asistida por ultrasonido (UEA), extracción asistida por Microondas (MAE) y extracción convencional sólido – líquido como punto de comparación) para encontrar condiciones de proceso óptimas y lograr un mayor contenido de antocianinas monoméricas totales y color en el extracto.

2.1 Extracción Sólido Líquido

La extracción sólido-líquido es una operación unitaria utilizada para separar uno o más componentes presentes en una matriz sólida mediante el uso de un solvente en fase líquida. Los componentes que se transfieren de la matriz sólida a la fase líquida se les denominan soluto, el sólido insoluble se denomina inerte. Ambas fases llegan a un equilibro que ocurre en tres etapas sucesivas (Elisia, Hu, Popovich, & Kitts, 2006):

Primero ocurre una transferencia de solvente dentro de la solución extractiva hacia el sólido. Luego por medio de difusión molecular, el solvente penetra en los poros del sólido hasta la parte interna de la matriz, para que el soluto entre en contacto con él.

Después se lleva a cabo una transferencia del soluto desde la superficie de la matriz, gracias al gradiente de concentración de las partículas, hasta el seno de la disolución (Zapata et al., 2014).

Desde el punto de vista teórico el equilibro se da cuando el soluto y el solvente alcanzan una concentración uniforme o se llega a un punto de saturación en el solvente (Gancel et al., 2011; Garzón et al., 2009). El tiempo para llegar al equilibrio suele estar determinado por la afinidad de los compuestos en contacto y sus características específicas, sin embargo se puede aumentar la velocidad de transferencia global al modificar algunos factores como lo son el tamaño de partícula, el tipo solvente, la concentración o composición del solvente, la proporción sólido-solvente, la temperatura o incluso la agitación del fluido entre otros (Dai, Gupte, & Mumper, 2009).

2.1.1 Extracción de antocianinas en mora

La mora representa una fuente importante de diferentes metabolitos secundarios como compuestos polifenólicos, taninos, ácido elágico, elagitaninos, ácido gálico, antocianinas y cianidinas; Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas que pertenecen a la clase de flavonoides y son pigmentos hidrosolubles de las plantas que otorgan colores desde los rojos hasta los azules (Ivanovic et al., 2014; Oancea, Grosu, Ketney, & Stoia, 2013), y que otorgan beneficios a la salud. En productos de origen natural la cuantificación de antocianinas implica generalmente una extracción sólido-líquido y para la identificación de las mismas dicha extracción viene seguida de extracción en fase sólida y/o líquido-líquido con el fin de eliminar otras especies presentes como ácidos fenólicos, proteínas, azúcares, flavonoides u otros metabolitos secundarios (Navas et al., 2012; Zapata et al., 2014).

Existen técnicas convencionales que se basan solo en la selección del solvente junto con factores como temperatura o tiempo de extracción (Mera & Fernández, 2015), sin embargo las técnicas tradicionales requieren a menudo altos consumos de energía eléctrica y/o de solventes orgánicos, además largos tiempos pueden resultar en la degradación de los componentes fenólicos debido a la oxidación, ionización e hidrólisis durante el proceso (Ivanovic et al., 2014). Como alternativa nuevas tecnologías de separación han venido aplicándose con el fin de acelerar los tiempos y reducir el uso de solventes, incrementado el rendimiento de la extracción de compuestos antioxidantes hidrosolubles como: extracción asistida por ultrasonido, extracción asistida por microondas, extracción enzimática, extracción de alta presión hidrostática y extracción por medio de fluidos supercríticos (Navas et al., 2012; Oancea et al., 2013; Rojas, Delgadillo, & Moreno, 2015).

2.2 Extracción de antocianinas por métodos convencionales

Los polifenoles, que incluyen antocianinas, flavonoles, y ácido fenólico son aislados tradicionalmente por medio de solventes orgánicos junto a agitación o calentamiento (Ivanovic et al., 2014). La extracción de antocianinas deben usar métodos adecuados teniendo en cuenta los factores involucrados en su estabilidad, como por ejemplo el carácter polar de la molécula, que la hace soluble a solventes como alcoholes, acetona y agua, el carácter ácido de los medios en los que se mantiene estable dicha molécula, los cambios estructurales con grupos hidroxilo, metoxilo, glucósidos y especialmente grupos acilos, además de factores como la temperatura y la luz, entre otros, de tal manera que se maximice la extracción de pigmentos, se minimice la presencia de sustancia extrañas o conjuntas provenientes del fruto y limitar las alteraciones que se puedan presentar en el estado natural del extracto (Dai et al., 2009; Garzón et al., 2009; Zapata et al., 2014).

Para la extracción convencional se reporta la aplicación de la operación unitaria sólido-solvente en la cual se permite el contacto directo entre la mora y el solvente a una relación determinada (g fruta/mL etanol) comúnmente con soluciones de acetona o metanol

acidificado con ácido clorhídrico, con el fin de obtener la forma más estable que es el catión flavilio, por ejemplo (Oancea et al., 2013) evaluó la extracción de mora diferentes concentraciones de etanol (60%-80%) sin y con adición de ácido clorhídrico con agitación de 2 a 24 horas respectivamente. Así mismo (Sabino, Filho, Fernandes, de Brito, & Júnior, 2021) realizaron una extracción convencional por medio de maceración de la fruta jambolan utilizando diferentes solventes de extracción como metanol, etanol, y acetona acidificado con ácido trifluoroacético o incluso (Mane, Bremner, Tziboula-Clarke, & Lemos, 2015) que realizaron la extracción de antocianinas en diferentes tipos de preparación de para morada, relaciones de solvente y tiempo de extracción utilizando un baño de agua a 33°C.

Siempre teniendo en cuenta que el extracto debe ser protegido de la luz natural (Bernal et al., 2014) , se observa que los parámetros importantes para la extracción convencional son el tipo del solvente, el pH del medio de extracción, el tiempo y la temperatura, todos ellos llevados a cabo por medio de un proceso mecánico de agitación, sin que haya asistencia de alguna metodología que pueda acelerar dicha extracción, y permitiendo el contacto del soluto con el solvente para que se llegue a un equilibrio de fases, en el cual el etanol alcance un punto de saturación optimo con respecto al contenido de antocianinas que pueda presentar el fruto (Mane et al., 2015; Sabino et al., 2021).

2.3 Extracción asistida por Ultrasonido (UAE)

La extracción asistida por ultrasonido es una de las tecnologías emergentes como técnica de procesamiento “verde” puesto reduce el consumo de energía y agua, aprovecha subproductos por medio de la bio-refinación y garantiza un producto seguro y de calidad, posee varias ventajas como su facilidad de uso, su amplio campo de aplicabilidad, aumento del rendimiento de extracción, ahorro económico tanto de solvente como de cantidad de muestra y disminución en el tiempo de extracción (Mera & Fernández, 2015) además de ser reconocida como adecuada para aplicaciones industriales (Pinela et al., 2019), en la química y en la medicina (Espada-Bellido et al., 2017; Pinela et al., 2019).

Esta técnica es usada para la extracción de fitoquímicos a escala industrial, ya que es un equipo de bajo costo, de fácil operatividad y que genera mayor rendimiento y calidad de los extractos, en tiempos cortos, temperaturas más bajas y menor consumo en el volumen de solventes (Celli, Ghanem, & Brooks, 2015; Espada-Bellido et al., 2017; Ivanovic et al., 2014), consiste en ondas de ultrasonido con frecuencias iguales o mayores a 20 kHz que entregan una alta energía al medio, generando así un fenómeno llamado cavitación y microcorriente (movimiento microscópico en el fluido); la cavitación está asociada a la producción, crecimiento y colapso de burbujas en ciclos de compresión y rarefacción (expansión)(Rojas et al., 2015), en la cual se crean corrientes de Foucault cerca de las burbujas, lo que genera un movimiento de vibración y rotación en las partículas cercanas, ocasionando un estrés o hinchazón que eventualmente genera la ruptura en las paredes celulares y en consecuencia la liberación acelerada del contenido celular, favoreciendo la

penetración del solvente y mejorando la transferencia de calor y masa (Celli et al., 2015; Espada-Bellido et al., 2017; He et al., 2016; Ivanovic et al., 2014). El ultrasonido de clasifica en dos tipos, el ultrasonido de baja potencia y alta frecuencia (100-1000 kHz) y de alta potencia y baja frecuencia (20-100 kHz); este último es mucho más usado en el procesamiento de alimentos porque las burbujas de cavitación son complejas de formar a frecuencias más altas que genera el colapso asimétrico de las burbujas y la producción de microchorros cerca de las paredes celulares, produciendo energía que es parcialmente absorbida por el medio, y disipada en forma de calor, lo cual aumenta la temperatura (Golmohamadi, Möller, Powers, & Nindo, 2013).

(Oancea et al., 2013) realizó extracción asistida por ultrasonido en mora y cereza dulce, en donde se evaluaron los parámetros de concentración de solvente, la relación solvente/sólido, la temperatura y el tiempo, siendo el tiempo de extracción (5 min) y la relación sólido/solvente (10:1 mL/g) las variables más adecuadas para obtener altos rendimientos de extracción, (Sabino et al., 2021) evaluó la densidad de potencia del ultrasonido (W/L), % de etanol y tiempo de extracción en Jambolan obteniendo 5000 W/L, 80% etanol acidificado con ácido trifluoroacético, y 10 min de sonicación respectivamente y por ejemplo (Mane et al., 2015) evaluó tiempos de extracción, amplitudes del ultrasonido, proporciones de etanol agua y diferentes preparaciones de papa morada, obteniendo puntos óptimos en el rendimiento de extracción en 5 min, 50% y (40:1 mL/g) respectivamente. En general los parámetros más significativos para la extracción de antocianinas con respecto a varios autores fueron, la potencia, el tipo de solvente, la concentración de solvente, la amplitud, la temperatura, la relación sólido/líquido, y el tiempo de extracción (Albuquerque, Pinela, Barros, Oliveira, & Ferreira, 2020; M. Chen, Zhao, & Yu, 2015; Ivanovic et al., 2014; Y. Li et al., 2012a; Oancea et al., 2013; Sabino et al., 2021; Wang, Jung, Tomasino, & Zhao, 2016).

Sin embargo como se menciono, la eficiencia de esta técnica se ve afectada por variables del proceso. Por lo que es necesario realizar ensayos preliminares apropiados con el fin de tener herramientas de optimización para determinar las condiciones óptimas de extracción en las cuales se obtengan las mejores respuestas en sentido de la cantidad de pigmento extraído por litro de extracto como objetivo principal (Ivanovic et al., 2014; Oancea et al., 2013).

2.4 Extracción asistida por microondas (MAE)

La extracción asistida por microondas utiliza energía de microondas cuyas ondas electromagnéticas provocan movimiento molecular y rotación en los líquidos con un dipolo permanente, interaccionando directamente con las moléculas de agua presentes en los alimentos (Y. Li et al., 2012a; Wen et al., 2015), este tratamiento puede proporcionar un calentamiento selectivo basado en la constante dieléctrica seguido de conducción iónica y rotación dipolar de las moléculas, dicha conducción iónica es llevada a cabo cuando la radiación electromagnética induce una migración electroesférica, que resulta de la resistencia a la migración de iones que somete a la solución a un calentamiento por

fricción, este reorganizamiento de los dipolos con el campo produce un aumento de la temperatura (X. Li et al., 2016) que pueden llegar a desestabilizar y degradar los compuestos antociánicos (Puertas-Mejía, Ríos-Yepes, & Alberto Rojano, 2013), este estrés al que se ven sometidas las moléculas mejora la transferencia de masa y energía entre el soluto y el solvente, ofreciendo ventajas como eficiencia mejorada, facilidad de uso, amplio campo de aplicabilidad, aumento del rendimiento de extracción, ahorro económico tanto de disolvente como de cantidad de muestra y disminución en el tiempo de extracción (Y. Li et al., 2012a; Mera & Fernández, 2015).

(X. Li et al., 2016; Wen et al., 2015) realizaron extracciones en frutos tipo vaya y mora en donde se evaluaron la fracción de volumen (mL), relación sólido/líquido (g/mL), la potencia (W), la concentración de solvente % y el tiempo de microondas (segundos), en donde encontraron óptimos en potencia de (469 W a 551 W), tiempo máximo de 4 min y relación (1:25-1:28 g/mL) como parámetros significativos en el rendimiento de extracción de antocianinas. Puertas & Rios 2013 determinaron contenido de antocianinas en frijol, los parámetros evaluados fueron la potencia (W), los pulsos (segundos) y volumen de solvente (mL), mostrando como resultado que la técnica utilizada brindaba buenos resultados de extracción de antocianinas, obteniéndose que los valores óptimos de operación eran un volumen de muestra de 5 mL, tiempo de extracción de 60 s, potencia de extracción de 80 w y como solvente metanol acidulado (1 % v/v en HCl) (Puertas-Mejía et al., 2013); Flores en 2017 realizó una extracción de antioxidantes de bayas de Sauco por medio de ciclos de 30 segundos de aplicación y enfriamiento hasta un número de 8 ciclos mostrando rendimientos favorables 4 ciclos. (Flores, 2017),

Esto presenta nuevas técnicas, que pueden llegar a reducir los tiempos de extracción, en la medida que disminuyen el tiempo que el solvente esta en contacto con el la muestra, además que se ha informado que MAE es un método muy eficiente para la extracción de antocianinas de frambuesas rojas, maraca de cereza ácida y arándanos (Wen et al., 2015).

2.5 Metodología

2.5.1 Adecuación y muestreo

Se tomaron 5 kg de fruta cosechada en calidad comercial teniendo en cuenta el mayor estado de madurez según NTC 4106, quitando la corona de hojas como lo dice la norma y se almaceno para que continuara su proceso de senescencia en condiciones ambientes de Bogotá del sábado 20 al 25 de octubre de 2018 cuyas temperaturas variaron según IDEAM de los 8 °C a los 24 °C.

Figura 2-1. Mora de Castilla en su punto óptimo de madurez comercial NTC4106 y en su punto óptimo de senescencia.

La biomasa residual de mora de Castilla se homogeneizó para reducir el tamaño de partícula y su pulpa fue porcionada en bolsas de polietileno de baja densidad, agregando la cantidad en gramos de fruta necesaria para cada una de las 15 muestras por triplicado en 3 bloques dados por el diseño experimental. Las muestras fueron marcadas y almacenadas en congelación a -48°C hasta su análisis.

- ***Cuantificación de antocianinas monómericas totales***

El contenido de antocianinas monómericas totales fueron cuantificadas por medio el método de pH-diferencial según la A.O.A.C 2005.02. ver la metodología en el numeral 1.2.2.

Figura 2-2. Cuantificación de antocianinas monoméricas por el método de pH-diferencial.

- ***Determinación de sólidos totales***

Los sólidos totales se midieron por gravimetría usando el método internacional (A.O.A.C, 920.151) con algunas modificaciones. Se pesó con precisión en cajas de Petri previamente taradas, 5 g de extracto, asegurando una capa delgada de muestra y se agitó. La muestra se dejó secar durante 24 horas a 60 °C con el fin de evitar la ebullición abrupta del solvente y una pérdida mínima de materia.

Figura 2-3. Determinación de Sólidos totales

- ***Determinación de color***

Para la determinación de color los extractos fueron analizados en un colorímetro marca Minolta CM5, con un iluminante D90. Los extractos fueron dispuestos en una celda de cuarzo de 5 x 5 x 1 cm. El Equipo fue programado para medir líquidos por medio de transmitancia. Y allí se obtuvieron las coordenadas colorimétricas en el espacio CIELab, L* a* b*.

2.5.2 Procedimientos de extracción de antocianinas

- ***Extracción de antocianinas por método convencional***

En la extracción convencional, el volumen de mezcla de extracción fue de 100 mL, donde se usó una relación 1:30 g fruta/ g solvente, es decir 19,1 g de biomasa residual de mora y 80,9 mL de etanol al 96 % acidificado al 1 % V/V de ácido acético glacial.

La mezcla de extracción fue agregada a un beaker de 200 mL y se envolvió en papel aluminio para protegerlo de luz y se agitó a velocidad 5 (300 rpm) mediante el uso de un agitador magnético durante los tiempos (8,18,24 y 31 horas).

Transcurrido los tiempos de agitación, cada uno de los tratamientos fue filtrado al vacío y dispuesto en frascos de vidrios ámbar de 30 mL y fueron almacenados a temperatura de -48°C. Finalmente, a los extractos se les determinó antocianinas monoméricas, Color, Sólidos totales y rendimiento para comparar con respecto a las extracciones asistidas por ultrasonido y microondas.

- ***Extracción de antocianinas asistida por Ultrasonido (UAE)***

El procedimiento que se llevó a cabo fue el siguiente:
Se tomaron las bolsas de polietileno de baja densidad, previamente porcionadas con la biomasa residual de mora de Castilla fueron clasificadas por la relación fruta-solvente, se obtuvieron 100 mL de mezcla de extracto (teniendo en cuenta que la densidad de mora es estimó en 1 g/mL y la densidad del etanol es 0,789 g/mL), como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 2-1. Relaciones biomasa residual/solvente evaluadas en extracción asistida con ultrasonido

Relación (g fruta/g solvente)	Gramos de fruta (g)	Etanol (ml)
1:10	7,3	92,7
2:10	13,6	86,4
3:10	19,1	80,9

Se agregó la mezcla a beaker de 150 mL y se ajustaron las condiciones de amplitud y tiempo en el ultrasonido para cada tratamiento.

El beaker con 100 mL de mezcla se ubicó en el sistema de tal manera que la sonda ocupara aproximadamente un 50 % de la altura de la muestra para dar inicio al proceso de extracción.
En todos los tratamientos se controló la temperatura usando un baño termostatado a 15 °C. Luego de finalizado el proceso de extracción, la mezcla fue filtrada al vacío.

Figura 2-4. Filtración al vacío de la muestra

El extracto filtrado se distribuyó en 3 frascos tipo ámbar de 30 mL previamente identificados con el código de la muestra y el análisis posterior para el cual se usó (antocianinas, solidos totales y color respectivamente).

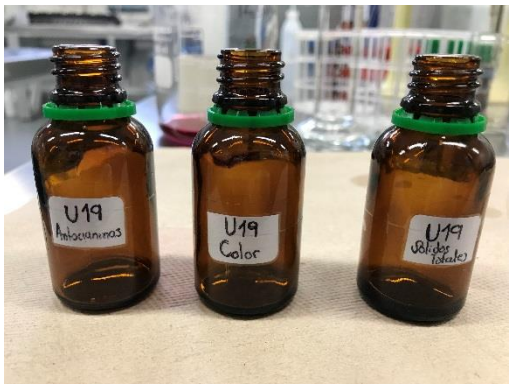


Imagen 10. Frascos tipo ámbar de 30 mL para el almacenamiento de muestras.

Todos los extractos se guardaron en un ultra congelador a (-48 °C) hasta su posterior análisis.

Almacenamiento de muestras a -48°C.

- ***Extracción de antocianinas asistida por Microondas (MAE)***

Se tomaron las bolsas de polietileno de baja densidad previamente porcionadas y clasificadas por la relación soluto-solvente y se agregó la cantidad suficiente de solvente para obtener 70 mL de extracto que era la cantidad suficiente para los vessel del microondas (teniendo en cuenta que la densidad de mora es estimó en 1 g/mL y la densidad del etanol es 0,789 g/mL).

Tabla 2-2. Relaciones biomasa residual/solvente evaluadas en la extracción asistida con microondas

Relación (g fruta/g solvente)	Gramos de fruta (g)	Etanol (mL)
1:10	5,1	64,9
2:10	9,5	60,5
3:10	13,4	56,6

Se agregó la mezcla a los vessel del microondas y se ajustaron las condiciones de potencia y tiempo en el microondas para cada tratamiento.

Figura 2-5. Vessel y panel de control para el ajuste de condiciones para microondas

El vessel con 70 mL de mezcla se ubicó en el sistema de tal manera que existiera contrapeso en el rotor del microondas poniendo otro vessel en la posición contraria.

Figura 2-6. Vessel puestos en el sistema de microondas.

En todos los tratamientos se midió la temperatura y luego al finalizar el proceso de extracción, la mezcla fue filtrada al vacío. El extracto filtrado se distribuyó en 3 frascos tipo ámbar de 30 mL previamente identificados con el código de la muestra para así realizar el análisis posterior (antocianinas, sólidos totales y color respectivamente). Todos los extractos se guardaron en un ultracongelador (-48 °C) para su posterior análisis.

2.5.3 Selección de parámetros y diseño experimental

- ***Extracción de antocianinas por método convencional***

En esa fase se evaluó la influencia del tiempo de agitación en el proceso de extracción sólido-líquido de antocianinas en mora de Castilla. Evaluando los siguientes tiempos para la extracción:

Tabla 2-3. Evaluación de las variables de tiempo y agitación para extracción convencional.

Variables independientes	Niveles		Variables dependientes
Tiempo	T1	8 h	Antocianinas monoméricas, Color, Sólidos totales, Rendimiento.
	T2	18 h	
	T3	24 h	
	T4	32 h	

Cada uno de los tratamientos se realizó por triplicado.

