

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y METALURGIA**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**“EFECTO DE LA TEMPERATURA Y EL TIEMPO EN LA  
CINÉTICA DE DEGRADACIÓN TÉRMICA DE LAS  
ANTOCIANINAS DEL NÉCTAR DE ARÁNDANO (*Vaccinium  
corymbosum* L.)”**

**Tesis para optar el Título de  
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

Presentado por:

**Bach. Ismael SÁNCHEZ HUAUYA**

**AYACUCHO – PERÚ**

**2018**

# ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
<b>I</b>	
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	3
<b>OBJETIVOS</b>	4
<b>II</b>	
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	
2.1	ANTECEDENTES DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN 5
2.2	EL ARÁNDANO ( <i>Vaccinium corymbosum L.</i> ) 6
2.2.1	Generalidades 6
2.2.2	Taxonomía 7
2.2.3	Variedades 8
2.2.4	Composición fisicoquímica 10
2.2.5	Índice de madurez y cosecha de arándanos 11
2.2.6	Antioxidantes en arándanos 12
2.2.7	Producción de arándanos en el Perú 13
2.3	ANTOCIANINAS 14
2.3.1	Generalidades 14
2.3.2	Estructura 16
2.3.3	Biosíntesis 18
2.3.4	Características en el espectro del ultravioleta/visible 19
2.3.5	Factores que alteran la estabilidad de la antocianina 20
2.4	VÍAS DE DEGRADACIÓN DE LAS ANTOCIANINAS 26
2.5	LAS ANTOCIANINAS EN LA ALIMENTACIÓN 26
2.6	IMPORTANCIA DE LAS ANTOCIANINAS EN LA AGROINDUSTRIA 29
2.7	NÉCTAR 30
2.7.1	Definición 30
2.7.2	Operaciones básicas para elaborar el néctar 31
2.7.3	Requisitos para la elaboración de néctares según Norma Técnica Peruana 32

2.8	IMPORTANCIA DEL NÉCTAR DE FRUTAS EN LA ALIMENTACIÓN	33
2.9	METODOLOGÍAS DE DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIONINAS	34
2.9.1	ESPECTROFOTOMETRÍA	35
2.9.1.1	Generalidades	35
2.9.1.2	Principio de la espectrofotometría	35
2.9.1.3	Ley de Beer	36
2.9.1.4	Ley de Lambert	36
2.9.1.5	Transmitancia y absorción de las radiaciones	37
2.10	CINÉTICA QUÍMICA DE DETERIORO DE LA CALIDAD DE LOS ALIMENTOS	39
2.10.1	Orden de reacción	40
2.10.2	Velocidad de reacción	41
2.10.3	Tiempo de vida media ( $t_{0.5}$ )	44
2.10.4	Tiempo de reducción decimal (D)	45
2.10.5	Modelo de Arrhenius	45

### **III MATERIALES Y MÉTODOS**

3.1	MATERIALES	47
3.1.1	Materia prima	47
3.1.2	Insumos	49
3.1.3	Materiales de envase	49
3.1.4	Reactivos	49
3.1.5	Materiales de laboratorio y otros	49
3.1.6	Equipos e instrumentos	49
3.2	MÉTODOS DE ANÁLISIS	50
3.2.1	Determinación de sólidos solubles	50
3.2.2	Determinación del pH	50
3.2.3	Determinación de acidez titulable	50
3.2.4	Determinación de antocianinas totales	51
3.3	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	52

3.3.1	Muestreo del arándano	52
3.3.2	Obtención de jugo de arándano	52
3.3.3	Metodología para elaborar de néctar de arándano	53
3.3.4	Ecuaciones para determinar la cinética de degradación térmica del néctar de arándano	56
3.3.5	Determinación del orden de reacción y la constante de velocidad	57
3.3.6	Determinación de energía de activación	57
3.4	DISEÑO ESTADÍSTICO	57
<b>IV</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	
4.1	Caracterización fisicoquímica del arándano, variedad “emerald”	60
4.2	Degradación de antocianinas del néctar de arándano durante el tratamiento térmico de pasteurización	61
4.3	Orden de reacción para la degradación de antocianinas del néctar de arándano según el modelo planteado	67
4.4	Parámetros cinéticos de la degradación de antocianinas del néctar de arándano según el modelo planteado	72
<b>V</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	79
<b>VI</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	80
<b>VII</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	81
	<b>ANEXOS</b>	87

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>	
Figura 1	El fruto de arándano	7
Figura 2	Estructura básica de flaván (C <sub>6</sub> C <sub>3</sub> C <sub>6</sub> )	15
Figura 3	Estructura básica de la antocianina	16
Figura 4	Antocianinas comunes en la naturaleza ordenadas por incremento en color rojo e incremento en color azul	17
Figura 5	Biosíntesis de las antocianinas	19
Figura 6	Transformación estructural de la antocianina con el pH	22
Figura 7	Arándanos utilizados en la investigación	48
Figura 8	Diagrama de bloques del procesamiento del néctar de arándano ( <i>Vaccinium corymbosum</i> L.)	54
Figura 9	Variación de antocianinas totales en el néctar de arándano en función al tiempo	68
Figura 10	Variación del Ln (antocianinas totales) en el néctar de arándano en función al tiempo	68
Figura 11	D (min) frente a la temperatura de pasteurización	73
Figura 12	Modelo de Arrhenius de la degradación térmica de antocianinas en néctar de arándano	76
Figura 1.1	Formas estructurales predominantes de antocianinas presentes en los diferentes niveles de pH	89

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>	
Tabla 1	Clasificación taxonómica del arándano	7
Tabla 2	Especies del género <i>Vaccinium</i> de importancia comercial	9
Tabla 3	Composición química del arándano ( <i>Vaccinium corymbosum</i> L.)	11
Tabla 4	Producción cultivada de arándanos en el Perú	14
Tabla 5	Ecuaciones para los parámetros de calidad en función del tiempo para diferentes órdenes de reacción	42
Tabla 6	Características fisicoquímicas del arándano, variedad "emerald"	60
Tabla 7	Degradación de antocianinas totales (mg cianidina-3-glucosídico/L) en el néctar de arándano durante la temperatura de pasteurización y el tiempo del proceso de pasteurización	62
Tabla 8	ANVA para la variación de antocianinas totales del néctar de arándano según el modelo planteado	63
Tabla 9	Prueba de Tukey para la temperatura de pasteurización del néctar de arándano en la variación de antocianinas totales	66
Tabla 10	Prueba de Tukey para el tiempo de proceso del néctar de arándano en la variación de antocianinas totales	66
Tabla 11	Orden de reacción y coeficientes de degradación térmica de antocianinas totales en el néctar de arándano	70
Tabla 12	Parámetros cinéticos de degradación térmica de antocianinas en néctar de arándanos	73
Tabla 13	Valor de energía de activación según Arrhenius en la degradación térmica de antocianinas en néctar de arándanos	76

## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
<b>ANEXO 1</b> DETERMINACIÓN DE ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS TOTALES MEDIANTE EL MÉTODO pH-DIFERENCIAL (AOAC 2005-02 37.1.68)	88
<b>ANEXO 2</b> VALORES PROMEDIO DE LAS ABSORBANCIAS EN LA DETERMINACIÓN DE ANTOCIANINAS TOTALES EN EL NÉCTAR DE ARÁNDANO	91
<b>ANEXO 3</b> FOTOS DE LA DETERMINACIÓN FISICOQUÍMICAS DEL ARÁNDANO VARIEDAD "EMERALD"	93
<b>ANEXO 4</b> CARÁCTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DEL ARÁNDANO VARIEDAD "EMERALD"	94
<b>ANEXO 5</b> ANOVA PARA DISEÑO COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA)	95
<b>ANEXO 6</b> FICHA TÉCNICA	97
<b>ANEXO 7</b> NORMA TÉCNICA PERUANA (NTP 203.110-2009)	98

## **DEDICATORIA**

*En primer lugar, doy infinitamente gracias a DIOS, por haberme dado fuerza y valor para culminar esta etapa de mi vida.*

*A mis queridos Padres Eburcio Sánchez Gonzales y Justina Huauya Páucar por su paciencia y sacrificio día a día durante mi formación académica, sin el cual no hubiese sido posible lograr mis objetivos.*

*A mis hermanos Honorio, Plácida, Melchor y Bernabé por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien.*



## **AGRADECIMIENTOS**

- *A mi alma mater Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, a mis docentes de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia.*
- *Un agradecimiento especial a los Docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial por sus enseñanzas y consejos durante mi formación académica en las aulas de la Universidad.*
- *Un agradecimiento especial al Ing. César VARGAS LINDO por su valioso tiempo y apoyo en el asesoramiento de esta tesis.*
- *A mis hermanos, amigos y a todos quienes contribuyeron de una u otra forma en mi formación profesional.*
- *A mi enamorada Edith Tito Arotoma, por su amor y apoyo permanente.*

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene por objetivo determinar el efecto de la temperatura de pasteurización (65, 75 y 85°C) y el tiempo del proceso de tratamiento térmico (3, 6 y 9 minutos) en la cinética de degradación térmica de las antocianinas del néctar de arándano, utilizando el método pH-diferencial.

Se aplicó un diseño experimental factorial de 3Ax3Bx3, tres variables de temperatura y tiempo, realizándose 9 ensayos por distintos tratamientos con 3 repeticiones (total 27 unidades experimentales), para lo cual se realizó lecturas de absorbancia a 510 y 700 nanómetros (nm) respectivamente.

Las características fisicoquímicas del arándano variedad "emerald" determinados son: sólidos solubles (°brix) 12.30; acidez titulable (%ácido cítrico) 0.38; pH 3.32 y antocianinas (mg/L) 42.55. La degradación de antocianinas a las temperaturas y tiempos ensayadas en el néctar de arándano siguió una cinética de primer orden con una alta correlación ( $R^2$ ) de 0.9861; 0.9911 y 0.9998. Se determinó que a una temperatura de 65°C y en un tiempo de 3 minutos, la degradación de las antocianinas es menor, siendo la constante cinética ( $k$ ) de  $0.111 \text{ min}^{-1}$ , a partir de ésta constante se obtuvo el tiempo de vida media ( $t_{0.5}$ ) de 6.24 min y la energía de activación ( $E_a$ ) de 5.990 Kcal/mol.

Finalmente, la interacción de las dos variables estudiadas influye significativamente.

**PALABRAS CLAVES:** Antocianinas, antioxidante, degradación y pH diferencial.

## I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los consumidores tienen un interés particular en las bebidas que proporcionan compuestos bioactivos con efectos benéficos para la salud, tales como las antocianinas, además de suministrar otros nutrimentos. Estos compuestos se encuentran en altas concentraciones en los frutos, pétalos hojas de plantas, que se utilizan en la producción de bebidas como jugos y néctares (Garzón, 2008).

El consumo de néctar a partir frutas tiene una gran demanda, los mismos pueden prepararse a partir de arándanos que aportan compuestos fenólicos, vitaminas, antocianinas y otros pigmentos (Durante et al., 1995). Desde el punto de vista tecnológico, una de las principales ventajas de las antocianinas es su hidrosolubilidad, la cual facilita su incorporación en diferentes alimentos como néctares, no obstante, en la tecnología de néctares, éstos se pasteurizan para prolongar la vida útil y reducir la actividad enzimática (Colima 2010).

La temperatura de pasteurización provoca la degradación de azúcares, antocianinas y vitaminas las cuales pueden afectar significativamente las propiedades sensoriales y funcionales del producto. La presencia de estos compuestos bioactivos juegan un papel importante en la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, fundamentalmente a través del aporte de compuestos bioactivos de origen vegetal (Cerón, 2008).

El arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) presenta características muy importantes como: son muy bajos en calorías, tienen un gran contenido de fibra, vitamina C y vitamina K, tienen la capacidad antioxidante más alta de todas las frutas y vegetales que se consumen generalmente, con los flavonoides como principales antioxidantes presentes; el jugo de arándano protege contra el daño al ADN, una causa principal del envejecimiento y el cáncer (Jara, 2012).

Las antocianinas son el grupo más importante de pigmentos solubles visibles al ojo humano presentes en frutos, pétalos y hojas de plantas. Pertenecen al grupo de los flavonoides, metabolitos secundarios de los vegetales. Las antocianinas, que le confieren el color azul a frutos como el arándano, intervienen en el metabolismo celular humano disminuyendo la acción de los radicales libres asociados al envejecimiento, cáncer, enfermedades cardíacas y Alzheimer. La identificación y cuantificación de estos compuestos serviría de base para nuevos estudios y su posterior aplicación en la industria alimenticia (Coria et al., 2008).

En la presente investigación se estudió el efecto de la temperatura de pasteurización y el tiempo sobre la cinética de degradación térmica de las antocianinas del néctar de arándano.

## JUSTIFICACIÓN

El estudio del contenido y estabilidad de antocianinas es de gran importancia ya que son relativamente inestables y presentan reacciones degradativas en el procesamiento y almacenamiento de las mismas. El arándano (*Vaccinium corymbosum* L.), es fuente muy rica de antocianinas, de los cuales se pueden obtener extractos, jugos y néctares muy ricos de estos compuestos que son interesantes por su impacto sobre las características sensoriales de los alimentos, además, debido a su elevada actividad antioxidante y presentan potenciales beneficios para la salud (Zapata, 2014).

La conservación de las antocianinas y los flavonoides tienen gran cuantía para combatir el stress oxidativo, enfermedades cardiovasculares, cáncer y problemas de enfermedades crónicas de esta época. Así mismo sirve para la prevención de diversas enfermedades causadas por los radicales libres y los componentes tóxicos del medio, que causan daños en los vasos sanguíneos y en las células nerviosas, han llevado a la búsqueda de sustancias con alto potencial antioxidante, como los flavonoides, los cuales se encuentran en muchas frutas como el arándano (Cerón, 2008).

Conociendo la importancia que tienen las antocianinas, es necesario saber cuál es el efecto que tienen las variables en estudio sobre la degradación de las antocianinas, los resultados nos permitirán deducir cuál es el mejor tratamiento térmico y el tiempo de proceso de pasteurización para que el variable dependiente (antocianinas) se degrade en menor porcentaje.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto de la temperatura de pasteurización y el tiempo en la cinética de degradación térmica de las antocianinas del néctar de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.).

### OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar las características fisicoquímicas del arándano (*Vaccinium corymbosum* L.).
- Evaluar el efecto de la temperatura de pasteurización a (65, 75 y 85°C) y tiempos del proceso de tratamiento térmico (3, 6 y 9 minutos), sobre la degradación térmica de las antocianinas del néctar de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.).
- Determinar los valores de la cinética de degradación térmica de las antocianinas del néctar de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.).

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 ANTECEDENTES DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Sandoval (2015), determinó la degradación de antocianinas en los zumos pasteurizados de granada y arándano, durante el almacenaje a temperaturas de 30, 40, 50 y 60°C siguieron una cinética de primer orden; además, concluyó que el tiempo de vida media de las antocianinas a la temperatura más baja (30°C) en el zumo de granada fue de 405.68 horas y el de arándano de 320.73 horas, evidenciando que las antocianinas presentes en el jugo de granada son mas estables respecto a las de zumo de arándano.

Martínez et al., (2011) al estudiar la cinética de la estabilidad térmica y de almacenamiento de las antocianinas en jugo y concentrado de agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.) almacenadas a 4, 17 y 37°C concluyeron que

sigue una cinética de primer orden, y que la degradación de las antocianinas fue mayor para el jugo que para el concentrado. Una disminución significativa en la estabilidad de las antocianinas del concentrado se observó a pH cercano a 5.0.

## **2.2 EL ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum* L.)**

### **2.2.1 Generalidades**

El arándano es un arbusto pequeño de 0.2-0.4 m de altura, cuyo nombre científico es *Vaccinium corymbosum*. El fruto del arándano conforma el grupo de las frutas denominadas comercialmente en el ámbito internacional como berries, entre las que además se encuentran la frutilla, frambuesa (roja, negra, púrpura y amarilla), grosella, mora, baby kiwi, cranberry, etc. El fruto del arándano es una baya casi esférica de 7 a 15 mm de diámetro, de color azul claro a oscuro que contiene pequeñas semillas y presenta un sabor agridulce muy característico (Zapata, 2014).

Los frutos verdes tienen aproximadamente un 7% de azúcares y los maduros un 15%. Durante la maduración, se producen cambios en la pared celular que provocan un ablandamiento de los frutos. Esto mejora su sabor, pero los vuelve más vulnerables a los daños físicos y microbiológicos. Los arándanos maduros tienen una vida poscosecha muy corta. Para prolongarla se requiere controlar la temperatura y la humedad de almacenamiento. Así, para la comercialización en fresco no deben ser expuestos a temperaturas superiores a 10°C y, preferiblemente, deben almacenarse entre -0.5 y 0°C



con una humedad relativa de 90-95%. En estas condiciones tienen una vida útil de aproximadamente 1 mes (Stückrath y Petzold, 2007).



**Figura 1:** El fruto de arándano

*Fuente: Zapata (2014)*

### 2.2.2 Taxonomía

El arándano es un arbusto que pertenece a la familia de las Ericáceas, género *Vaccinium*. En la tabla 1 se da a conocer la clasificación taxonómica.

**Tabla 1:** Clasificación taxonómica del arándano

<b>Reino</b>	: Plantae
<b>División</b>	: Magnoliophyta
<b>Clase</b>	: Magnoliopsida
<b>Orden</b>	: Ericales
<b>Familia</b>	: Ericaceae
<b>Subfamilia</b>	: Vaccinioideae
<b>Género</b>	: <i>Vaccinium</i>
<b>Especie</b>	<i>Vaccinium corymbosum</i> L.

*Fuente: Contreras (2010).*

### 2.2.3 Variedades

El género *Vaccinium* está compuesto por más de 30 especies, pero solo un pequeño grupo tiene importancia comercial. Algunas especies que pertenecen a este grupo son “arándano alto” (*Vaccinium corymbosum* L.), “arándano ojo de conejo” (*Vaccinium virgatum* Ait., ex *V. ashei* Reade), “arándano bajo” (*Vaccinium angustifolium* Ait.), “arándano europeo” (*Vaccinium myrtillus* L.) y “arándana” (*Vaccinium macrocarpon*) (Pino, 2007).

El “arándano alto” ha sido la primera especie que se introdujo al cultivo, y fue sometida a sucesivos procesos de selección por lo cual existen, actualmente, más de 50 variedades mejoradas, generadas principalmente en Estados Unidos (Pino, 2007).

Dentro de la especie de “arándano alto” existen variedades con diferentes requerimientos de temperaturas: Northern highbush (temperaturas bajas) y Southern highbush (temperaturas altas) (Jara, 2012).

Los arándanos cultivados se diferencian básicamente en su comportamiento con respecto al frío, la necesidad de horas frío (H.F.) para levantar su latencia invernal, su resistencia a las bajas temperaturas tanto a las heladas invernales (en climas fríos) como a las primaverales (en zonas tardías o cálidas). Las variedades comerciales son el resultado de programas de mejoras. Todos los arándanos pueden ubicarse en las categorías descritas en la tabla 2 (Coria, 2008).

**Tabla 2:** Especies del género *Vaccinium* de importancia comercial

<b>Especies</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Requerimiento frío</b>
<i>V. Corymbosum</i> L.	Arándanos Altos del Norte (Highbush)	800-1000 H.F.
<i>V. Corymbosum</i> L. y <i>V. darrowi</i>	Arándanos Altos del Sur	200-400 H.F. (a veces 600 H.F.)
<i>V. angustifolium</i> y <i>V. myrtilloides</i>	Arándanos Bajos	Requerimiento menos en H.F.
<i>V. vigratum</i> y <i>Vashei Reade</i>	Arándanos Ojo de Conejo (Rabbiteye)	400-800 H.F.
<i>V. Corymbosum</i> L. y <i>V. Angustifolium</i>	Arándanos Medios-Altos	Requerimientos menores de frío

Fuente: Coria (2008)

Según Vial (2006), el Perú cuenta con un potencial probado para la producción temprana, pero falta investigación respecto al comportamiento de las variedades en los distintos climas, aun así, hay una limitante en la disponibilidad de variedades. Teniendo en cuenta que la variedad "Biloxi" es una buena alternativa complementaria que se debe seguir probando, existen muchos centros que están desarrollando variedades tempranas.

Entre las variedades de arándano tenemos:

**"O'neal"** es de bajo vigor y productividad, post cosecha regular.

**"Misty"** es de vigor medio, tiende a sobre producir, calibre irregular, sensible a enfermedades de suelo y madera.

**"Legacy"** es vigorosa, fruta de muy buena calidad. Se comporta de manera muy distinta en diferentes lugares.

**"Biloxi"** produce fruta en brotes del mismo año. Algo totalmente inusual, vigorosa, larga floración, útil para cultivos siempre verdes.

**"Briggita"** es vigorosa, fruta de muy buena calidad, en firmeza, apariencia y sabor. Muy productiva.

**"Star"** su cosecha es concentrada, fruta grande, muy buena calidad, poco sabor, rendimientos variables.

**"Jewel"** es más productiva y vigorosa que Star, fruta de buena calidad, pero tiende a ablandarse.

**"Emerald"** es una fruta muy grande y muy firme de 18-20 mm. Es la más vigorosa de todas las variedades.

**"Primadonna"** es firme, su productividad media está entre Star y Emerald. Fruto grande y de buena calidad en apariencia y sabor.

**"Scintilla"** es de tamaño grande, buen color, sabor y muy firme. Es vigorosa, fruta azul claro, buen balance entre dulzor y acidez.

**"Ventura"** es productiva, vigorosa, fruta azul claro, buen balance entre dulzor y acidez.

**"Corona"** es vigorosa y productiva, frutos firmes, muy grandes y de buen sabor.

#### **2.2.4 Composición química**

En la Tabla 3 se muestra la composición química del arándano según Nunes (2008). Estas bayas tienen pocas calorías y muy bajo contenido en grasas y sodio, mientras que poseen un alto contenido en fibra dietética y son ricas en minerales como potasio, manganeso y magnesio. Además, son una fuente de vitaminas y antioxidantes naturales, tales como compuestos fenólicos y antocianinas (Nunes et al., 2004).

**Tabla 3:** Composición química del arándano (*Vaccinium corymbosum* L.)

(En 100 gramos de parte comestible)

<b>Componente</b>	<b>Valor</b>
Energía (kcal)	55
Humedad (g)	82-85
Proteína (g)	0.7
Carbohidratos (g)	14.0
Fibra (g)	1.3
Grasas (g)	0.37
Calcio (mg)	6
Fósforo (mg)	15.00
Hierro (mg)	0.16
Tiamina (mg)	0.05
Niacina (mg)	0.35
Riboflavina (mg)	0.05
Vitamina B <sub>6</sub> (mg)	0.03
Ácido fólico (mg)	6.2
Ácido ascórbico (mg)	13.00

*Fuente: Nunes et al., (2004)*

### **2.2.5 Índice de madurez y cosecha de arándanos**

El arándano presenta una curva de producción que alcanza su plenitud a partir del séptimo año de cultivo, utilizando material vegetal de 2 años en el momento de su plantación. Hasta los 5 años, el arándano llega a un 60% de su producción. Una vez que el cultivo alcanza su capacidad de máxima producción, se mantiene prácticamente constante hasta unos años antes del final de su vida productiva, que puede ser de los 20 a 30 años (Núñez et al., 2005).

El fruto de arándano alcanza su madurez 60 a 80 días después de la floración dependiendo del cultivar y de la temperatura del lugar. Se originan 5 a 10 bayas en cada racimo los cuales maduran progresivamente durante varias semanas (Pino, 2007). La cosecha se realiza selectivamente sobre la base del tamaño e índice de madurez de la fruta (Colima, 2010).

Por lo general, la cosecha de arándanos se basa en el color de la superficie de la fruta que debe ser 100% azul en su recubrimiento, sin embargo, se pueden utilizar como indicadores el nivel de sólidos solubles y la acidez titulable. La cosecha debe comenzarse tan temprano como se pueda después que la humedad condensada en la superficie de los frutos haya desaparecido. La fruta en estado maduro presenta una serosidad (pruina) que no debería ser removida, lo que implica cierto cuidado en la recolección (Pino, 2007; Colima, 2010).

### **2.2.6 Antioxidantes en arándanos**

El arándano se cultiva en todos los continentes, siendo su centro de producción los Estados Unidos y Canadá. El 60% de la producción se destina a la industria, en la elaboración de dulces, pasteles, helados y yogures; sin embargo, año tras año se descubren nuevos usos. En particular, se ha puesto especial atención a los estudios sobre arándanos y su comportamiento durante el almacenamiento que muestran una relación positiva entre la actividad antioxidante y el contenido de antocianinas (Coria et al., 2008).

Las antocianinas, que le confieren el color azul al fruto, intervienen en el metabolismo celular humano disminuyendo la acción de los radicales libres asociados al envejecimiento, cáncer, enfermedades cardíacas y Alzheimer. La identificación y cuantificación de estos compuestos serviría de base para nuevos estudios y su posterior aplicación en la industria alimenticia (Coria et al., 2008).

### **2.2.7 Producción de arándanos en el Perú**

Actualmente, el cultivo del arándano sigue en proceso de aumento debido a la alta demanda del mercado internacional. En Perú, hoy sólo existen unas 360 ha sembradas, la mayoría de ellas ubicadas en zonas de Costa.

En el futuro próximo, asoman distintos proyectos que sumarían otras 1200 ha aproximadamente. Pese a que todavía es limitada la superficie disponible, se espera que la oferta peruana de arándano vaya aumentando paulatinamente en los principales mercados de destino, gracias a que es considerado un negocio muy rentable, con precios de venta y rentabilidad más alto que la uva y palta. Además, debe considerarse que el arándano peruano podría ingresar a los mercados de exportación en los momentos de mayor escasez, desde septiembre hasta mediados de noviembre, lo que suma a las ventajas competitivas con que cuenta para la producción de arándanos (Red Agrícola, 2017).

En las nuevas extensiones de terreno, las sembradas en suelo o en bolsa, las de mayor tamaño la tiene la compañía Camposol (Tabla 4), hoy en día

maneja cerca de 180 ha y tiene planes de seguir expandiéndose a sembrar en el 2018; 150 ha más (Red Agrícola, 2017).

**Tabla 4:** Producción cultivada de arándanos en el Perú

<b>Productor</b>	<b>Localidad</b>	<b>Superficie (ha)</b>
Frutícola La Joyita	Arequipa	18
Blueberries Perú	Arequipa	Vivero
Arándanos Perú	Huaral	Vivero
Agrícola Athos	Caraz	13
Camposol	La Libertad	86 *
Talsa	La Libertad	75 **
Valle y Pampa	Pisco	9
Antonio Tipismana	Mala	6
Intipa Foods	Caraz	42
Finca Tradiciones	Cajamarca	27

*Fuente: Red Agrícola (2017), \* En 2018 se sumarán 150 ha, \*\* Proyecto total 500 ha*

## **2.3 ANTOCIANINAS**

### **2.3.1 Generalidades**

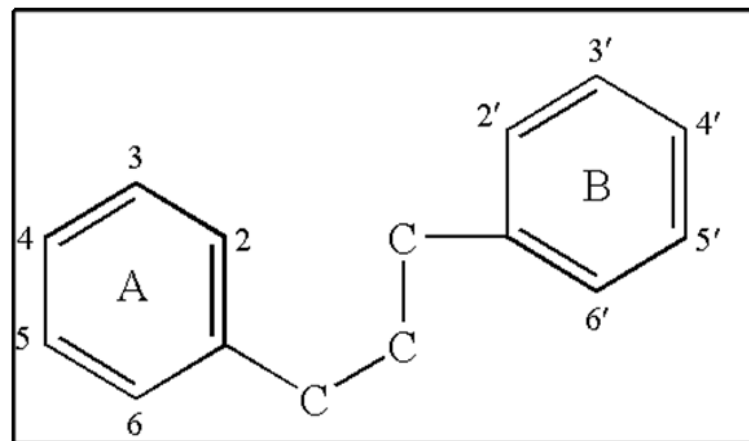
Fennema (2010), refiere que los compuestos fenólicos comprenden un grupo muy grande de sustancias orgánicas; un subgrupo son los flavonoides dentro de los cuales se encuentran las antocianinas.

Las antocianinas son responsables de brindar color a una gran variedad de plantas: desde el color azul, violeta, magenta, rojo y naranja. La estructura de las antocianinas está formada por dos anillos aromáticos



unidos por tres carbonos ( $C_6C_3C_6$ ), denominado estructura flaván como se muestra en la figura 2.

Las antocianinas se encuentran en la naturaleza como glicósidos y sus agliconas se denominan antocianidinas.



**Figura 2:** Estructura básica de flaván ( $C_6C_3C_6$ )

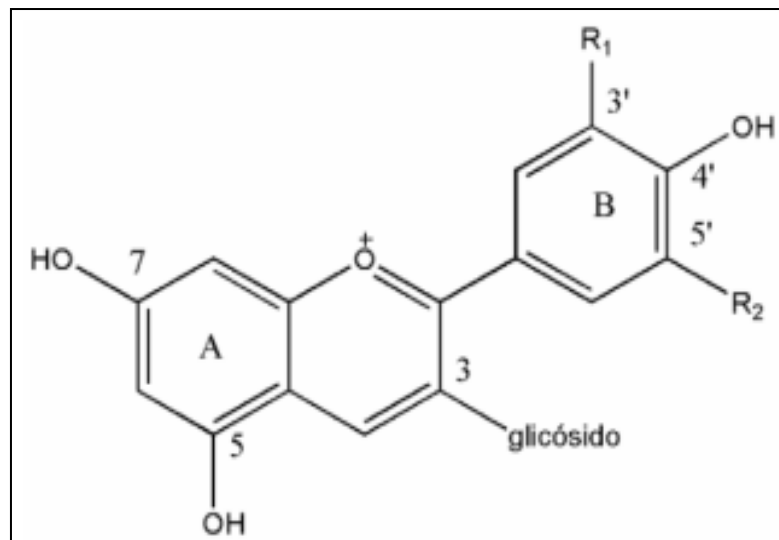
*Fuente: Fennema (2010)*

Las antocianinas se encuentran localizadas en diversas partes de las plantas tanto en los frutos, pétalos, hojas, tallos y tubérculos. Cada fruta o vegetal contiene una o varias antocianinas características, la cual la hace diferente, como un tipo de huella digital. Hasta el momento se han identificado 250 antocianinas en las plantas, que varían dependiendo del cultivo y el grado de maduración de la planta (Fennema, 2010).

El color de las antocianinas resulta de la excitación de la molécula por la luz visible. El grado con el que la molécula es excitada depende de la movilidad relativa de electrones en la estructura y los enlaces dobles se excitan muy fácilmente y su presencia es esencial para dar color. (Fennema, 2010).

### 2.3.2 Estructura

Las antocianinas son un subgrupo de los flavonoides, que contienen en su estructura base al 2-fenilbenzopirilio llamada también ion flavilio. Éstas existen como glicósidos, es decir, que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio y un anillo fenólico, el flavilio normalmente funciona como un catión; tal se observa en la figura 3; mientras que la antocianidina (denominada aglicona) contiene la misma estructura sin los carbohidratos (Badui, 2012).



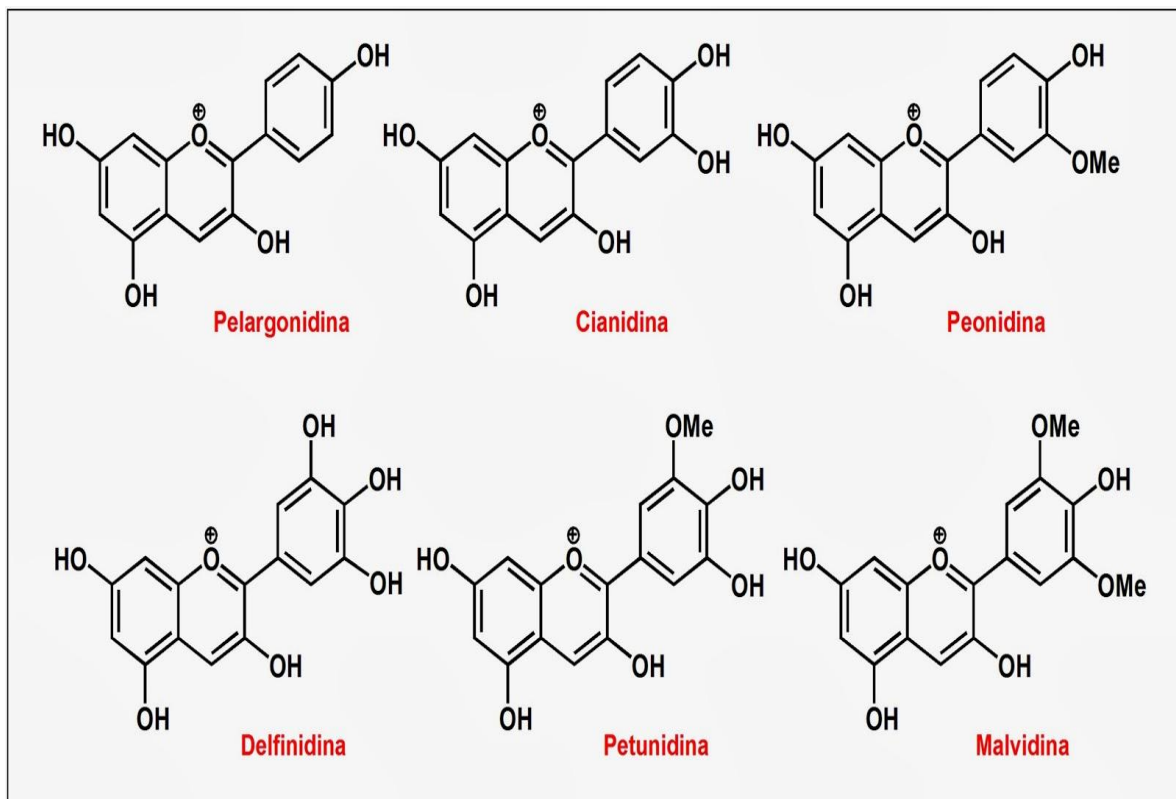
**Figura 3:** Estructura básica de la antocianina

*Fuente: Badui (2012)*

El grupo hidroxilo (-OH) de la posición 3 siempre se encuentra glicosilado en las antocianinas, y esto les da cierta estabilidad y solubilidad. Dependiendo de los sustituyentes en el anillo A y B van a ser los diferentes compuestos con diversos colores que se obtendrán.

La diferencia entre las antocianinas se encuentra en el número de grupos hidroxilo (-OH) en la molécula, el grado de metilación de estos grupos hidroxilo (-OH), la naturaleza y el número de azúcares unidas a la molécula y la posición de la unión, la naturaleza y el número de grupos alifático y ácidos aromáticos unidos a las azúcares en la molécula (Shipp, 2010).

Las antocianinas más frecuentes en las plantas son seis: pelargonidina, cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina y malvidina como se muestra en la figura 4.



**Figura 4:** Antocianinas comunes en la naturaleza ordenadas por incremento en color rojo e incremento en color azul

*Fuente: Shipp (2010)*

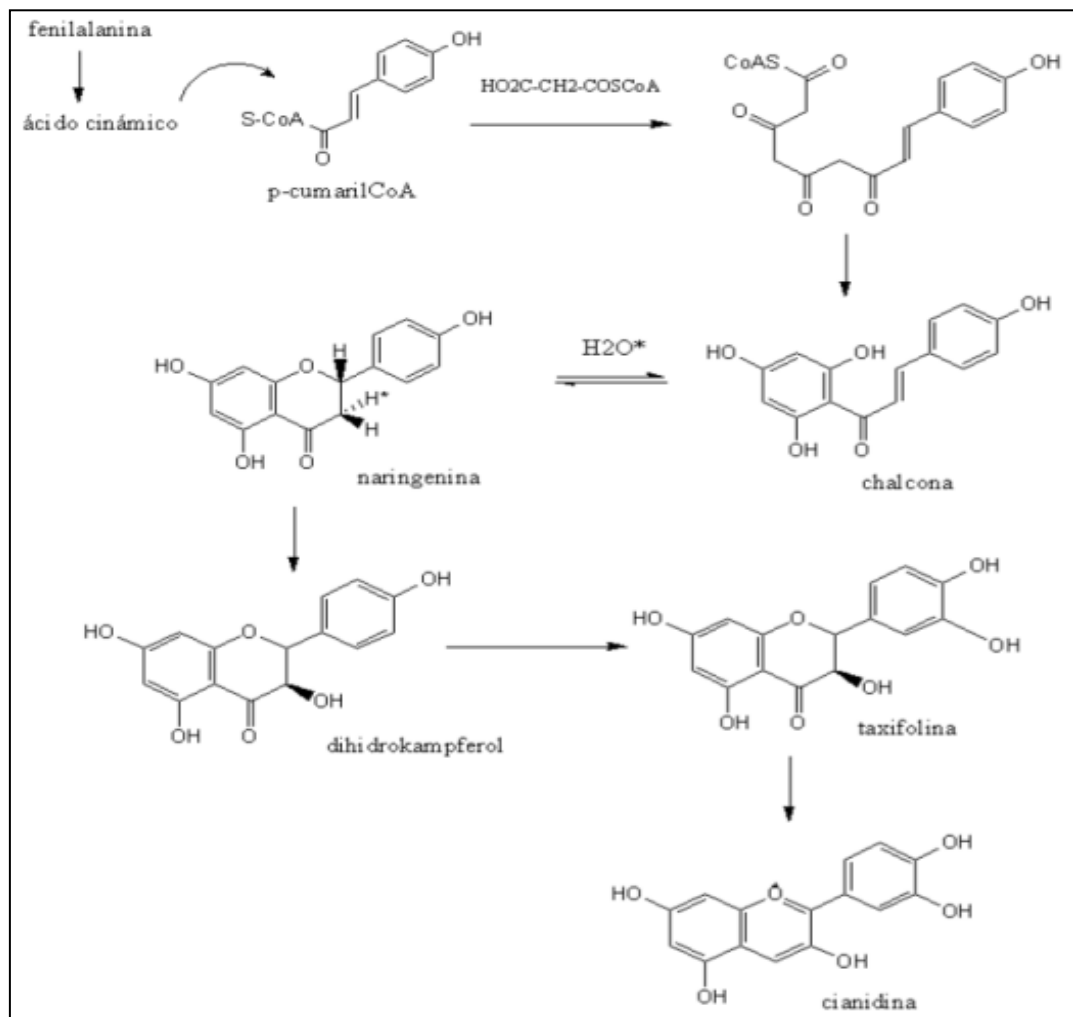
Belitz (2012), menciona que los carbohidratos comúnmente unidos a estas antocianidinas son: glucosa, galactosa, ramnosa y arabinosa, así como di y tri sacáridos, formados de la combinación de estos cuatro monosacáridos. En algunos casos, estos residuos de azúcar se encuentran acilados con ácidos tales como el p-cumárico, cafeico, ferúlico, p-hidroxibenzoico, malónico y acético. Al incrementar la sustitución en la molécula de las antocianinas, se obtiene un desplazamiento batocrómico, es decir, que la absorbancia de la luz en el espectro visible se desplaza del violeta al rojo.

### **2.3.3 Biosíntesis**

Para la biosíntesis de las antocianinas influyen dos rutas biosintéticas: La ruta del ácido shikímico y la del ácido malónico. Para la primera, los carbohidratos de la glicólisis, de la ruta de las pentosas fosfato y del ciclo de Calvin se convierten en ácidos orgánicos y fenilalanina. La fenilalanina después se incorpora en la porción C-3 y C-6 de los flavonoides (es decir el anillo B y carbonos del anillo central). El anillo A y el oxígeno del anillo central son proporcionados por el acetil Co-A (Aguilera, 2012).

Co-A (Coenzima A), es una molécula intermediaria clave en el metabolismo que intervienen en un gran número de reacciones bioquímicas. Se forma cuando una molécula de Coenzima A acepta un grupo acetil.

En la figura 5 se muestra el mecanismo de la biosíntesis de las antocianinas.



**Figura 5:** Biosíntesis de las antocianinas

*Fuente: Aguilera (2012)*

### 2.3.4 Características del espectro ultravioleta/visible

Las antocianinas presentan dos bandas de absorción distintivas. Una banda se encuentra en la región ultravioleta (260-280 nm) y la otra banda, en la región visible (490-550 nm). Dependiendo de la aglicona que se tenga, va a ser la longitud de onda máxima que se obtenga (Shipp, 2010).

La forma del espectro nos brinda información acerca del número y posición de las sustituciones glucosídicas y el número de acilaciones. La

relación entre la absorbancia a 440 nm y la absorbancia en la longitud de onda máxima, es casi el doble para las antocianinas con sustituciones glucosídicas en la posición 3 comparada a aquellas que presentan estas sustituciones en las posiciones 3 y 5 o únicamente en la posición 5 (Shipp, 2010).

### **2.3.5 Factores que alteran la estabilidad de la antocianina**

Las antocianinas son relativamente inestables, únicamente son estables en medio ácido. El tono y la estabilidad tienen una fuerte influencia en los sustituyentes hidroxilo (-OH) y metoxilo (-OCH<sub>3</sub>). La degradación no solo ocurre durante la extracción del fruto de la planta si no también durante el procesado y almacenaje del alimento o bebida.

La estabilidad del color de las antocianinas depende de varios factores: la estructura y concentración de antocianinas, pH, temperatura y la presencia de agentes acomplejantes (fenoles e iones metálicos). La misma antocianina puede poseer diferentes colores, dependiendo del pH y la concentración de la solución, la presencia de copigmentos y otros factores. Los grupos hidroxilo (-OH), metoxilo (-OCH<sub>3</sub>), azúcares y azúcares acilados tienen un efecto marcado en el color y la reactividad de las antocianinas. El color es influido también por el rango fisicoquímico en el que son analizadas. Generalmente, conforme se incrementa el número de grupos hidroxilo (-OH) fenólicos, el color se transforma de rosa a azul; observándose el efecto inverso con los grupos metoxilo (-OCH<sub>3</sub>) (Garzón, 2008).

El grupo hidroxilo (-OH) en C-3 es importante, ya que es el que modifica el color de amarillo a rojo, por lo que, las antocianinas son de color rojo en lo que las 3-deoxiantocianinas son de color amarillo. Sin embargo, este mismo hidroxilo (-OH) es el causante de desestabilizar la molécula. Por lo que un hidroxilo (-OH) en C-4 o C-5 estabilizará a esta forma colorida reduciendo las reacciones de hidratación (Garzón, 2008).

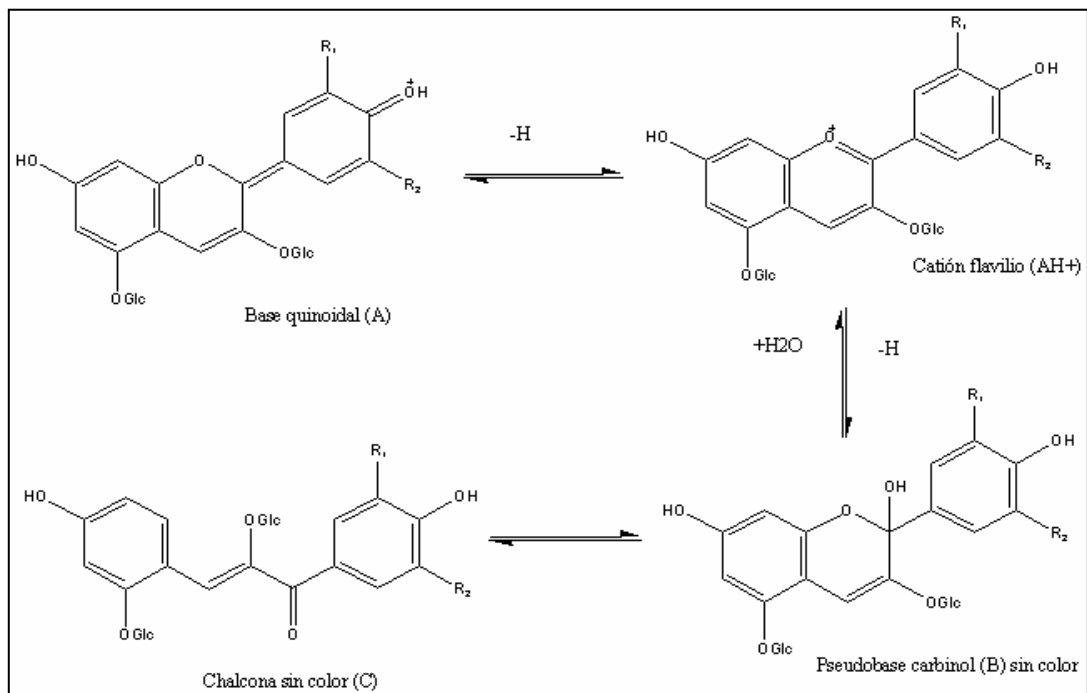
La glicosilación o glucosilación es un proceso bioquímico en el que se adiciona un glúcido a otra molécula. Esta molécula se denomina aceptor. La molécula aceptora puede ser de muchos tipos, por ejemplo, de naturaleza proteica o lipídica (William G. Flynn, 2008).