- ***Extracción de antocianinas asistida por Ultrasonido (UAE)***

Para seleccionar las condiciones de extracción, se realizaron unos ensayos preliminares con el fin de determinar los rangos de estudio adecuados para cada una de las variables. Primero se evaluó con varias temperaturas para el baño termostadado con el fin de controlar la temperatura del sistema, buscando impedir que superará los 50 °C y así evitar la degradación de antocianinas. Para este factor se tuvo en cuenta la energía consumida y se observó que 15 °C era una temperatura adecuada para la refrigeración del sistema.

Luego se fijaron los factores de amplitud al 80 % y la relación 1:30 g fruta/ g solvente, con un volumen de mezcla de extracción de 100 mL, y se variaron los tiempos de extracción para calcular el contenido de antocianinas como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 2-4. Ensayos para selección de variables en la extracción asistida por UAE.

Tiempo (min)	Preliminar	Temperatura del baño de refrigeración (°C)	Temperatura Final (°C)	Potencia (W)	Concentración de antocianinas (mg cyn-3-glu/ 100 g fruta)
10	Prueba 1	15	43	61,04	70,31343742
20	Prueba 2		48	62,19	65,29263941
30	Prueba 3		43	64,23	56,83187113

En la que se puede evidenciar que la mejor condición para la extracción de antocianinas y con un menor gasto energético, fue con un tiempo de 10 minutos de extracción asistida por ultrasonido.

En la extracción se determino; el tiempo, la relación y la amplitud son las variables adecuadas para la optimización del proceso de extracción. Así el esquema del diseño experimental para extracción asistida con ultrasonido se realizó por medio de un sistema de diseño de superficie de respuesta: Box behnken con el fin de relacionar todas las variables y encontrar un punto óptimo reduciendo el número total de experimentos.

Tabla 2-5. Diseño experimental para la selección de variables en la extracción UAE.

Variables independientes	Niveles	Variables dependientes	Número de repeticiones
Tiempo	t1, t2 ,t3	Antocianinas monoméricas, Color, Sólidos totales, Rendimiento, Eficiencia.	3
Amplitud	A1,A2 ,A3		
Relación	R1, R2, R3		

Para el ultrasonido los valores de los tiempos según los ensayos preliminares fueron óptimos a los 10 minutos de extracción, con una amplitud del 80%, así que los tiempos que se tendrán en cuenta para el diseño son t1= 5min t2=10 min t3= 15min, la amplitud se variará A1=70%, A2=80% y A3=90% y la relación R1= 1:10, R2= 1:20 y R3= 1:30 g fruta/g solvente. Las variables de respuesta de análisis serán las que se encuentran ubicadas en variables dependientes en el recuadro anterior.

Diseño experimental para la extracción asistida por ultrasonido (UAE)

Se utilizó la metodología de superficie de respuesta (RSM) como herramienta para optimizar el proceso de extracción bajo los efectos de la relación fruta-solvente, amplitud y tiempo, usando un diseño compuesto central con 3 niveles (máximo, central, mínimo), de tres factores independientes dando como resultados un diseño tipo Box-Benkhen con quince 1 tratamientos como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 2-6. Diseño experimental tipo Box-Benkhen para la extracción UAE.

Tratamiento	Amplitud %	Tiempo (min)	Relación (g fruta/g solvente)
1	90	15	2:10
2	80	15	3:10
3	90	5	2:10
4	80	10	2:10
5	80	5	3:10
6	80	15	1:10
7	70	15	2:10
8	70	10	1:10
9	90	10	1:10
10	80	5	1:10
11	80	10	2:10
12	80	10	2:10
13	90	10	3:10
14	70	10	3:10
15	70	5	2:10

- ***Extracción de antocianinas asistida por Microondas (MAE)***

Para seleccionar las condiciones, se realizaron unos ensayos preliminares con el fin de determinar los rangos de estudio adecuados para cada una de las variables. Se tomó como base un volumen de 70 mL y una relación de 1:30 g fruta/g solvente, se variaron los tiempos de extracción y la potencia, y así calcular el contenido de antocianinas como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 2-7. Ensayos para la selección de las variables en la extracción MAE.

Microondas	Potencia (W)	Tiempo (min)	Temperatura Final (°C)	Concentración de Antocianinas (mg cyn-3-glu/ 100 g fruta)
Prueba 1	500	1	65	31,394
Prueba 2	400	1	51	25,299
Prueba 3	300	1 1/2	57	31,060
Prueba 4	300	2	77	35,652
Prueba 5	300	2	72	40,328
Prueba 6	Variable	15	45	29,056

Se observa una potencia y un tiempo razonable para el uso del equipo es de 300 W y 60 segundos, puesto que se puede ver en la pruebas realizadas que si se aumenta mucho el tiempo y la potencia la temperatura alcanza niveles altos superiores al punto crítico para las antocianinas (50 °C), que ocasionan su degradación.

En la extracción asistida por microondas las variables más representativas son el tiempo, la relación y la potencia para la optimización del proceso de extracción. Así el esquema del diseño experimental para extracción asistida por microondas se realizó por medio de un sistema de diseño de superficie de respuesta: Box-behnken con el cual se pudo relacionar todas las variables y encontrar un punto óptimo reduciendo el número de tratamiento a realizar.

Tabla 2-8. Diseño experimental para selección de variables de la extracción MAE

Variables independientes	Niveles	Variables dependientes	Numero de repeticiones
Tiempo	t1, t2 ,t3	Eficiencia, pH, Acidez, Color, Antocianinas Totales, Brix°.	3
Potencia	P1,P2 ,P3		
Relación	R1, R2, R3		

Para el microondas los valores de los tiempos según los ensayos preliminares fueron óptimos con una potencia de 300 W y a un tiempo razonable de 60 segundos, así que los tiempos que se tendrán en cuenta son t1= 30 seg t2=60 seg t3= 90 seg, la potencia se

variará de P1=200 W, P2=300 W y P3=400 W y la relación R1=0.1, R2=0.2 y R3=0.3 g. Las variables de respuesta de análisis serán las que se encuentran ubicadas en variables dependientes en el recuadro anterior.

Diseño experimental para la extracción asistida por microondas (MAE)

Se utilizó la metodología de superficie de respuesta (RSM) como herramienta para optimizar el proceso de extracción bajo los efectos de la relación fruta/solvente, potencia y tiempo, usando un diseño compuesto central con tres niveles (máximo, central, mínimo) de tres factores independientes dando como resultados un diseño con quince tratamientos como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 2-9. Diseño experimental para la optimización de la extracción MAE.

Tratamiento	Potencia (W)	Tiempo (seg)	Relación (g fruta/g solvente)
1	400	90	2:10
2	300	60	2:10
3	400	30	2:10
4	400	60	1:10
5	300	60	2:10
6	300	90	1:10
7	300	60	2:10
8	300	30	3:10
9	300	90	3:10
10	200	60	3:10
11	200	60	1:10
12	200	30	2:10
13	200	90	2:10
14	300	30	1:10
15	400	60	3:10

- ***Análisis de resultados***

Con el fin de obtener resultados adecuados y asegurar la reproducibilidad y estabilidad se replicó tres veces cada uno de los tratamientos dando como resultados tres bloques de experimentos para cada tratamiento. Las superficies de respuesta fueron realizadas por medio del software Statgraphics® Centurion XVI. Se realizó también una prueba ANOVA $p < 0,05$ para el tratamiento estadístico y para encontrar diferencias significativas.

2.6 Resultados y discusión de resultados

2.6.1 Extracción de antocianinas por método convencional

Con el fin de comparar se tomaron los mejores parámetros obtenidos a partir de la optimización de la extracción asistida con ultrasonido y asistida con microondas, para dejarlos como variables fijas, así como lo hicieron (Sabino et al., 2021; Zhu et al., 2017), por ejemplo la mejor relación 1:30 g fruta/g etanol. Se realizó la extracción a temperatura ambiente, y se varió el tiempo de agitación como se muestran en la siguiente tabla para la extracción convencional. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 2-10. Concentración de antocianinas totales y color en la extracción convencional

Tratamiento (h)	Rendimiento antocianinas monoméricas (mg cyn-3-glu/L extracto)	Rendimiento (mg cyn-3-glu/100g fruta fresca)	Antocianinas materia seca extracto (mg cyn-3-glu/g materia seca)	C^*_{ab} (Parámetro croma)
8	179,40 ± 4,47 a	93,18 ± 2,40 a	10,03 ± 0,08 a	64,42 ± 1,24 a
18	178,05 ± 10,65 a	92,92 ± 5,58 a	10,32 ± 0,46 a	65,26 ± 0,67 a
24	180,30 ± 2,25 a	93,88 ± 1,13 a	9,91 ± 0,26 a	64,80 ± 1,55 a
30	176,98 ± 9,47 a	92,38 ± 4,68 a	9,77 ± 0,68 a	64,39 ± 0,40 a

M ± DS = Promedio ± Desviación estándar; Las letras representan las diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos; donde se realizó t-student suponiendo varianzas iguales $P < 0,05$.

Los resultados encontrados muestran un contenido mucho mayor de antocianinas monoméricas en mora de Castilla de 93,18 mg cyn-3-glu/100g fruta con respecto al contenido encontrado por otros autores como (Bernal et al., 2014) de 25,6 mg cyn-3-glu/100 g fruta, o (Garzón et al., 2009) de 40,1 mg cyn-3-glu/100 g fruta, esto a que el contenido de antocianinas monoméricas de dichos autores fue calculado en el punto óptimo de maduración del fruto, mientras que este proceso de extracción convencional se llevó a cabo durante la senescencia del fruto, que como se señalo en el capítulo anterior, el contenido de antocianinas puede llegar a aumentar en un 92% después de la madurez óptima con respecto al punto de madurez comercial NTC 4106. Sin embargo el contenido de antocianinas encontrado por (Villacrez, 2013) fue mayor en la medida que este valor dio alrededor de 78 mg cyn-3-glu/100g fruta, esto podría deberse a la variabilidad de la

especie y el lugar y forma del cultivo desde donde fue seleccionada el fruto (Grijalba et al., 2010; Stella & Meneses, 2009; Zapata et al., 2014), aun cuando el contenido de antocianinas en la senescencia fue un 22% mayor, dejando entrever el aumento que pueden presentar estas moléculas cuando su matriz se convierte en un desperdicio.

Por otro lado no se encontraron diferencias significativas $p<0,05$ con respecto al rendimiento de antocianinas monoméricas totales, esto debido a que después de las 8 horas se llegó a un punto de saturación de solvente y de equilibrio en la concentración, además la única variable evaluada fue el tiempo de agitación, por lo tanto no hubo un aumento significativo en la temperatura que pudiera degradar las antocianinas presentes en los extractos (Celli et al., 2015; Q. Chen et al., 2012; He et al., 2016; Oancea et al., 2013).

En el análisis estadístico realizado no se encontraron diferencias significativas para cada una de las variables respuesta correspondiente a antocianinas monoméricas totales, al rendimiento, la concentración de antocianinas en la materia seca del extracto y la saturación. Por tal razón, el tiempo de agitación no tiene un efecto significativo en la extracción de antocianinas monoméricas totales, considerando que un tiempo mínimo de 8 horas es suficiente para obtener un rendimiento aceptable en la extracción, además no es necesario un gasto energético superior al requerido después de 8 horas.

2.6.2 Extracción de antocianinas asistida por Ultrasonido (UAE)

Los resultados encontrado en siguiente tabla muestran un contenido mucho mayor de antocianinas monoméricas de 95 mg cyn-3-glu con respecto al valor que reportaron diferentes autores como (Bernal et al., 2014; Garzón et al., 2009; Santacruz et al., 2012), esto se debe a que el contenido de antocianinas aumenta con respecto a la senescencia del fruto cuando este deja de ser un producto de consumo comercial y pasa a considerarse como una pérdida o desperdicio (DNP, 2016). Sin embargo estos resultados son comparables con el contenido de antocianinas en otros frutos tipo vaya de diferentes especies como la mora Bestrna de (Ivanovic et al., 2014) cuyo contenido de antocianinas fue de 107,81 mg cyn-3-glu/100g fruta y la mora Cascanska de (Oancea et al., 2013) cuyo contenido fue de 102 mg cyn-3-glu/100 g fruta. Teniendo en cuenta que estas fueron extraídas y cuantificadas en su punto de madurez comercial.

Tabla 2-11. Concentración de antocianinas, rendimiento y eficiencia en la extracción UAE

Tratamiento	Amplitud %	Tiempo (min)	Relación (g fruta/g solvente)	Rendimiento antocianinas Monoméricas (mg cyn-3-glu/L extracto)	Rendimiento (mg cyn-3-glu/100g fruta fresca)	Antocianinas materia seca extracto (mg cyn-3-glu/g materia seca)	C^*_{ab} (Parámetro croma o saturación)	Eficiencia ṅ0 (%)
6	80	15	1:10	74,17 ± 0,70 a	99,12 ± 4,54 b	8,76 ± 0,09 a	56,15 ± 1,65 a	106,37
8	70	10	1:10	69,86 ± 1,83 a	93,69 ± 1,98 a	9,68 ± 1,04 a	55,68 ± 2,38 a	100,55

9	90	10	1:10	67,77 ± 2,37 a	93,06 ± 4,34 a	9,44 ± 0,99 a	52,95 ± 2,51 a	99,86
10	80	5	1:10	73,29 ± 5,91 a	98,21 ± 9,35 b	8,22 ± 1,13 a	56,18 ± 1,14 a	105,39
1	90	15	2:10	131,18 ± 4,51 b	96,16 ± 4,28 b	8,31 ± 0,29 a	66,46 ± 6,00 b	103,19
3	90	5	2:10	127,00 ± 1,70 b	94,04 ± 0,69 a	8,55 ± 1,13 a	67,08 ± 4,30 b	100,92
4	80	10	2:10	128,30 ± 1,83 b	94,36 ± 2,50 a	8,92 ± 0,51 a	67,53 ± 3,00 b	101,26
7	70	15	2:10	127,28 ± 3,54 b	93,01 ± 2,09 a	8,60 ± 0,89 a	66,79 ± 3,00 b	99,81
11	80	10	2:10	131,18 ± 4,63 b	95,24 ± 3,83 b	9,06 ± 0,28 a	66,97 ± 1,01 b	102,20
12	80	10	2:10	124,59 ± 8,27 b	92,29 ± 6,51 a	8,71 ± 1,05 a	66,91 ± 3,58 b	99,04
15	70	5	2:10	114,76 ± 8,71 b	85,21 ± 2,59 c	8,13 ± 1,09 a	66,19 ± 3,89 b	91,45
2	80	15	3:10	186,29 ± 6,91 c	97,39 ± 2,64 b	9,49 ± 0,68 a	69,53 ± 2,21 c	104,51
5	80	5	3:10	183,87 ± 4,44 c	93,70 ± 2,57 a	9,13 ± 0,27 a	70,97 ± 1,81 c	100,56
13	90	10	3:10	194,45 ± 2,84 c	98,26 ± 1,89 b	9,50 ± 0,12 a	70,88 ± 1,52 c	105,44
14	70	10	3:10	179,79 ± 5,56 c	92,28 ± 0,73 a	9,80 ± 0,62 a	69,77 ± 2,26 c	99,03

M ± DS = Promedio ± Desviación estándar; Las letras representan las diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos; donde se realizó t-student suponiendo varianzas iguales $P < 0,05$.

En la tabla 2-11 se puede observar el contenido de antocianinas por litro de extracto aumenta a medida que aumenta la relación fruta/solvente, se debe al mayor contenido de fruta en relación con el solvente utilizado, que se ve reflejado en el contenido de antocianinas en materia seca en el extracto y en el parámetro de saturación que son mayores con una relación 1:30. El alto contenido de antocianinas se genera por la selectividad que puede generar la acidificación del solvente, es esencial para la estabilización de las antocianinas en forma de catión flavilio, sin embargo se debe tener cuidado puesto que el exceso puede producir una hidrólisis parcial en los puentes o enlaces glicosídicos, provocando una ruptura y generando degradación en el pigmento (Oancea et al., 2013). Mostrando como tal que el contenido de antocianinas por litro de extracto es directamente proporcional a la relación fruta/solvente, puesto que a mayor relación 1:30 g fruta/g solvente, aumenta el contenido de antocianinas por litro de extracto, esto es por que el solvente todavía puede seguir arrastrando más antocianinas desde las paredes de las células sin llegar precisamente a un punto de saturación o equilibrio en el extracto (Celli et al., 2015; Mane et al., 2015). Esta tendencia directamente proporcional también seda por el aumento de la amplitud por volumen de solvente logra facilitar la ruptura de las paredes de las células y las vacuolas, aumentando la liberación de antocianinas al espacio extracelular (Sabino et al., 2021).

Por otro lado Las antocianinas se encuentran principalmente en las capas de células epidérmicas de los frutos durante la maduración, se sugiere que los intermedios de la biosíntesis de antocianinas se producen en el citosol, se transportan al tonoplasto para completarse y acumularse en las vacuolas (Wang et al., 2016). El ultrasonido altera las paredes celulares, mejorando el transporte masivo, por la cavitación que crean vacíos en el medio durante ciclos de compresión y rarefacción, que puede exceder la distancia molecular critica del líquido, como consecuencia la compresión de estas burbujas libera energía, aumentando la temperatura y la presión localmente, esta combinación genera turbulencias y puntos críticos donde las reacciones químicas y físicas aumentan

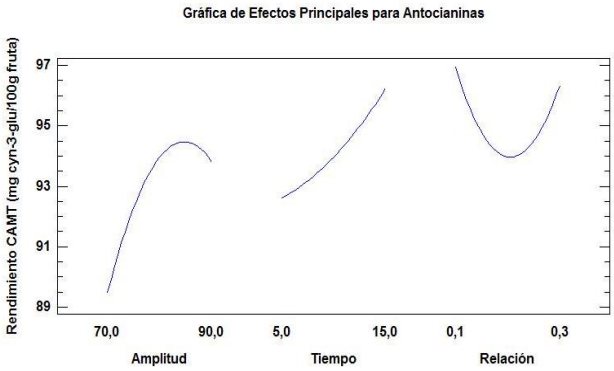
drásticamente, incluida la ruptura de la pared celular, como consecuencia las propiedades de las células vegetales se verán alteradas favoreciendo la extracción de bioactivos (Golmohamadi et al., 2013; He et al., 2016). Es bastante común encontrar antocianinas débilmente asociadas a otros metabolitos, como compuestos fenólicos, en un proceso denominado co-pigmentación intermolecular. Es una característica única de las antocianinas que sirve para proteger la estructura de los ataques nucleofílico y en consecuencia estabilizar el color, si este fuera el caso la extracción de antocianinas eventualmente conduciría a la recuperación de compuestos fenólicos durante la senescencia del fruto.

Optimización de los parámetros de procesamiento en función: del rendimiento (Concentración de antocianinas monoméricas por 100 g de fruta fresca), de la Saturación C* y concentración de antocianinas monoméricas por materia seca en el extracto UAE.

$$\text{CATM} = -55{,}8127 + 3{,}88246 * \text{Amplitud} + 1{,}98971 * \text{Tiempo} + 267{,}9 * \text{Relación}\text{^}2 \quad R^2 = 0{,}79$$

$$\text{Saturación C} *= 27{,}8373 + 180{,}079 * Relación + 0{,}961995 * Amplitud * Relación - 436{,}903 * Relación^2 \quad R^2 = 0{,}95$$

$$\text{CATM} - \text{MSE} *= 11{,}7984 - 19{,}9126 * \text{Relación} - 0{,}0240933 * \text{Tiempo}\text{^}2 + 60{,}7983 * \text{Relación}\text{^}2 \quad R^2 = 0{,}60$$



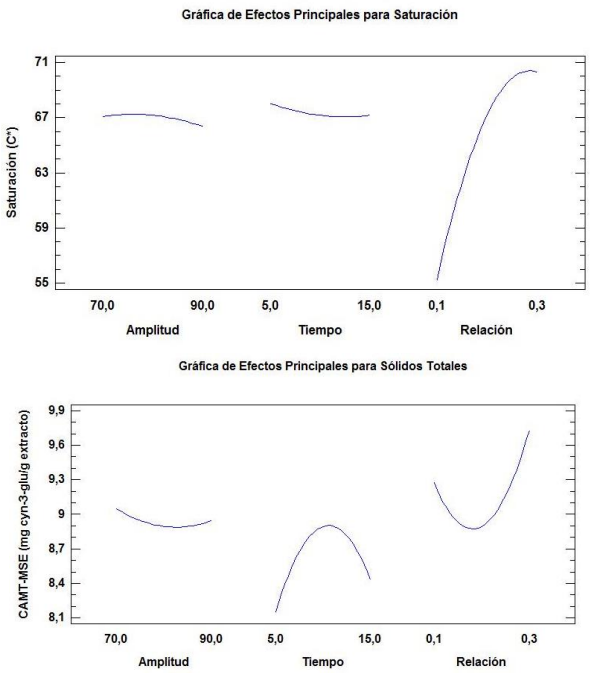


Figura 2-7. Optimización y gráfica de efectos principales para el rendimiento AMT, Saturación y CAMT-MSE.