La glicosilación también ha sido demostrada como un factor importante para la estabilización de las antocianinas. Por ejemplo, la vida media (reducción del 50% en la absorbancia a la longitud de onda máxima) de una antocianina tal como cianidina-3-rutinosido es de 65 días como antocianina, sin embargo, es de 12 horas cuando se encuentra como antocianidina. Finalmente, uno de los mecanismos más importantes para la estabilización del color es el acomplejamiento molecular de las antocianinas con otros fenoles llamados copigmentos, para formar un efecto de copigmentación (Belitz, 2012).

**Influencia del pH.** - Las antocianinas no aciladas y las monoaciladas se comportan como indicadores de pH, ya que se presentan en un color rojo a pH bajo, azul a pH intermedio e incoloro a pH alto. La naturaleza de las estructuras químicas con las que las antocianinas cambian y se adaptan

al pH se ha aclarado estos últimos años. En condiciones de una solución acuosa ácida, cuatro especies coexisten en equilibrio: La base quinoidal (A), el catión flavilio ( $AH^+$ ), la pseudobase o carbinol (B), y la chalcona (C) (Garzón, 2008).

La interconversión entre estas estructuras se observa en la figura 6:



**Figura 6:** Transformación estructural de la antocianina con el pH

*Fuente: Garzón, (2008).*

A pH menores de 2, la antocianina existe en su mayoría en la forma de catión flavilio ( $C-3=O$ -azúcar). Conforme el pH incrementa ocurre una pérdida de protón obteniendo la forma quinoidal. Así mismo, puede ocurrir otra reacción, la hidratación, para obtener la forma incolora de carbinol o pseudobase. Ésta última puede equilibrarse hacia la forma abierta de chalcona, la cual también es incolora.



Las proporciones del catión flavilio ( $AH^+$ ), la forma quinoidal y la chalcona varían con el pH y con la estructura de la antocianina. Es decir, que conforme la estructura de la antocianina varía en un rango de pH tan solo se presentarán mayoritariamente dos formas de la antocianina: el catión flavilio ( $AH^+$ ) y otra forma más (Garzón, 2008).

**Influencia de la temperatura.** - La estabilidad de las antocianinas en los alimentos es afectada por la temperatura de manera terminante. En general, las características estructurales que llevan a una estabilidad en un pH mayor le dan también estabilidad térmica (Fennema, 2010).

Como se había mencionado anteriormente existen reacciones de equilibrio entre las cuatro formas estructurales de las antocianinas:



Al incrementar la temperatura, el equilibrio se desplaza hacia la formación de la chalcona, y la reacción inversa es mucho más lenta que la reacción hacia la chalcona. Al disminuir la temperatura, la base quinoidal y el carbinol se transforman rápidamente a forma de catión flavilio ( $AH^+$ ), pero el cambio de la chalcona es muy lento. Toma 6-7 horas a la chalcona de los 3-glucósidos para alcanzar el equilibrio con el catión flavilio a  $25^{\circ}C$  (Garzón, 2008).

Según Garzón (2008) el mecanismo exacto de la degradación térmica de las antocianinas no se ha comprendido en su totalidad. Se han sugerido tres formas:

- a) El catión flavilio ( $AH^+$ ) es transformado en primer lugar a la base quinoidal, para después transformarse en diversos intermediarios y finalmente a la cumarina.
- b) El catión flavilio ( $AH^+$ ) se transforma a la base carbinol, posteriormente a la chalcona y finalmente a productos de degradación color café.
- c) Este mecanismo es similar excepto en que los productos de la degradación de la chalcona se insertan primero.

**Influencia del oxígeno y ácido ascórbico.** - La estructura insaturada de las antocianidinas las hace susceptibles al oxígeno molecular. Existe un efecto positivo al remover el oxígeno en la retención del color de las antocianinas en el procesado de jugos al adicionar nitrógeno o vacío.

Así mismo, se ha observado que, en algunas antocianinas, el ácido ascórbico y las antocianinas desaparecen simultáneamente en los jugos de frutas, sugiriendo una interacción entre las dos moléculas. El oxígeno es destructivo tanto para las antocianinas como para el ácido ascórbico. La degradación por ácido ascórbico de las antocianinas resulta indirectamente de la formación de peróxido de hidrógeno que se forma durante la oxidación del ácido ascórbico (Fennema, 2010).

En presencia de cobre (Cu), oxígeno ( $O_2$ ) y el ácido ascórbico ( $C_6H_8O_6$ ) reacciona oxidándose a ácido dehidroascórbico formándose dioxidano ( $H_2O_2$ ), que oxida las antocianinas y forma una malvona incolora (Garzón, 2008).

**Influencia de la luz.** - La luz es un factor que acelera la degradación de las antocianinas. Se ha observado que la sustitución del hidroxilo (-OH) en el C-5 hace que la antocianina sea más susceptible a la fotodegradación cuando ésta se presenta con flavonas polihidroxiladas, isoflavonas y auronas sulfonadas (Delgado-Vargas y Paredes-López, 2003).

Ferreira et al., (2007), al estudiar el efecto de la luz sobre la estabilidad de las antocianinas en extracto de frutos de espinaca blanca, concluyeron que la luz ejerce un efecto adverso sobre su estabilidad.

**Influencia de los azúcares y sus productos de degradación.** - El azúcar a altas concentraciones se ha demostrado que preserva a las antocianinas. Sin embargo, a bajas concentraciones, la fructosa, arabinosa, lactosa y sorbosa tienen un efecto degradable en las antocianinas que no presentan la glucosa, sacarosa y maltosa. Se forma furfural de la degradación del azúcar e hidroxifurfural, los cuales se condensan con las antocianinas para formar productos de degradación cafés (Garzón, 2008).

**Influencia de los metales.** - Los complejos que forman las antocianinas con los metales amplían el espectro de color. Las antocianinas con grupos hidroxilo vecinales pueden secuestrar varios metales multivalentes. El complejo formado por antocianinas - metales causa un desplazamiento batocrómico a colores azules y algunos de estos complejos estabilizan el color en los alimentos (Fennema, 2010).

**Influencia del dióxido de azufre.** - El dióxido de azufre causa en las antocianinas el efecto de blanqueamiento de éstas a concentraciones altas de SO<sub>2</sub>. Este efecto es reversible o irreversible. El efecto reversible se utiliza durante el procesamiento de las frutas para protegerlas de ataques microbianos, adicionando SO<sub>2</sub>; para que después del procesamiento se remueva, y con esto recuperen su color las frutas (Fennema, 2010).

En las reacciones irreversibles, hay unión del SO<sub>2</sub> al C-4 y en esta posición causa pérdida de color, ya que las antocianinas que no se han decolorado tienen el C-4 bloqueado.

**Influencia de las reacciones enzimáticas.** - Existen enzimas implicadas en la pérdida de color de las antocianinas. Éstas son: Las glicosidasas y las polifenoloxidasas, denominadas en su conjunto antocianasas (Aguilar, 2002).

#### **2.4. VÍAS DE DEGRADACIÓN DE LAS ANTOCIANINAS**

Relativamente poco se conoce sobre los mecanismos de degradación de antocianinas, pero la estructura química y la presencia de otros ácidos orgánicos tienen una influencia fuerte. El índice de degradación de antocianinas aumenta durante el tratamiento y el almacenamiento como las subidas de temperaturas (Palamidis y Markakis, 1978).

#### **2.5 LAS ANTOCIANINAS EN LA ALIMENTACIÓN**

El interés por los pigmentos antociánicos se ha intensificado recientemente debido a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas (Astrid, 2008). Debido a que, durante el paso desde el tracto digestivo al torrente sanguíneo

de los mamíferos, las antocianinas permanecen intactas, su consumo puede tener un impacto directo sobre la salud humana (Miyazawa et al., 1999).

➤ **Beneficios en la Salud:**

Sabemos que las antocianinas parecen jugar un papel en la lucha contra el daño de los radicales libres, lo que conduce al envejecimiento y la formación de numerosas enfermedades. Más allá de su capacidad para combatir los radicales libres/estrés oxidativo, las antocianinas tienen muchos otros efectos cuando se trata de proteger células, tejidos y órganos vitales que aún estamos descubriendo (Ghiselli et al., 1998).

Los beneficios de las antocianinas incluyen:

**a) Protección contra enfermedades cardiovasculares/cardíacas.** Los beneficios de las antocianinas para la diabetes y los trastornos pancreáticos también se han desenterrado en los últimos años, y nuevamente la eficacia se atribuye a los múltiples efectos biológicos simultáneos que estos pigmentos causan en el cuerpo, incluida la prevención de la generación de radicales libres, la disminución de la peroxidación lipídica y la inflamación pancreática reducida. Y disminución de las concentraciones de azúcar en la sangre en la orina y el suero sanguíneo (Pascual y Sánchez, 2008).

**b) Función inmune mejorada.** Los bioflavonoides de antocianinas pueden proporcionar protección contra el daño del ADN y la peroxidación de los lípidos, además de que tienen efectos antiinflamatorios y ayudan a estimular la producción de citocinas que

regulan la respuesta inmune. También se ha demostrado que favorecen el equilibrio hormonal al reducir la actividad estrogénica, ayudan a regular la producción de enzimas que ayuda a la absorción de nutrientes y fortalecen las membranas celulares haciéndolas menos permeables y frágiles (Jara, 2012).

**c) Protección contra el cáncer.** Las investigaciones sugieren que los beneficios de las antocianinas pueden disminuir el riesgo de desarrollar varios tipos de cáncer debido a sus efectos antioxidantes, anticancerígenos y antiinflamatorios (Wang y Mazza 2002).

**d) Función cognitiva mejorada.** Los estudios han encontrado que las dietas ricas en antioxidantes como la antocianina conducen a la reversión de ciertos déficits relacionados con la edad que afectan los parámetros neurales y conductuales, incluidas la memoria y las funciones motoras. Las antocianinas se han acreditado con la protección de la memoria, la coordinación y la función neuronal en las poblaciones de mayor edad (Shukitt et al. 2005).

**e) Rendimiento de ejercicio mejorado y recuperación.** Los antioxidantes parecen mejorar el rendimiento físico al disminuir el agotamiento y los efectos negativos del exceso de oxígeno y la acumulación de radicales durante las actividades físicas (De Pauw K., 2017).

Algunos estudios han encontrado que los jugos de fruta que contienen antocianinas, como el 100% de jugo de cereza y arándano agrio, tienen

efectos antioxidantes y antiinflamatorios que terminan influyendo positivamente en el daño muscular después del ejercicio y la capacidad de recuperarse adecuadamente (De Pauw K., 2017).

**f) Visión mejorada y salud ocular.** Se ha demostrado que la antocianina ayuda a mejorar la visión nocturna y la visión general al proteger los ojos del daño de los radicales libres. Un estudio encontró que la ingesta oral de antocianósidos de grosellas negras dio lugar a una visión nocturna significativamente mejorada en los adultos (Shukitt et al. 2005).

## **2.6 IMPORTANCIA DE LAS ANTOCIANINAS EN LA AGROINDUSTRIA**

Las antocianinas representan un factor muy importante en la industria alimenticia debido a las restricciones sanitarias, adicionalmente estas sustancias poseen un valor agregado que es su capacidad antioxidante (López, 2007); por esta razón se está creando un excelente mercado de exportación de frutas frescas y sus derivados como son jugos y néctares con un alto contenido de antocianinas.

Desde el punto de vista tecnológico, una de las principales ventajas de las antocianinas es su hidrosolubilidad, la cual facilita su incorporación en diferentes alimentos como néctares, no obstante, en la tecnología de néctares, éstos se pasteurizan para prolongar la vida útil y reducir la actividad enzimática (Colima 2010).

## **2.7 NÉCTAR**

### **2.7.1 Definición**

Según la Norma del Codex Alimentarius para zumos (jugos) y néctares de frutas (CODEX STAN 247-2005), se conoce como néctar al producto sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene añadiendo agua con o sin la adición de azúcares, miel y/o edulcorantes o a una mezcla de éstos.

Podrán añadirse sustancias aromáticas, componentes aromatizantes volátiles, pulpa y células, los cuales deberán proceder del mismo tipo de fruta y obtenerse por procedimientos físicos. Dicho producto deberá satisfacer además los requisitos para los néctares de fruta. Un néctar mixto de fruta se obtiene a partir de dos o más tipos diferentes de fruta.

Según Normas Técnicas Peruanas (NTP 203.110-2009) el néctar es el producto constituido por el jugo y pulpa de fruta finamente dividido y tamizados, adicionados con agua y azúcar, y se requiere de ácido orgánico apropiado; el producto debe ser conservado por tratamiento térmico.

Torres (2011) precisa que el néctar no es un producto estable por sí mismo, es decir, necesita ser sometido a un tratamiento térmico adecuado para asegurar su conservación. Es un producto formulado, que se prepara de acuerdo con una receta o fórmula preestablecida y que puede variar de acuerdo a las preferencias de los consumidores.



Debido al notable incremento en el consumo de jugos y bebidas elaborados a base de frutas, los néctares tienen un gran potencial en el mercado de los productos alimenticios.

### **2.7.2 Operaciones básicas para elaborar el néctar**

En primer lugar, se prepara la materia prima según el tipo de néctar que se va elaborar. Esta preparación consiste no solo en disponer de las pulpas, edulcorantes, agua y otros eventuales ingredientes por agregar, sino también en conocer sus características particulares como las sensoriales, concentración, acidez, etc. (NTP 203.110:2009 jugos, néctares y bebidas de fruta).

En segundo lugar, la formulación de ingredientes que deben responder a las condiciones del néctar planeado. Se debe tener en cuenta la concentración y demás características de estos ingredientes para su formulación; mediante los cálculos apropiados proceder a la mezcla cuantitativa de los mismos en condiciones adecuadas de higiene y funcionalidad (NTP 203.110:2009 jugos, néctares y bebidas de fruta). Esto permite eficiencia y ahorro de esfuerzos con alta calidad del producto en proceso. Posteriormente, se le aplica al néctar una técnica de conservación acorde con la disponibilidad de equipos y tecnología.

Finalmente, se puede identificar la calidad mediante una evaluación que resultará de los cuidados aplicados de principio a fin en cada una de las operaciones del proceso de obtención del néctar (Torres, 2011).

### **2.7.3 Requisitos para la elaboración de néctares según Norma Técnica Peruana (NTP 203.110:2009 jugos, néctares y bebidas de fruta)**

#### **a. Generales**

De acuerdo a la Norma Técnica Peruana que rigen para la elaboración de néctares, se tiene los siguientes requisitos:

- El néctar debe elaborarse en buenas condiciones sanitarias, con frutas maduras, frescas, limpias y libres de restos de sustancias tóxicas. Puede prepararse con pulpas concentradas, elaboradas o conservadas siempre que reúna los requisitos mencionados.
- El néctar puede llevar en suspensión partículas oscuras, pero no debe de tener fragmentos macroscópicos de cáscaras, semillas u otras sustancias gruesas y duras.
- Se puede agregar ácido cítrico o ácido ascórbico como antioxidante, si es necesario, estabilizador apropiado, pero no colorantes artificiales (INDECOPI, 2009).

#### **b. Físico-químicos**

- Sólidos solubles por lectura (°brix) a 20°C: mínimo 12%.
- Acidez titulable (expresada en ácido cítrico anhidro g/100cm<sup>3</sup>): máximo 0.6; mínimo 0.4.
- Relación entre sólidos solubles / acidez titulable: 30-70.
- Sólidos en suspensión en % (V/V).
- Contenido de alcohol etílico en (V/V) A 15°C /15°C.

- Benzoato de Sodio y/o Sorbato de Potasio (solos o en conjunto) en g/100 cm<sup>3</sup>: máximo 0.05 (INDECOPI, 2009).

### **c. Organolépticos**

- Sabor: similar al del jugo fresco y maduro, sin gusto a cocido, oxidación o sabores objetables.
- Color y olor: semejante al jugo de fruta y pulpa recién obtenidas del fruto fresco y maduro de la variedad elegida. Debe tener un olor aromático.
- Buena apariencia: se admite trazas de partículas oscuras (INDECOPI, 2009).

## **2.8 IMPORTANCIA DEL NECTAR DE FRUTAS EN LA ALIMENTACIÓN**

### **a) Beneficios del néctar de frutas**

Los beneficios de consumir néctar de frutas según (Moñino M, Baladia E y Palou A., 2010), son los siguientes:

- Aportan carbohidratos.
- Contiene vitaminas (C y E), esenciales para el funcionamiento del organismo, es hidratante.
- Tiene propiedades antioxidantes.
- Ayudan a prevenir enfermedades cardiovasculares.
- Alivia el estrés, disminuye la grasa de la sangre.
- Aporta algunos minerales.
- Generan una sensación de bienestar.

## **2.9 METODOLOGÍAS DE DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS**

Existen diferentes métodos de determinación y cuantificación de antocianinas en matrices alimenticias.

- La espectrofotometría UV-Visible es el método más utilizado para cuantificar las antocianinas totales a una longitud de onda de 465 a 550 nm (He y Giusti, 2010).
- La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) también se utiliza para la cuantificación del perfil de antocianinas; sin embargo, el tiempo de análisis y el costo es mayor comparado con la espectrofotometría UV-Visible.
- Un método alternativo es la espectrofotometría de infrarrojo cercano (NIR, por sus siglas en inglés), el cual permite analizar un gran número de muestras en corto tiempo sin necesidad de hacer extracción previa de los compuestos. Mediante algoritmos quimio-métricos se realizan modelos de calibración basados en los datos analíticos obtenidos por los métodos de referencia (Rosales et al., 2011).

La utilización del método pH diferencial (AOAC 2005.02 37.168 - Giusti, M.M. y Wrolstad, R.E., 2001) para la investigación en mención, nos involucra a enfocarnos en la metodología de determinación y cuantificación de antocianinas por espectrofotometría UV-Visible.

## **2.9.1 ESPECTROFOTOMETRÍA**

### **2.9.1.1 Generalidades**

La espectrofotometría es el método de análisis óptico más usado en las investigaciones químicas y biológicas. El espectrofotómetro es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto, y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia (Dugarte, 2007).

### **2.9.1.2 Principio de la espectrofotometría**

Todas las sustancias pueden absorber energía radiante, aun el vidrio que parece ser completamente transparente absorbe radiación de longitudes de ondas que no pertenecen al espectro visible; el agua absorbe fuertemente en la región del infrarrojo. La absorción de las radiaciones ultravioletas, visibles e infrarrojas depende de la estructura de las moléculas y es característica para cada sustancia química.

Cuando la luz atraviesa una sustancia, parte de la energía es absorbida; la energía radiante no produce ningún efecto sin ser absorbida. El color de las sustancias se debe a que éstas absorben ciertas longitudes de onda de la luz blanca que incide sobre ellas y solo dejan pasar a nuestros ojos aquellas longitudes de onda no absorbidas. La espectrofotometría ultravioleta-visible usa haces de radiación del espectro electromagnético, en el rango UV de 80 a 400 nm, principalmente de 200 a 400 nm y en el de la luz visible de 400 a 800 nm, por lo que es de gran utilidad para

caracterizar los materiales en la región ultravioleta visible del espectro.

Al campo de luz UV de 200 a 400 nm se le conoce también como rango de UV cercano, la espectrofotometría visible solamente usa el rango del campo electromagnético de la luz visible, de 400 a 800 nm. Además, no está de más mencionar el hecho de que la absorción y transmitancia de luz depende tanto de la concentración y de la distancia recorrida (Dugarte, 2007).

#### **2.9.1.3 Ley de Beer**

La Ley de Beer declara que la cantidad de luz absorbida por un cuerpo depende de la concentración en la solución. Por ejemplo, en un vaso de vidrio tenemos agua con azúcar disuelta y en otro tenemos un vaso con la misma cantidad de agua, pero con más azúcar disuelta. El vaso es una celda fotoeléctrica, y la solución de azúcar es a la que se mide su concentración.

Según la ley de Beer, si hiciéramos que un rayo de luz atravesara el primer vaso, la cantidad de luz que saldría del otro lado sería mayor, que si repitiéramos esto con el segundo; ya que en el segundo, las ondas electromagnéticas chocan contra un mayor número de átomos y/o moléculas y son absorbidos por éstos (Clark et al, 1993).

#### **2.9.1.4 Ley de Lambert**

La Ley de Lambert dice que la cantidad de luz absorbida por un objeto depende de la distancia recorrida por la luz. Por ejemplo, retomando el

ejemplo de los vasos, pero ahora, pensemos que ambos tienen la misma cantidad de agua y la misma concentración de azúcar, pero, el segundo tiene un diámetro mayor que el otro.

Según la ley de Lambert, si hiciéramos que un rayo de luz atravesara el primer vaso, la cantidad de luz que saldría del otro lado sería mayor, que si repitiéramos esto con el segundo; ya que en el segundo, las ondas electromagnéticas chocan contra un mayor número de átomos y/o moléculas y son absorbidos por estos; de la misma forma que se explicó en la ley de Beer (Clark et al, 1993).

#### **2.9.1.5 Transmitancia y absorción de las radiaciones**

Al hacer pasar una cantidad de fotones o de radiaciones, de acuerdo a las leyes mencionadas anteriormente, hay una pérdida que se expresa con la ecuación:

$$\frac{I_t}{I_o} = T^{-kdc} \dots\dots\dots Ecuación.(1)$$

Donde ( $I_t$ ), es la intensidad de luz que sale de la cubeta y que va a llegar a la celda fotoeléctrica (llamada radiación o intensidad transmitida); y ( $I_o$ ) es la intensidad con la que sale al atravesar la celda (intensidad incidente) y la relación entre ambas ( $T$ ) es la transmitancia.

En el exponente, el signo negativo se debe a que la energía radiante decrece a medida que el recorrido aumenta. Donde ( $k$ ) es la capacidad de la muestra para la captación del haz del campo electromagnético, ( $d$ ) es

la longitud de la cubeta de espectrofotometría que recorre la radiación, y (c) es la concentración del soluto en la muestra ya ubicada en la cubeta (Clark et al, 1993).

### **La ecuación simplificada de la ley de Beer-Lambert**

$$A = \varepsilon \cdot I \cdot c \dots \dots \dots \text{Ecuación.}(2)$$

Comprende a la mínima ecuación que relaciona la concentración (c), la absorbancia de la muestra (A), el espesor recorrido por la radiación (l) y el factor de calibración ( $\varepsilon$ ). El factor de calibración relaciona la concentración y la absorbancia de los estándares.

La absorción (o absorbancia) es igual a (A), y es el logaritmo del recíproco de la transmitancia.

$$A = \log \frac{1}{T} \dots \dots \dots \text{Ecuación.}(3)$$

Las ecuaciones mencionadas de las leyes son válidas si solo si:

- La radiación incidente es monocromática.
- Las especies actúan independientemente unas de otras durante la absorción.
- La absorción ocurre en un volumen de sección transversal uniforme (Clark et al, 1993).

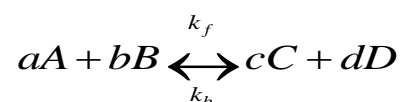


## 2.10 CINÉTICA QUÍMICA DE DETERIORO DE LA CALIDAD DE LOS ALIMENTOS

Las reacciones químicas se producen en los alimentos durante el procesamiento y almacenamiento. Algunas reacciones dan como resultado la pérdida de la calidad, mientras que otras reacciones dan lugar a la formación de sabores o colores indeseados, acortando la vida en anaquel del alimento (Casp, 2003).

Labuza (1984) la cinética química trata de medir las velocidades de las reacciones y encontrar ecuaciones que relacionen la velocidad de una reacción con las variables experimentales. La velocidad de una reacción química es determinada por la masa de un producto o el reactante consumido por unidad de tiempo. En general, las velocidades de reacción pueden ser determinadas conociendo la concentración de los reactantes o los productos de las reacciones. El mecanismo de una reacción, por otro lado, es más difícil de determinar dado que involucra la secuencia de pasos que producen el resultado global.

Una forma general del modelo cinético puede obtenerse considerando la reacción química siguiente:



Donde  $A$  y  $B$  son los reactantes;  $C$  y  $D$  son los productos;  $a$ ,  $b$ ,  $c$  y  $d$  son coeficientes estequiométricos para los reactantes y productos;  $k_f$  es la

constante de velocidad hacia adelante y  $k_b$  es la constante de velocidad hacia atrás.

Una expresión general de la velocidad puede escribirse como sigue para un atributo de calidad  $Q$ .

$$\pm \frac{dQ}{dt} = kQ^n \dots\dots\dots Ecuación.(4)$$

Donde  $\pm$  se refiere al valor decreciente o creciente del atributo  $Q$ , ( $k$ ) es la pseudo constante de velocidad hacia adelante, ( $n$ ) es el orden de reacción observado. Se asume que los factores medioambientales como la temperatura, humedad y luz y las concentraciones de otros componentes se mantienen constantes.

La misma ecuación puede replantearse más específicamente para un atributo de calidad que está disminuyendo con respecto al tiempo y siguiendo un "enésimo" orden de reacción:

$$- \frac{dQ}{dt} = kQ^n \dots\dots\dots Ecuación.(5)$$

### 2.10.1 Orden de reacción

Labuza (1985), menciona que es sumamente complejo reconocer un sistema alimentario con respecto a las pérdidas de calidad que es representada por la pérdida de un factor deseable de calidad A (ejemplo, el sabor) o el aumento de un factor indeseable B (ejemplo, valor de peróxido). Aunque muy rara vez se han realizado investigaciones para comprender claramente

los mecanismos implicados en la reacción de sistemas complejos, como en los casos de alimentos y materiales biológicos. La mayoría de la información disponible ha sido simplificada para adaptar cinéticas de reacción de orden cero ( $n=0$ ) o de primer orden ( $n=1$ ) para situaciones complejas sin tratar de comprender los verdaderos mecanismos de reacción. Recientemente se han realizado investigaciones en sistemas alimentarios encontrando cinéticas de reacción de segundo orden ( $n=2$ ), pero estas son menos comunes.

### 2.10.2 Velocidad de reacción

Cuando se trata de sistemas alimentarios, un enfoque común para reportar las velocidades de reacción es como el cambio en la concentración de un reactivo como una función del tiempo. La velocidad de reacción por lo tanto proporciona una medición de la reactividad y la estabilidad de un sistema dado.

Las velocidades de pérdida de  $A$ ,  $r_A$  y la de formación de  $B$ ,  $r_B$  es dado por las ecuaciones siguientes:

$$r_A = -\frac{d[A]}{dt} = k[A]^n \dots\dots\dots Ecuación.(6)$$

$$r_B = \frac{d[B]}{dt} = k[B]^n \dots\dots\dots Ecuación.(7)$$

Donde:

$r_A$ : Velocidades de pérdida de  $A$

$r_B$ : Velocidades de formación de  $B$

La  $[A]$  y  $[B]$  pueden medirse como un parámetro químico, físico, microbiológico o sensorial;  $k$  y  $k'$  son las constantes de velocidad de reacción y  $n$  y  $n'$  los órdenes de la reacción. Las ecuaciones de velocidad que permiten resolver analíticamente la expresión de la concentración de A o B están en función del tiempo.

La forma de estas funciones para diferentes órdenes de reacción se muestra en la tabla 5.

**Tabla 5:** Ecuaciones para los parámetros de calidad en función del tiempo para diferentes órdenes de reacción.

Orden de reacción (n)	Ecuación para (A)	Ecuación para (B)
<b>Orden cero</b>	$A_0 - A = kt$	$B - B_0 = kt$
<b>Primer orden</b>	$Ln \frac{A_0}{A} = kt$	$Ln \frac{B}{B_0} = kt$
<b>Orden enésimo</b>	$\frac{1}{A^{n-1}} - \frac{1}{A_0^{n-1}} = (n-1)kt$	$\frac{1}{B_0^{n-1}} - \frac{1}{B^{n-1}} = (n-1)kt$

Fuente: Taoukis et al. (1997).

Donde:

$A$  y  $B$ : concentración final del atributo medido.

$A_0$  y  $B_0$ : concentración inicial del atributo medido.

$k$ : constante de velocidad de degradación del atributo medido.

$t$ : tiempo de almacenamiento.

### ➤ **Reacción de orden cero**

Labuza, (1982) en este tipo de reacciones, la velocidad es independiente de la concentración. Esto puede ocurrir en dos situaciones diferentes: (a) cuando la velocidad de reacción es independiente de la concentración del reactante y (b) cuando la concentración del reactante es tan grande que la velocidad de reacción global parece ser independiente de su concentración. Una explicación mecanicista es que el reactante es de tal exceso que su concentración se mantiene constante durante todo el período de observación, y por lo tanto la velocidad de reacción parece ser independiente de la concentración, asumiendo que  $n=0$ .

La forma estadística de determinar si los datos experimentales siguen esta linealidad, es realizando un análisis de regresión lineal simple y es el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) el que determina la bondad del ajuste de los datos, siendo la unidad ( $R^2=1$ ) el ajuste perfecto, indicando que los valores están en una línea recta. Aunque existen otros indicadores estadísticos para determinar la bondad del ajuste de los datos; como el Error Cuadrado Medio (ECM), el coeficiente de determinación es el más utilizado (Labuza, 1982).

### ➤ **Reacción de primer orden**

Labuza, (1984) la mayoría de las reacciones implicadas en el procesamiento y almacenamiento de los alimentos siguen una cinética de reacción de primer orden ( $n=1$ ), como, por ejemplo, la degradación de vitaminas, produciendo una disminución en el valor nutricional del alimento, o la

degradación de antocianinas durante el almacenamiento de alimentos coloreados, produciendo una pérdida en la apariencia del mismo, asumiendo que  $n=1$ . Las reacciones de primer orden se caracterizan por el cambio logarítmico en la concentración del atributo medido con respecto al tiempo.

➤ **Reacción de segundo orden**

Toledo, (2004) existen dos tipos de cinética de reacción de segundo orden y pueden ser unimoleculares (16) o biomoleculares, asumiendo que  $n=2$ .

Las reacciones unimoleculares de segundo orden se caracterizan por tener una relación hiperbólica entre la concentración del reactante o producto con el tiempo. Si se grafica la inversa de la concentración ( $1/[A]$ ) versus el tiempo ( $t$ ), se obtendrá una representación lineal (Toledo, 2004).

Sapei y Hwa (2014) comprobaron que la mayoría de las reacciones estudiadas en los alimentos se han caracterizado como de orden pseudo cero o de pseudo primer orden. Algunos ejemplos de reacciones de pérdida de calidad que son de orden cero tenemos: calidad global de alimentos congelados y pardeamiento no enzimático y los que son reacciones de primer orden: pérdida de vitaminas, muerte/desarrollo microbiano, pérdida de color por oxidación y pérdida de textura en tratamientos térmicos, entre otros.

### **2.10.3 Tiempo de vida media ( $t_{0.5}$ )**

El tiempo de vida media, es una manera de expresar el tiempo requerido para perder la mitad de la concentración de los factores deseables o ganar la mitad de la concentración de los factores indeseables.

#### **2.10.4 Tiempo de reducción decimal (D)**

El tiempo de reducción decimal esta dado en minutos para reducir 10 veces o el 90%, el número de microorganismos de una población a una temperatura dada.

#### **2.10.5 Modelo de Arrhenius**

Según (Ibarz, *et al* 2000), cinética química es la parte de la fisicoquímica que estudia las velocidades de reacción. El concepto de cinética química se aplica en muchas disciplinas, tales como la ingeniería química, enzimología e ingeniería ambiental. La velocidad de reacción es siempre positiva. Afirman que generalmente, al llevar a cabo una reacción a una temperatura más alta provee más energía al sistema, por lo que se incrementa la velocidad de reacción al ocasionar que haya más colisiones entre partículas, como lo explica la teoría de colisiones. Sin embargo, la principal razón porque un aumento de temperatura incrementa la velocidad de reacción es que hay un mayor número de partículas en colisión que tienen la energía de activación necesaria para que suceda la reacción, resultando en más colisiones exitosas.

La influencia de la temperatura está descrita por la ecuación de Arrhenius. El modelo de Arrhenius que relaciona la velocidad de una reacción química a los cambios de temperatura es el mejor ejemplo de modelo aceptado con validez comparada experimentalmente. Se trata de un modelo lineal que expresa el efecto de la temperatura sobre la constante de velocidad ( $k$ ) de diferentes reacciones en muchos sistemas alimentarios.

Se representa de la siguiente manera:

$$k = A_0 e^{-\frac{E_a}{RT}} \dots\dots\dots \text{Ecuación. (8)}$$

Dónde:  $A_0$  es el factor pre-exponencial,  $E_a$  es la energía de activación,  $R$  es la constante de los gases (1.987 cal/K mol) y  $T$  es la temperatura absoluta en K.

La energía de activación se puede definir como la mínima energía que deben poseer las moléculas antes de que ocurra la reacción y el término exponencial es la fracción de moléculas que poseen esta energía mínima.



### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Agroindustrial y Planta Piloto de Jugos y Néctares de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, de setiembre de 2017 a enero de 2018. Las condiciones del experimento son efectuadas a nivel laboratorio y a la presión atmosférica.

#### **3.1 MATERIALES**

##### **3.1.1 Materia prima**

Para evaluar las antocianinas se utilizó como materia prima, arándanos variedad “emerald” proveniente del centro de operaciones agrícolas de “Valle y Pampa” que está ubicado el distrito de Humay, provincia de Pisco y

departamento de Ica, a 240 kilómetros al sur de Lima, Perú, adquirida en el mercado Nery García Zárate de la ciudad de Ayacucho.

**Distrito de Pisco:**

- Altitud: 15 m.s.n.m.
- Latitud: 13°42'31"
- Longitud: 76°12'27"
- Superficie: 24.56 Km<sup>2</sup>

Para las pruebas experimentales se obtuvo la muestra y se realizó un muestreo estratificado al azar, esto consistió en recolectar los frutos con las siguientes características: los frutos deben encontrarse completamente maduros con una máxima coloración azul, ser de buen tamaño y libre de daños mecánicos y/o fitopatológicos, una vez obtenido los frutos con estas características se tomó muestras al azar.



**Figura 7:** Arándanos utilizados en la investigación

### **3.1.2 Insumos**

Azúcar, carboximetilcelulosa (CMC), sorbato de potasio, ácido cítrico.

### **3.1.3 Materiales de envase**

- Recipientes de vidrio

Color: transparente

Color de tapa: blanco

Marca: VINSA

Capacidad: 333 mL.

### **3.1.4 Reactivos**

- Buffer pH 4.01 y 7.01 p.a. (para análisis)
- Buffer pH 1.0 (0.025 M) Cloruro de Potasio
- Buffer pH 4.5 (0.4 M) Acetato de Sodio
- Hidróxido de sodio p.a.
- Fenolftaleína
- Ácido clorhídrico, 37%
- Cloruro de potasio

### **3.1.5 Materiales de laboratorio y otros**

Se utilizó: Papel toalla, vasos de precipitados, colador, crisol de porcelana, tubos de ensayo con gradilla, mortero, y pilón, entre otros.

### **3.1.6 Equipos e instrumentos**

- Balanza Analítica, marca AND HR 200, precisión  $\pm 10$  mg
- Espectrofotómetro UV-visible, marca: LABOMED (\*)

- pH – Metro, marca: THERMOCIENTIFICS
- Refractómetro, marca: ATAGO
- Licuadora doméstica de 1 Litro, marca OSTER
- Cámara de refrigeración, marca TYLER
- Baño maría, marca DAIHAN SCIENTIFIC

## **3.2. MÉTODOS DE ANÁLISIS**

### **3.2.1 Determinación de sólidos solubles**

La determinación del contenido de sólidos solubles se realizó con un refractómetro, haciendo la lectura de °brix directamente del instrumento (AOAC, 2015).

Donde “AOAC” significa:

- Association of Oficial Analytical Chemistry (ingles)
- Asociación de Química Analítica Oficial (castellano)

### **3.2.2 Determinación del pH**

El pH se determinó con un potenciómetro digital, por inmersión del electrodo en la pulpa previa calibración con solución buffer de pH 4 y 7 a 25° C (AOAC, 2015).

### **3.2.3 Determinación de acidez titulable**

Se determinó la acidez titulable mediante valoración potenciométrica con hidróxido de sodio hasta cuando aparece una coloración rosada en el jugo de arándano a valorar, utilizando fenolftaleína. El resultado se expresó en gramos de ácido cítrico por cada 100 gramos de pulpa/jugo (AOAC, 2015).

### 3.2.4 Determinación de antocianinas totales

Para cuantificar el contenido de antocianinas de arándano, variedad "emerald"; se empleó el método pH diferencial (AOAC 2005.02 37.168 - Giusti, M.M. y Wrolstad, R.E., 2001). Se presenta en el ANEXO 1.

#### Reactivos:

- Buffer pH 1.0 (0.025 M) Cloruro de Potasio
- Buffer pH 4.5 (0.4 M) Acetato de Sodio

Se utilizó el espectrofotómetro LABOMED; las mediciones se realizaron a 510 nm (máxima longitud de onda determinada) y a 700 nm. El contenido de antocianinas monoméricas se calculó como cianidina-3-glucósido, usando Absortividad molar 26900 L cm<sup>-1</sup>mg<sup>-1</sup> y como peso molecular 449.6 g/mol. Los cálculos se realizaron usando las siguientes fórmulas:

$$[A_{Ct}] = \frac{A_{x}MV_{x}FD \times 1000}{\epsilon l} \dots\dots Ecuación.(9)$$

$$A = (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH1.0} - (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH4.5} \dots\dots Ecuación.(10)$$

Donde:

A = Absorbancia de la muestra

[A<sub>Ct</sub>] = mg/L de cianidina-3-glucósido;

MW = 449.6 g/mol, Peso Molecular de cianidina-3-glucósido

FD = Factor de dilución

ε = 26 900 L cm<sup>-1</sup>mg<sup>-1</sup>, Absortividad molar de cianidina-3-glucósido

l = 1 cm, espesor de la celda.

### **3.3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL**

#### **3.3.1 Muestreo del arándano**

Se realizó un plan de muestreo completamente aleatorizado de frutos de arándano, cada muestra conformada por 8 unidades se empleó para realizar la caracterización fisicoquímica por tres repeticiones. Para conformar este plan de muestreo, previamente se realizó un proceso de selección a partir de la adquisición de un lote de arándanos, con la finalidad de obtener una muestra homogénea, basada en el criterio del descarte de frutos con daños por insectos y plagas, físicos y con daños por hongos o bacterias (pudriciones).

#### **3.3.2 Obtención de jugo de arándano**

Las muestras de arándano adquiridas fueron seleccionadas en base a criterios de homogeneidad y a los parámetros de calidad, eliminándose aquellas que presentaron daños mecánicos, sobremadurez y con algún síntoma de contaminación microbiana, luego fueron lavadas y desinfectadas empleando un desinfectante comercial (hipoclorito de sodio a 50 ppm), se escaldó a 65°C por 45 segundos para inactivar enzimas polifenoloxidasas responsables del pardeamiento enzimático (Wang y Xu, 2007), quedando lista para el proceso de extracción del jugo. El proceso de extracción del jugo fue realizado manualmente, primero se estrujó y luego se procedió a licuar durante 15 segundos para luego filtrar por medio de mallas filtrantes, a fin de separar los residuos y liberar el jugo de arándano.

### 3.3.3 Metodología para elaborar néctar de arándano

El proceso de elaboración del néctar de arándano se realizó según el diagrama de flujo de bloques del procesamiento del néctar de arándano (*Vaccinium corymbosum L.*) mostrado en la figura 8.

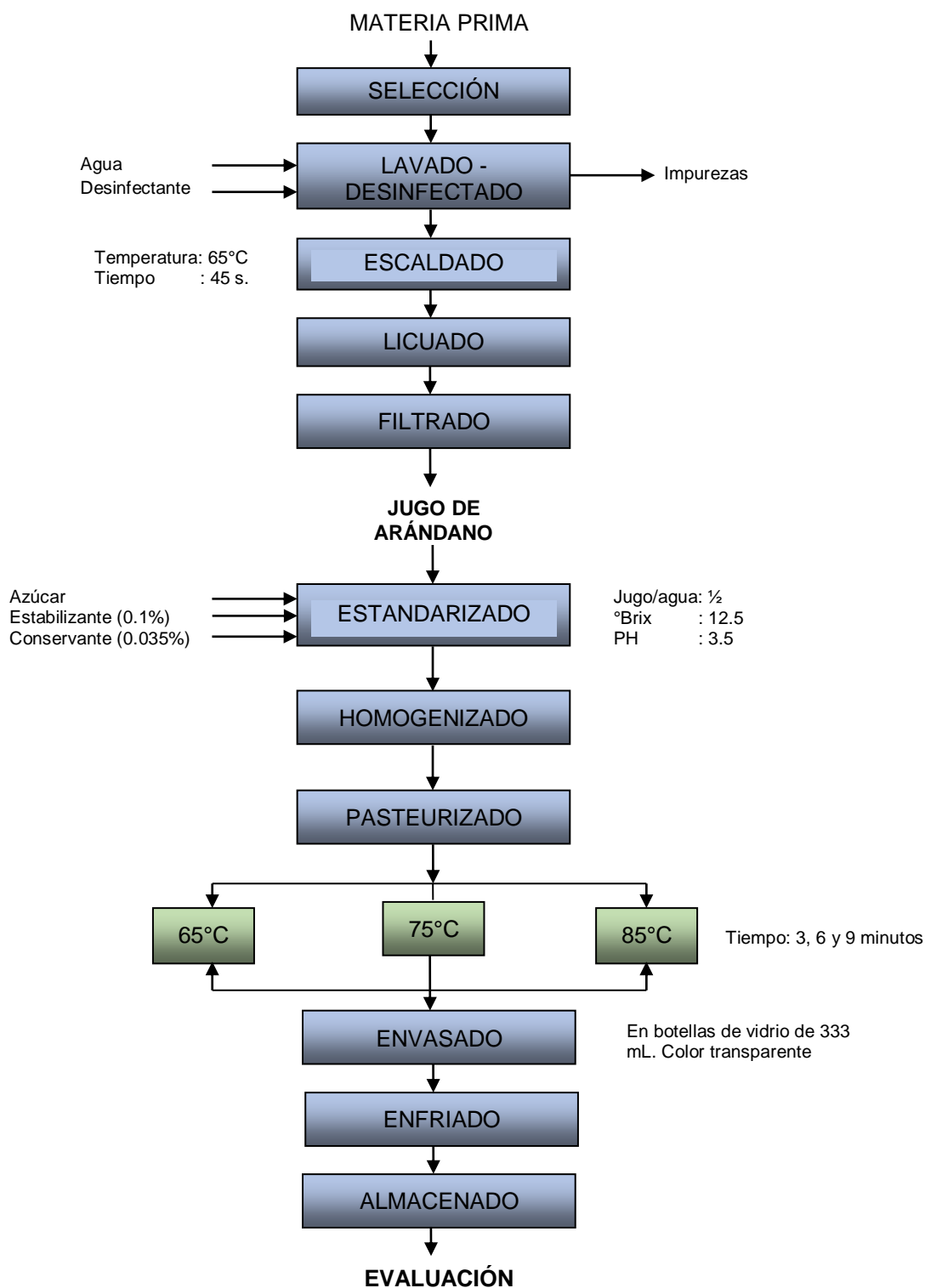
#### a) Estandarizado

En esta operación se realizó la mezcla de todos los ingredientes que constituyen el néctar de arándano. Respectando la Norma Técnica Peruana (NTP 203.110:2009 jugos, néctares y bebidas de fruta), que se presenta en el ANEXO 7.

La estandarización involucró las siguientes etapas:

- Dilución de jugo/agua : 1/2
- Regulación del dulzor : 12.5°brix
- Regulación de la acidez : pH 3.5
- Adición del estabilizante : CMC (0.1%)
- Adición del conservante : Sorbato de potasio (0.035%)

*Fuente: Myriam Coronado Trinidad y Roaldo Hilario Rosales (Centro de Investigación, Educación y Desarrollo "CIED").*



**Figura 8:** Diagrama de flujo de bloques del procesamiento del néctar de arándano (*Vaccinium corymbosum L.*)

Fuente: Elaboración propia.



### **b) Homogenizado**

Esta operación tiene por finalidad uniformizar la mezcla, consistió en agitar la mezcla hasta lograr la completa disolución de todos los insumos y aditivos.

### **c) Pasteurizado**

Para el proceso de pasteurizado se aplicó tres temperaturas a tres tiempos diferentes:

- Temperaturas de pasteurización: 65, 75 y 85°C
- Tiempos de tratamiento : 3, 6 y 9 minutos

*Fuente: Tesis "Pasteurización del néctar de tuna 70°C, 80°C y 90°C por 7, 9 y 11 minutos". Universidad Nacional del Centro del Perú.*

### **d) Envasado**

El envasado se realizó en caliente, el llenado del néctar fue hasta el tope del contenido del envase de vidrio de 333 mL, evitando la formación de espuma para luego inmediatamente colocar la tapa.