En los resultados obtenidos, el factor amplitud es el parámetro que tiene menos efecto sobre la extracción de compuestos bioactivos en la mora de Castilla. Se realizó un análisis multilineal de la superficie de respuesta para optimizar las condiciones de rendimiento CAMT (mg cyn-3-glu) y la CAMT-MSE para alcanzar valores máximos de antocianinas monoméricas totales. Los resultados obtenidos mostraron que una concentración de antocianinas monoméricas de 101,64 mg-cyn-3-glu/100 g de fruta a una amplitud de 90% (89,97%), de 10 min (9,94 min) y a una relación fruta/solvente de 0,3 g/g con una deseabilidad global de 74,54. Los valores de respuesta previstos bajo esta optimización fueron de 97,82 mg cyn-3-glu /100 g de fruta fresca, saturación de 70,45 y concentración de antocianinas monoméricas totales en materia seca del extracto de 9,77 g cyn-3-glu/ g materia seca del extracto. Por tanto, la adición de un pigmento natural enriquecido de antocianinas a una bebida láctea, considerada como modelo, podría llegar a incrementar el contenido bioactivo del producto.

2.6.3 Extracción de antocianinas asistida por Microondas (MAE)

Los resultados encontrado en la siguiente tabla muestran un contenido mucho mayor de antocianinas monoméricas de alrededor de 85 mg cyn-3-glu con respecto al valor que reportaron diferentes autores como (Bernal et al., 2014; Garzón et al., 2009; Santacruz et al., 2012), que pueden deberse como caso análogo al ultrasonido, puesto que el contenido de antocianinas aumenta con respecto a la senescencia del fruto cuando este deja de ser un producto de consumo comercial y pasa a considerarse como una pérdida o desperdicio. Estos resultados son mayores con respecto al contenido de antocianinas en otros frutos

tipo vaya como uva de 43,77 mg cyn-3-glu/100 g fruta en (Y. Li et al., 2012a), y mucho menores con respecto a la mora y grosella negra de (X. Li et al., 2016; Wen et al., 2015) cuyo contenido de antocianinas fue de 173,94 mg cyn-3-glu/100 g fruta y 218,06 mg cyn-3-glu/100 g fruta respectivamente. Mostrándose de manera similar al ultrasonido un efecto significativo p<0,05 con respecto a la relación fruta/solvente.

Tabla 2-12. Concentración de antocianinas, rendimiento, color y la eficiencia en la extracción MAE.

T	Potencia (W)	Tiempo (seg)	Relación (g fruta/g solvente)	Antocianinas Monoméricas (mg cyn-3-glu/L extracto)	Rendimiento (mg cyn-3-glu/100g fruta fresca)	Antocianinas materia seca extracto (mg cyn-3-glu/g materia seca)	C^*_{ab} (Parámetro croma o saturación)	Eficiencia ṅ0 (%)
4	400	60	1:10	68,60 ± 1,25a	88,90 ± 3,08a	7,16 ± 0,44a	50,53 ± 2,41a	95,40
6	300	90	1:10	50,51 ± 5,15a	66,02 ± 5,98c	5,98 ± 0,58c	45,65 ± 2,12a	70,85
11	200	60	1:10	61,41 ± 3,84a	79,73 ± 5,46b	6,65 ± 0,17b	47,34 ± 1,47a	85,56
14	300	30	1:10	63,27 ± 3,36a	85,05 ± 6,03a	6,32 ± 0,27bc	48,65 ± 7,64a	91,27
1	400	90	2:10	107,99 ± 0,28b	79,41 ± 5,46b	5,62 ± 0,80c	59,61 ± 1,25b	85,21
2	300	60	2:10	107,29 ± 8,21b	78,63 ± 1,88b	6,49 ± 0,60b	61,63 ± 2,42b	84,38
3	400	30	2:10	100,29 ± 6,55b	72,44 ± 6,89c	7,28 ±0,62a	61,86 ± 4,47b	77,74
5	300	60	2:10	126,35 ± 2,23b	90,64 ± 3,58a	6,13 ±0,10bc	65,28 ± 2,07b	97,26
7	300	60	2:10	107,01 ± 11,55b	77,02 ± 3,18b	6,15 ± 0,90bc	59,75 ± 3,32b	82,65
12	200	30	2:10	99,50 ± 4,59b	72,30 ± 8,98c	5,37 ± 1,05c	62,57 ± 1,45b	77,59
13	200	90	2:10	104,28 ± 4,86b	76,86 ± 3,4b	7,11 ± 0,60a	62,38 ± 3,07b	82,48
8	300	30	3:10	161,79 ± 4,71c	83,58 ± 1,47a	6,47 ± 0,25bc	68,84 ±2,41c	89,70
9	300	90	3:10	170,05 ± 7,02c	86,57 ± 3,00a	6,81 ± 0,47ab	69,73 ±1,47c	92,90
10	200	60	3:10	155,86 ± 3,62c	78,98 ± 7,18b	6,23 ± 1,23bc	69,62 ± 2,41c	84,75
15	400	60	3:10	169,40 ± 10,32c	87,08 ± 4,71a	6,62 ± 1,12b	69,01 ± 1,47c	93,45

M ± DS = Promedio ± Desviación estándar; Las letras representan las diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos; donde se realizó t-student suponiendo varianzas iguales P < 0,05.

La amplitud y la potencia señalaron que un mayor nivel de energía no trae ningún beneficio adicional, puesto que una vez aplicada la energía necesaria para la ruptura de las paredes celulares ya no se va ver un aumento significativo en el rendimiento de extracción de antocianinas con respecto a la cantidad de fruta utilizada para la extracción y con respecto al tiempo. Se encontró que tiempos medios de extracción son suficientes puesto que tiempos mayores a los 60 seg de calentamiento los glicósidos de cianidina se degradan a ácido 2,4-dihidroxibenzoico (Y. Li et al., 2012a) generando pérdidas en el contenido de antocianinas. Los resultados anteriores podrían deberse al hecho que los tratamientos con la mayor relación sólido/Líquido tienen una alta concentración de antocianinas del residuo de mora de Castilla. A mayor cantidad de fruta la velocidad de extracción o la tasa de extracción fue directamente proporcional, por lo que la energía requerida para lograr el

máximo rendimiento es suficiente para extraer las antocianinas evitando su degradación por altas temperaturas, por eso se puede considerar que el contenido de antocianinas mg-3-glu/ L extracto aumenta proporcionalmente con dicha relación.

La relación sólido/líquido probó ser una variable destacada en la obtención de una alta eficiencia de extracción de las antocianinas durante MAE. El rendimiento de extracción aumento rápidamente con un aumento de la potencia de microondas de 20 a 400 W, también creciendo con el aumento del tiempo hasta los 60 segundos, en los que después se evidenció una degradación de los pigmentos en el extracto con respecto al contenido de antocianinas monoméricas. Por lo tanto, este hallazgo corrobora informes previos de que con respecto al contenido de antocianinas, la técnica de microondas muestra superioridad en mejorar la eficiencia, acortar el tiempo de extracción y reducir el consumo de solventes con respecto a una extracción convencional (X. Li et al., 2016; Wen et al., 2015).

Se logró evidenciar también que la acidificación del solvente lo hace muy selectivo a la hora de extraer el contenido de antocianinas en matrices altamente polares, ya que el proceso de irradicación de microondas puede desactivar varias enzimas endógenas como la GCD y la PPO, que de otro modo podrían causar menores rendimientos (Flores, 2017; X. Li et al., 2016), además puede hacer que los iones polares se muevan en la solución y luego calentarla ya que hay mucho más H* en la solución de pH bajo, por lo tanto, la solución de pH bajo tiene una temperatura más alta que la solución de pH alto, es decir, la tasa de aumento de temperatura de la solución de pH bajo es mayor. Esta observación se atribuyó al hecho de que aumentar el tiempo de extracción beneficiará al rendimiento de extracción de antocianinas(Y. Li et al., 2012b); sin embargo, un tiempo de extracción demasiado alto y prolongado inducirán la degradación de los antocianinas.

Optimización de los parámetros de procesamiento en función: del rendimiento (Concentración de antocianinas monoméricas por 100 g de fruta fresca), de la Saturación C* y concentración de antocianinas monoméricas por materia seca en el extracto MAE.

$$\text{CATM} = 72{,}8176 + 0{,}234603 * \text{Tiempo} - 0{,}0056706 * \text{Tiempo}\text{^}2 + 1{,}83499 * \text{Tiempo} * \text{Relación} \quad R^2 = 0{,}41$$

$$\text{Saturación C} *= 22{,}9636 + 0{,}0648109 * Tiempo + 245{,}148 * Relación - 323{,}136 * Relación\text{^}2 \quad R^2 = 0{,}84$$

$$\text{CATM} - \text{MSE} = 3{,}27881 - 0{,}000283514 * \text{Potencia} * \text{Tiempo} \quad R^2 = 0{,}51$$

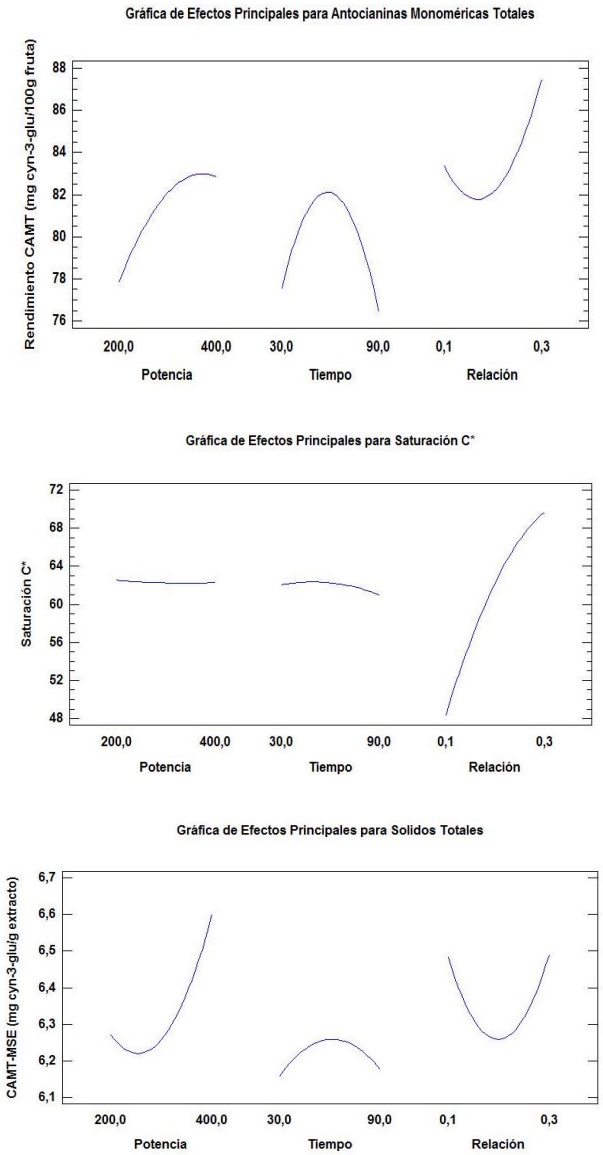


Figura 2-8. Optimización y gráfica de efectos principales para la tasa de extracción antocianinas por 100 g fruta fresca.

En los resultados obtenidos, el factor de potencia y relación fueron los parámetros que tuvieron mayor efecto sobre la extracción de compuestos bioactivos en la mora de Castilla. Se realizó un análisis multilineal de la superficie la respuesta en función de las gráficas de efectos principales para optimizar las condiciones de rendimiento CAMT (mg cyn-3-glu), la saturación y la CAMT-MSE para alcanzar valores máximos de antocianinas monoméricas totales. Los resultados obtenidos mostraron que una concentración de antocianinas monoméricas de 89,62 mg-cyn-3-glu/100 g de fruta a una potencia de 400 W, tiempo de 53 seg y a una relación fruta/solvente de 0,3 g/g con una deseabilidad global de 79,58. Los valores de respuesta previstos bajo esta optimización fueron de 86,42 mg cyn-3-glu /100 g de fruta, saturación de 68,69 y concentración de antocianinas monoméricas

totales en materia seca del extracto de 6,94 g cyn-3-glu/ g materia seca del extracto. Por tanto, la adición de un pigmento natural enriquecido de antocianinas a una bebida láctea, considerada como modelo, podría llegar a incrementar el contenido bioactivo del producto.

2.7 Conclusiones parciales

El contenido de antocianinas encontrado en el punto de condiciones óptimas evaluadas para la extracción convencional, la extracción asistida por ultrasonido y microondas fue 93,18 mg cyn-3-glu/100g fruta, 97,82 mg cyn-3-glu /100 g de fruta y 86,42 mg cyn-3-glu /100 g de fruta respectivamente, lo que permite ver que en el ultrasonido se obtuvieron eficiencias superiores al 100 % mientras que en el microondas se obtuvieron eficiencias cercanas al 90 %, mostrando así que ambos métodos de extracción asistida son capaces de extraer el mayor contenido de antocianinas, dando buenos rendimientos con cortos tiempo de extracción de 53 seg para el microondas y de 10 minutos para el ultrasonido en comparación de las 8 horas requeridas en el método convencional. Eligiéndose el ultrasonido como el método más adecuado para la extracción de compuestos antociánicos en mora de Castilla residual.

La relación fruta/solvente mostró ser un factor crucial que influye en las variables analizadas, puesto que a una mayor relación 3:10 g fruta/ g solvente se obtuvieron los mayores contenidos de antocianinas por litro de extracto, saturación y concentración de antocianinas en materia seca del extracto, dando como resultados valores de AMT: 97,82 mg cyn-3-glu /100 g de fruta , saturación: 70,45 y CAM-MSE: 9,77 g cyn-3-glu/ g MSE para el ultrasonido y AMT: 86,42 mg cyn-3-glu /100 g de fruta, saturación: 68,69 y CAM-MSE: 6,94 g cyn-3-glu/ g MSE. Además cabe resaltar que esta relación muestra una mayor cantidad usada de materia prima considerada biomasa residual mientras que por otro lado se está utilizando una menor cantidad de solvente lo que puede llegar a minimizar costos de operación, además de facilitar la separación y concentración en etapas posteriores del extracto para su posterior aplicación.

2.8 Bibliografía

Acosta-Montoya, Ó., Vaillant, F., Cozzano, S., Mertz, C., Pérez, A. M., & Castro, M. V. (2010). Phenolic content and antioxidant capacity of tropical highland blackberry (Rubus adenotrichus Schltdl.) during three edible maturity stages. *Food Chemistry*, *119*(4), 1497–1501. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.032

Aguilera, M., DelCarmen, M., Reza-Vargas, C., Gerardo, R., Madinaveitia, C., Valenzuela, J. A., & Baca, P. R. (2012). Antocianinas de higo como colorantes para yogur natural. *Bio Revista Tecnia*. Retrieved from www.biotecnia.uson.mx

Albuquerque, B. R., Pinela, J., Barros, L., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2020). Anthocyanin-rich extract of jabuticaba epicarp as a natural colorant: Optimization of heat- and ultrasound-assisted extractions and application in a bakery product. *Food Chemistry*, *316*, 126364. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126364

Ayala, L., & Valenzuela, C. (2013). Caracterización fisicoquímica de mora de castilla (rubus glaucus benth) en seis estados de madurez. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, *11*(2), 10–18. Retrieved from http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n2/v11n2a02.pdf

Bernal, L., & Diaz, C. (2012). *Evaluación de las Propiedades Bioactivas de Mora (Rubus glaucus) y Agraz (Vaccinium meridionale Swartz), en Fresco y Durante Procesos de Transformación*. Nacional de

Colombia. Retrieved from http://www.bdigital.unal.edu.co/8376/1/17208.2012.pdf

Bernal, L., Melo, L., & Díaz, C. (2014). Evaluation of the Antioxidant Properties and Aromatic Profile During Maturation of The Blackberry (Rubus glaucus Benth) and The Bilberry (Vaccinium meridionale Swartz). *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, *67*(1), 7209–7218. https://doi.org/10.15446/rfnam.v67n1.42649

Celli, G. B., Ghanem, A., & Brooks, M. S. L. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from haskap berries (Lonicera caerulea L.) using Response Surface Methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, *27*, 449–455. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.06.014

Chen, M., Zhao, Y., & Yu, S. (2015). Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses. *Food Chemistry*, *172*, 543–550. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.110

Chen, Q., Yu, H., Tang, H., & Wang, X. (2012). Identification and expression analysis of genes involved in anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in the fruit of blackberry. *Scientia Horticulturae*, *141*, 61–68. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.04.025

Dai, J., Gupte, A., & Mumper, R. . (2009). A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: Extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*, *47*(4), 837–847. https://doi.org/10.1016/J.FCT.2009.01.016

Dane, & Antioaquia, G. de. (2013). *El cultivo de la mora de Castilla (Rubus glucus Benth) frutal de clima frío moderado, con propiedades curativas para la salud humana*. Colombia. Retrieved from https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/insumos_factores_de_produccion_nov_2013.pdf

Dávila, J. (2016). *Residuos de mora y aguacate con potencial para la industria farmacéutica - UNIMEDIOS: Universidad Nacional de Colombia*. Manizales. Retrieved from http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle/article/residuos-de-mora-y-aguacate-con-potencial-para-la-industria-farmaceutica.html

DNP. Estudio de perdida y Desperdicio de alimentos en Colombia (2016). Retrieved from https://colaboracion.dnp.gov.co/CDT/Prensa/Presentaciones/Perdidas y Desperdicios de alimentos en Colombia.pdf

Elisia, I., Hu, C., Popovich, D. G., & Kitts, D. D. (2006). Antioxidant assessment of an anthocyanin-enriched blackberry extract. *Food Chemistry*, *101*(3), 1052–1058. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.060

Escobar, C. (2015). *Cadenas Productivas*.

Espada-Bellido, E., Ferreiro-González, M., Carrera, C., Palma, M., Barroso, C. G., & Barbero, G. F. (2017). Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (Morus nigra) pulp. *Food Chemistry*, *219*, 23–32. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.122

FAO, & OMS. (2017). Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios (GSFA) Base de Datos en Línea. Retrieved October 8, 2017, from http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/gsfa/en/

Figueroa Martínez, P. M., Hurtado Benavides, A. M., & Ceballos Ortíz, M. A. (2016). Microencapsulación mediante secado por aspersión de aceite de mora (Rubus glaucus) extraido con CO2 supercrítico. *Revista Colombiana de Química*, *45*(2), 39. https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v45n2.57481

Flores, E. (2017). Extracción de Antioxidantes de las Bayas del Sauco (Sambucus nigra L. subsp. peruviana) con Ultrasonido, Microondas, Enzimas y Maceración para la Obtención de Zumos Funcionales. *Informacion Tecnologica*, *28*(1), 121–132. https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000100012

Freire, V., & Brito, B. (2012). *Alternativas de mejora en el manejo de poscosecha y comercialización de la mora de Castilla Proveniente de la provincia de Tungurahua*. Escuela Politécnica Nacional. Retrieved from http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/4609/1/CD-4242.pdf

Gancel, A. L., Feneuil, A., Acosta, O., Pérez, A. M., & Vaillant, F. (2011). Impact of industrial processing and storage on major polyphenols and the antioxidant capacity of tropical highland blackberry (Rubus adenotrichus). *Food Research International*, *44*(7), 2243–2251. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.06.013

García, A., & López, A. (2012). Biopolimeros utilizados en la encapsulación. *Temas Selectos de Ingenieria En Alimentos*. Retrieved from http://www.udlap.mx/

Garcia Chacón, J. (2017). Desarrollo de microencapsulados enriquecidos en carotenoides a partir de residuos de frutas tropicales para uso como colorantes naturales en alimentos. Tesis Maestría., 129. Retrieved from http://www.bdigital.unal.edu.co/57481/7/julianamariagarciachacon.2017.pdf

Garzón, G. A., Riedl, K. M., & Schwartz, S. J. (2009). Determination of Anthocyanins, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity in Andes Berry (Rubus glaucus Benth). *Journal of Food Science*, *74*(3), C227–C232. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01092.x

Gaviria, S., Mejia, F., Castro, M., Gómez, E., & Castro, F. (2016). *Pérdida y Desperdicio de alimentos en Colombia*. *Departamento Nacional de Planeación* (Vol. 39).