### **e) Enfriado**

El enfriado se realizó en agua corriente fría, ésta a la vez permitió limpiar la parte exterior de las botellas.

Al enfriarse el producto, ocurrirá la contracción de la bebida dentro de la botella, lo que viene a ser la formación de vacío, éste último representa el factor más importante para la conservación del producto.

#### f) Almacenado

El producto se almacenó en un lugar fresco, limpio y seco; con suficiente ventilación a fin de garantizar la conservación del producto y luego se procedió con la evaluación de antocianinas.

#### 3.3.4 Ecuaciones para determinar la cinética de degradación térmica del néctar de arándano

La cinética de degradación térmica del néctar de arándano se calculó a partir de las ecuaciones, descritas previamente por Toledo (1991).

$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = -kt \dots \dots \dots \text{Ecuación. (11)}$$

$$k = A_0 e^{-\frac{E_a}{RT}} \dots \dots \dots \text{Ecuación. (12)}$$

$$D = \frac{\ln(10)}{k} \dots \dots \dots \text{Ecuación. (13)}$$

$$t_{0.5} = \frac{\ln(0.5)}{k} \dots \dots \dots \text{Ecuación. (14)}$$

Donde,  $C$  = Concentración de antocianina;  $k$  = Velocidad constante de reacción expresada en  $\text{min}^{-1}$ ;  $t$  = Tiempo en minutos;  $E_a$  = Energía de activación en kcal/mol;  $R$  = Constante universal de los gases (1.987 cal/K mol);  $T$  = Temperatura absoluta en grados kelvin (K);  $A_0$  = Constante pre-exponencial;  $D$  = Reducción decimal;  $t_{0.5}$  = Tiempo requerido para reducir el 50% la concentración original de antocianina.

Los datos cinéticos fueron determinados mediante el análisis de regresión, utilizando MS Excel 2016.

### **3.3.5 Determinación del orden de reacción y la constante de velocidad**

El orden de reacción y las constantes de velocidad de degradación de antocianinas en el néctar de arándano se determinó mediante un análisis de regresión lineal simple a partir de las concentraciones obtenidas de antocianinas, de las temperaturas de pasteurización y el tiempo de aplicación. Los valores de las constantes de degradación se establecieron determinando la pendiente de degradación de antocianinas a las diferentes temperaturas de pasteurización (Labuza, 1984).

### **3.3.6 Determinación de la Energía de activación**

(Casp, 2003), Para determinar la energía de activación se realizó el análisis de regresión lineal simple a partir de los logaritmos de las constantes determinadas versus la inversa de las temperaturas convertidas en grados Kelvin, se determinó la pendiente la cual representa la Energía de Activación.

## **3.4 DISEÑO ESTADÍSTICO**

El estudio experimental se dividió en 9 ensayos por distintos tratamientos. Así, para cada ensayo, el diseño estadístico que se empleó consistió en una factorial de  $3A \times 3B \times 3$ , con arreglo en un Diseño Completamente al Azar (DCA), donde la primera variable corresponde a temperatura de pasteurización (A), el segundo el tiempo de proceso de tratamiento térmico (B), con ello se tuvieron 9 tratamientos los cuales con 3 repeticiones hacen

un total de 27 experimentos. Teniendo en cuenta que el  $t = 0$ , se considera como tiempo inicial para cada temperatura de pasteurización.

**Modelo estadístico** 
$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  Es la tasa de conservación de antocianina en % obtenida con el  $i$ -ésimo temperatura de pasteurización,  $j$ -ésimo tiempo del proceso de pasteurización,  $k$ ésima repetición

$\mu$  Es el efecto de la media general

$\alpha_i$  Es el efecto del  $i$ -ésimo temperatura de pasteurización

$\beta_j$  Es el efecto del  $j$ -ésimo tiempo del proceso de pasteurización

$(\alpha\beta)_{ijk}$  Es el efecto de la interacción en el  $i$ -ésimo temperatura de pasteurización,  $j$ -ésimo tiempo del proceso pasteurización

$\varepsilon_{ijk}$  Es el efecto del error experimental en el  $i$ -ésimo temperatura de pasteurización  $j$ -ésimo tiempo del proceso de pasteurización,  $k$ ésima repetición

$i = 3$  Es el número de niveles de la temperatura de pasteurización

$j = 3$  Es el número de niveles del tiempo del proceso de pasteurización

$k = 3$  Es el número de repeticiones

Para la variable dependiente retención de antocianinas, se realizó el análisis de varianza (ANVA), cuyas fuentes de variación fueron la temperatura de pasteurización y el tiempo del proceso de tratamiento térmico con sus respectivas interacciones.

Para el caso que haya significancia estadística se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey. Para todos los casos el nivel de significancia fue de 5%.

Se utiliza Medias Tukey:

- Porque es la prueba más aplicada y preferida por los estadísticos. La única exigencia es el número de repeticiones sea constante en todos los tratamientos.
- Porque el interés fundamental de la investigación es comparar las medias de los tratamientos, dos a dos, o sea para evaluar las hipótesis.

Teniendo como variables las siguientes:

- **Variables Independientes:** Temperatura de Pasteurización (65°C, 75°C y 85°C) y tiempos del proceso de tratamiento térmico (3, 6 y 9 minutos).
- **Variables Respuestas** : Antocianinas.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Caracterización fisicoquímica del arándano, variedad “emerald”

Los frutos cosechados debidamente seleccionados en base a tamaño, forma, color y grado de madurez; presentaron características fisicoquímicas homogéneas, las que se muestran en la tabla 6.

**Tabla 6:** Características fisicoquímicas del arándano, variedad “emerald”

Característica fisicoquímica	Promedio	Desviación estándar
Sólidos solubles (°Brix)	12.30	0.12
Acidez titulable (ácido cítrico) (%)	0.38	0.012
pH	3.32	0.15
Antocianinas totales (mg/ L) *	42.55	0.017

*Fuente: Elaboración propia. \* mg cianidina-3-glucosidico/L*

Se encontró que el contenido de sólidos solubles promedio fue de 12.30°brix; similar valor encontró Vilches (2015) que reportó que los sólidos solubles en pulpa de arándano maduro se encuentran en el rango de 10 a 15°brix, el valor promedio de pH fue de 3.32; valor similar encontró Loyola et al., (1993) cuyo valor promedio fue de 3.51; la acidez titulable fue 0.38%, Wang et al. (2008) determinó entre 0.3 a 1.3%, indicativo de una fruta ligeramente ácida, lo cual representa su principal característica para darle valor agregado.

Por otro lado, el contenido de antocianinas totales promedio fue de 42.55 mg cianidina-3-glucosídico/L, este valor es cercano al encontrado por Santacruz (2011) que fue de 38 mg/L.

#### **4.2 Degradación de antocianinas del néctar de arándano durante el tratamiento térmico de pasteurización**

La cuantificación de la concentración de antocianinas totales en el néctar de arándano se muestra en la tabla 7. Las variables independientes fueron; temperatura y tiempos de pasteurización; cuya variable dependiente fue la retención de antocianinas, expresada en porcentaje (%).

Estos valores se cuantificaron por espectrofotometría UV-visible, mediante el método del pH diferencial recomendado por Giusti y Wrolstad (2001). La metodología se presenta en el ANEXO 1.

**Tabla 7:** Degradación de antocianinas totales (mg cianidina-3-glucosídico/L) en el néctar de arándano durante la temperatura de pasteurización y el tiempo del proceso de pasteurización

Temperatura de pasteurización (°C)	Tiempo de proceso (minutos)			
	0	3	6	9
65	24.09	23.12	21.53	17.15
	24.28	22.86	21.15	16.58
	23.77	23.03	20.32	16.81
75	24.12	20.09	17.91	16.33
	23.63	20.34	16.87	16.03
	23.91	19.56	17.51	15.97
85	23.84	18.27	15.68	13.72
	24.16	18.11	14.75	13.37
	23.69	17.86	15.02	12.69

*Fuente: Elaboración propia.*

En la tabla 8 se muestra el análisis de varianza para la retención de antocianinas del néctar de arándano, variedad "emerald" a las temperaturas de pasteurización y tiempos de proceso estudiados, con un nivel de confianza de 95%.

Como se observa en la tabla 8, para los efectos principales temperatura de pasteurización (65, 75 y 85°C) y tiempo del proceso de tratamiento térmico (3, 6 y 9 minutos) estadísticamente existe diferencia altamente significativa ( $p < 0.05$ ), entre los tratamientos evaluados; para el caso de la interacción también existe diferencia altamente significativa ( $p < 0.05$ ).



**Tabla 8:** ANVA para la variación de antocianinas totales del néctar de arándano según el modelo planteado

Variable dependiente: antocianinas					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig. (Valor p)
Modelo corregido	469.710 <sup>a</sup>	11	42.701	304.282	0.000
Intersección	13538.098	1	13538.098	96471.008	0.000
Temperatura de pasteurización (TP)	78.976	2	39.488	281.388	0.000
Tiempo de proceso (t)	359.014	3	119.671	852.764	0.000
Interacción (TP) * (t)	31.720	6	5.287	37.672	0.000
Error	3.368	24	0.140		
Total	14011.176	36			
Total corregida	473.078	35			

<sup>a</sup> R cuadrado = 0.993 (R cuadrado corregido = 0.990)

Fuente: Elaboración propia, MS Excel 2016.

Dónde:

- GL: Grados de libertad
- F: Factor estadístico de prueba
- Sig.: Nivel de significancia

**Interpretación a la tabla 8:**

- La fila **Modelo corregido** se refiere a todos los efectos del modelo tomados juntos (el efecto de los dos factores, el de la interacción y el de la constante o intersección). El nivel crítico asociado al estadístico  $F$  ( $p = 0.000 < 0.05$ ) nos está diciendo que el modelo explica totalmente significativa de la variación observada en la variable dependiente

(antocianinas). El valor de  $R^2$  (0.993), nos indica que los tres efectos incluidos en el modelo ( $TP$ ,  $t$  y  $TP*t$ ) están implicado el 99.3% de la varianza de la variable dependiente *antocianinas*.

- La fila **Intersección** informa sobre la constante del modelo. Esta constante forma parte del modelo y es necesaria para obtener las estimaciones de las medias de cada casilla. Además, permite contrastar, en el caso de que esto tenga sentido, la hipótesis de que la media total de la variable dependiente vale cero en la población.
- Las dos filas siguientes recogen los efectos principales, es decir, los efectos individuales de los dos factores incluidos en el modelo: ( **$TP$** ) y ( **$t$** ). Los niveles críticos (*sig.*) indican que, tanto los grupos definidos por las variables ( $TP$ ) y ( $t$ ) poseen *antocianinas* medias significativamente diferentes (*Sig.* = 0.000 < 0.05).
- La siguiente fila contiene información sobre el efecto de la **interacción** entre  $TP$  y  $t$ . El estadístico  $F$  correspondiente a este efecto lleva asociado un nivel crítico de 0.000, lo cual indica que la interacción  $(TP)*(t)$  posee un efecto significativo sobre las *antocianinas*. Sólo con este dato, ya podemos anticipar que las diferencias en el contenido de las antocianinas que se dan entre las distintas temperaturas de pasteurización por diferentes tiempos, no son las mismas.
- La fila **Error**, ofrece información relacionada con la fuente de variación *error o residual*. La media cuadrática *error* (que vale 0.140 y que es divisor en cada coeficiente  $F$ ), es un estimador insesgado de la varianza de las variables estudiadas.

- La penúltima fila **Total**, muestra la suma de los cuadrados de las puntuaciones de la variable dependiente (información ésta que, de momento, carece de utilidad); sus grados de libertad son el número total de casos utilizados en el análisis.
- La última fila **Total corregida**, recoge la variación total: la variación debida a cada efecto más la variación error.

**Coefficiente de Variabilidad (CV):** Es una medida estadística que indica qué tan grande es la desviación estándar (S) en relación a la media. Se utiliza para comparar la variabilidad que existe entre dos conjuntos de datos, siempre que ambos tengan la misma distribución. Se calcula dividiendo la desviación estándar entre la media.

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} = \frac{\sqrt{CM_{ERROR}}}{\bar{X}} \times 100 \dots \dots \dots \text{Ecuación. (15)}$$

$$CV = \frac{\sqrt{0.140}}{21.820} \times 100 = \frac{0.374}{21.820} \times 100 = 1.715\%$$

Quiere decir que existe una variación de 1.715% entre las medias de tratamiento.

Como existen diferencias altamente significativas en los efectos principales realizamos la prueba de comparación de medias de Tukey.

En la tabla 9 se muestra la prueba de comparación de medias de Tukey para la temperatura de pasteurización.

**Tabla 9:** Prueba de Tukey para la temperatura de pasteurización del néctar de arándano en la variación de antocianinas totales

Temperatura de pasteurización (°C)	Subconjunto		
	1	2	3
85	17.597		
75		19.356	
65			21.224
Sig.	1.000	1.000	1.000

*Fuente: Elaboración propia.*

En la tabla 9 se puede observar que para la temperatura de pasteurización la retención de compuestos antociánicos del néctar de arándano es mayor cuando se utiliza temperaturas menores.

**Tabla 10:** Prueba de Tukey para el tiempo de proceso del néctar de arándano en la variación de antocianinas totales

Tiempo de proceso (minutos)	Subconjunto			
	1	2	3	4
9	15.405			
6		17.860		
3			20.360	
0				23.943
Sig.	1.000	1.000	1.000	

*Fuente: Elaboración propia.*

En la tabla 10 se observa que conforme aumenta el tiempo de proceso en las temperaturas de pasteurización del néctar de arándano, la degradación de las antocianinas es mayor, esto quiere decir a mayores tiempos de

contacto con temperaturas mayores, estos compuestos antociánicos mayor es la degradación.

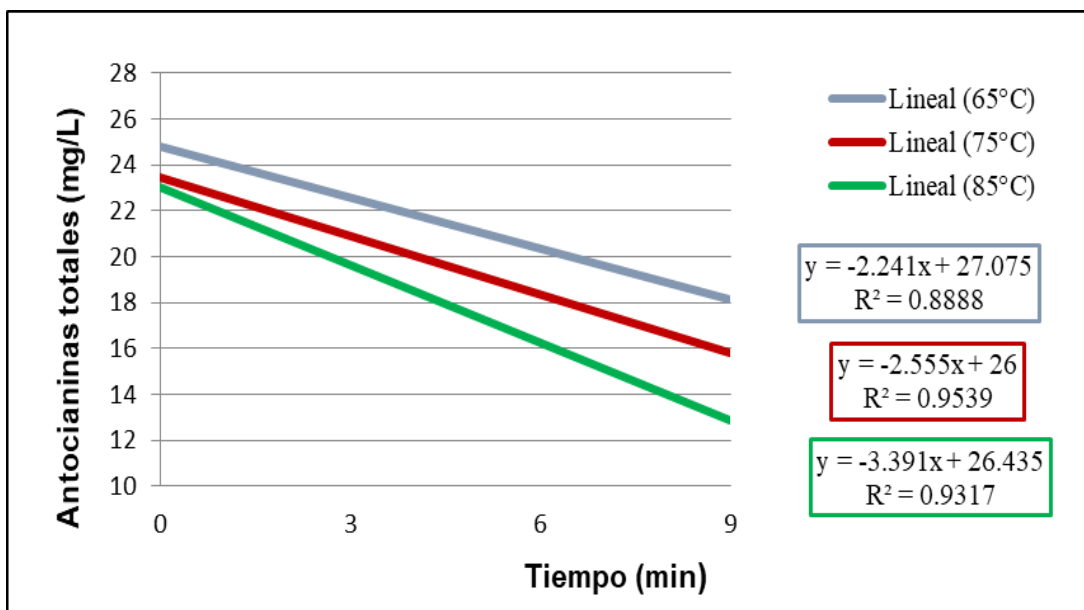
La estabilidad de las antocianinas en los alimentos se ve notablemente afectada por la temperatura. En general las características estructurales que conducen a un aumento de la estabilidad del pH también llevan a la estabilidad térmica. Las antocianidinas altamente hidrolizadas son menos estables que las metiladas, glucosiladas o acetiladas (Fennema, 2000).

Cerón (2008), señala que la estabilidad térmica de las antocianinas varía con su estructura, pH, la presencia de oxígeno e interacciones con otros componentes del sistema.

Wang y Xu (2007), precisan que las antocianinas son inestables cuando se exponen a altas temperaturas.

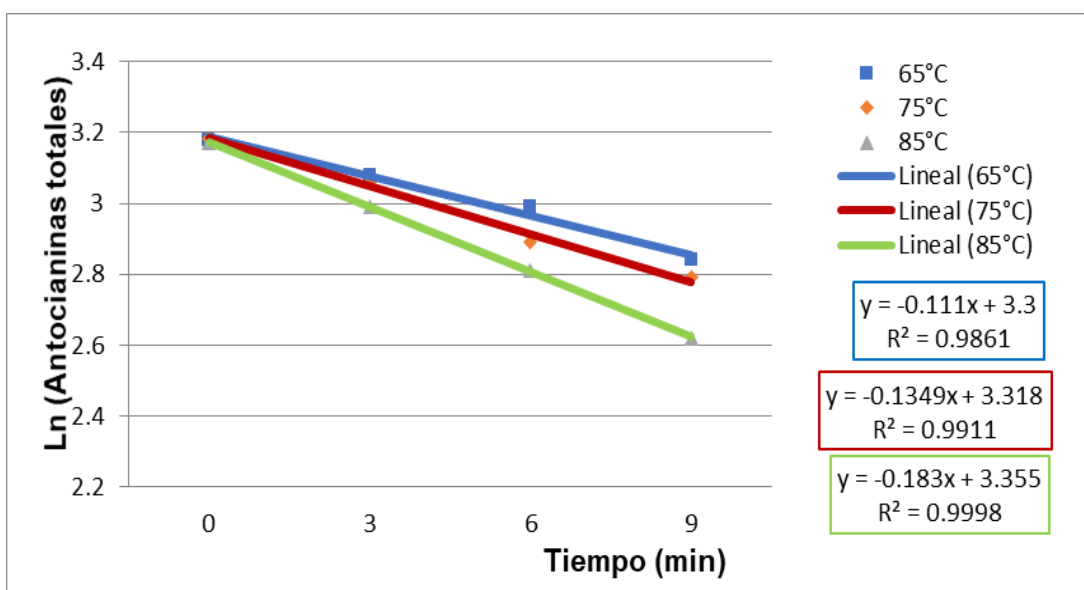
#### **4.3 Orden de reacción para la degradación de antocianinas del néctar de arándano según el modelo planteado**

En la figura 9 se muestran la variación de las antocianinas totales del néctar de arándano en función del tiempo de proceso de las diferentes temperaturas de pasteurización.



**Figura 9:** Variación de antocianinas totales en el néctar de arándano en función al tiempo (Datos de la tabla 7)

*Fuente: Elaboración propia.*



**Figura 10:** Variación del Ln (antocianinas totales) en el néctar de arándano en función al tiempo (Datos tabla 7)

*Fuente: Elaboración propia.*

Donde:  $R^2$ : Coeficiente de determinación lineal.

En las figuras 09 se pueden evidenciar la variación de la concentración de antocianinas totales en el néctar de arándano, en el tiempo y a las temperaturas de pasteurización estudiadas.

La concentración de antocianinas totales disminuyó con el incremento de la temperatura de pasteurización y a medida que aumenta el tiempo de proceso, pasando de 23.00 mg de cianidina-3-glucosídico/L a 18.18 mg de cianidina-3-glucosídico/L al cabo de 3 minutos de proceso a la temperatura de 85°C, lo que representó una pérdida en su concentración de 20.96%, mientras que para esta misma temperatura (85°C) pero transcurrido los 9 minutos la concentración de antocianinas totales disminuyó a 13.26 mg cianidina-3-glucosídico/L, lo que indica una pérdida del 26.65%.

Efectos similares se observan en el tratamiento térmico de jugo concentrado de agraz, en la cual la concentración de antocianinas disminuyó al aumentar la temperatura de proceso a tiempos distintos (Martínez et al., 2011).

Resultados similares se reportaron en cereza, granada y fresa (Özkan et al., 2002) y mora (Wang y Xu, 2007).

La degradación de las antocianinas puede deberse al contenido de ácido ascórbico presente en el jugo de arándano, ya que al calentarse este ácido reacciona con las antocianinas resultando la degradación de ambos compuestos (Martínez et al., 2011). Otra causa posible es el pH del medio, ya que esta característica tiene mucha influencia en la estabilidad de las antocianinas (Ceballos y Cisneros, 2004).

Valle, et al., (2011), evaluó la estabilidad de las antocianinas de zanahoria púrpura (*Daucus carota*) durante almacenamiento a 3 diferentes temperaturas; ambiente, 5°C y 10°C por un periodo de almacenamiento de 11 días y el mejor resultado fue a temperatura de 5°C la que conservó mejor las antocianinas (97.03%).

**Tabla 11:** Orden de reacción y coeficientes de degradación térmica de antocianinas totales en el néctar de arándano

Temperatura (°C)	Orden cero		Primer orden	
	$k_0$	$R^2$	$k_1$	$R^2$
65	2.241	0.888	0.111	0.9861
75	2.555	0.9539	0.1349	0.9911
85	3.391	0.9317	0.183	0.9998

*Fuente: Elaboración propia.*

Al observar la figura 10, notamos que la evolución de antocianinas totales en el néctar de arándano en función al tiempo y a las tres temperaturas de pasteurización estudiadas, muestra una tendencia lineal.

Generalmente, las antocianinas son más estables bajo condiciones ácidas, pero pueden degradarse por varios mecanismos posibles para formar primero productos incoloros, después productos oscuros e insolubles. Numerosas investigaciones han mostrado que la degradación y polimerización de antocianinas son influenciadas por el oxígeno, ácido ascórbico, luz, pH y temperatura donde la degradación de la antocianina sigue una cinética de primer orden (Bakker *et al.* 1986).



Se observa en la figura 10 y tabla 11 que la constante de velocidad cinética (k) aumenta con el incremento de la temperatura, lo que constata e indica el aumento en la velocidad de degradación de la antocianina al elevar la temperatura de pasteurización del néctar. El aumento de la constante de velocidad cinética (k) de degradación de las antocianinas con la temperatura, fue también reportado en arándanos y granada por Sandoval (2015), en jugo de cereza agria (Özkan et al., 2002) y jugo de mora (Wang y Xu, 2007).