Golmohamadi, A., Möller, G., Powers, J., & Nindo, C. (2013). Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. *Ultrasonics Sonochemistry*, *20*(5), 1316–1323. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.01.020

Grijalba, C., Calderón, L., & Pérez, M. (2010). Rendimiento y calidad de la fruta en mora de castilla (rubus glaucus benth), con y sin espinas, cultivada en campo abierto en Cajicá. *ResearchGate*, 25–31. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Maria_Perez-Trujillo/publication/277264501_Rendimiento_y_calidad_de_la_fruta_en_mora_de_castilla_rubus_glaucus_benth_con_y_sin_espinas_cultivada_en_campo_abierto_en_Cajica_Cundinamarca_Colombia/links/55c8926408aeca747d

Guerrero, D., & Moreno, N. (2011). *Extracción y evaluación de un colorante natural a partir de la pepa de aguacate para el teñido de las fibras de algodón y poliéster*. Ténica de Ambato. Retrieved from http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/1757/1/SBQ 2 Ref.3396

Guevara, L. L. (2007). Microencapsulación de algunos compuestos bioactivos mediante secado por aspersión Microencapsulation of some bioactive compounds through spray drying, *5*.

He, B., Zhang, L. L., Yue, X. Y., Liang, J., Jiang, J., Gao, X. L., & Yue, P. X. (2016). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (Vaccinium ashei) wine pomace. *Food Chemistry*, *204*, 70–76. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.094

Ivanovic, J., Tadic, V., Dimitrijevic, S., Stamenic, M., Petrovic, S., & Zizovic, I. (2014). Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar "Čačanska Bestrna." *Industrial Crops and Products*, *53*, 274–281. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.048

Leiva, L., Arévalo, E., Díaz, A., Galindo, J., & Rivero, M. (2011). *Manejo fitosanitario del cultivo del mora (Rubus glaucus Benth) Medidas para la temporada invernal*. *Ica*. Bogotá D.C.

Li, X., Chen, F., Li, S., Jia, J., Gu, H., & Yang, L. (2016). An efficient homogenate-microwave-assisted extraction of flavonols and anthocyanins from blackcurrant marc: Optimization using combination of Plackett-Burman design and Box-Behnken design. *Industrial Crops and Products*, *94*, 834–847. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.063

Li, Y., Han, L., Ma, R., Xu, X., Zhao, C., Wang, Z., … Hu, X. (2012a). Effect of energy density and citric acid concentration on anthocyanins yield and solution temperature of grape peel in microwave-Assisted extraction process. *Journal of Food Engineering*, *109*(2), 274–280. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.021

Li, Y., Han, L., Ma, R., Xu, X., Zhao, C., Wang, Z., … Hu, X. (2012b). Effect of energy density and citric acid concentration on anthocyanins yield and solution temperature of grape peel in microwave-Assisted extraction process. *Journal of Food Engineering*, *109*(2), 274–280. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.021

Mane, S., Bremner, D. H., Tziboula-Clarke, A., & Lemos, M. A. (2015). Effect of ultrasound on the extraction of total anthocyanins from Purple Majesty potato. *Ultrasonics Sonochemistry*, *27*, 509–514. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.06.021

Mera, C., & Fernández, B. (2015). *Desarrollo de técnicas de extracción y análisis de antocianinas y compuestos fenólicos en Jaboticaba (Myrciaria Cauliflora)*. Universidad de Cadiz. Retrieved from http://rodin.uca.es/xmlui/bitstream/handle/10498/17722/TFG Celia Final.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Navas, M. J., Jiménez-moreno, A. M., Bueno, J. M., Sáez-plaza, P., Asuero, A. G., Mar, A., … Asuero, A. G. (2012). Critical Reviews in Analytical Chemistry Analysis and Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments . Part IV : Extraction of Anthocyanins Analysis and Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments . Part IV : Extraction of Anthocyanins, *8347*. https://doi.org/10.1080/10408347.2012.680343

Oancea, S., Grosu, C., Ketney, O., & Stoia, M. (2013). Conventional and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from blackberry and sweet cherry cultivars. *Acta Chimica Slovenica*, *60*(2), 383–389.

Osorio, C., Acevedo, B., Hillebrand, S., Carriazo, J., Winterhalter, P., & Morales, A. L. (2010). Microencapsulation by spray-drying of anthocyanin pigments from corozo (Bactris guineensis) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(11), 6977–6985. https://doi.org/10.1021/jf100536g

Otálora, M. C., Carriazo, J. G., Iturriaga, L., Osorio, C., & Nazareno, M. A. (2016). Encapsulating betalains from Opuntia ficus-indica fruits by ionic gelation: Pigment chemical stability during storage of beads. *Food Chemistry*, *202*, 373–382. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.115

Ötles, S. (2012). *Methods of analysis of food components and additives*. (Z. Sikorski, Ed.), *FOODnetBASE* (Second, Vol. 2). CRC Press Taylor & Francis Group.

Perkins-Veazie, P., Clark, J. R., Huber, D. J., & Baldwin, E. A. (2000). *Ripening Physiology in "Navaho" Thornless Blackberries: Color, Respiration, Ethylene Production, Softening, and Compositional Changes*. *J. AMER. SOC. HORT. SCI* (Vol. 125). Retrieved from http://journal.ashspublications.org/content/125/3/357.full.pdf

Pinela, J., Prieto, M. A., Pereira, E., Jabeur, I., Barreiro, M. F., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Optimization of heat- and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from Hibiscus sabdariffa calyces

for natural food colorants. *Food Chemistry*, *275*, 309–321. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.09.118

Prieto, G., & Acevedo, B. (2014). *Proceso de microencapsulación de colorantes naturales presentes en la fresa (Fragaria vesca). AVANCES Investigación en Ingeniería - No. 1 (2014) I*.

Puertas-Mejía, M. A., Ríos-Yepes, Y., & Alberto Rojano, C. B. (2013). Determinación de antocianinas mediante extracción asistida por radiación de microondas en frijol (Phaseolus vulgaris L.) de alto consumo en Antioquia-Colombia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, *18*(2), 288–297. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000200012

Revelo, D. (2014). Microencapsulación de tomate de árbol rojo (Solanum betaceum cav.) mediante spray drying para aplicación en productos lácteos. Retrieved from http://www.bdigital.unal.edu.co/46091/1/1113639059.2014.pdf

Rimac, S., Sabolović, M. B., Zlabur, J. Š., & Jelovecki, M. (2015). Colour stability and antioxidant activity of some berry extracts, *11*, 115–119.

Rodriguez Amaya, D. B. (2016). Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science*, *7*, 20–26. https://doi.org/10.1016/J.COFS.2015.08.004

Rodríguez, C., & Villegas, B. (2015). *Caracterización de los cultivos de mora de castilla (rubus glaucus benth) con espinas, en dos fincas del municipio de guática, risaralda.* Tecnoógica de Pereira. Retrieved from http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/6118/63438R696.pdf?sequence=1

Rojas, Z., Delgadillo, R., & Moreno, R. (2015). Extraction of antioxidants of blackberry (rubus fruticosus) residue using conventional and emerging technology. *Revistas y Boletines Científicos*, 1–14. Retrieved from https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/icsa/n7/p3.html

Rosero, G., Corral, A., Álvarez, C., Serna, L., & Ordoñez, L. (2013). Evaluación del color en yogur elaborado con extracto de residuos de uvas Isabella como colorante natural, 3. https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v34n1supl.57898

Sabino, L. B. de S., Filho, E. G. A., Fernandes, F. A. N., de Brito, E. S., & Júnior, I. J. da S. (2021). Optimization of pressurized liquid extraction and ultrasound methods for recovery of anthocyanins present in jambolan fruit (Syzygium cumini L.). *Food and Bioproducts Processing*, *127*, 77–89. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.02.012

Sanchez-Reinoso, Z., Osorio, C., & Herrera, A. (2017). Effect of microencapsulation by spray drying on cocoa aroma compounds and physicochemical characterisation of microencapsulates. *Powder Technology*, *318*, 110–119. https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.05.040

Santacruz, L., Carriazo, J. G., Almanza, O., & Osorio, C. (2012). Anthocyanin Composition of Wild Colombian Fruits and Antioxidant Capacity Measurement by Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(6), 1397–1404. https://doi.org/10.1021/jf2042533

Sena. (2014). *Manual Ténico del Cultivo de Mora Bajo Buenas Practicas Agricolas*. Medellín. Retrieved from http://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/ mora enero 2015 liviano.pdf

Shah, N. P. (2017). *Yogurt in Health and Disease Prevention*. Academic Press, an imprint of Elsevier.

Soria, R. (2014). *Cuantificación y logística de la biomasa en el cultivo de mora (rubus glaucus benth cv. de castilla)*. Universidad Técnica de Ambato. Retrieved from http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8473/1/Tesis-89 Ingeniería Agronómica -CD 304.pdf

Stella, L., & Meneses, B. (2009). Caracterización, evaluación y producción de material limpio de mora con alto valor agregado. In *MADR, Corpoica* (1st ed., pp. 5–19). Corpoica. Retrieved from http://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/2009122101453_Caracterizacion_mora.pdf

Villacrez, J. (2013). *Desarrollo de microencapsulados por SPRAY DRYING a partir de frutos de mora de castilla (Rubus glaucus Benth)*. Universidad Nacional de Colombia. Retrieved from http://www.bdigital.unal.edu.co/47240/1/197569.2013.pdf

Wang, W., Jung, J., Tomasino, E., & Zhao, Y. (2016). Optimization of solvent and ultrasound-assisted extraction for different anthocyanin rich fruit and their effects on anthocyanin compositions. *LWT - Food Science and Technology*, *72*, 229–238. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.041

Wen, Y., Chen, H., Zhou, X., Deng, Q., Zhao, Y., Zhao, C., & Gong, X. (2015). Optimization of the microwave-assisted extraction and antioxidant activities of anthocyanins from blackberry using a response surface methodology. *RSC Advances*, *5*(25), 19686–19695. https://doi.org/10.1039/c4ra16396f

Zapata, L., Carcel, J., & Clemente, G. (2014). *Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria*. Universidad Politécnica de Valencia. Retrieved from http://www.blueberrieschile.cl/wp-content/uploads/2016/05/obtenciondeextracto.pdf

Zhu, Z., Guan, Q., Koubaa, M., Barba, F. J., Roohinejad, S., Cravotto, G., … He, J. (2017). HPLC-DAD-ESI-MS2 analytical profile of extracts obtained from purple sweet potato after green ultrasound-assisted extraction. *Food Chemistry*, *215*, 391–400. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.157

3. Proceso de microencapsulación y aplicación del aditivo colorante derivado de biomasa residual de mora de castilla en yogur

Luego de haber obtenido las mejores condiciones de extracción, se analizó el proceso de secado por aspersión como técnica para generar estabilidad en los extractos colorantes, después de elegir el mejor tratamiento y/o condición, se utilizó el microencapsulado obtenido para incluirlo en una bebida láctea durante el almacenamiento en refrigeración (4°C) durante un tiempo aproximado de 1 mes. Este método de secado por aspersión es uno de los más usado por la industria química, farmacéutica y de alimentos.

3.1 Microencapsualción por secado por aspersión (spray drying)

El secado por aspersión es una técnica de microencapsulación muy utilizado en la industria por el cual partículas de un núcleo determinado son recubiertas o atrapadas con una capa de polímero distribuido uniformemente por adsorción en un segundo material de pared para formar una microcápsula (Prieto & Acevedo, 2014; Villacrez, 2013), consiste básicamente en la atomización de una emulsión/suspensión líquida que forma un material particulado seco dentro de una cámara a alta temperatura en donde hay mayor transferencia de masa y energía, el solvente se evapora rápidamente y el material activo queda atrapado dentro de una película de material encapsulante (Figueroa Martínez, Hurtado Benavides, & Ceballos Ortíz, 2016; Garcia Chacón, 2017; Revelo, 2014).

Durante este proceso una corriente de gas caliente produce la evaporación del agua presente en la sustancia activa (líquida, sólida o gaseosa), que es capaz de transformar una disolución, una emulsión o una suspensión o dispersión líquida en una material seco y estable (Villacrez, 2013), puesto que se genera un recubrimiento de forma esférica casi instantáneo junto con el material de pared (Guevara, 2007). Este proceso es muy efectivo para proporcionar estabilidad al producto final, favorece la conservación de sabores, aromas, compuestos como acidulantes, enzimas, aminoácidos, antioxidantes, edulcorantes, colorantes, microorganismos probióticos, grasas, saborizantes, aceites poliinsaturados y vitaminas preservando su contenido nutricional, permite tener un producto de menor volumen que por ende requiere bajos costos de transporte y almacenamiento, es fácil de manipular y facilita su dosificación y liberación controlada por difusión, dilución, disociación y/o fracturación (Figueroa Martínez et al., 2016; Garcia Chacón, 2017), brinda protección a la temperatura, pH, luz, humedad, oxidación y radiación, además de añadirle un valor agregado a los alimentos (García & López, 2012).

El proceso de secado por aspersión (flujo co-corriente) se lleva a cabo en tres etapas descritas a continuación:

Etapa 1: La dilución, emulsión o suspensión (ingrediente activo, vehículo y agente encapsulante), se introduce en el equipo por medio de una bomba peristáltica y se atomiza por medio de un inyector.

Etapa 2: Se da la eliminación del disolvente dentro de una corriente de aire caliente, lo que ocasiona que las partículas atomizadas se sequen casi instantáneamente y las moléculas del principio activo queden atrapadas dentro de las gotas.

Etapa 3: Como paso final el equipo de secado presenta compartimentos de deposición del material particulado seco (cámara de secado y colector), para que posteriormente sean recolectados en un recipiente cerrado

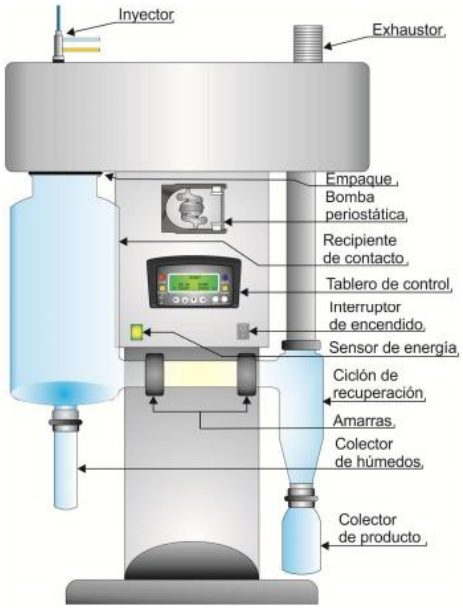


Diagrama 3-1. Diagrama general del Spray Drying.

Fuente: (Revelo, 2014)

3.1.1 Microencapsulación de un extracto colorante de de antocianinas utilizado la técnica de secado por aspersión (spray drying)

El color se considera como una respuesta mental que se produce en la retina del ojo al estímulo de una radiación luminosa, los colorantes son compuestos que brindan color a los alimentos y se clasifican en pigmentos de origen natural, sintético o inorgánico y pueden ser obtenidos mediante extracción física o química (Garcia Chacón, 2017; Prieto & Acevedo, 2014). Existen tres grandes familias de pigmentos naturales, las clorofilas (tonalidades verdes), los carotenoides (tonalidades naranjas-amarillas) y las antocianinas

(tonalidades azules-rojas), estas últimas encontradas mayoritariamente en frutos tipo bayas como la mora de Castilla (Bernal et al., 2014), sin embargo aunque poseen características nutracéuticas y son benéficas para la salud, tienden a biodegradarse debido a factores como el pH, el oxígeno, la temperatura y la luz. La luz puede producir reacciones cis-trans, foto-isomerización, foto-reducción y foto oxidación (Villacrez, 2013), razón por la cual estabilizar dichas moléculas para poder utilizarlas posteriormente en su aplicación en los alimentos es el objetivo principal de este proyecto.

Varios estudios han incursionado en la encapsulación de antocianinas proveniente de diferentes frutos tipo baya por ejemplo:

(Villacrez, 2013) realizó el desarrollo de microencapsulados por spray drying a partir de frutos de mora de Castilla, la fruta fue recolectada del municipio de Saboya-Boyacá, en el cual se evaluaron seis tipos de materiales de pared como lo fueron: Maltodextrina D20, maltodextrina D20/almidón de maíz, goma arábiga, almidón de yuca, capsul y Hi-Cap 100 (estos últimos son una mezcla de almidones modificados), dos diámetros de boquilla 1,0 mm y 2,0 mm, dos temperaturas de entrada de aire 120 °C y 130 °C y un caudal de 485 mL/h, en donde se encontró que la temperatura y el diámetro de boquilla no mostraron incidencia sobe la morfología y la eficiencia en la encapsulación, mientras que las partículas secas más promisorias se obtuvieron con maltodextrina D20 y Hi-Cap 100, además en la actividad de agua se obtuvieron valores inferiores a 0,6 que es un valor recomendado para la prevención de ataques por microorganismos. Por otro lado (Figueroa Martínez et al., 2016) realizaron la extracción de aceite de las semillas de mora por medio de fluidos super críticos y se encapsulo por medio de secado por aspersión utilizando 3 agentes encapsulantes: Master dry, goma arábiga y maltodextrina, temperatura de entrada de aire entre 150°C y 200°C, un flujo de 5-15 mL/min, en donde se pudo encontrar que la temperatura de entrada de aire y la maltodextrina (material de pared) fueron las únicas variables estadísticamente significativas que afectaron de forma positiva el rendimiento. También (Revelo, 2014) realizó una microencapsulación de tomate de árbol rojo (endocarpio y mesocarpio de la fruta) mediante spray drying para su aplicación en productos lácteos en donde como encapsulante uso maltodextrina en realción 1:1:1 p/p/p, evaluó 5 temperaturas de entrada de aire 125-225 °C, un flujo de 280 mL/h evaluando las variables de rendimiento, eficiencia, contenido de antocianinas, actividad de agua y parámetros de color, en donde se encontró que el uso de la maltodextrina fue una buena elección además el efecto de la temperatura es directamente proporcional a una mayor encapsulación y a un mayor rendimiento.

Teniendo en cuenta la literatura, a altas temperaturas se producen mejores microencapsulados, pero también muestra una alta degradación de los compuestos nutricionales y generación de reacciones de maillard, por tal motivo se evaluó un rango de temperaturas de 125°C a 175°C, utilizando como material encapsulante la maltodextrina debido a su rentabilidad, solubilidad en agua, baja higroscopicidad en comparación de otros agentes encapsulantes.

3.1.2 Materiales de pared

Los materiales encapsulantes ideales deben tener propiedades emulsificantes, ser biodegradable, resistente al tracto intestinal, tener baja viscosidad y una alto contenido de sólidos, baja higroscopicidad, no ser reactivo con el núcleo, tener capacidad para sellar y mantener el principio activo, tener la capacidad de generar protección en la cápsula, carecer de un sabor desagradable para su aplicabilidad en alimentos y tener viabilidad económica (Guevara, 2007), además la elección del microencapsulante es la principal determinante de las propiedades funcionales de la microcapsula y de la forma que estas puedan tener como por ejemplo:

Tabla 3-1. Clasificación de encapsulantes utilizados en la industria de alimentos según su origen.

Clase de compuesto	Superficie de recubrimiento
Polisacáridos	Azúcares, almidones, jarabe de glucosa, maltodextrinas
	Ciclodextrinas, celulosa
	Goma arábiga, alginato de sodio, carragenina, goma guar, agar.
Proteínas	Proteína de soya, gluten de trigo,
	Gelatina, caseína, albúmina.
Polímeros	Polietilenglicol, polivinilpirrolidona, derivados de celulosa, chitosan.
Lípidos	Ácidos grasos, glicéridos, fosfolípidos, esteroles de plantas.
Grasas	Cera de abejas, parafinas
Polímeros	Etilcelulosa

Fuente: *Obtenido de* (García & López, 2012; Villacrez, 2013)

Figura 3-2. Formas que puede tener una microcápsula.

Maltodextrina D20

Este compuesto de origen sacárido se producen a partir de la hidrólisis parcial de la fécula del almidón y se clasifican generalmente según su grado de hidrólisis, expresado como equivalentes de dextrosa (DE). Las maltodextrinas tienen un DE menor de 20, tienen un

sabor neutro, color blanco, son fáciles de digerir, carecen de olor y son bien tolerados por el ser humano (Garcia Chacón, 2017; Villacrez, 2013). (Ficha técnica en anexo)

3.1.3 Microscopía electrónica de barrido.

Es importante evaluar la microestructura del material encapsulado, el cual se realizó utilizando un microscopio electrónico de barrido, la muestra es recubierta con una película de oro y expuesta a un fino haz de electrones que realiza una exploración sistemática de la muestra. El haz de electrones choca con los diversos puntos de la superficie de la muestra, y esto ocasiona que se emitan electrones secundarios cuya intensidad varia con el contorno de la superficie los cuales son recogidos por un detector y son empleados como una señal a partir de la cual se obtiene, en la pantalla de un tubo de rayos catódicos, una imagen tridimensional aumentada de la superficie del objeto (Villacrez, 2013).

3.2 Aplicación de aditivos colorantes en bebidas lácteas

La cadena láctea en Colombia se ha desarrollado exitosamente en la industria (Villacrez, 2013) ya que su producción, procesamiento de derivados y comercialización ha superado los 240.000 m3/ mes y se ha convertido en uno de los alimentos de bien común para la mayoría de personas. Los principales departamentos productores de leche en el país son Antioquia, Boyacá, Caldas, Cauca, Cundinamarca, Nariño, Quindío, Risaralda y Valle del Cauca (Revelo, 2014).

Uno de los productos más emblemáticos y populares derivado de la leche es el yogur, se produce a nivel mundial y tiene gran aceptabilidad por sus propiedades organolépticas y nutricionales, aunque sus procesos de producción han cambiado a lo largo de los siglos el fundamento de su elaboración se ha mantenido en 4 etapas básicas:

- Calentamiento de la leche, a temperaturas elevadas, y prolongándola durante el tiempo del proceso.
- Siembra de inóculos con las bacterias acido lácticas elegidas.
- Incubación a una temperatura apropiada, para el desarrollo de la acidez y el sabor.
- Empaque y refrigeración.

La adición de color en el yogur es algo muy típico en la industria para mejorar el atractivo visual del producto pues este busca representar el color de la fruta en intensidad, tono y sombra. Cuando no hay adiciones de colorantes el color predominante será el característico del fruto con el cual haya sido procesado y cuando se adiciona, este colorante puede proceder de manera natural o sintética. Generalmente los colores más usados son colores artificiales como el rojo # 40, azul # 1, amarillo # 5 y # 6 que aunque son muy estables durante el procesamiento han venido perdiendo vigencia por razones de etiquetado, por las preferencias de los consumidores y de los estándares de la industria (Shah, 2017).

Revelo & Osorio 2014 implementaron los encapsulados obtenidos a partir de tomate de árbol rojo *(Solanum betaceum Cav.)* en dos tipos de productos lácteos para el yogur se usaron especies de cultivo comercial de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* en donde se realizó el proceso fermentativo típico para la obtención de un yogur a base de leche entera, y se incorporó el encapsulado en proporciones de 0%, 3%, 6% y 8% como concentraciones idóneas para aplicación. De manera similar se preparó un helado también basado en leche entera y se usaron los mismo porcentajes de inclusión dentro del producto (variable entre 0%, 3%, 6% y 8%) y de la leche. Una vez adicionado el microencapsulado se llevó la mezcla a batido con el fin de asegurar la incorporación del 50% de volumen en aire en el producto envasado y se almacenamiento en temperatura de congelación inferior a - 10º C para propiciar el endurecimiento y estabilidad del producto.

También (Aguilera et al., 2012; Rosero, Corral, Álvarez, Serna, & Ordoñez, 2013) evaluaron el color en yogur elaborado con extracto de residuos de uvas Isabella como colorante natural, y antocianinas de higo como colorantes para yogur natural, demostrándose que las antocianinas son una fuente de pigmentos naturales, como extractos acuosos para la implementación en yogur obteniéndose coloraciones en las coordenadas L* a* b* muy similares a las impartidas en yogures de fresa (Aguilera et al., 2012; Rosero et al., 2013).

Mostrando las ventajas que tiene incluir este tipo de pigmentos naturales en bebidas lácteas pues se considera un medio muy bueno para la entrega de ingredientes funcionales como probióticos, prebióticos entre otros, además de que los métodos de conservación en temperaturas de refrigeración y el pH ácido del producto ayudar también a las moléculas a ser más estables además de que los productos lácteos presentan gran aceptabilidad de este tipo de sustancias de procedencia polar (Prieto & Acevedo, 2014; Revelo, 2014; Shah, 2017).

3.3 Metodología

3.3.1 Adecuación y muestreo

Se tomaron 2 kg de fruta cosechada en calidad comercial siempre teniendo en cuenta el mayor estado de madurez según NTC 4106, realizando limpieza del fruto como la corona de hojas, se dejó perecer a condiciones ambientes de Bogotá del miércoles 30 de septiembre al lunes 5 de octubre de 2020 cuyas temperaturas variaron según IDEAM de los 6 °C a los 24 °C durante el periodo de senescencia del fruto.

La mora en estado residual se homogeneizó.

La pulpa fue porcionada en bolsas de polietileno de baja densidad, agregando 20 g de fruta para cada uno de los 3 tratamientos por triplicado para el diseño experimental.

Las muestras fueron marcadas e identificadas con el peso real de mora, se almacenaron en temperatura de congelación a -18 °C hasta su uso.

3.3.2 Caracterización fisicoquímica, morfológica y de color de microencapsulados

El esquema para evaluación de propiedades fisicoquímicas consistió en un diseño aleatorio, mostrándose la temperatura de aire de entrada como un parámetro crucial para obtener buenos microencapsulados.

Tabla 3-2. Diseño experimental secado por aspersión (spray dryer).

Variables independientes	Niveles	Variables dependientes	Numero de repeticiones
Temperatura	T_1,T_2,T_3	Color, Antocianinas Totales, SEM, A_W	3
Agente encapsulante	Ag_1		

Teniendo en cuenta que como agente encapsulante se usó Ag_1: Maltodextrina D20, y las temperaturas de entrada de aire T_1,T_2,T_3 fueron 125 °C, 150 °C y 175 °C respectivamente.

- ***Cuantificación de antocianinas***

Extracción de antocianinas de microencapsulados de mora de Castilla:

Se pesaron aproximadamente 10 g de polvo microencapsulado en un beaker de 150 mL.	
Se agregaron 10 g de agua acidificada con ácido cítrico con el fin de disolver la capa de maltodextrina que encapsula las antocianinas y exponerlas al medio.	
Luego se agregaron 64 mL de etanol como solución de extracción para las antocianinas según la realción 1 g de fruta /3 g de etanol.	

Por una diferencia de solubilidades se separó la solución en dos fases en la cual la maltodextrina se precipito creando un sobrenadante que se precipito en la mezcla de extracción.	
Esta mezcla de extracción fue dispuesta en un montaje para ultrasonido, junto con un baño de agua fría para evitar el sobrecalentamiento de la muestra.	
Se realizó la extracción asistida por ultrasonido utilizando los parámetros óptimos de extracción obtenidos en el segundo capítulo: amplitud 90% y tiempo 10 minutos.	
Se evitó que la temperatura de la mezcla de extracción superara los 45 °C para evitar la degradación de las antocianinas.	
La mezcla extraída fue filtrada al vacío para separar el extracto etanólico del precipitado chicloso y de las demás impurezas presentes	
Este proceso se repitió para obtener los 9 extractos que fueron almacenados en congelación -18 °C para su posterior cuantificación.	

El contenido de AMT fueron cuantificadas por medio el método de pH-diferencial según la A.O.A.C 2005.02.

- ***Evaluación microbiológica del microencapsulado, recuento de mohos y levaduras***

Se pesaron 4,68 g de PDA y se diluyeron en 120 mL de agua en un frasco shott, se llevó a ebullición con ayuda de un mechero bunsen.

Se pesaron 0,918 g de NaCl y 0,108 g de peptona y se disolvieron en un frasco shott, se transfirieron 9 mL de agua peptonada a 2 tubos de ensayo los cuales deben marcar como 10-2 y 10-3, y la solución restante de pepona se identificó como 10-1.

Se esterilizan todas las áreas y los utensilios de trabajo, además se identifican la tapa de las cajas de Petri con la dilución que corresponde 10-1, 10-2, 10-3, teniendo en cuenta que en cada dilución se realiza siembra por duplicado.

Se pesaron 10 g de muestra y se disolvieron y se transfirieron al frasco shott identificado como 10-1, se tapó el frasco y se permitió disolver bien por medio de agitación, con una micropipeta se tomaron 1 mL de la primera dilución y se transfirió al tubo 10-2, se tapa y se agita hasta homogeneizar totalmente la muestra, y se repite este mismo procedimiento con el tubo identificado como 10-3.

Se tomaron las cajas de Petri previamente marcadas y utilizamos una micropipeta para agregar 1 mL de muestra de las diluciones, en el momento de la siembra esta operación se realiza al lado de un mechero bunsen.

Después se procedió a servir el medio agar PDA más o menos 20 mL cada caja, se homogeneizó suavemente para que la muestra y el medio se mezclen, se dejó gelificar y se tapó. Posteriormente se dejó incubar a 22-25 °C durante 3 a 5 días.

- ***Determinación de actividad de agua Aw***

La determinación de la actividad de agua (Aw) se realizó mediante el uso de un lector portátil de actividad de agua o higrómetro a temperatura ambiente usando 5 g de cada microencapsulado, suficiente para ser medida por el sistema.

- ***Análisis de Color***

Para la determinación de color los extractos fueron analizados en un colorímetro marca Minolta CR400, con un iluminante D90. Los extractos fueron dispuestos en una caja de Petri y desde allí dispuestos en el obturador con el fin de medir las coordenadas colorimétricas en el espacio CIELab L* a* b*.

- ***Microscopía electrónica de barrido (SEM)***

Este proceso se llevó a cabo en un microscopio electrónico de barrido, por medio de un haz de electrones que recorre o barre la muestra con respecto a la superficie y su contorno, que se emplean como señal legible ante un detector que genera puntos de lectura en forma de pixeles generando en el monitor una imagen tridimensional aumentada, sin necesidad de disminuir el tamaño de la muestra ni realizar cortes superficiales, puesto que los electrones recorren la muestra punto por punto del microencapsulado (Villacrez, 2013).

- ***Rendimiento de antocianinas***

El rendimiento del proceso de encapsulación se calcula a partir de la cantidad de muestra encapsulada con respecto al peso inicial del extracto antes de someterse al proceso de secado por aspersión:

$$Rendimiento\ (\%) = \frac{M}{Pmi} * 100$$

Donde,
M: Peso del microencapsulado obtenido
Pmi: Peso inicial de la muestra extracto

3.3.3 Evaluación de los microencapsulados de antocianinas como potencial aditivo colorante en un producto lácteo

- ***Concentración de microencapsulado colorante para obtener un color similar a un producto comercial***

  Se adquirió un yogur natural sin dulce semidescremado, bajo en grasa marca Pasco con el fin de ser pigmentado.

Se adquirió un colorante sintético Rojo Allura #40 de Piccollini con el fin de realizar una comparación con respecto al pigmento microencapsulado natural anteriormente obtenido.

Se agregó una cantidad suficiente de colorante sintético en 25 g de yogur natural con el fin de obtener una coloración rosa tenue parecida a un yogur comercial tipo fresa y se midieron los parámetros de color como referencia L*: 66,13 a*: 16,53 b*: 5,15.

Por otro lado se empezó a adicionar una cantidad del pigmento microencapsulado de mora de Castilla en 25 g de yogur natural con el fin de obtener un color similar al otorgado por el colorante sintético hasta ser comparable con los parámetros de color de referencia anteriormente medidos (Parámetros color pigmento natural L*: 61,49 a*: 11,07 b*: 3,16).

Tabla 3-3. Diseño concentración similar a un producto comercial (spray dryer).

Variables independientes	Niveles	Variables dependientes	Numero de repeticiones
Concentración	C_1	Color.	3
Tipo de bebida	T_{b1}		

- ***Evaluación del poder colororante en una bebida láctea.***

Acorde con la norma NTC 805 la calidad del yogur se evalúa en un periodo de 28 días con respecto a los parámetros de color. Como muestra control se dispusieron 5 envases con 25 g de yogur natural con el fin de cuantificar los parámetros de color 1 vez por semana.

Fueron dispuestas 5 muestras de 25 g de yogur con adición de colorante sintético rojo allura #40 con el fin de cuantificar los parámetros de color 1 vez por semana.

Por otro lado también se realizó el mismo procedimiento en 5 muestras de 25 g de yogur natural adicionado con el pigmento natural de mora de Castilla cuantificando los parámetros de color 1 vez por semana.

Tabla 3-4. Diseño almacenamiento de la aplicación en yogur

Variables independientes	Niveles	Variables dependientes	Numero de repeticiones
Tiempo	t_0, t_1, t_2, t_3, t_4	Color	X3
Temperatura	T_{ref}		
Tipo de bebida	T_{b1}		

En donde t_0: 0 días, t_1: 7 días, t_2: 14 días, t_3: 21 días t_4: 28 días y temperatura de referencia T_{ref} :4°C.

- ***Análisis de datos***

Con el fin de obtener resultados adecuados y asegurar la reproducibilidad y estabilidad se replicó 3 veces cada uno de los tratamientos dando como resultados 3 tratamientos. Se realizó también una prueba ANOVA $p < 0,05$ para el tratamiento estadístico y para encontrar diferencias significativas.

3.4 Resultados y discusión de resultados

3.4.1 Propiedades y color de microencapsulados

Los microencapsulados fueron obtenidos a tres temperaturas diferentes en donde la proporción de extracto/agente encapsulante/agua fue 1:1:1 p/p/p y se les cuantificó el contenido de antocianinas monoméricas totales por 100 g de fruta (rendimiento), la actividad de agua (Aw) y se tomó la medida de color para tener un parámetro de comparación, en este caso la saturación. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 3-5. Propiedades fisicoquímicas de los microencapsulados

Muestra	Temperatura (C°)	Rendimiento (mg cyn-3-glu/ 100g fruta fresca)	Actividad de agua (Aw)
1	125	38,9 ± 2,13a	0,38 ± 0,025a
2	150	41,79 ± 1,01b	0,33 ± 0,021b
3	175	36,51 ± 1,54c	0,32 ± 0,015b

M ± DS = Promedio ± Desviación estándar; Las letras representan las diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos; donde se realizó t-student suponiendo varianzas iguales $P < 0,05$.

Según los resultados obtenidos el contenido de antocianinas monoméricas es mayor a 150 °C alcanzando un valor de 41,79 mg de cyn-3-glu/100 g fruta fresca evidenciando diferencias significativas entre las muestras; con la maltodextrina se obtuvieron buenos resultados de microencapsulación, debido a que los materiales alimenticios no pegajosos se pueden secar fácilmente por pulverización y el material particulado final fluye libremente, mientras que los materiales pegajosos generalmente pueden aglomerarse en la cámara de secado, lo que puede generar problemas operativos y bajos rendimientos, que han sido relacionados con una mayor cantidad de polvo adherido en dicha cámara. Se puede ver que a mayor cantidad de agente encapsulante mejora el atrapamiento del núcleo, reduciendo su cantidad sobre la superficie de la microcapsula y en consecuencia la pegajosidad de las partículas en la cámara de secado (Sanchez-Reinoso, Osorio, & Herrera, 2017), además se logró observar que el incremento de la temperatura (125 °C - 150 °C) aumenta el rendimiento del proceso ya que a altas temperatura se produce mayor eficiencia en los procesos de transferencia de calor y masa, sin embargo a temperaturas muy elevadas (175 °C) se afecta el balance entre la velocidad de evaporación de agua y

la formación de la película del agente encapsulante, lo que lleva a la ruptura de la membrana formada y que se genere una capa delgada que favorece la liberación adelantada y degradación de las antocianinas encapsuladas (Figueroa Martínez et al., 2016).

En la actividad de agua podemos observar una relación inversamente proporcional con la temperatura, presentándose unos valores entre 0,32 a 0,38 el cual es un intervalo adecuado por debajo de la actividad de agua requerida para el crecimiento o proliferación de microorganismos que afecten la calidad sensorial y química de las mismas (Aw<0,60) (Garcia Chacón, 2017) demostrándose que durante el proceso se removió un alto porcentaje de agua, sin embargo hay que considerar que por la presencia de polisacáridos como la maltodextrina en las microcapsulas se generan fuerzas de Van der Waals o polímero-inducido que pueden ser atractivas o repulsivas a moléculas como el agua, por lo tanto los sólidos obtenidos en su superficie tendrán unidas y/o atrapadas moléculas de agua después del proceso de secado (Villacrez, 2013). Según el ANOVA la temperatura tuvo un efecto significativo de 125 °C a 150 °C pero no tuvo un efecto significativo entre 150 °C y 175 °C.

Tabla 3-6. Propiedades de color de los microencapsulados

Muestra	Temperatura (C°)	L*	a*	b*	C* ab (parámetro croma o saturación)
1	125	73,78 ± 3,98 a	47,28 ± 0,85 a	8,26 ± 0,59 a	48,01 ± 0,92a
2	150	75,88 ± 1,43 b	47,29 ± 0,10 a	7,75 ± 0,21 b	47,92 ± 0,10a
3	175	77,63 ± 2,63 c	45,35 ± 0,35 b	7,83 ± 0,17 b	45,91 ± 2,55b

El color es un atributo que resalta en este trabajo pues influye en la selección de los parámetros de proceso más adecuado para obtenerlo, la luminosidad aumenta a medida que aumenta la temperatura, esta propiedad puede verse afectada por diferentes factores durante la microencapsulación, por ejemplo el uso de materiales de pared blanca en una proporción mayor que el núcleo produce valores de luminosidad más altos (Sanchez-Reinoso et al., 2017), también podemos apreciar en el parámetro a* que la tenencia a los rojos sigue presente, sin embargo este valor desciende a altas temperaturas, lo mismo sucede con el parámetro b* que tiende a los amarillos, esto puede ser debido a la degradación que pueden llegar a sufrir los componentes antocianicos a temperaturas elevadas (Garcia Chacón, 2017; Villacrez, 2013).

Basándonos en el parámetro C* ab o croma podemos ver que a medida que aumenta la temperatura disminuye la saturación, según el análisis estadístico el color de los microencapsulados no presenta diferencias significativas a 125 °C y 150 °C pero si presenta diferencias a 175 °C, además el claro descenso en el valor de la saturación muestra que a temperaturas altas puede generarse degradación del contenido de antocianinas como también la proliferación de reacciones de oxidación como Maillard

(Revelo, 2014). Los resultados de parámetro de color se ubicaron en el cuadrante de las tonalidades rojo-rosadas, mostrando que se mantuvo la tendencia de color rojo como objetivo para su posterior aplicación en una bebida láctea.

3.4.2 Evaluación microbiológica, contenido de mohos y levaduras.

Como se estuvo trabajando con un producto en estado de senescencia se debía realizar una evaluación microbiológica con el fin de determinar si había presencia de mohos o levaduras.

Tabla 3-7. Evaluación microbiológica de los microencapsulados

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADO	V. REFERENCIA*
Recuento de Mesófilos aerobios ufc/g o mL	Recuento en placa INVIMA N. 2	<10	500-800
Recuento de Mohos y Levaduras ufc/g o mL	Recuento en placa INVIMA N. 7	20	100-200

Podemos apreciar que en el recuento de mesófilos aerobios el resultado fue menor a 10 ufc/g y el recuento de mohos y levaduras 20 ufc/g, que son valores pequeños con respecto a los valores de referencia para un alimento, lo que nos indica que se puede utilizar el producto en una matriz alimenticia sin correr algún riesgo para la salud.