Sánchez *et al.*, (2014) al estudiar la cinética de degradación de la betacianinas, betaxantinas y vitamina C a 30°C, 40°C y 50°C, en una bebida a base de betarraga y miel de abeja, utilizaron modelos cinéticos de orden cero, primer y segundo orden; así como la ecuación de Arrhenius para evaluar la velocidad de degradación de estos compuestos con respecto a la temperatura, determinando que la degradación de los tres compuestos evaluados en las tres temperaturas experimentadas siguieron una cinética de primer orden.

Kechinski *et al.*, (2010) estudiaron la cinética de degradación de antocianinas en el zumo de arándano durante el tratamiento térmico a 40°C, 50°C, 60°C, 70°C y 80°C. En cada nivel de temperatura determinaron que la degradación de este colorante siguió un modelo cinético de primer orden.

Wang y Xu, (2007) estudiaron la degradación térmica de antocianinas en el jugo y concentrado de mora (*Rubus fruticosus*) en el rango de temperaturas de 60-90°C y 5-37°C. Los resultados indicaron que la degradación térmica de las antocianinas siguió una cinética de reacción de primer orden.

#### 4.4 Parámetros cinéticos de la degradación de antocianinas del néctar de arándano según el modelo planteado

La degradación térmica de las antocianinas en el néctar de arándano responde a una cinética de primer orden, tal como se observa en los coeficientes de regresión mayores a 0.91 (Figura 10 y tabla 11).

En la tabla 12 se presentan los valores cinéticos de degradación térmica del néctar de arándano: la constante cinética de degradación (k), el coeficiente de regresión ( $R^2$ ), el tiempo de vida media ( $t_{0.5}$ ) y el tiempo de reducción decimal (D).

Según Ibarz et al., (2009) refiere que el tiempo de reducción decimal (D) como el tiempo necesario para reducir la concentración de componentes degradables, se debe indicar que cuanto mayor sea la temperatura aplicada menor será el valor D y  $t_{0.5}$  es el tiempo necesario para que los compuestos se degraden en un 50%.

$$t_{0.5} = \frac{0.693}{k} \dots\dots\dots Ecuación.(16)$$

$$D = \frac{2.303}{k} \dots\dots\dots Ecuación.(17)$$

Donde:

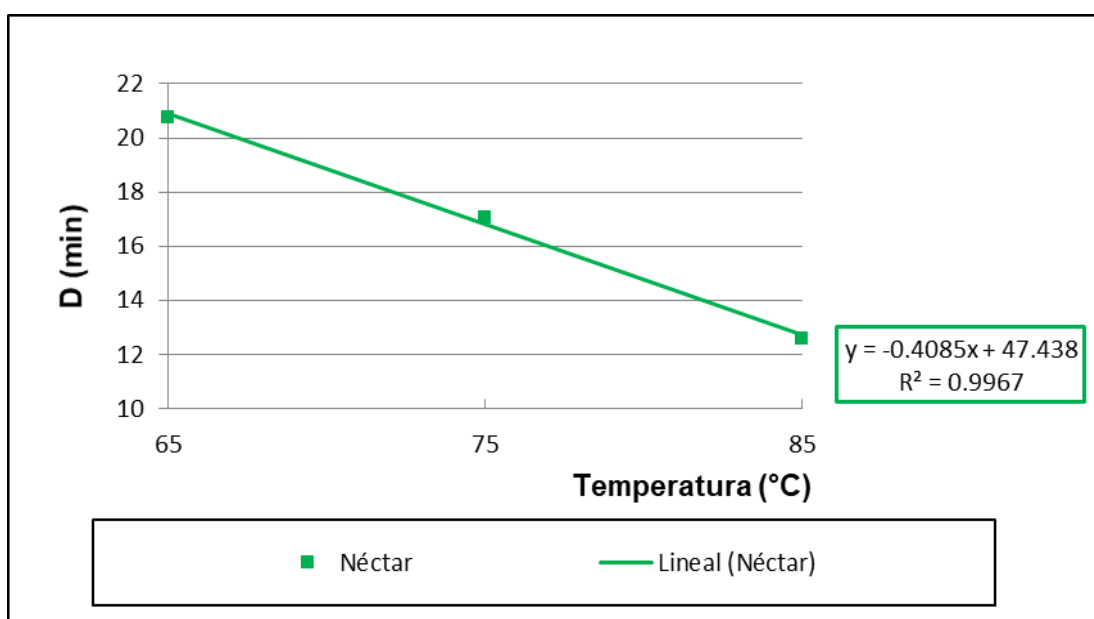
k: Constante de cinética de degradación

**Tabla 12:** Parámetros cinéticos de degradación térmica de antocianinas en néctar de arándanos

T (°C)	$k_1$ (min <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	t <sub>0.5</sub> (min)	D (min)
65	0.1110	0.9861	6.24	20.75
75	0.1349	0.9911	5.14	17.07
85	0.1830	0.9998	3.79	12.58

Fuente: Elaboración propia.

En la Figura 11 se presenta los valores de D (min) frente a la temperatura de pasteurización.



**Figura 11:** Valores D para néctar de arándano (Datos tabla 12)

Fuente: Elaboración propia.

Como se aprecia en la tabla 12 cuando se incrementa la temperatura de pasteurización el tiempo de reducción decimal (D) de la concentración de antocianinas en el néctar disminuye, lo cual se puede deber a la sensibilidad térmica de las antocianinas, es así que para  $D_{75}$  se determinó

aproximadamente una reducción de 82.26% en función a la concentración inicial de la antocianina que fue de 20.75 minutos, en tanto que para  $D_{85}$  este tiempo se redujo en un 60.71% (12.58 minutos).

Resultados similares reportó en el zumo de granada y arándano en el que el valor de tiempo de vida media y de reducción decimal disminuyeron hasta muy debajo de la mitad de su valor inicial al incrementar la temperatura de 30 a 60°C (Sandoval, 2015).

Özkan et al., (2002) recomienda que al trabajar con jugos que contengan antocianinas es mejor aplicar un tratamiento de altas temperaturas por cortos tiempos (HTST) para que la energía de activación no sea afectada, evitando el punto de inicio de su degradación.

Nunes et al., (2004), refiere que los cambios en la calidad sensorial y nutricional son ocasionados por reacciones químicas en los alimentos que tienen una dependencia con la temperatura, al igual que la inactivación de sistemas biológicos como enzimas y microorganismos también dependientes de la temperatura.

El valor D es el tiempo necesario a una temperatura constante para que el número de microorganismos (en este caso el contenido de antocianinas) viables disminuya diez veces, o lo que es lo mismo, para destruir el 90% de las esporas o células vegetativas de un organismo o atributo dado.

Hiwilepo-Van et al., (2012) refiere que en los cálculos de los procesos de tratamiento térmico es importante tener un conocimiento de la variación de las velocidades de reacción específicas con la temperatura. Se han empleado diversas expresiones matemáticas para indicar este cambio en la velocidad de reacción con la Ecuación de Arrhenius.

Para cuantificar el efecto de la temperatura de pasteurización sobre la concentración de antocianinas en el néctar de arándanos y los tiempos empleados en el proceso, se han ajustado las constantes de velocidad obtenidas en cada modelo cinético, a una ecuación tipo Arrhenius.

$$k = A_0 e^{-\frac{E_a}{RT}} \dots\dots\dots Ecuación.(8)$$

Dónde:

k: Corresponde cada una de las distintas constantes de velocidad que en su momento se estudian.

$A_0$ : Constante pre-exponencial

$E_a$ : Energía de Activación (Kcal/mol)

R: Constante universal de los gases (1.987 cal/mol K)

T: Temperatura absoluta (K)

Ecuación cinética de velocidad para reacción de primer orden:

$$\ln k = -\frac{E_a}{R} \left( \frac{1}{T} \right) + \ln A_0 \dots\dots\dots Ecuación.(18)$$

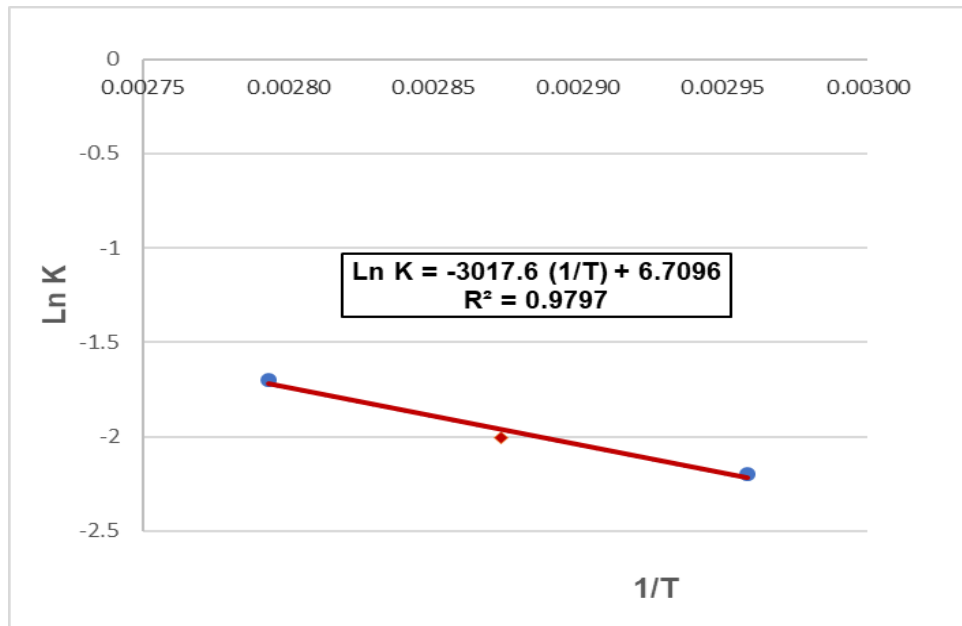
Determinación de la energía de activación gráficamente.

$$y = mx + b \dots\dots\dots Ecuación.(19)$$

De las ecuaciones 15 y 16 se deduce que:

$$m = \frac{E_a}{R} \dots\dots\dots \text{Ecuación. (20)}$$

Los resultados obtenidos de los ajustes realizados para la constante de velocidad de degradación de antocianinas en néctar de arándanos se muestran a continuación:



**Figura 12:** Modelo de Arrhenius de la degradación térmica de antocianinas en néctar de arándano (Datos Tabla 12)

*Fuente: Elaboración propia.*

**Tabla 13:** Valor de energía de activación según Arrhenius en la degradación térmica de antocianinas en néctar de arándanos

Variable	Respuesta
Ea (Kcal/mol)	5.990
A <sub>0</sub>	1.190
R <sup>2</sup>	0.9757

*Fuente: Elaboración propia.*

Analizando los resultados de la Figura 12 y tabla 13; se corrobora que los valores cinéticos representan un modelo cinético de primer orden, donde la energía de activación fue de 5.990 Kcal/mol para la degradación de antocianinas en néctar de arándanos, este resultado fue menor con el obtenido por (Sandoval, 2012) al estudiar la degradación de jugo antocianinas en arándanos y granada durante el tratamiento térmico y Martínez et al., (2011) en sus estudios sobre degradación térmica de antocianinas jugo de agraz.

Martínez et al., (2011) refiere que la degradación de antocianinas durante el almacenamiento de jugo de agraz a 4, 17 y 37°C siguió una cinética de orden uno, observando también que la temperatura de almacenamiento tiene efecto significativo sobre la degradación de antocianinas, el almacenamiento a 37°C resulto ser mayor la degradación de antocianinas respecto a las temperaturas menores, determinando también que el tiempo de vida media para las antocianinas del jugo concentrado de agraz fue de 7.5 semanas a 4°C y solo de 3 semanas a 37°C.

Estos parámetros cinéticos de degradación se difieren con respecto a otros trabajos de investigación y puede deberse a las temperaturas empleadas, la matriz biológica y su geometría, la concentración de oxígeno, pH y probablemente por las diferencias en el contenido de humedad de las muestras y las concentraciones del producto (Hiwilepo-Van et al., 2012).

Pereira, *et al.*, (2010) determinaron que la energía de activación para la degradación de antocianinas en el jugo de arándano fue 19.234 kcal/mol.

Songnian *et al.*, (2008) estudiaron la retención de antocianinas en el jugo de granada y su cinética de degradación y determinaron que la energía de activación fue 12.48 kcal/mol.

Según (Ibarz et al., 2009), comprobaron el efecto de la temperatura sobre las constantes cinéticas y que se puede cuantificar mediante la ecuación de Arrhenius, obteniendo que las energías de activación, para la evolución de  $A_{420}$  y  $L^*$  (luminosidad, parámetro colorimétrico que también se utiliza para estudiar la evolución del pardeamiento de los alimentos), las cuales mostraron una tendencia a disminuir con el aumento de la concentración, en estudios del pardeamiento de zumos clarificados de limón tratados a altas temperaturas.



## V. CONCLUSIONES

- 5.1 Las características fisicoquímicas del arándano variedad emerald fueron: Sólidos solubles (°Brix):  $12.30 \pm 0.12$ , acidez titulable (% ácido cítrico):  $0.38 \pm 0.012$ , pH:  $3.32 \pm 0.15$  y antocianinas totales (mg/L):  $42.55 \pm 0.017$ .
- 5.2 La cinética de degradación térmica de antocianinas en el néctar de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) a las temperaturas de pasteurización de 65, 75 y 85°C a 3, 6 y 9 minutos siguieron una cinética de primer orden.
- 5.3 Las antocianinas se degradaron en los tiempos empleados con velocidades (k) de 0.111; 0.1349 y 0.183 min<sup>-1</sup> a las temperaturas de 65, 75 y 85°C respectivamente en el néctar de arándano.
- Al utilizar temperaturas más bajas la degradación de antocianinas en el néctar de arándanos es más lenta, siendo que a temperatura de 65°C es la que mejor retiene este compuesto.
- 5.4 El tiempo de vida media de las antocianinas en el néctar de arándano a la temperatura más baja (65°C) fue de 6.24 minutos y el tiempo de reducción decimal a esta temperatura fue de 20.75 minutos.
- La energía de activación según Arrhenius para la degradación de antocianinas en el néctar de arándano fue de 5.990 Kcal/mol, este valor demuestra que las antocianinas presentan buena estabilidad a las temperaturas y a los tiempos aplicados.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- 6.1 Realizar estudios de investigación en degradación térmica de antocianinas en lechuga morada, en moras, airampo y otros productos que presentan color morado.
- 6.2 Realizar estudios experimentales en degradación térmica de compuestos antociánicos en pulpas de frutas utilizando empaques bioactivos.
- 6.3 La cinética de degradación térmica de antocianinas se recomienda evaluar como mínimo un 50% de su degradación para no tener problemas en definir el orden de reacción y así poder determinar los parámetros cinéticos.
- 6.4 Realizar investigaciones sobre el análisis microbiológico, sensorial y estimar la vida útil del néctar de arándano, pasteurizado a una temperatura de 65°C por un tiempo de 3 minutos.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 7.1. Aguilar, E. 2002. Inducción de la copolimerización de antocianinas monoméricas de fresa (*Fragaria ananassa*) en sistemas modelo. Universidad de las Américas, Puebla.
- 7.2. Aguilera, M; Reza, M; Chew, R; Meza, J. 2012. *Propiedades funcionales de las antocianinas*. México: s.n.
- 7.3. Belitz, H D. 2012. Química de los alimentos. Tercera edición. Editorial Acribia. Zaragoza. España.
- 7.4. Cerón, M. 2008. Extracción, caracterización y estabilidad de antocianinas y otros compuestos antioxidantes obtenidos a partir de zarzamora. Universidad de las Américas Puebla.
- 7.5. Clark, B. J., T. Frost y M. A. Russell. (1993). *UV Spectroscopy, instrumentation, data handling*. London: Chapman & Hall.
- 7.6. Contreras, M. 2010. Efecto de la aplicación de CPPU sobre la calidad de fruta en arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.). Tesis para título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de la Frontera. Temuco-Chile.
- 7.7. Colima, 2010. Arándano: Perfil Comercial. Secretaría de Desarrollo Rural. Dirección de Comercialización y Planeación. Estado de Colima-México.
- 7.8. Coria, L.; Peralta, F.; Albarracín, P. 2008. Análisis de Antocianinas en Arándanos del NOA. Universidad Nacional de Tucumán. Tucumán Argentina.
- 7.9. Dugarte, Luis (2007). *Determinación de Talio Mediante Generación de Hidruros por Espectroscopía de Absorción Atómica*. Tesis de

Licenciatura en Química. Mérida: Universidad de los Andes.

- 7.10. Fennema O. 2010. Química de los alimentos. Tercera edición. Editorial Acribia. Zaragoza. España.
- 7.11. Ferreira E, Stringheta C y Cano Chauca M. 2007. Stability of anthocyanin in spinach vine (*Basella rubra*) fruits. *Ciencia e Investigación Agraria*, 34: 115-120.
- 7.12. Garzón, G. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta Biológica colombiana*, 13: 27–36.
- 7.13. Giusti, M. and R. Wrolstad. 2001. Anthocyanins. characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. Unit F1.2. In: Wrolstad, R. and S. Schwartz (eds.). *Current protocols in food analytical chemistry*. John Wiley and Sons, Inc. New York. pp. F1.2.1-F.1.2.13.
- 7.14. Hiwilepo-Van, P., Bosschaart, Ch., Twisk, Ch. V., Verkerk, R., Dekker, M. 2012. Kinetics of thermal degradation of vitamin C in marula fruit (*Sclerocarya birrea* subsp. *caffra*) as compared to other selected tropical fruits. *LWT - Food Science and Technology*, 49:188-191.
- 7.15. Ibarz, R.; Falguera, V.; Garvín, A.; Garza, S.; Pagán, J.; Ibarz, A. 2009. Flow behaviour of clarified orange juice at low temperatures. *Journal of Texture Studies* 40: 445 – 456.
- 7.16. Jara, G. 2012. Características de los arándanos cultivados en Perú. Licenciada en Ciencias Biológicas. Magister en Ciencias. Santiago-Chile.
- 7.17. Kechinski, C. P., Guimarães, P. V. R., Noreña, C. P. Z., Tessaro, I. C., & Marczak, L. D. F. 2010. Degradation kinetics of anthocyanin in

- blueberry juice during thermal treatment. *Journal of food science*, 75(2), C173-C176.
- 7.18. LALEH GH, FRYDOONFAR H, HEIDARY R, JAMEEL R y ZARE S. 2006. The effect of light, temperature, pH and species on stability of anthocyanin pigments in four berberis species. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5: 90-92.
- 7.19. Labuza, T. 1984. *Application of chemical kinetics to deterioration of food*. *Journal of Chemical Education* 61 (4): 348-358.
- 7.20. Labuza T. (1985). Accelerated shelf life testing of food. *Journal of Food Technology*, 57-64.
- 7.21. LOYOLA, N.; GEORGI, M.; ANDRADE, N. y TEIXIDÓ, E. 1993. Comportamiento de arándano, mora cultivada y mora silvestre en almacenamiento refrigerado y su impacto en la calidad. *Agro Sur* 21 (1): 59-69.
- 7.22. Martínez J, Rojas H, Borda G, Hastamorir A y Medina M. 2011. Estabilidad de antocianinas en jugo y concentrado de Agrad (*Vaccinium meridionale* Sw.). *Rev. Fac. Nat. Agr. Medellín* 64(1): 6015-6022.
- 7.23. Nunes, M.C.; Emond, J.P.; Brecht, J. 2004. Quality curves for highbush blueberries as a function of the storage temperature. *Proceedings of the Ninth North American Blueberry Research*. Vol 3 N° 3, pp 423-438.
- 7.24. Nuñez Barrios, A.; NeSmith S.; Sánchez E.; Prussia, S. 2005. Influencia de métodos de cosecha y temperaturas de almacenamiento en la calidad del arándano (*Vaccinium Ashei* R.). *Revista Fitotecnia*

Mexicana. Vol-28 pp. 385-388.

- 7.25. Özkan, M., A. Yemenicioglu, N. Asefi, and B. Cemeroglu. 2002. Degradation kinetics of anthocyanins from sour cherry, pomegranate and strawberry juices by hydrogen peroxide. *Journal of Food Science* 67(2): 525-529.
- 7.26. Pereira Kechinski C, Ramos Guimaraes PV, Zapata Noreña CP, Tessaro IC, Ferreira Marczak LD. 2010. Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment. *Food Science*, 75: 173-176.
- 7.27. Pino, C. 2007. Descripción del desarrollo vegetativo y de las características físicas y químicas de los frutos de cuatro clones de arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.). Tesis para grado de Licenciado en Agronomía. Universidad Austral de Chile. Valdivia-Chile.
- 7.28. RedAgricola. 2017. Arándanos en Perú: Situación actual y perspectivas.
- 7.29. Sandoval A. 2015. Cinética de degradación térmica de antocianinas en zumos pasteurizados de granada y arándano. Tesis de Industrias Alimentarias. Lambayeque.
- 7.30. Santacruz, L. 2011. Análisis químico de antocianinas en frutos silvestres colombianos. Tesis de Maestría en Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Colombia. 106 pp.
- 7.31. Sapei, L., Hwa, L. 2014. Study on the Kinetics of Vitamin C Degradation in Fresh Strawberry Juices. *Procedia Chemistry*, 9:62-68 (2014)

- 7.32. SHIPP, J; Abdel, S. 2010. *Food applications and physiological effects of anthocyanins as functional food ingredients*. Canada: s.n.
- 7.33. Songnian, G., Zhouyong, D., Haiyan, S., & Xinghua, L. 2008. Stability of anthocyanin in pomegranate juice and its degradation kinetics. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2008(3).
- 7.34. Stückerath, R.; Petzold, G. 2007. Formulación de una Pasta Gelificada a partir del descarte de Arándanos (*Vaccinium corymbosum* L.). *Información Tecnología*, Vol 18 N° 2, pp 53-60.
- 7.35. Taoukis, P.S. et al. 1997. *Kinetics of food deterioration Shel life evaluation foos*. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg. Maryland. EE: UU.
- 7.36. Torres J. 2011. Elaboración del néctar de uvilla physalis peruviana I, utilizando sacarina, dos concentraciones de estabilizante y dos tiempos de pasteurización. Tesis de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Técnica del Norte. Ecuador.
- 7.37. Vial, C. (2006) *Variedades de Arándano en el Perú*.
- 7.38. Vilches, F. 2005. Formulación y elaboración de un "snack" de arándano con incorporación de fibra dietética. Título Profesional de Ingeniero Agrónomo. Mención: Tecnología de los Alimentos. Universidad de Chile facultad de ciencias agronómicas. Chile. 50 pp.
- 7.39. Wang, W. D., & Xu, S. Y. 2007. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of Food Engineering*, 82(3), 271-275.