3.4.3 Microscopía electrónica de barrido

Se realizaron microscopías electrónicas de barrido para cada uno de los tratamientos a temperaturas 125 °C, 150°C y 175 °C con una ampliación de magnitud de 2000x y 20000x que se muestran a continunacion:

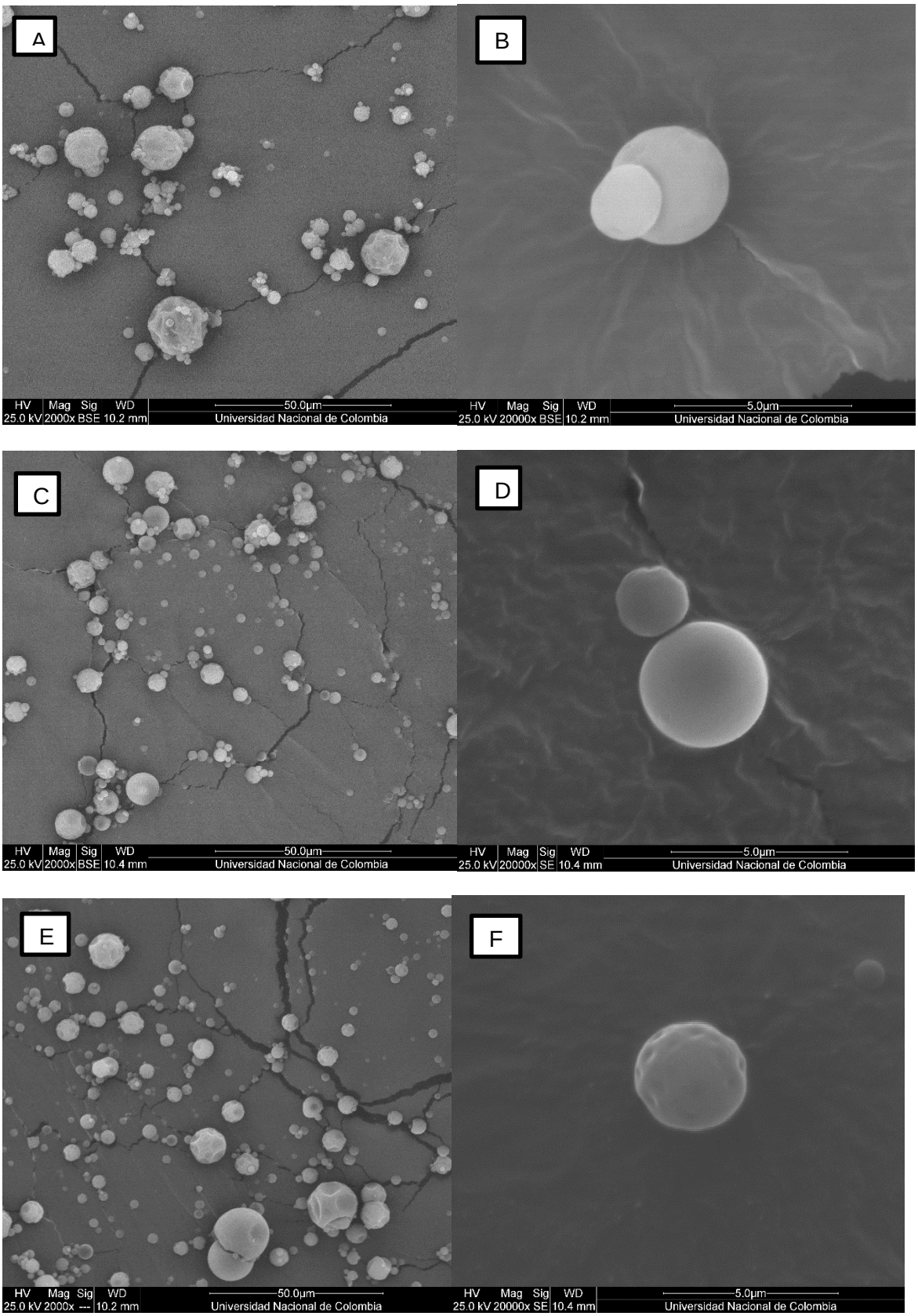

A
HV Mag Sig WD
25.0 kV 2000x BSE 10.2 mm
50.0µm
Universidad Nacional de Colombia
B
HV Mag Sig WD
25.0 kV 20000x BSE 10.2 mm
5.0µm
Universidad Nacional de Colombia
C
HV Mag Sig WD
25.0 kV 2000x BSE 10.4 mm
50.0µm
Universidad Nacional de Colombia
D
HV Mag Sig WD
25.0 kV 20000x SE 10.4 mm
5.0µm
Universidad Nacional de Colombia
E
HV Mag Sig WD
25.0 kV 2000x --- 10.2 mm
50.0µm
Universidad Nacional de Colombia
F
HV Mag Sig WD
25.0 kV 20000x SE 10.4 mm
5.0µm
Universidad Nacional de Colombia

Figura 3-3. Microscopía electrónica de barrido para cada uno de los tratamientos: A-B 125 °C, C-D 150 °C y E-F 175°C con una amplitud de 2000x y 20000x respectivamente.

En la imagen A,C y E la morfología de las capsulas mostró cambios estructurales que sufrieron las moléculas dependiendo de la temperatura del proceso, sin embargo se necesitan micrografías de campo claro y de campo oscuro para determinar si encapsuló la muestra (Garcia Chacón, 2017; Revelo, 2014; Villacrez, 2013), se observa que una fracción de moléculas de antocianinas que no son encapsuladas, son retenidas y adsorbidas en la superficie por la matriz de maltodextrina (Revelo, 2014), esto puede ser debido a la cantidad de carbohidratos presentes en el agente encapsulante los cuales pueden actuar como sitios activos para la unión de antocianinas por medio de puentes de hidrógeno (Villacrez, 2013). Las microcapsulas presentan en su mayoría forma esférica sin porosidades, redondeadas, arrugadas, cóncavas, sin fisuras evidentes y con pared continua, pero con gran cantidad de abolladuras superficiales que puede ser producto de la concentración de la microcapsulas ocasionada por la elevada velocidad de evaporación que se genera por la diferencia en temperatura de entrada y de salida de aire del spray dryer durante el proceso de secado (Figueroa Martínez et al., 2016). También se puede observar que a mayores temperaturas 175 °C se genera una mayor acumulación de partículas de gran tamaño que puede ser debido a una trasferencia de agua más rápida que genera una expansión interna con espacios amorfos dejado por la cantidad de agua evaporada, mientras que a bajas temperaturas 125 °C hay más partículas pequeñas como se pudo observar en el trabajo hecho por (Revelo, 2014) en tomate de árbol rojo. Por otro lado la maltodextrina al ser un polisacárido presenta fuerzas intermoleculares más fuertes en comparación a otros materiales de pared el cual contribuye a la formación de estructuras más estables, cuya superficie es lisa, menos fibrosa y menos porosa (Garcia Chacón, 2017). Varios estudios han informado que los polvos por secado por aspersión presentan polidispersidad de tamaño de partícula debido a la falta de uniformidad del tamaño de las gotas formadas en la fase de aspersión (García & López, 2012; Otálora, Carriazo, Iturriaga, Osorio, & Nazareno, 2016).

En la micrografías B,D y F, se realiza una amplitud de 20000x en la cual se observa con mayor precisión la morfología semiesférica, achatadas que se debe a la formación efectiva de microcapsulas (con posible material activo dentro de ellas), se confirma la transformación morfológica del agente encapsulante que sufre una torsión formando una estructural helicoidal por la deshidratación (Villacrez, 2013). Con maltodrextrina se observa una estructura esférica y redondeada con superficie en su mayoría lisa pero con algunas abolladuras, dichas depresiones se asocian al encogimiento durante el proceso secado y enfriamiento (Sanchez-Reinoso et al., 2017), que concuerda con los estudios realizados en antocianinas por (Figueroa Martínez et al., 2016). También se puede observar que a mayor temperatura, mayor deformidad en las microcapsulas debido que el aumento de la misma, la difusión de agua residual tiende a ser más rápida, ocasionando así que no se sustituya el contenido interno dejado por el agua antes de que se llegué a un estado estable sólido, mientras que a menores temperaturas dicha difusión es lo suficientemente lenta como para reemplazar el contenido de agua antes de llegar a un estado estable y formar

una microcapsula completa (Revelo, 2014) sin embargo a menores temperaturas el tiempo de secado prolongado puede producir deformaciones, rugosidad (partículas encogidas) e incluso colapso de las partículas (Sanchez-Reinoso et al., 2017) por ese motivo una temperatura ni muy alta ni muy baja (150 °C) como ser observa en la micrografía D produce superficies más lisas y con menores deformidades y/o abolladuras.

Las micrografías permitieron confirmar la eficiencia del proceso de secado al obtener partículas semiesféricas, sin evidencia de fracturas, que se presentan como microcapsulas con apariencia achatada y arrugada propias de sólidos obtenidos por el secado por aspersión spray drying (Garcia Chacón, 2017), esta característica semiesférica es deseable porque la integralidad de la superficie de las micropartículas es importante para asegurar una buena retención del núcleo y una menor permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno (Sanchez-Reinoso et al., 2017). Los sólidos obtenidos presentaron colores rojizos debido a que en el proceso de secado se presentan tanto fenómenos de adsorción como de absorción (Villacrez, 2013).

3.4.4 Estabilidad del potencial colorante en almacenamiento de los microencapsulados de antocianinas en un yogur

Como se especificó en la metodología primero se tomó el pigmento sintético y se buscó con la mínima cantidad pigmentar 25 g de yogur semidescremado natural sin dulce, para obtener un color similar a un producto comercial (yogur de fresa). El valor adecuado fue de 0,1 mg de pigmento sintético, con respecto a los 800 mg de pigmento natural de mora residual que se tuvieron que usar para tener una tonalidad similar.

En las siguientes tablas se puede observar el comportamiento del parámetro de color para cada una de las muestras durante un almacenamiento de 28 días a 4 °C.

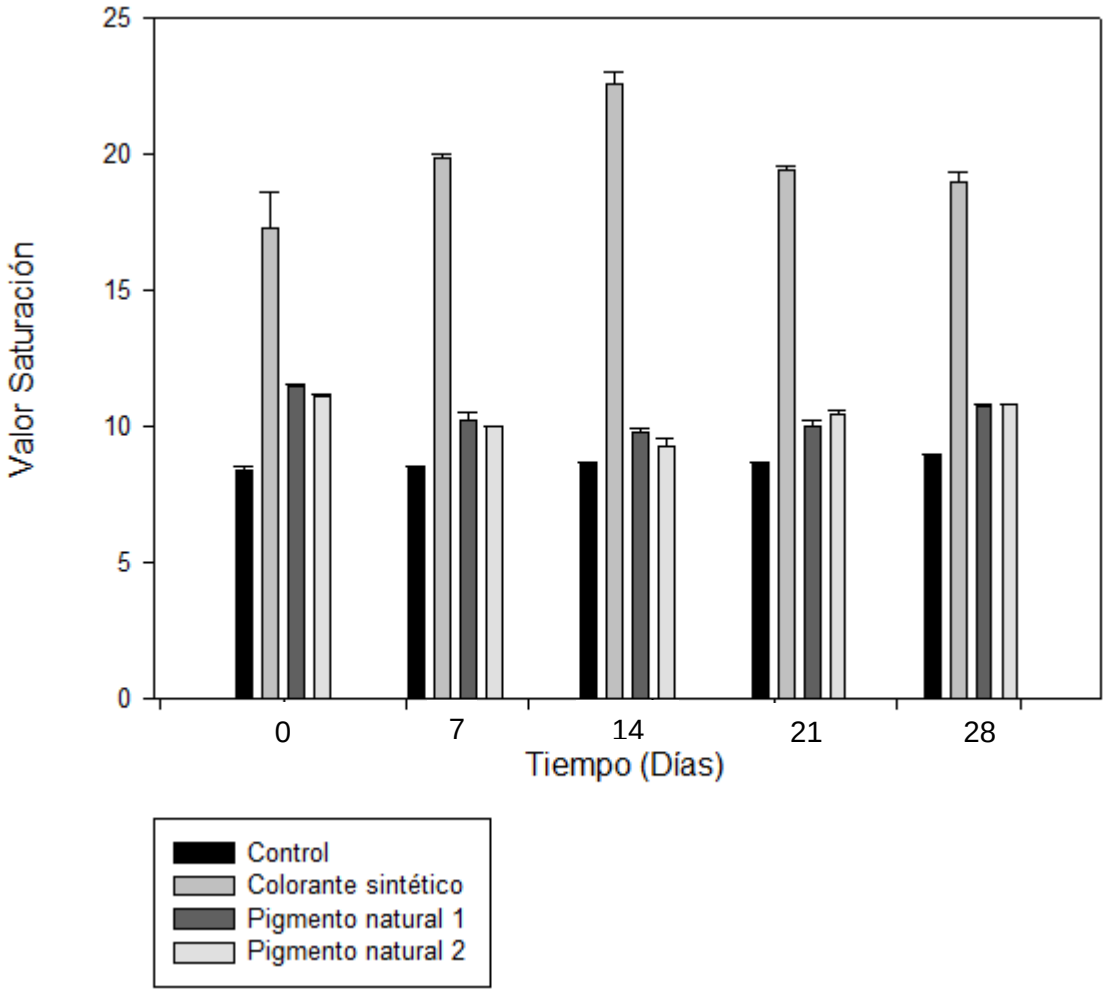
Tabla 3-8. Colorimetría L* a* b* para color del yogur en almacenamiento

Tiempo (Días)	Temperatura (°C)	Control				Colorante sintético			
		L*	a*	b*	C* ab (parámetro croma o saturación)	L*	a*	b*	C* ab (parámetro croma o saturación)
0	4	79,18 ± 1,93ª	(-) 3,82 ± 0,13ª	7,50 ± 0,22ª	8,42 ± 0,12ª	66,12 ± 1,89ª	16,53 ± 1,29ª	5,15 ± 0,22ª	17,31 ± 0,23ª
7		75,22 ± 1,34b	(-) 3,78 ± 0,04ª	7,65 ± 0,08ª	8,53 ± 0,16ª	65,85 ± 0,89ª	18,9 ± 0,16b	6,14 ± 0,08b	19,87 ± 0,21b
14		77,99 ± 2,28ª	(-) 3,74 ± 0,10ª	7,77 ± 0,23ª	8,62 ± 0,09ª	65,46 ± 1,18ª	21,58 ± 0,37c	6,77 ± 0,04b	22,61 ± 0,19c
21		74,72 ± 0,87b	(-) 3,08 ± 0,04ª	8,08 ± 0,11b	8,65 ± 0,11ª	64,25 ± 0,49ª	18,53 ± 0,14b	5,85 ± 0,07b	19,43 ± 0,21b
28		70,49 ± 0,59c	(-) 3,12 ± 0,04ª	8,36 ± 0,16b	8,92 ± 0,15ª	64,66 ± 0,49ª	17,79 ± 0,34ª	6,69 ± 0,13b	19,01 ± 0,17b

Tiempo (Días)	Temperatura (°C)	Control				Colorante sintético			
		L*	a*	b*	C* ab (parámetro croma o saturación)	L*	a*	b*	C* ab (parámetro croma o saturación)
0	4	61,49 ± 0,66ª	11,07 ± 0,06ª	3,15 ± 0,05ª	11,51 ± 0,91ª	58,67 ± 0,11ª	10,72 ± 0,07ª	2,98 ± 0,03ª	11,13 ± 0,45ª
7		63,89 ± 2,44b	9,56 ± 0,27ª	3,67 ± 0,11ª	10,24 ± 1,12b	63,73 ± 0,64b	9,37 ± 0,05ª	3,42 ± 0,04ª	9,98 ± 0,36ª
14		64,28 ± 0,65b	9,17 ± 0,09ª	3,51 ± 0,02ª	9,81 ± 0,89b	61,05 ± 2,78c	8,63 ± 0,33ª	3,30 ± 0,11ª	9,24 ± 0,41b
21		60,81 ± 3,11ª	9,28 ± 0,26ª	3,69 ± 0,09ª	9,98 ± 1,01b	64,81 ± 1,46b	9,74 ± 0,16ª	3,71 ± 0,05ª	10,43 ± 0,22ª
28		57,89 ± 0,80c	10,11 ± 0,10ª	3,61 ± 0,22ª	10,73 ± 0,98b	62,14 ± 0,81b	10,16 ± 0,05ª	3,63 ± 0,28ª	10,79 ± 0,19ª

Aunque se encontraron diferencias significativas en algunos parámetros de color, se evaluó precisamente la saturación como parámetro significativo para observar el comportamiento del mismo durante el tiempo de almacenamiento, en donde pudimos evidenciar que no se presenta degradación del color en el yogur, lo que nos muestra la estabilidad del pigmento natural adicionado.

Luego se evaluó los parámetros de color específicamente la saturación durante 4 semanas y se pudo evidenciar el siguiente comportamiento:



Se puede apreciar que en el pigmento sintético, el tono o saturación es estable obteniéndose con una pequeña cantidad (0,1 mg de pigmento en 25 g de yogur) un color más intenso entre valores de 17 a 22, sin embargo el pico que se encuentra en la segunda semana nos deja entrever un posible error humano llevado a cabo durante el pesado de la muestra, pues la cantidad a pesar se encontraba en el límite de sensibilidad del equipo (balanza analítica).

En la dupla de pigmentos naturales se ve la precisión con la que se logró pesar los 0,800 mg de pigmento en 25 g de yogur para obtener un color similar al producto comercial, demostrándose que el proceso general de spray drying es altamente efectivo para retener y conservar los componentes de color ofrecidos por el fruto. Se puede ver el efecto sinérgico que tienen los compuestos antociánicos con el contenido de ácido láctico como potencial pigmentador del producto (Revelo, 2014). También podemos apreciar que el parámetro de saturación en los pigmentos se mantuvo casi estable y no vario durante las 4 semanas para la muestra control y para el duplo de pigmento natural, lo que nos deja ver que existe una buena adaptabilidad del pigmento natural en el yogur, además de mantenerse estable durante el tiempo de evaluación a temperaturas de refrigeración.

Además cabe resaltar que el color obtenido con el pigmento natural fue más opaco y parecido a un color derivado de una fruta en comparación con el rojo allura con el que se obtuvieron tonalidades parecidas a un producto sintético.

3.5 Conclusiones parciales

El contenido de antocianinas para el mejor tratamiento (temperatura de entrada de aire 150 °C) fue de 41,79 mg cyn-3-glu/ 100 g de fruta fresca, que es un valor mucho menor a los obtenidos durante la extracción con ultrasonido (97,82 mg cyn-3-glu /100 g de fruta), sin embargo esto puede ser debido al atrapamiento y degradación de las moléculas de antocianinas durante el proceso de aspersión por spray dryier.

En la actividad de agua se obtuvo un valor de 0,33, cuyo valor es inferior al requerido para que no haya proliferación de microorganismos (Aw<0,60), y la saturación obtenida fue de 47,92 un valor adecuado para intensidad del color en tonalidades rojas-rosadas. Mostrando que la microencapsulación por spray dryer es un buen método para conservar las propiedades organolépticas y de color de las antocianinas extraídas en mora de Castilla.

El pigmento natural obtenido a partir de mora de Castilla residual mostró una gran adaptabilidad para colorear el yogur con una intensidad de color menor a la otorgada por el pigmento sintético, obteniéndose valores de saturación de entre 10-12, con una mínima degradación durante las cuatro semanas de almacenamiento en refrigeración y persistiendo las tonalidades rojo-azulado.

3.6 Bibliografía

Acosta-Montoya, Ó., Vaillant, F., Cozzano, S., Mertz, C., Pérez, A. M., & Castro, M. V. (2010). Phenolic content and antioxidant capacity of tropical highland blackberry (Rubus adenotrichus Schltdl.) during three edible maturity stages. *Food Chemistry*, *119*(4), 1497–1501. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.032

Aguilera, M., DelCarmen, M., Reza-Vargas, C., Gerardo, R., Madinaveitia, C., Valenzuela, J. A., & Baca, P. R. (2012). Antocianinas de higo como colorantes para yogur natural. *Bio Revista Tecnia*. Retrieved from www.biotecnia.uson.mx

Albuquerque, B. R., Pinela, J., Barros, L., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2020). Anthocyanin-rich extract of jabuticaba epicarp as a natural colorant: Optimization of heat- and ultrasound-assisted extractions and application in a bakery product. *Food Chemistry*, *316*, 126364. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126364

Ayala, L., & Valenzuela, C. (2013). Caracterización fisicoquímica de mora de castilla (rubus glaucus benth) en seis estados de madurez. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, *11*(2), 10–18. Retrieved from http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n2/v11n2a02.pdf

Bernal, L., & Diaz, C. (2012). *Evaluación de las Propiedades Bioactivas de Mora (Rubus glaucus) y*

Agraz (Vaccinium meridionale Swartz), en Fresco y Durante Procesos de Transformación. Nacional de Colombia. Retrieved from http://www.bdigital.unal.edu.co/8376/1/17208.2012.pdf

Bernal, L., Melo, L., & Díaz, C. (2014). Evaluation of the Antioxidant Properties and Aromatic Profile During Maturation of The Blackberry (Rubus glaucus Benth) and The Bilberry (Vaccinium meridionale Swartz). *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, *67*(1), 7209–7218. https://doi.org/10.15446/rfnam.v67n1.42649

Celli, G. B., Ghanem, A., & Brooks, M. S. L. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from haskap berries (Lonicera caerulea L.) using Response Surface Methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, *27*, 449–455. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.06.014

Chen, M., Zhao, Y., & Yu, S. (2015). Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses. *Food Chemistry*, *172*, 543–550. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.110

Chen, Q., Yu, H., Tang, H., & Wang, X. (2012). Identification and expression analysis of genes involved in anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in the fruit of blackberry. *Scientia Horticulturae*, *141*, 61–68. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.04.025

Dai, J., Gupte, A., & Mumper, R. . (2009). A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: Extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*, *47*(4), 837–847. https://doi.org/10.1016/J.FCT.2009.01.016

Dane, & Antioaquia, G. de. (2013). *El cultivo de la mora de Castilla (Rubus glucus Benth) frutal de clima frío moderado, con propiedades curativas para la salud humana*. Colombia. Retrieved from https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/insumos_factores_de_produccion_nov_2013.pdf

Dávila, J. (2016). *Residuos de mora y aguacate con potencial para la industria farmacéutica - UNIMEDIOS: Universidad Nacional de Colombia*. Manizales. Retrieved from http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle/article/residuos-de-mora-y-aguacate-con-potencial-para-la-industria-farmaceutica.html

DNP. Estudio de perdida y Desperdicio de alimentos en Colombia (2016). Retrieved from https://colaboracion.dnp.gov.co/CDT/Prensa/Presentaciones/Perdidas y Desperdicios de alimentos en Colombia.pdf

Elisia, I., Hu, C., Popovich, D. G., & Kitts, D. D. (2006). Antioxidant assessment of an anthocyanin-enriched blackberry extract. *Food Chemistry*, *101*(3), 1052–1058. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.060

Escobar, C. (2015). *Cadenas Productivas*.

Espada-Bellido, E., Ferreiro-González, M., Carrera, C., Palma, M., Barroso, C. G., & Barbero, G. F. (2017). Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (Morus nigra) pulp. *Food Chemistry*, *219*, 23–32.

https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.122

FAO, & OMS. (2017). Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios (GSFA) Base de Datos en Línea. Retrieved October 8, 2017, from http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/gsfa/en/

Figueroa Martínez, P. M., Hurtado Benavides, A. M., & Ceballos Ortíz, M. A. (2016). Microencapsulación mediante secado por aspersión de aceite de mora (Rubus glaucus) extraido con CO2 supercrítico. *Revista Colombiana de Química*, *45*(2), 39. https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v45n2.57481

Flores, E. (2017). Extracción de Antioxidantes de las Bayas del Sauco (Sambucus nigra L. subsp. peruviana) con Ultrasonido, Microondas, Enzimas y Maceración para la Obtención de Zumos Funcionales. *Informacion Tecnologica*, *28*(1), 121–132. https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000100012

Freire, V., & Brito, B. (2012). *Alternativas de mejora en el manejo de poscosecha y comercialización de la mora de Castilla Proveniente de la provincia de Tungurahua*. Escuela Politécnica Nacional. Retrieved from http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/4609/1/CD-4242.pdf

Gancel, A. L., Feneuil, A., Acosta, O., Pérez, A. M., & Vaillant, F. (2011). Impact of industrial processing and storage on major polyphenols and the antioxidant capacity of tropical highland blackberry (Rubus adenotrichus). *Food Research International*, *44*(7), 2243–2251. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.06.013

García, A., & López, A. (2012). Biopolimeros utilizados en la encapsulación. *Temas Selectos de Ingenieria En Alimentos*. Retrieved from http://www.udlap.mx/

Garcia Chacón, J. (2017). Desarrollo de microencapsulados enriquecidos en carotenoides a partir de residuos de frutas tropicales para uso como colorantes naturales en alimentos. Tesis Maestría., 129. Retrieved from http://www.bdigital.unal.edu.co/57481/7/julianamariagarciachacon.2017.pdf

Garzón, G. A., Riedl, K. M., & Schwartz, S. J. (2009). Determination of Anthocyanins, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity in Andes Berry (Rubus glaucus Benth). *Journal of Food Science*, *74*(3), C227–C232. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01092.x

Gaviria, S., Mejia, F., Castro, M., Gómez, E., & Castro, F. (2016). *Pérdida y Desperdicio de alimentos en Colombia*. *Departamento Nacional de Planeación* (Vol. 39).

Golmohamadi, A., Möller, G., Powers, J., & Nindo, C. (2013). Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. *Ultrasonics Sonochemistry*, *20*(5), 1316–1323. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.01.020

Grijalba, C., Calderón, L., & Pérez, M. (2010). Rendimiento y calidad de la fruta en mora de castilla (rubus glaucus benth), con y sin espinas, cultivada en campo abierto en Cajicá. *ResearchGate*, 25–31. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Maria_Perez-Trujillo/publication/277264501_Rendimiento_y_calidad_de_la_fruta_en_mora_de_castilla_rubus_glaucus_benth_con_y_sin_espinas_cultivada_en_campo_abierto_en_Cajica_Cundinamarca_Colombia/links/55c8926408aeca747d

Guerrero, D., & Moreno, N. (2011). *Extracción y evaluación de un colorante natural a partir de la pepa de aguacate para el teñido de las fibras de algodón y poliéster*. Ténica de Ambato. Retrieved from http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/1757/1/SBQ 2 Ref.3396

Guevara, L. L. (2007). Microencapsulación de algunos compuestos bioactivos mediante secado por aspersión Microencapsulation of some bioactive compounds through spray drying, *5*.

He, B., Zhang, L. L., Yue, X. Y., Liang, J., Jiang, J., Gao, X. L., & Yue, P. X. (2016). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (Vaccinium ashei) wine pomace. *Food Chemistry*, *204*, 70–76. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.094

Ivanovic, J., Tadic, V., Dimitrijevic, S., Stamenic, M., Petrovic, S., & Zizovic, I. (2014). Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar "Čačanska Bestrna." *Industrial Crops and Products*, *53*, 274–281. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.048

Leiva, L., Arévalo, E., Díaz, A., Galindo, J., & Rivero, M. (2011). *Manejo fitosanitario del cultivo del mora (Rubus glaucus Benth) Medidas para la temporada invernal*. *Ica*. Bogotá D.C.

Li, X., Chen, F., Li, S., Jia, J., Gu, H., & Yang, L. (2016). An efficient homogenate-microwave-assisted extraction of flavonols and anthocyanins from blackcurrant marc: Optimization using combination of Plackett-Burman design and Box-Behnken design. *Industrial Crops and Products*, *94*, 834–847. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.063

Li, Y., Han, L., Ma, R., Xu, X., Zhao, C., Wang, Z., … Hu, X. (2012a). Effect of energy density and citric acid concentration on anthocyanins yield and solution temperature of grape peel in microwave-Assisted extraction process. *Journal of Food Engineering*, *109*(2), 274–280. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.021

Li, Y., Han, L., Ma, R., Xu, X., Zhao, C., Wang, Z., … Hu, X. (2012b). Effect of energy density and citric acid concentration on anthocyanins yield and solution temperature of grape peel in microwave-Assisted extraction process. *Journal of Food Engineering*, *109*(2), 274–280. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.021

Mane, S., Bremner, D. H., Tziboula-Clarke, A., & Lemos, M. A. (2015). Effect of ultrasound on the extraction of total anthocyanins from Purple Majesty potato. *Ultrasonics Sonochemistry*, *27*, 509–514. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.06.021

Mera, C., & Fernández, B. (2015). *Desarrollo de técnicas de extracción y análisis de antocianinas y compuestos fenólicos en Jaboticaba (Myrciaria Cauliflora)*. Universidad de Cadiz. Retrieved from http://rodin.uca.es/xmlui/bitstream/handle/10498/17722/TFG Celia Final.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Navas, M. J., Jiménez-moreno, A. M., Bueno, J. M., Sáez-plaza, P., Asuero, A. G., Mar, A., … Asuero, A. G. (2012). Critical Reviews in Analytical Chemistry Analysis and Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments . Part IV : Extraction of Anthocyanins Analysis and Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments . Part IV : Extraction of Anthocyanins, *8347*. https://doi.org/10.1080/10408347.2012.680343

Oancea, S., Grosu, C., Ketney, O., & Stoia, M. (2013). Conventional and ultrasound-assisted

extraction of anthocyanins from blackberry and sweet cherry cultivars. *Acta Chimica Slovenica*, *60*(2), 383–389.

Osorio, C., Acevedo, B., Hillebrand, S., Carriazo, J., Winterhalter, P., & Morales, A. L. (2010). Microencapsulation by spray-drying of anthocyanin pigments from corozo (Bactris guineensis) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(11), 6977–6985. https://doi.org/10.1021/jf100536g

Otálora, M. C., Carriazo, J. G., Iturriaga, L., Osorio, C., & Nazareno, M. A. (2016). Encapsulating betalains from Opuntia ficus-indica fruits by ionic gelation: Pigment chemical stability during storage of beads. *Food Chemistry*, *202*, 373–382. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.115

Ötles, S. (2012). *Methods of analysis of food components and additives*. (Z. Sikorski, Ed.), *FOODnetBASE* (Second, Vol. 2). CRC Press Taylor & Francis Group.

Perkins-Veazie, P., Clark, J. R., Huber, D. J., & Baldwin, E. A. (2000). *Ripening Physiology in "Navaho" Thornless Blackberries: Color, Respiration, Ethylene Production, Softening, and Compositional Changes*. *J. AMER. SOC. HORT. SCI* (Vol. 125). Retrieved from http://journal.ashspublications.org/content/125/3/357.full.pdf

Pinela, J., Prieto, M. A., Pereira, E., Jabeur, I., Barreiro, M. F., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Optimization of heat- and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from Hibiscus sabdariffa calyces for natural food colorants. *Food Chemistry*, *275*, 309–321. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.09.118

Prieto, G., & Acevedo, B. (2014). *Proceso de microencapsulación de colorantes naturales presentes en la fresa (Fragaria vesca). AVANCES Investigación en Ingeniería - No. 1 (2014) I*.

Puertas-Mejía, M. A., Ríos-Yepes, Y., & Alberto Rojano, C. B. (2013). Determinación de antocianinas mediante extracción asistida por radiación de microondas en frijol (Phaseolus vulgaris L.) de alto consumo en Antioquia-Colombia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, *18*(2), 288–297. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000200012

Revelo, D. (2014). Microencapsulación de tomate de árbol rojo (Solanum betaceum cav.) mediante spray drying para aplicación en productos lácteos. Retrieved from http://www.bdigital.unal.edu.co/46091/1/1113639059.2014.pdf

Rimac, S., Sabolović, M. B., Zlabur, J. Š., & Jelovecki, M. (2015). Colour stability and antioxidant activity of some berry extracts, *11*, 115–119.

Rodriguez Amaya, D. B. (2016). Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science*, *7*, 20–26. https://doi.org/10.1016/J.COFS.2015.08.004

Rodríguez, C., & Villegas, B. (2015). *Caracterización de los cultivos de mora de castilla (rubus glaucus benth) con espinas, en dos fincas del municipio de guática, risaralda.* Tecnoógica de Pereira. Retrieved from http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/6118/63438R696.pdf?sequence=1

Rojas, Z., Delgadillo, R., & Moreno, R. (2015). Extraction of antioxidants of blackberry (rubus

fruticosus) residue using conventional and emerging technology. *Revistas y Boletines Científicos*, 1–14. Retrieved from https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/icsa/n7/p3.html

Rosero, G., Corral, A., Álvarez, C., Serna, L., & Ordoñez, L. (2013). Evaluación del color en yogur elaborado con extracto de residuos de uvas Isabella como colorante natural, 3. https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v34n1supl.57898

Sabino, L. B. de S., Filho, E. G. A., Fernandes, F. A. N., de Brito, E. S., & Júnior, I. J. da S. (2021). Optimization of pressurized liquid extraction and ultrasound methods for recovery of anthocyanins present in jambolan fruit (Syzygium cumini L.). *Food and Bioproducts Processing*, *127*, 77–89. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.02.012

Sanchez-Reinoso, Z., Osorio, C., & Herrera, A. (2017). Effect of microencapsulation by spray drying on cocoa aroma compounds and physicochemical characterisation of microencapsulates. *Powder Technology*, *318*, 110–119. https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.05.040

Santacruz, L., Carriazo, J. G., Almanza, O., & Osorio, C. (2012). Anthocyanin Composition of Wild Colombian Fruits and Antioxidant Capacity Measurement by Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(6), 1397–1404. https://doi.org/10.1021/jf2042533

Sena. (2014). *Manual Ténico del Cultivo de Mora Bajo Buenas Practicas Agricolas*. Medellín. Retrieved from http://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/ mora enero 2015 liviano.pdf

Shah, N. P. (2017). *Yogurt in Health and Disease Prevention*. Academic Press, an imprint of Elsevier.

Soria, R. (2014). *Cuantificación y logística de la biomasa en el cultivo de mora (rubus glaucus benth cv. de castilla)*. Universidad Técnica de Ambato. Retrieved from http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8473/1/Tesis-89 Ingeniería Agronómica -CD 304.pdf

Stella, L., & Meneses, B. (2009). Caracterización, evaluación y producción de material limpio de mora con alto valor agregado. In *MADR, Corpoica* (1st ed., pp. 5–19). Corpoica. Retrieved from http://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/2009122101453_Caracterization_mora.pdf

Villacrez, J. (2013). *Desarrollo de microencapsulados por SPRAY DRYING a partir de frutos de mora de castilla (Rubus glaucus Benth)*. Universidad Nacional de Colombia. Retrieved from http://www.bdigital.unal.edu.co/47240/1/197569.2013.pdf

Wang, W., Jung, J., Tomasino, E., & Zhao, Y. (2016). Optimization of solvent and ultrasound-assisted extraction for different anthocyanin rich fruit and their effects on anthocyanin compositions. *LWT - Food Science and Technology*, *72*, 229–238. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.041

Wen, Y., Chen, H., Zhou, X., Deng, Q., Zhao, Y., Zhao, C., & Gong, X. (2015). Optimization of the microwave-assisted extraction and antioxidant activities of anthocyanins from blackberry using a response surface methodology. *RSC Advances*, *5*(25), 19686–19695. https://doi.org/10.1039/c4ra16396f

Zapata, L., Carcel, J., & Clemente, G. (2014). *Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria*.

Universidad Politécnica de Valencia. Retrieved from http://www.blueberrieschile.cl/wp-content/uploads/2016/05/obtenciondeextracto.pdf

Zhu, Z., Guan, Q., Koubaa, M., Barba, F. J., Roohinejad, S., Cravotto, G., … He, J. (2017). HPLC-DAD-ESI-MS2 analytical profile of extracts obtained from purple sweet potato after green ultrasound-assisted extraction. *Food Chemistry*, *215*, 391–400. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.157

4. Conclusiones y recomendaciones

4.1 Conclusiones

El contenido de antocianinas en un fruto no climatérico como la mora de Castilla (*Rubus glaucus*) aumento durante la senescencia del mismo, después de considerarse un residuo para el consumo humano, el contenido de antocianinas fue 1.5 veces mayor al encontrado por diferentes autores, el contenido de antocianinas varió entre los 40 mg y los 50 mg de cyn-3-glu /100 g fruta fresca en su punto de madurez comercial y aumento hasta aproximadamente los 100 mg de cyn-3.glu/ 100 g fruta fresca. Lo que lo convierte en un residuo con alto potencial colorante para su posterior extracción.

De los procesos de extracción convencional, asistida por ultrasonido y microondas, el contenido de antocianinas fue 93,18 mg cyn-3-glu/100g fruta, 97,82 mg cyn-3-glu /100 g de fruta y 86,42 mg cyn-3-glu /100 g de fruta respectivamente, mostrándose que la técnica de extracción asistida por ultrasonido fue la mejor para la extracción de antocianinas utilizando como solvente el etanol, la relación entre fruta solvente 3:10 g fruta/g solvente, parámetro de mayor incidencia en los extractos enriquecidos de antocianinas. Esta tecnología verde sirvió para minimizar la cantidad de solvente usado durante la extracción, además de facilitar la separación y concentración en etapas posteriores.

El secado por aspersión mostro ser una técnica de microencapsulación útil para conservar las propiedades de color de los extractos enriquecidos de antocianinas, además de ser un método de estabilización, el mejor tratamiento fue a 150 °C obteniéndose un valor de 41,79 mg de cyn-3-glu g fruta fresca. La maltodextrina mostró ser un agente encapsulante adecuado para la encapsulación de las moléculas de antocianinas y para su posterior aplicación en una bebida láctea como yogur.

La biomasa residual de mora de Castilla es una potencial materia prima para producir extractos colororantes, después de un proceso extracción, estabilización y encapsulación y posterior aplicación como pigmento natural en una bebida láctea conservando las tonalidades rojo-rosadas deseadas.

4.2 Recomendaciones

Se recomienda evaluar otras condiciones de extracción en el proceso de optimización en la extracción asistida con ultrasonido como por ejemplo la densidad energética o las pulsaciones, puesto que la amplitud no mostro mayor influencia dentro del proceso.

Es importante evaluar las condiciones de extracción de las antocianinas del producto encapsulado.

Es importante evaluar en el yogur aspectos sensoriales diferentes al color para garantizar su afinidad con el producto final y conocer si se generan cambios durante la vida útil del producto.

Anexo: Nombrar el anexo A de acuerdo con su contenido

Anexo 1. Encuesta realizada en cada uno de los eslabones de la cadena de suministro

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Prueba sobre Mora de Castilla *(Rubus glaucus)* durante su periodo de post-cosecha, por la cual llega a ser considerada desecho, en diferentes niveles de la cadena de suministro. Nivel: _____. Género: Masculino___ Femenino___

Marque con una "X" la casilla que corresponda a la causa conocida por la cual considera que la mora se convierte en desecho y deja de tener un valor útil.

¿Cómo se almacena la mora?	
Temperatura ambiente	
Temperatura refrigeración	
Otro:	

¿Qué hacen con el residuo?	
Fábricas de agroindustria	
Se tira a la basura	
Compostaje	
Abono	
Otro:	

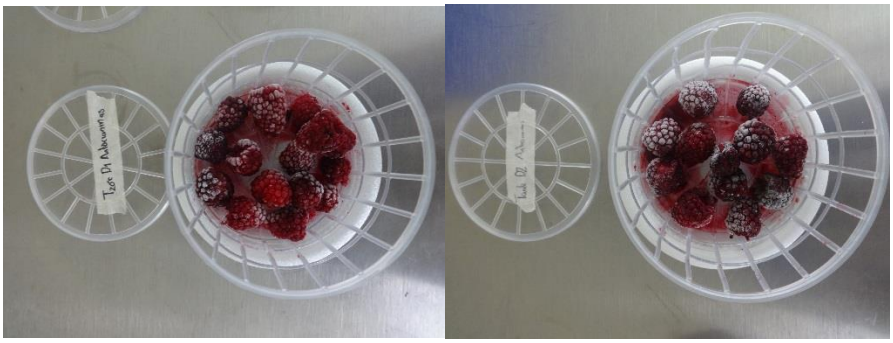
¿Cómo llega y como se vende?		
Empaque tradicional ó Caja de madera		
Cajas de cartón		
Canastillas plásticas		
Canecas Plásticas (20-25kg)		
Otro:		

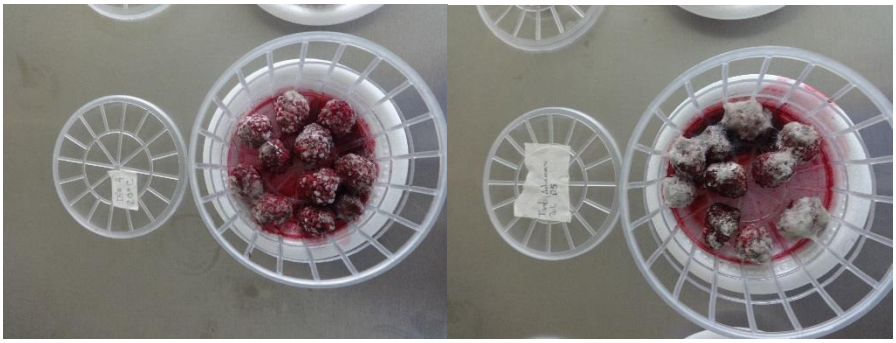
Presentación y Tipo de material	
Empaque tradicional ó Caja de madera	
Cajas de cartón	
Canastillas plásticas	
Canecas Plásticas (20-25kg)	
Otro:	

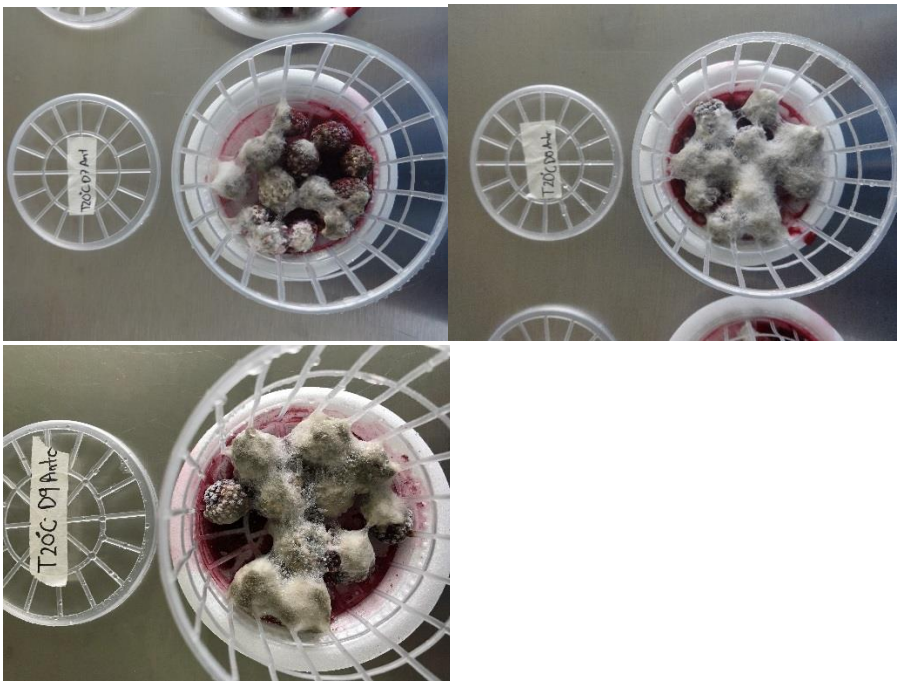
¿Razones por la que se desperdicia?	
Daños mecánicos (Lixiviación)	
Humedad	
Fermentación (Mal olor)	
Hongos	
Poca demanda	
Otro:	

¿Tiempo máximo a la venta?	
1 días	
2 días	
3 días	
Otro:	

Muestras Tratamiento 20 °C







Extractos:

Anexo: Ficha técnica Maltodextrina D20

cimpa s.a.s. Insumos y tecnología para la industria alimentaria	FICHA TECNICA MALTODEXTRINA	CI – 260
		Página 1 de 3

Descripción

Maltodextrinas son polvos suaves, mínimamente blanco dulce de hidratos de carbono. Se trata de productos con perfiles de polímero de longitud variable que proporcionan una amplia gama de características de viscosidad y solubilidad.
No. CAS: 9050-36-6
Formula química: $(C_6H_{10}O_5)$ n.