7.40. Zapata, Luz, 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, España.

#### Páginas web

- <http://www.agraria.uach.c/> (Revisado el 12/09/2017)
- <http://www.sobitecperu.com/el-cultivo-del-arandano> (Revisado el 16/12/2017)



## **ANEXOS**

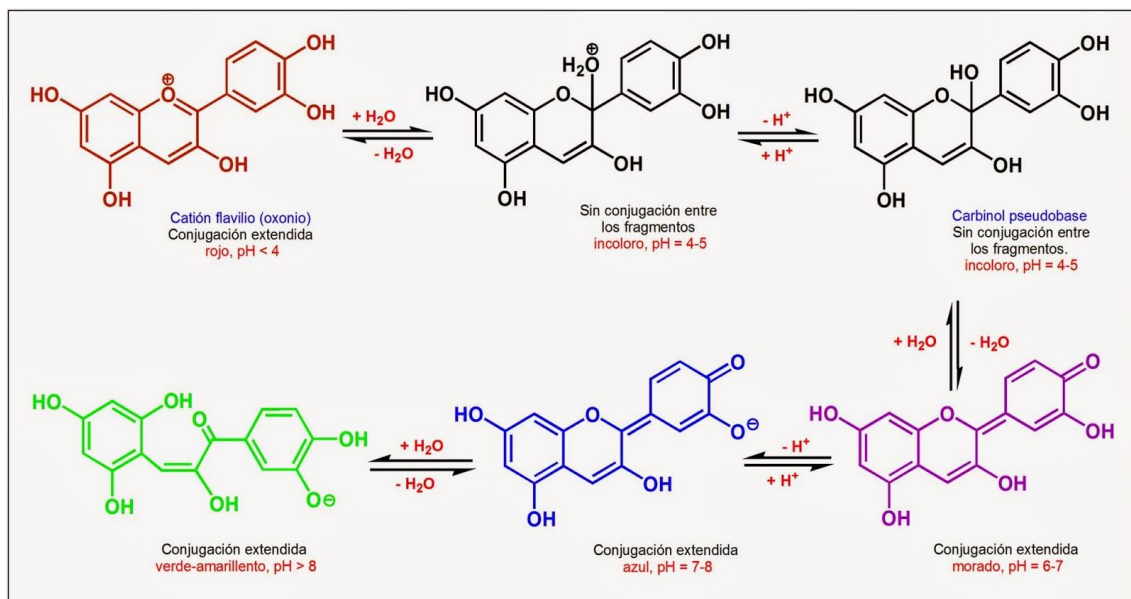
## **ANEXO 1**

### **DETERMINACIÓN DE ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS TOTALES MEDIANTE EL MÉTODO pH-DIFERENCIAL (AOAC 2005-02 37.1.68)**

El contenido de antocianinas totales se determinó según el método de pH diferencial, descrito por Giusti y Wrolstad (2001), usando dos sistemas buffer: cloruro de potasio (KCl); pH 1.0 (0.025M), y acetato de sodio (CH<sub>3</sub>COONa), pH 4.5 (0.4M). Estos autores realizaron la caracterización y medición de antocianinas por Espectroscopía UV-Visible y concluyen que en este método pH diferencial las antocianinas sufren transformaciones estructurales reversibles con un cambio en el pH que se manifiesta por sorprendentemente diferentes espectros de absorbancia, la forma de oxonio color predomina a pH 1.0 y de la forma hemiacetal incoloro a pH 4.5 (Figura 1.1).

El método pH diferencial se basa en esta reacción, y permite la medición precisa y rápida de las antocianinas totales, incluso en presencia de pigmentos degradados polimerizados y otros compuestos que interfieren.

Las 36 muestras experimentadas fueron extraídas de acuerdo al tiempo programado, cada muestra contenía 10 mL, se extrajo 2 mL de muestra y se diluyó (1 mL para cada solución) con las respectivas soluciones buffer (5 mL) y la absorbancia fue medida 3 veces a 510 y 700 nm, usando un espectrofotómetro UV-VIS.



**Figura 1.1:** Formas estructurales predominantes de antocianinas presentes en los diferentes niveles de pH

- Quinonoidal base blue: Base quinoidal azul.
- Flavylium cation (oxonium form) orange to purple: Cation flavilio Oxonio: Naranja a púrpura.
- Chalcone colorless: Incolora chalcona
- Carbinol pseudo-base (hemiketal form) colorless: Pseudo-base carbinol forma hemiacetal incolora.

El contenido total de antocianinas se expresó a la siguiente ecuación:

$$[ACt] = \frac{AxMVxFDx1000}{\epsilon xl} \dots \text{Ecuación. (9)}$$

$$A = (A_{510nm} - A_{700nm}) pH 1.0 - (A_{510nm} - A_{700nm}) pH 4.5 \dots \text{Ecuación. (10)}$$

Donde:

Para la concentración de Antocianinas en néctar de arándano:

[ACt] = mg/L de cianidina-3-glucósido;

MW = 449.6 g/mol, Peso Molecular de cianidina-3-glucósido

FD = Factor de dilución

$\epsilon$  = 26 900 L cm<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup>, Absortividad molar de cianidina-3-glucósido

l = 1 cm, espesor de la celda

1000 = Conversión de g a mg.

## **PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES BUFFER**

### **A. Buffer pH 1.0 (cloruro de potasio 0.025 M).**

Pesar 1.86 g de KCl en un vaso y añadir agua destilada para su total disolución, luego medir el pH y ajustar a 1,0 ( $\pm$  0.05) con HCl cuidando no sobrepasar el litro, trasvasar a una fiola aforada y completar el enrase final a 1 L hasta el aforo.

### **B. Buffer pH 4.5 (acetato de sodio 0.4 M).**

Igualmente, por otra parte, pesar 54.43 g de CH<sub>3</sub>COONa.3H<sub>2</sub>O en un vaso precipitado y añadir agua destilada para su total disolución, luego medir el pH y ajustar a 4.5 ( $\pm$  0.05) con HCl cuidando no sobrepasar el litro, trasvasar a una fiola aforada y completar el volumen al enrase de aforo de 1 L.

## ANEXO 2

### VALORES PROMEDIO DE LAS ABSORBANCIAS EN LA DETERMINACIÓN DE ANTOCIANINAS TOTALES EN EL NÉCTAR DE ARÁNDANO

#### 2.1 Valores promedios de absorbancias para la temperatura de 65°C

Tiempo (min)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
0	0.739	0.031	0.216	0.027
3	0.632	0.03	0.202	0.023
6	0.581	0.024	0.183	0.019
9	0.457	0.018	0.159	0.017

Fuente: Elaboración propia.

#### 2.2 Valores promedios de absorbancias para la temperatura de 75°C

Tiempo (min)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
0	0.739	0.031	0.216	0.027
3	0.613	0.029	0.189	0.022
6	0.556	0.025	0.176	0.018
9	0.409	0.019	0.148	0.016

Fuente: Elaboración propia.

### 2.3 Valores promedios de absorbancias para la temperatura de 85°C

Tiempo (min)	Absorbancias			
	pH 1.0		pH 4.5	
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
0	0.739	0.031	0.216	0.027
3	0.575	0.028	0.208	0.023
6	0.521	0.023	0.169	0.017
9	0.392	0.018	0.141	0.014

Fuente: Elaboración propia.

### ANEXO 3

## FOTOS DE LA DETERMINACION FISICOQUIMICAS DEL ARÁNDANO VARIEDAD “EMERALD”

1. Determinación de °brix



2. Determinación del pH



3. Determinación de acidez titulable



4. Determinación de antocianinas



5. Néctar de arándano



## ANEXO 4

### CARÁCTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL ARÁNDANO VARIEDAD “EMERALD”

Características físicoquímicas	Análisis			Promedio	Desviación Estándar
	1	2	3		
Sólidos Solubles (°Brix)	12.43	12.17	12.31	12.30	0.12
Acidez titulable (%Ácido cítrico)	0.39	0.37	0.40	0.38	0.012
pH	3.27	3.39	3.31	3.32	0.15
Antocianinas (mg/L) *	43.02	42.54	42.09	42.55	0.017

*Fuente: Elaboración propia. \* mg cianidin-3-glucosídico/L*

#### FORMULA PARA DETERMINAR LA DESVIACION ESTANDAR (S)

$$S = \sqrt{\frac{\sum (Y - \bar{Y})^2}{n}} \dots\dots\dots \text{Ecuación. (15)}$$

Donde:

- Y: un valor de un conjunto de datos
- $\bar{Y}$ : es la media del conjunto de datos
- n: es el número de puntos de datos



## ANEXO 5

### ANOVA PARA DISEÑO COMPLETAMENTE ALEATORIZADO (DCA)

Fuente de Variación	SC	G.L.	CM	F
Modelo corregido	$SC_{MC}$	$ab-1$	$\frac{SC_{MC}}{ab-1}$	$\frac{CM_{MC}}{CME}$
Intersección	$SC_I$	$N-1$	$\frac{SC_I}{N-1}$	$\frac{CM_I}{CME}$
Tratamientos A	$SC_A$	$a-1$	$\frac{SC_A}{a-1}$	$\frac{CM_A}{CME}$
Tratamientos B	$SC_B$	$b-1$	$\frac{SC_B}{b-1}$	$\frac{CM_B}{CME}$
Interacción	$SC_{AB}$	$(a-1)(b-1)$	$\frac{SC_{AB}}{(a-1)(b-1)}$	$\frac{CM_{AB}}{CME}$
Error	$SC_E$	$ab(n-1)$	$\frac{SC_E}{ab(n-1)}$	
Total	$SC_T$	$abn$		
Total corregido	$SC_{TC}$	$abn-1$		

*Fuente: Elaboración propia.*

Donde:

- A: efectos principal temperaturas
- B: efecto principal tiempos
- a: nivel de efecto principal A
- b: nivel de efecto principal B
- n: número de réplicas/repeticiones

La suma total de cuadrados se calcula en forma usual mediante:

$$SC_{\text{Modelo corregido}} = SC_A + SC_B + SC_{AB}$$

$$SC_{\text{Intersección}} = \frac{Y^2 \dots}{abn}$$

$$SC_{\text{Total}} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n Y^2_{ijk}$$

$$SC_{\text{Total corregido}} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n Y^2_{ijk} - \frac{Y^2 \dots}{abn}$$

Cálculo de coeficiente de determinación

$$"a" \text{ o } R \text{ cuadrado} = \frac{SC_{\text{Modelo corregido}}}{SC_{\text{Total corregido}}}$$

$$"a" \text{ o } R \text{ cuadrado corregido} = 1 - \frac{N - 1}{N - (k + 1)} (1 - R_{\text{cuadrado}})$$

Las sumas de cuadrados para los efectos principales son:

$$SC_A = \sum_{i=1}^a \frac{Y^2_{i..}}{bn} - \frac{Y^2_{...}}{abn}$$

$$SC_B = \sum_{j=1}^b \frac{Y^2_{.j.}}{an} - \frac{Y^2_{...}}{abn}$$

Es conveniente obtener  $SC_{AB}$  en dos etapas. Primero se calcula la suma de cuadrados entre los totales de las ab celdas, conocida como la suma de cuadrados debido a los "subtotales":

$$SC_{\text{subtotales}} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \frac{Y^2_{ij.}}{n} - \frac{Y^2_{...}}{abn}$$

Esta suma de cuadrados contiene a la  $SC_A$  y  $SC_B$ . Por lo tanto, la segunda etapa consiste en calcular  $SC_{AB}$  mediante:

$$SC_{AB} = SC_{\text{subtotales}} - SC_A - SC_B$$

La  $SC_E$  se calcula por diferencia:

$$SC_E = SCT - SC_{AB} - SC_A - SC_B$$

o bien :

$$SC_E = SCT - SC_{\text{Subtotales}}$$

## ANEXO 6

### FICHA TÉCNICA

**CUADRO N° 1: Ficha Técnica de los Arándanos frescos**

<b>ARÁNDANOS FRESCOS – REGION ICA</b>	
<b>Nombre Comercial</b>	Arándanos rojos, arándanos azules (blueberry).
<b>Nombre Científico</b>	Vaccinium corymbosum.
<b>Origen de la especie</b>	Regiones frías del hemisferio norte.
<b>Características</b>	Se debe buscar que sean perfectamente redondos: deben de estar firmes al ser presionados suavemente y sin aberturas. El color debe de ser intenso y su cáscara debe presentar una cubierta blanquecina muy ligera y cerosa, lo que proporciona a la fruta un escudo protector.
<b>Nivel de Desarrollo en Ica</b>	Oferta exportable Nacional e Internacional.
<b>Forma de presentación del arándano fresco en Ica</b>	Se oferta para el mercado internacional arándano fresco de la variedad Biloxi.
<b>Usos</b>	Uso alimenticio en fresco.
<b>Partida arancelaria</b>	0810400000 Arándanos rojos, mirtilos y demás frutos del género Vaccinium
<b>Valor Nutricional</b>	Los arándanos azules son bajos en calorías, grasa y sodio. No tienen colesterol y son ricos en fibra y minerales. Es importante destacar su alta concentración de vitamina C y sus propiedades antioxidantes (antocianinas).
<b>Oferta Actual y Potencial de Ica</b>	Mangos, arándanos, espárragos, páprika, limón, uvas, capsicum, tejido de algodón, prendas de vestir.
<b>Envases de exportación</b>	Envases de plástico de 4.4 oz /125 g Envases de plástico de 6 oz / 170 g Envases de plástico de 18 oz / 510 g Envases de plástico de 24 oz / 680 g Envases de plástico de 1 pinta Envases de plástico (sin tapa) de 255g.
<b>Almacenamiento</b>	Condiciones óptimas de almacenamiento: temperatura: 18°C,; humedad relativa: 12-16%
<b>Principales mercados de exportaciones</b>	En la actualidad: Estados Unidos, Holanda y Reino Unido
<b>Valor de exportaciones</b>	En el caso del arándano fresco, en el 2015 el Perú exportó 4 049 155 kg.

**ANEXO 7**

**NORMA TÉCNICA PERUANA (NTP 203.110-2009)**

**JUGOS, NÉCTARES Y BEBIDAS DE FRUTA. Requisitos**

**FRUIT JUICES, NECTARS AND BEVERAGES. Specifications**

-----

---

**NORMA TÉCNICA  
PERUANA**

---

**NTP 203.110  
2009**

---

Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias – INDECOPI  
Calle de La Prosa 138, San Borja (Lima 31) Apartado 145  
Lima, Perú

---

## **JUGOS, NÉCTARES Y BEBIDAS DE FRUTA. Requisitos**

FRUIT JUICES, NECTARS AND BEVERAGES. Specifications

**2009-06-24**  
**1ª Edición**

R.021-2009/INDECOPI-CNB. Publicada el 2009-07-12

Precio basado en 25 páginas

I.C.S: 67.160.20

ESTA NORMA ES RECOMENDABLE

Descriptores: Jugos, néctares, bebidas de frutas, requisitos

## ÍNDICE

	<b>página</b>
ÍNDICE	i
PREFACIO	ii
1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN	1
2. REFERENCIAS NORMATIVAS	1
3. DEFINICIONES	5
4. FACTORES ESENCIALES DE COMPOSICIÓN Y CALIDAD	8
5. ADITIVOS	11
6. COADYUVANTES DE ELABORACIÓN	11
7. CONTAMINANTES	11
8. REQUISITOS	12
9. MUESTREO	14
10. ROTULADO	15
11. ANTECEDENTES	15
ANEXOS	
ANEXO A	16
ANEXO B	21
ANEXO C	24

## PREFACIO

### A. RESEÑA HISTÓRICA

A.1 La presente Norma Técnica Peruana ha sido elaborada por el Comité Técnico de Normalización de Jugos, néctares de fruta y refrescos, mediante el Sistema 2 u Ordinario, durante los meses de febrero de 2008 a febrero de 2009, utilizando como antecedente a los documentos que se mencionan en el capítulo correspondiente.

A.2 El Comité Técnico de Normalización de Jugos, néctares de fruta y refrescos presentó a la Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias –CNB-, con fecha 2009-03-24, el PNTP 203.110:2009, para su revisión y aprobación, siendo sometido a la etapa de Discusión Pública el 2009-04-24. **NTP 203.110:2009 JUGOS, NÉCTARES Y BEBIDAS DE FRUTA. Requisitos, 1ª Edición**, el 12 de julio de 2009.

A.3 Esta Norma Técnica Peruana reemplaza a las normas que se mencionan en el Anexo C. La presente Norma Técnica Peruana ha sido estructurado de acuerdo a las Guías Peruanas GP 001:1995 y GP 002:1995.

### B. INSTITUCIONES QUE PARTICIPARON EN LA ELABORACIÓN DE LA NORMA TÉCNICA PERUANA

Secretaría	ADIL
Presidente	José Llamosas – Gloria S.A
Secretario	Rolando Piskulich
<b>ENTIDAD</b>	<b>REPRESENTANTE</b>
Agroindustrias AIB S.A	Roberto Falcone Axel Bohmer
AJEGROUP	Sonia Anticona de Cabrera Cristabel Curotto

ALICORP S.A.A	Darío Arrus
Cerper S.A	Lilian Fuertes Jessica Mendoza
Certilab Alas Peruanas SAC	Rosa Rosas
Coca Cola Servicios del Perú S.A	Ernesto Dávila
Corporación Lindley S.A	Juan Peña Walter Ramos
DIGESA – Dirección Higiene Alimentaria y Zoonosis	Omar Dueñas Marilyn Castillo
INASSA	Sara Gonzales
Intertek Testing Services Perú SAC	Ana María Vera
Laive S.A	Virginia Castillo
La Molina Calidad Total - Laboratorios	Pedro Cueva
Montana S.A	Antonieta Mann Rocío Córdova
Selva Industrial S.A	Lambert Pie Pau
Universidad Nacional Agraria La Molina	Américo Guevara
Kraft Foods Perú	Luciana Cabrera
Ministerio de Agricultura	Miguel Watts

---0000000---



# JUGOS, NÉCTARES Y BEBIDAS DE FRUTA. Requisitos

## 1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta Norma Técnica Peruana establece los requisitos que deben cumplir los jugos, néctares y bebidas de fruta envasada para consumo directo y es aplicada a los mismos.

## 2. REFERENCIA NORMATIVAS

Las siguientes normas contienen disposiciones que al ser citadas en este texto, constituyen requisitos de esta Norma Técnica Peruana. Las ediciones indicadas estaban en vigencia en el momento de esta publicación. Como toda norma está sujeta a revisión, se recomienda a aquellos que realicen acuerdos en base a ellas, que analicen la conveniencia de usar las ediciones recientes de las normas citadas seguidamente. El Organismo Peruano de Normalización posee, en todo momento, la información de las Normas Técnicas Peruanas en vigencia.

### 2.1 Normas Técnicas Internacionales

2.1.1	ISO 2172:1983	Fruit Juice - Determination of soluble solids content - Pycnometric method
2.1.2	ISO 2173:2003	Fruit Juice - Determination of soluble solids content - Refractometric method
2.1.3	ISO 1842:1991	Fruit and vegetables products. Determination of pH
2.1.4	ISO 6557-1:1986	Fruits, vegetables and derived products - Determination of ascorbic acid - Part 1: Reference method

2.1.5	ISO 6557-2:1984	Fruits, vegetables and derived products - Determination of ascorbic acid content - Part 2: Routine methods
2.1.6	ISO 5518:2007	Fruits, vegetables and derived products - Determination of benzoic acid content - Spectrophotometric method
2.1.7	ISO 5519:2008	Fruits, vegetables and derived products - Determination of sorbic acid content
2.1.8	ISO 6560:1983	Fruit and vegetable products - Determination of benzoic acid content (benzoic acid contents greater than 200 mg per litre or per kilogram) - Molecular absorption spectrometric method
2.1.9	ISO 2173:2003	Fruit and vegetable products - Determination of soluble solids - Refractometric method
<b>2.2</b>	<b>Normas Técnicas Regionales</b>	
2.2.1	UNE EN 1137:1995	Zumos de frutas y hortalizas. Determinación enzimática del contenido en ácido cítrico (citrato). Método espectrofotométrico NADH.
2.2.2	UNE EN 12630:2000	Zumos de frutas y hortalizas. Determinación de los contenidos de glucosa, fructosa, sorbitol y sacarosa. Método por cromatografía líquida de alta resolución.
2.2.3	UNE EN 1140:1995	Zumos de frutas y hortalizas. Determinación enzimática del contenido en D-glucosa y D-fructosa. Método espectrométrico NADPH.
2.2.4	UNE EN 12138:2000	Zumos de frutas y hortalizas. Determinación enzimática del contenido de ácido D-málico. Método espectrométrico NAD.

- 2.2.5            UNE EN 1138:1995            Zumos de frutas y hortalizas. Determinación enzimática del contenido en ácido L-málico (L-malato). Método espectrofotométrico NADH.
- 2.2.6            UNE EN 12143:1997            Zumos de frutas y hortalizas. Estimación del contenido en sólidos solubles. Método refractométrico.
- 2.2.7            UNE EN 12146:1997            Zumos de frutas y hortalizas. Determinación enzimática del contenido en sacarosa. Método espectrofotométrico NADP

### **2.3            Normas Técnicas de Asociación**

- 2.3.1            AOAC 967.21            Ascorbic acid in vitamin preparations and juices
- 2.3.2            AOAC 986.13            Quinic, malic, and citric acids in cranberry juice cocktail and apple juice
- 2.3.3            AOAC 993.05            Malic/Total malic acid ratio in apple juice
- 2.3.4            AOAC 995.06            D-Malic acid in apple juice
- 2.3.5            AOAC 983.17            Solids (soluble) in citrus fruit juices
- 2.3.6            AOAC 990.28            Sulfites in foods

### **2.4            Otras referencias normativas**

- 2.4.1            FDA BAM 1995. Rev 2002            Bacteriological analytical manual on line. Hipertext Source, c- 4 th Ed. Item A, B, C y D Revision september 2002. 1995. Enumeration of *Escherichia Coli* and the coliform bacteria, conventional method for coliforms, fecal coliforms and *E. Coli*.