Áreas de aplicación

Maltodextrina tiene de aumento de volumen deseable y características de consistencia y es resistente al apelmazamiento. Se sugiere para su uso en bebidas, pasteles y galletas, dulces mezclas de especialidad, postres congelados, esmaltes, alimentos deshidratados, jarabes saborizados, y como portador de condimentos, edulcorantes artificiales, y muchos otros productos especializados en polvo.

Beneficios

Extensor, estabilizante, reestructurador.
Sabor muy suave, agente de carga ideales, relativamente no higroscópico, carbohidrato complejo, no hace nube.

Dosis

2 – 3% y/o según el producto a elaborar y su formulación.

Composición

Maíz.

Especificaciones físico-químicas

Apariencia:	polvo blanco de sombra pequeña amarilla No tiene forma fija
Olor:	olor especial de maltodextrina y Sin olor excepcional
Sabor:	dulce o menos dulce, sin otro gusto
Humedad% (m/m):	6% máx.
pH (en solución de agua 50%):	4.5-6.5
Reacción de yodo:	sin reacción azul
Dextrosa equivalente, PCT:	18-20
Cenizas sulfatadas:	0.6% máx.
Solubilidad:	98% min

Avenida Américas 63 - 05
PBX: 420 20 97
Bogotá D.C.

cimpa@cimpa.com.co
www.cimpa.com.co

Parque Agroindustrial de la Sabana
Bodega 97 - 98 . Tel: 091 894 82 25
Km 1 Via Mosquera - Bogotá

cimpa® s.a.s. Insumos y tecnología para la industria alimentaria	FICHA TECNICA MALTODEXTRINA	CI – 260 Página 2 de 3

Especificaciones microbiológicas

Bacteria patogénica: No existe

Especificaciones de metales pesados

Arsénico mg / kg: 0.5 máx.
Plomo mg / kg: 0.5 máx.

Datos nutricionales

Disponible según requerimiento.

Almacenamiento

Mantener en un lugar seco, fresco y ventilado.
Vida útil: 24 meses.

Embalaje

Saco 25 kg, 1 kg

Pureza y legislación

Deben siempre consultarse las regulaciones alimentarias locales respecto al estatus legal de este producto, así como la legislación relativa a su uso en alimentos, ya que puede variar de un país a otro. Se puede obtener información acerca del estado legal de este producto bajo petición.

Seguridad y manipulación

La hoja de seguridad del material esta disponible según se requiera.

País de origen

China

Avenida Américas 63 - 05
PBX: 420 20 97
Bogotá D.C.

cimpa@cimpa.com.co
www.cimpa.com.co

Parque Agroindustrial de la Sabana
Bodega 97 - 98 . Tel: 091 894 82 25
Km 1 Vía Mosquera - Bogotá

cimpa s.a.s. Insumos y tecnología para la industria alimentaria	FICHA TECNICA MALTODEXTRINA	CI – 260
		Página 3 de 3

Certificación Kosher

Disponible según requerimiento.

GMO

Este Producto está libre de GMO

Alérgenos

Este Producto está libre de alérgenos

Certificación de Plaguicidas

El producto no detecta residuos de pesticidas

Última fecha de Actualización: 25 de Junio de 2019

CONTROL DE CALIDAD

ASEGURAMIENTO DE LA SATISFACCION DEL CLIENTE
cimpa s.a.s.
REVISADO
GESTION DE CALIDAD

Cimpa s.a.s, declara que los resultados reportados en la presente ficha técnica, son tomados de la información suministrada por nuestro proveedor, por lo tanto se fundamenta en sus técnicas de análisis autorizados. dicha información no exime a nuestros clientes de realizar sus propios análisis.

Avenida Américas 63 - 05
PBX: 420 20 97
Bogotá D.C.

cimpa@cimpa.com.co
www.cimpa.com.co

Parque Agroindustrial de la Saba
Bodega 97 - 98 . Tel: 091 894 82
Km 1 Vía Mosquera - Bogotá

Bibliografía

Acosta-Montoya, Ó., Vaillant, F., Cozzano, S., Mertz, C., Pérez, A. M., & Castro, M. V. (2010). Phenolic content and antioxidant capacity of tropical highland blackberry (Rubus adenotrichus Schltdl.) during three edible maturity stages. *Food Chemistry*, *119*(4), 1497–1501. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.032

Aguilera, M., DelCarmen, M., Reza-Vargas, C., Gerardo, R., Madinaveitia, C., Valenzuela, J. A., & Baca, P. R. (2012). Antocianinas de higo como colorantes para yogur natural. *Bio Revista Tecnia*. Retrieved from www.biotecnia.uson.mx

Albuquerque, B. R., Pinela, J., Barros, L., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2020). Anthocyanin-rich extract of jabuticaba epicarp as a natural colorant: Optimization of heat- and ultrasound-assisted extractions and application in a bakery product. *Food Chemistry*, *316*, 126364. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126364

Ayala, L., & Valenzuela, C. (2013). Caracterización fisicoquímica de mora de castilla (rubus glaucus benth) en seis estados de madurez. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, *11*(2), 10–18. Retrieved from http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n2/v11n2a02.pdf

Bernal, L., & Diaz, C. (2012). *Evaluación de las Propiedades Bioactivas de Mora (Rubus glaucus) y Agraz (Vaccinium meridionale Swartz), en Fresco y Durante Procesos de Transformación*. Nacional de Colombia. Retrieved from http://www.bdigital.unal.edu.co/8376/1/17208.2012.pdf

Bernal, L., Melo, L., & Díaz, C. (2014). Evaluation of the Antioxidant Properties and Aromatic Profile During Maturation of The Blackberry (Rubus glaucus Benth) and The Bilberry (Vaccinium meridionale Swartz). *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, *67*(1), 7209–7218. https://doi.org/10.15446/rfnam.v67n1.42649

Celli, G. B., Ghanem, A., & Brooks, M. S. L. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from haskap berries (Lonicera caerulea L.) using Response Surface Methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, *27*, 449–455. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.06.014

Chen, M., Zhao, Y., & Yu, S. (2015). Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses. *Food Chemistry*, *172*, 543–550. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.110

Chen, Q., Yu, H., Tang, H., & Wang, X. (2012). Identification and expression analysis of genes involved in anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in the fruit of blackberry. *Scientia Horticulturae*, *141*, 61–68. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.04.025

Dai, J., Gupte, A., & Mumper, R. . (2009). A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: Extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*, *47*(4), 837–847. https://doi.org/10.1016/J.FCT.2009.01.016

Dane, & Antioaquia, G. de. (2013). *El cultivo de la mora de Castilla (Rubus glucus Benth) frutal de clima frío moderado, con propiedades curativas para la salud humana*.

Colombia. Retrieved from https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/insumos_factores_de_produccion_nov_2013.pdf

Dávila, J. (2016). *Residuos de mora y aguacate con potencial para la industria farmacéutica - UNIMEDIOS: Universidad Nacional de Colombia*. Manizales. Retrieved from http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle/article/residuos-de-mora-y-aguacate-con-potencial-para-la-industria-farmaceutica.html

DNP. Estudio de perdida y Desperdicio de alimentos en Colombia (2016). Retrieved from https://colaboracion.dnp.gov.co/CDT/Prensa/Presentaciones/Perdidas y Desperdicios de alimentos en Colombia.pdf

Elisia, I., Hu, C., Popovich, D. G., & Kitts, D. D. (2006). Antioxidant assessment of an anthocyanin-enriched blackberry extract. *Food Chemistry*, *101*(3), 1052–1058. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.060

Escobar, C. (2015). *Cadenas Productivas*.

Espada-Bellido, E., Ferreiro-González, M., Carrera, C., Palma, M., Barroso, C. G., & Barbero, G. F. (2017). Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (Morus nigra) pulp. *Food Chemistry*, *219*, 23–32. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.122

FAO, & OMS. (2017). Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios (GSFA) Base de Datos en Línea. Retrieved October 8, 2017, from http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/gsfa/en/

Figueroa Martínez, P. M., Hurtado Benavides, A. M., & Ceballos Ortíz, M. A. (2016). Microencapsulación mediante secado por aspersión de aceite de mora (Rubus glaucus) extraido con CO2 supercrítico. *Revista Colombiana de Química*, *45*(2), 39. https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v45n2.57481

Flores, E. (2017). Extracción de Antioxidantes de las Bayas del Sauco (Sambucus nigra L. subsp. peruviana) con Ultrasonido, Microondas, Enzimas y Maceración para la Obtención de Zumos Funcionales. *Informacion Tecnologica*, *28*(1), 121–132. https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000100012

Freire, V., & Brito, B. (2012). *Alternativas de mejora en el manejo de poscosecha y comercialización de la mora de Castilla Proveniente de la provincia de Tungurahua*. Escuela Politécnica Nacional. Retrieved from http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/4609/1/CD-4242.pdf

Gancel, A. L., Feneuil, A., Acosta, O., Pérez, A. M., & Vaillant, F. (2011). Impact of industrial processing and storage on major polyphenols and the antioxidant capacity of tropical highland blackberry (Rubus adenotrichus). *Food Research International*, *44*(7), 2243–2251. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.06.013

García, A., & López, A. (2012). Biopolimeros utilizados en la encapsulación. *Temas Selectos de Ingenieria En Alimentos*. Retrieved from http://www.udlap.mx/

Garcia Chacón, J. (2017). Desarrollo de microencapsulados enriquecidos en carotenoides a partir de residuos de frutas tropicales para uso como colorantes naturales en

alimentos. Tesis Maestría., 129. Retrieved from http://www.bdigital.unal.edu.co/57481/7/julianamariagarciachacon.2017.pdf

Garzón, G. A., Riedl, K. M., & Schwartz, S. J. (2009). Determination of Anthocyanins, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity in Andes Berry (Rubus glaucus Benth). *Journal of Food Science*, *74*(3), C227–C232. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01092.x

Gaviria, S., Mejia, F., Castro, M., Gómez, E., & Castro, F. (2016). *Pérdida y Desperdicio de alimentos en Colombia*. *Departamento Nacional de Planeación* (Vol. 39).

Golmohamadi, A., Möller, G., Powers, J., & Nindo, C. (2013). Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. *Ultrasonics Sonochemistry*, *20*(5), 1316–1323. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.01.020

Grijalba, C., Calderón, L., & Pérez, M. (2010). Rendimiento y calidad de la fruta en mora de castilla (rubus glaucus benth), con y sin espinas, cultivada en campo abierto en Cajicá. *ResearchGate*, 25–31. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Maria_Perez-Trujillo/publication/277264501_Rendimiento_y_calidad_de_la_fruta_en_mora_de_castilla_rubus_glaucus_benth_con_y_sin_espinas_cultivada_en_campo_abierto_en_Cajica_Cundinamarca_Colombia/links/55c8926408aeca747d

Guerrero, D., & Moreno, N. (2011). *Extracción y evaluación de un colorante natural a partir de la pepa de aguacate para el teñido de las fibras de algodón y poliéster*. Ténica de Ambato. Retrieved from http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/1757/1/SBQ 2 Ref.3396

Guevara, L. L. (2007). Microencapsulación de algunos compuestos bioactivos mediante secado por aspersión Microencapsulation of some bioactive compounds through spray drying, *5*.

He, B., Zhang, L. L., Yue, X. Y., Liang, J., Jiang, J., Gao, X. L., & Yue, P. X. (2016). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (Vaccinium ashei) wine pomace. *Food Chemistry*, *204*, 70–76. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.094

Ivanovic, J., Tadic, V., Dimitrijevic, S., Stamenic, M., Petrovic, S., & Zizovic, I. (2014). Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar "Čačanska Bestrna." *Industrial Crops and Products*, *53*, 274–281. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.048

Leiva, L., Arévalo, E., Díaz, A., Galindo, J., & Rivero, M. (2011). *Manejo fitosanitario del cultivo del mora (Rubus glaucus Benth) Medidas para la temporada invernal*. *Ica*. Bogotá D.C.

Li, X., Chen, F., Li, S., Jia, J., Gu, H., & Yang, L. (2016). An efficient homogenate-microwave-assisted extraction of flavonols and anthocyanins from blackcurrant marc: Optimization using combination of Plackett-Burman design and Box-Behnken design. *Industrial Crops and Products*, *94*, 834–847.

https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.063

Li, Y., Han, L., Ma, R., Xu, X., Zhao, C., Wang, Z., … Hu, X. (2012a). Effect of energy density and citric acid concentration on anthocyanins yield and solution temperature of grape peel in microwave-Assisted extraction process. *Journal of Food Engineering*, *109*(2), 274–280. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.021

Li, Y., Han, L., Ma, R., Xu, X., Zhao, C., Wang, Z., … Hu, X. (2012b). Effect of energy density and citric acid concentration on anthocyanins yield and solution temperature of grape peel in microwave-Assisted extraction process. *Journal of Food Engineering*, *109*(2), 274–280. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.021

Mane, S., Bremner, D. H., Tziboula-Clarke, A., & Lemos, M. A. (2015). Effect of ultrasound on the extraction of total anthocyanins from Purple Majesty potato. *Ultrasonics Sonochemistry*, *27*, 509–514. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.06.021

Mera, C., & Fernández, B. (2015). *Desarrollo de técnicas de extracción y análisis de antocianinas y compuestos fenólicos en Jaboticaba (Myrciaria Cauliflora)*. Universidad de Cadiz. Retrieved from http://rodin.uca.es/xmlui/bitstream/handle/10498/17722/TFG Celia Final.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Navas, M. J., Jiménez-moreno, A. M., Bueno, J. M., Sáez-plaza, P., Asuero, A. G., Mar, A., … Asuero, A. G. (2012). Critical Reviews in Analytical Chemistry Analysis and Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments . Part IV : Extraction of Anthocyanins Analysis and Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments . Part IV : Extraction of Anthocyanins, *8347*. https://doi.org/10.1080/10408347.2012.680343

Oancea, S., Grosu, C., Ketney, O., & Stoia, M. (2013). Conventional and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from blackberry and sweet cherry cultivars. *Acta Chimica Slovenica*, *60*(2), 383–389.

Osorio, C., Acevedo, B., Hillebrand, S., Carriazo, J., Winterhalter, P., & Morales, A. L. (2010). Microencapsulation by spray-drying of anthocyanin pigments from corozo (Bactris guineensis) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(11), 6977–6985. https://doi.org/10.1021/jf100536g

Otálora, M. C., Carriazo, J. G., Iturriaga, L., Osorio, C., & Nazareno, M. A. (2016). Encapsulating betalains from Opuntia ficus-indica fruits by ionic gelation: Pigment chemical stability during storage of beads. *Food Chemistry*, *202*, 373–382. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.115

Ötles, S. (2012). *Methods of analysis of food components and additives*. (Z. Sikorski, Ed.), *FOODnetBASE* (Second, Vol. 2). CRC Press Taylor & Francis Group.

Perkins-Veazie, P., Clark, J. R., Huber, D. J., & Baldwin, E. A. (2000). *Ripening Physiology in "Navaho" Thornless Blackberries: Color, Respiration, Ethylene Production, Softening, and Compositional Changes*. *J. AMER. SOC. HORT. SCI* (Vol. 125). Retrieved from http://journal.ashspublications.org/content/125/3/357.full.pdf

Pinela, J., Prieto, M. A., Pereira, E., Jabeur, I., Barreiro, M. F., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Optimization of heat- and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins

from Hibiscus sabdariffa calyces for natural food colorants. *Food Chemistry*, *275*, 309–321. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.09.118

Prieto, G., & Acevedo, B. (2014). *Proceso de microencapsulación de colorantes naturales presentes en la fresa (Fragaria vesca)*. *AVANCES Investigación en Ingeniería - No. 1 (2014) I*.

Puertas-Mejía, M. A., Ríos-Yepes, Y., & Alberto Rojano, C. B. (2013). Determinación de antocianinas mediante extracción asistida por radiación de microondas en frijol (Phaseolus vulgaris L.) de alto consumo en Antioquia-Colombia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, *18*(2), 288–297. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000200012

Revelo, D. (2014). Microencapsulación de tomate de árbol rojo (Solanum betaceum cav.) mediante spray drying para aplicación en productos lácteos. Retrieved from http://www.bdigital.unal.edu.co/46091/1/1113639059.2014.pdf

Rimac, S., Sabolović, M. B., Zlabur, J. Š., & Jelovecki, M. (2015). Colour stability and antioxidant activity of some berry extracts, *11*, 115–119.

Rodriguez Amaya, D. B. (2016). Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science*, *7*, 20–26. https://doi.org/10.1016/J.COFS.2015.08.004

Rodríguez, C., & Villegas, B. (2015). *Caracterización de los cultivos de mora de castilla (rubus glaucus benth) con espinas, en dos fincas del municipio de guática, risaralda.* Tecnoógica de Pereira. Retrieved from http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/6118/63438R696.pdf?sequence=1

Rojas, Z., Delgadillo, R., & Moreno, R. (2015). Extraction of antioxidants of blackberry (rubus fruticosus) residue using conventional and emerging technology. *Revistas y Boletines Científicos*, 1–14. Retrieved from https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/icsa/n7/p3.html

Rosero, G., Corral, A., Álvarez, C., Serna, L., & Ordoñez, L. (2013). Evaluación del color en yogur elaborado con extracto de residuos de uvas Isabella como colorante natural, 3. https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v34n1supl.57898

Sabino, L. B. de S., Filho, E. G. A., Fernandes, F. A. N., de Brito, E. S., & Júnior, I. J. da S. (2021). Optimization of pressurized liquid extraction and ultrasound methods for recovery of anthocyanins present in jambolan fruit (Syzygium cumini L.). *Food and Bioproducts Processing*, *127*, 77–89. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.02.012

Sanchez-Reinoso, Z., Osorio, C., & Herrera, A. (2017). Effect of microencapsulation by spray drying on cocoa aroma compounds and physicochemical characterisation of microencapsulates. *Powder Technology*, *318*, 110–119. https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.05.040

Santacruz, L., Carriazo, J. G., Almanza, O., & Osorio, C. (2012). Anthocyanin Composition of Wild Colombian Fruits and Antioxidant Capacity Measurement by Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,

60(6), 1397–1404. https://doi.org/10.1021/jf2042533

Sena. (2014). *Manual Ténico del Cultivo de Mora Bajo Buenas Practicas Agricolas*. Medellín. Retrieved from http://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/mora enero 2015 liviano.pdf

Shah, N. P. (2017). *Yogurt in Health and Disease Prevention*. Academic Press, an imprint of Elsevier.

Soria, R. (2014). *Cuantificación y logística de la biomasa en el cultivo de mora (rubus glaucus benth cv. de castilla)*. Universidad Técnica de Ambato. Retrieved from http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8473/1/Tesis-89 Ingeniería Agronómica -CD 304.pdf

Stella, L., & Meneses, B. (2009). Caracterización, evaluación y producción de material limpio de mora con alto valor agregado. In *MADR, Corpoica* (1st ed., pp. 5–19). Corpoica. Retrieved from http://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/2009122101453_Caracterizacion_mora.pdf

Villacrez, J. (2013). *Desarrollo de microencapsulados por SPRAY DRYING a partir de frutos de mora de castilla (Rubus glaucus Benth)*. Universidad Nacional de Colombia. Retrieved from http://www.bdigital.unal.edu.co/47240/1/197569.2013.pdf

Wang, W., Jung, J., Tomasino, E., & Zhao, Y. (2016). Optimization of solvent and ultrasound-assisted extraction for different anthocyanin rich fruit and their effects on anthocyanin compositions. *LWT - Food Science and Technology*, *72*, 229–238. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.041

Wen, Y., Chen, H., Zhou, X., Deng, Q., Zhao, Y., Zhao, C., & Gong, X. (2015). Optimization of the microwave-assisted extraction and antioxidant activities of anthocyanins from blackberry using a response surface methodology. *RSC Advances*, *5*(25), 19686–19695. https://doi.org/10.1039/c4ra16396f

Zapata, L., Carcel, J., & Clemente, G. (2014). *Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria*. Universidad Politécnica de Valencia. Retrieved from http://www.blueberrieschile.cl/wp-content/uploads/2016/05/obtenciondeextracto.pdf

Zhu, Z., Guan, Q., Koubaa, M., Barba, F. J., Roohinejad, S., Cravotto, G., … He, J. (2017). HPLC-DAD-ESI-MS2 analytical profile of extracts obtained from purple sweet potato after green ultrasound-assisted extraction. *Food Chemistry*, *215*, 391–400. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.157