2.4.2	ICMSF. Vol 1:1983	Microorganismos de los alimentos. Su significado y métodos de enumeración, Vol 1; pp 117-124 2da. Ed. Reimpresión 2000. Editorial Acribia 1983 Enumeración de Microorganismos aerobios mesófilos: Métodos de recuento en placa. Método 1 (recuento estándar).
2.4.3	ICMSF. Vol 1:1983	Microorganismos de los alimentos. Su significado y método de enumeración, Vol 1; pp. 165-167; 2da. Ed. Reimpresión 2000. Editorial Acribia 1983 Recuento de mohos y levaduras. Método de recuento de levadura y mohos por siembra en placa en todo medio.
2.4.4	ICMSF. Vol 1:1983	Microorganismos de los alimentos. Su significado y métodos de enumeración, Vol. 1; pp 132-134 2da. Ed. Reimpresión 2000. Editorial Acribia 1983. Recuento de coliformes técnica del número mas probable (NMP). Método 1.
2.4.5	Método IFU N° 17A:1995 Rev. 2005	Determination of ascorbic acid by HPLC
2.4.6	Método IFU N° 63:1995 Rev. 2005	Preservatives (HPLC)
2.4.7	Método IFU 42:1976	Determination of carbone dioxide
2.4.8	Método IFU N° 22:1985 Rev. 2005	Determination of citric acid, (enzymatic)
2.4.9	Método IFU N° 67:1996 Rev. 2005	Determination of sugars and sorbitol (HPLC)
2.4.10	Método IFU N° 55:1985 Rev. 2005	Determination of glucose and fructose, enzymatic
2.4.11	Método IFU N° 64:1995 Rev. 2005	D-Malic acid (Enzymatic)

2.4.12	Método IFU N° 21:1985 Rev. 2005	Determination of L-Malic Acid, enzymatic
2.4.13	Método IFU N° 26:1995 Rev. 2005	Determination of pectin
2.4.14	Método IFU N° 8:2000 Rev. 2005	Determination of soluble solids (indirect method by refractometry)
2.4.15	Método IFU N° 56:1998 Rev. 2005	Determination of sucrose, enzymatic
2.4.16	Método IFU N° 7A:2000 Rev. 2005	Determination of total sulphurous acid
2.4.17	NMKL 122:1997	Saccharin liquid chromatographic determination in beverages and sweets
2.4.18	NMKL 124:1997	Benzoic acid, sorbic acid and phydroxybenzoic acid esters. Liquid chromatographic determination in foods
2.4.19	NMKL 132:1989	Suphite. Enzymatic determination in foods
2.4.20	NMKL 135:1990	Sulphite. Enzymatic determination in foods
2.4.21	NMKL 148:1993	Fructose glucose and saccharose. Liquid chromatographic determination in fruit and vegetable products

### 3. DEFINICIONES

Para los propósitos de esta Norma Técnica Peruana se aplican las siguientes definiciones:

3.1 **jugo de fruta:** Líquido sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras.

Algunos jugos podrán elaborarse junto con sus pepitas, semillas y pieles, que no puedan eliminarse mediante las buenas prácticas de fabricación (BPF).

Los jugos podrán ser turbios o claros y podrán contener componentes restablecidos<sup>1</sup> de sustancias aromáticas, elementos todos ellos que deberán obtenerse por procedimientos físicos adecuados y que deberán proceder del mismo tipo de fruta. Podrán añadirse pulpa y células<sup>2</sup> obtenidas por procedimientos físicos adecuados del mismo tipo de fruta.

Un jugo de un sólo tipo es el que se obtiene de un solo tipo de fruta. Un jugo mixto es el que se obtiene mezclando dos o más jugos y purés de diferentes tipos de frutas.

El jugo de fruta se obtiene como sigue:

3.1.1 **jugo de fruta exprimido:** Jugo obtenido directamente por procedimiento de extracción mecánica.

3.1.2 **jugo de fruta a partir de concentrados:** Obtenido mediante la reconstitución con agua potable, del jugo concentrado de fruta, definido en el apartado 3.2 .

3.2 **jugo concentrado de fruta:** Producto que se ajusta a la definición del apartado 3.1, salvo que se ha eliminado físicamente el agua en cantidad suficiente para elevar los grados brix establecido para el jugo reconstituido de la misma fruta en al menos 50% (véase el Anexo A). Los jugos concentrados de fruta podrán contener sustancias aromáticas reincorporadas, obtenidas del mismo tipo de fruta por procedimientos físicos adecuados. Podrán añadirse pulpa y células<sup>2</sup> del mismo tipo de fruta obtenidos por procedimientos físicos adecuados.”

---

<sup>1</sup> Se permite la introducción de aromas y aromatizantes para restablecer el nivel de estos componentes hasta alcanzar la concentración normal que se obtiene en el mismo tipo de fruta.

<sup>2</sup> Pulpa de fruta es la parte sólida comestible de las frutas (sólidos insolubles), que ha sido separada del jugo, por la acción de moler, exprimir, deshuesar y tamizar. En el caso de los cítricos, la pulpa y las células son la envoltura del jugo obtenido del endocarpio.

3.3 **jugo de fruta extraído con agua:** Es el producto que se obtiene por difusión con agua de:

- fruta pulposa entera cuyo jugo no puede extraerse por procedimientos físicos, o
- fruta deshidratada entera.

Estos productos podrán ser concentrados y reconstituidos.

El contenido de sólidos del producto acabado deberá satisfacer el valor mínimo de grados Brix para el jugo reconstituido que se especifica en el Anexo A.

3.4 **puré de fruta utilizado en la elaboración de jugos y néctares de frutas:** Es el producto sin fermentar, pero fermentable, obtenido mediante procedimientos idóneos, por ejemplo tamizando, triturando o desmenuzando la parte comestible de la fruta entera o pelada sin eliminar el jugo. La fruta deberá estar en buen estado, debidamente madura. El puré de fruta podrá contener componentes restablecidos<sup>3</sup>, de sustancias aromáticas y aromatizantes volátiles, elementos todos ellos que deberán obtenerse por procedimientos físicos adecuados y que deberán proceder del mismo tipo de fruta. Podrán añadirse pulpa y células<sup>4</sup> obtenidas por procedimientos físicos adecuados del mismo tipo de fruta.

3.5 **puré concentrado de fruta utilizado en la elaboración de jugos y néctares de frutas:** Se obtiene mediante la eliminación física de agua del puré de fruta en una cantidad suficiente para elevar el nivel de grados Brix en un 50 % más que el valor Brix establecido para el jugo reconstituido de la misma fruta, según se indica en el Anexo A. El puré concentrado de fruta podrá contener componentes restablecidos<sup>5</sup>, de sustancias aromáticas, elementos todos ellos que deberán obtenerse por procedimientos físicos adecuados y que deberán proceder del mismo tipo de fruta.

---

<sup>3</sup> Se permite la introducción de aromas y aromatizantes para restablecer el nivel de estos componentes hasta alcanzar la concentración normal que se obtiene en el mismo tipo de fruta.

<sup>4</sup> Pulpa de fruta es la parte sólida comestible de las frutas (sólidos insolubles), que ha sido separada del jugo, por la acción de moler, exprimir, deshuesar y tamizar. En el caso de los cítricos, la pulpa y las células son la envoltura del jugo obtenido del endocarpio.

<sup>5</sup> Se permite la introducción de aromas y aromatizantes para restablecer el nivel de estos componentes hasta alcanzar la concentración normal que se obtiene en el mismo tipo de fruta.

3.6 **néctar de fruta:** Es el producto sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene añadiendo agua, con o sin adición de azúcares, de miel y/o jarabes, y/o edulcorantes, a productos definidos en los apartados 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5 o una mezcla de éstos. Podrán añadirse sustancias aromáticas<sup>3</sup> (naturales, idénticos a los naturales, artificiales o una mezcla de ellos), permitidos por la autoridad sanitaria nacional competente o en su defecto por el Codex Alimentarius, También puede añadirse pulpa y células procedentes del mismo tipo de fruta Deberá satisfacer además los requisitos para los néctares de fruta que se definen en el Anexo A. Un néctar mixto de fruta se obtiene a partir de dos o más tipos diferentes de fruta.

3.7 **bebidas de fruta:** Es el producto sin fermentar, pero fermentable, obtenido mediante la dilución con agua del jugo (concentrados o sin concentrar o la mezcla de estos, provenientes de una o mas frutas), y la adición de ingredientes y otros aditivos permitidos. Podrán añadirse pulpa y células obtenidas por procedimientos físicos adecuados del mismo tipo de fruta.

Podrán añadirse sustancias aromáticas<sup>3</sup> (naturales, idénticos a los naturales, artificiales o una mezcla de ellos), permitidos por la autoridad sanitaria nacional competente o en su defecto por el Codex Alimentarius, también pueden añadirse pulpa y células procedentes del mismo tipo de fruta.

Las bebidas de fruta, son similares a los néctares de fruta, con la diferencia que, en lugar de contener un mínimo de 20 % de sólidos solubles del jugo o puré que lo origina, contienen un mínimo de 10 % de sólidos solubles. Para frutas con alta acidez (acidez natural mínima de 0,4 %, expresada en su equivalente a ácido cítrico anhidro), el aporte mínimo será de 5 % de sólidos solubles de la fruta.

## 4. FACTORES ESENCIALES DE COMPOSICIÓN Y CALIDAD

### 4.1 Composición

#### 4.1.1 Ingredientes básicos

- a) Para los jugos de frutas exprimidos directamente, el nivel de grados Brix será el correspondiente al del jugo exprimido de la fruta, y el contenido de sólidos



solubles del jugo de concentración natural no se modificará salvo para mezclas del mismo tipo de jugo. En ambos casos, deberán cumplir con el nivel mínimo de grados Brix establecido en el Anexo A.

b) La preparación de jugos de frutas que requieran la reconstitución de jugos concentrados, deberá ajustarse al nivel mínimo de grados Brix establecido en el Anexo A, con exclusión de los sólidos de cualesquiera de los ingredientes y aditivos facultativos añadidos. Si en el Anexo A no se ha especificado el nivel de grados Brix, este se calculará sobre la base del contenido de sólidos solubles del jugo de concentración natural utilizado para producir tal jugo concentrado.

#### 4.1.2 Otros ingredientes autorizados

a) Podrán añadirse azúcares con menos del 2 % de humedad: sacarosa, dextrosa anhidra, glucosa y fructosa a todos los productos definidos en el capítulo 3.

b) Podrán añadirse jarabes: sacarosa líquida, solución de azúcar invertido, jarabe de azúcar invertido, jarabe de fructosa, azúcar de caña líquido, isoglucosa y jarabe con alto contenido de fructosa, sólo a jugos de fruta a partir de concentrados, a jugos concentrados de frutas, a purés concentrados de fruta, a néctares de frutas y a las bebidas de fruta.

Adicionalmente sólo a los néctares de fruta y a las bebidas de fruta podrán añadirse miel y/o azúcares derivados de frutas.

NOTA: La adición de los ingredientes que se indican en los apartados 4.1.2 a) y 4.1.2 b) se aplicará sólo a los productos destinados a la venta al consumidor.

c) Podrá añadirse jugo de limón o jugo de lima, o ambos, al jugo de fruta hasta 3 g/l de equivalente de ácido cítrico anhidro para fines de acidificación a jugos y purés que no han sido adicionados de azúcares.

d) Podrá añadirse jugo de limón o jugo de lima, o ambos, hasta 5 g/l de equivalente de ácido cítrico anhidro a néctares y bebidas de fruta.

e) En el caso de los jugos de fruta, se prohíbe la adición de azúcares o jarabes y acidulantes a la vez.

- f) Podrá añadirse jugo obtenido de mandarina al jugo de naranja en una cantidad que no exceda del 10 % de sólidos solubles de mandarina respecto del total de sólidos solubles del jugo de naranja.
- g) Podrán añadirse al jugo de tomate sal y especias así como hierbas aromáticas (y sus extractos naturales).
- h) Podrán añadirse a los productos definidos en esta NTP, nutrientes esenciales (por ejemplo, vitaminas, minerales).

## 4.2 Criterios de calidad

Los jugos, néctares y bebidas de frutas deberán tener el color, aroma y sabor característicos del jugo del mismo tipo de fruta de la cual proceden.

**4.2.1 Autenticidad:** Se entiende por autenticidad al mantenimiento en el producto de las características físicas, químicas, sensoriales y nutricionales naturales de la fruta o frutas de las que proceden.

### 4.2.2 Verificación de la composición, calidad y autenticidad

Los jugos, néctares y bebidas de frutas deberán someterse a pruebas para determinar su autenticidad, composición y calidad cuando sea pertinente y necesario. Los métodos de análisis utilizados son los establecidos en el Anexo B o métodos alternativos reconocidos internacionalmente.

La verificación de la autenticidad/calidad de una muestra puede ser evaluada por comparación de datos para la muestra, generados usando métodos apropiados incluidos en esta NTP, con aquellos producidos para la fruta del mismo tipo y de la misma región, permitiendo variaciones naturales, cambios estacionales y por variaciones ocurridas debido a la elaboración /procesamiento.

Cuando exista sospecha de adulteración, se sugiere que la verificación de composición, calidad y autenticidad se realice verificando en la planta de procesamiento los registros de insumos utilizados, para comprobar que se cumplan las proporcionalidades que la NTP señale, como complemento a los análisis químicos del producto.

## **5. ADITIVOS**

En los alimentos regulados en la presente Norma Técnica Peruana podrán emplearse los aditivos alimentarios permitidos por la autoridad sanitaria nacional competente o en su defecto por la Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios.

## **6. COADYUVANTES DE ELABORACIÓN**

En los alimentos regulados en la presente Norma Técnica Peruana podrán emplearse los coadyuvantes de elaboración permitidos por la autoridad sanitaria nacional competente o en su defecto por las normas del Codex Alimentarius establecidas para este fin.

## **7. CONTAMINANTES**

### **7.1 Residuos de plaguicidas**

Los productos regulados por las disposiciones de esta NTP deberán cumplir con los límites máximos para residuos de plaguicidas establecidos por la autoridad nacional competente o la Comisión del Codex Alimentarius para estos productos.

### **7.2 Otros contaminantes**

Los productos regulados por las disposiciones de esta NTP deberán cumplir con los niveles máximos para contaminantes establecidos por la autoridad nacional competente o por la Comisión del Codex Alimentarius para estos productos.

## **8. REQUISITOS**

### **8.1. Requisitos específicos**

#### **8.1.1 Requisitos específicos para jugos y purés de frutas:**

- a) El jugo puede ser turbio, claro o clarificado y debe tener las características sensoriales propias de la fruta de la cual procede.
- b) El puré debe tener las características sensoriales propias de la fruta de la cual procede.
- c) El jugo y el puré deben estar exento de olores o sabores extraños u objetables.

#### **8.1.2 Requisitos específicos para los néctares de frutas:**

- a) El néctar puede ser turbio, claro o clarificado y debe tener las características sensoriales propias de la fruta de la cual procede.
- b) El néctar debe estar exento de olores o sabores extraños u objetables.
- c) El néctar de fruta debe tener un pH menor de 4.5 (determinado según la Norma ISO 1842)
- d) El contenido de sólidos solubles provenientes de la fruta presentes en el néctar deberá ser mayor o igual al 20 % m/m de los sólidos solubles contenidos en el jugo original para todas las variedades de frutas tal como se indica en el Anexo A, excepto para aquellas que por su alta acidez natural no permitan estos porcentajes. Para los néctares de estas frutas de alta acidez, el contenido de jugo o puré deberá ser el suficiente para alcanzar una acidez natural mínima de 0,4 %, expresada en su equivalente a ácido cítrico.

### **8.1.3 Requisitos específicos para los jugos y purés concentrados**

- a) El jugo concentrado puede ser turbio, claro o clarificado y debe tener las características sensoriales propias de la fruta de la cual procede.
- b) El puré concentrado debe tener las características sensoriales propias de la fruta de la cual procede.
- d) El jugo y el puré concentrado, con azúcar o no, debe estar exento de olores o sabores extraños a su naturaleza.
- e) El contenido de sólidos solubles (grados brix) del jugo concentrado será por lo menos, un 50 % mas que el contenido de sólidos solubles en el jugo original. (Véase el Anexo A)

### **8.1.4 Requisitos específicos para las bebidas de frutas:**

- a) El contenido de sólidos solubles provenientes de la fruta presentes en las bebidas deberán ser mayor o igual al 10 % m/m de los sólidos solubles contenidos en el jugo original para todas las variedades de frutas tal como se indica en el Anexo A, excepto para aquellas que por su alta acidez natural no permitan estos porcentajes. Para frutas con alta acidez (acidez natural mínima de 0,4 %, expresada en su equivalente a ácido cítrico anhidro), el aporte mínimo será de 5 % de sólidos solubles de la fruta.
- b) El pH será inferior a 4,5
- c) El contenido mínimo de sólidos solubles (° Brix) presentes en la bebida debe corresponder al mínimo de aporte de jugo o puré, referido en el Anexo A de la presente NTP.

## **8.2 Requisitos físico químicos**

Los jugos, néctares y las bebidas de la presente NTP, deben cumplir con las especificaciones (grados brix) establecidas en el Anexo A con la metodología establecida en la Norma ISO 2172 o la Norma ISO 2173.

### 8.3 Requisitos microbiológicos

**TABLA1 - Requisitos microbiológicos para Jugos, Néctares y Bebidas de Frutas**

	<b>n</b>	<b>m</b>	<b>M</b>	<b>c</b>	<b>Método de Ensayo</b>
Coliformes NMP/cm <sup>3</sup>	5	<3	--	0	FDA BAM On Line ICMSF
Recuento estándar en placa REP UFC/ cm <sup>3</sup>	5	10	100	2	ICMSF
Recuento de mohos UFC/cm <sup>3</sup>	5	1	10	2	ICMSF
Recuento de levaduras UFC/cm <sup>3</sup>	5	1	10	2	ICMSF

En donde:

- n = número de muestras por examinar.  
m = índice máximo permisible para identificar el nivel de buena calidad.  
M = índice máximo permisible para identificar el nivel aceptable de calidad.  
c = número máximo de muestras permisibles con resultados entre m y M.  
< = léase menor a .

## 9. MUESTREO

9.1 El muestreo debe realizarse de acuerdo con la norma ISO 3951-1.

9.2 Criterios de Aceptación o rechazo.

Si la muestra ensayada no cumple con uno o más de los requisitos indicados en esta NTP, se rechazará el lote. En caso de discrepancia, se repetirán los ensayos sobre la muestra reservada para tales efectos. Cualquier resultado no satisfactorio en este segundo caso, será motivo para rechazar el lote.

## **10. ROTULADO**

El rotulado deberá cumplir con lo especificado en la NTP 209.038 y en las disposiciones legales vigentes sobre rotulado tales como la Normas Técnicas Peruanas: NTP 209.651 Etiquetado, Uso de Declaraciones de Propiedades Nutricionales y Saludables, y la NTP 209.652 Alimentos Envasados. Etiquetado Nutricional (CAC/GL 23-1997). Los néctares que utilicen en su formulación sustancias aromáticas idénticas a las naturales, artificiales o una mezcla de ellas deberán declararlo en el rótulo, de acuerdo a lo especificado en el apartado 6.2.2.4 de la NTP 209.038.

## **11. ANTECEDENTES**

- |      |                                  |  |
|------|----------------------------------|--|
| 11.1 | Codex Stan 247:2005              | Norma General del Codex para zumos (jugos) y néctares de frutas      |
| 11.2 | Decreto Supremo N° 977/96- Chile | Reglamento Sanitario de los Alimentos                                |
| 11.3 | PNA 22004:2007                   | JUGOS. PULPAS, CONCENTRADOS, NÉCTARES Y BEBIDAS DE FRUTA. Requisitos |

Prohibida su reproducción total o parcial

ANEXO A  
(NORMATIVO)

CONTENIDO MÍNIMO DE SÓLIDOS SOLUBLES  
(GRADOS BRIX) PARA JUGOS, PURÉS Y BEBIDAS DE  
FRUTA

Nombre Botánico	Nombre común de la fruta	Nivel mínimo de grados Brix para jugo de fruta (a partir de exprimidos, reconstituido, purés)	Néctares mínimo 20 % de puré y/o jugo en el néctar <sup>6</sup>	Bebidas mínimo 10 % de puré y/o jugo en el néctar
<i>Anacardium occidentale L.</i>	Manzana de acajú	10	2,0	1,0
<i>Ananas comosus (L.) Merrill</i> <i>Ananas sativis L. Schult F.</i>	Piña	10	2,0	1,0
<i>Annona muricata L.</i>	Guanábana, Cachimón espinoso	14,5	2,9	1,45
<i>Annona squamosa L.</i>	Anona blanca	14,5	2,9	1,45
<i>Averrhoa carambola L.</i>	Carambola	7,5	1,5	0,75
<i>Carica papaya L.</i>	Papaya	7	1,4	0,7
<i>Citrullus lanatus (Thumb.) Matsum &amp; Naki</i> var. Lanatus	Sandía	8,0	1,6	0,8

<sup>6</sup> Se toma como criterio el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile, que establece el contenido mínimo de 20 % de la participación de la pulpa.



<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm.) (swingle)	Limón sutil	8,0 <sup>7</sup>	1,6	0,8
<i>Citrus limon</i> (L.) Burm. f. <i>Citrus limonum</i> Rissa	Limón	6	1,2	0,6
<i>Citrus paradisi</i> Macfad	Pomelo o toronja	10,0 <sup>7</sup>	2,0	1,0
<i>Citrus paradisi</i> , <i>Citrus grandis</i>	Pomelo dulce (Oroblanco)	10,0	2,0	1,0
<i>Citrus reticulata</i> Blanca	Mandarina/Tangerina	9	1,8	0,9
<i>Citrus sinensis</i> (L.)	Naranja	10	2,0	1,0
<i>Cydonnia obloga</i> Mill.	Membrillo	11,2	2,24	1,12
<i>Cocos nucifera</i> L. <sup>8</sup>	Coco	5,0	1,0	0,5
<i>Cucumis melo</i> L.	Melón	7,5	1,5	0,75
<i>Empetrum nigrum</i> L.	“Crowberry”	6,0	1,2	0,6
<i>Eugenia uniflora</i> Rich	Pitanga, Cereza de Suriname	6,0	1,2	0,6
<i>Ficus carica</i> L.	Higo	18,0	3,6	1,8

<sup>7</sup> Acidez corregida determinada según el método para el total de ácidos titulables que figura en el Anexo B

<sup>8</sup> Este producto se conoce como “agua de coco” el cual se extrae directamente del fruto sin exprimir la pulpa.

<i>Fragaria x. Ananassa Duchense (Fragaria chiloensis Duchesne x Fragaria virginiana Duchesne)</i>	Fresa (frutilla)	7,5	1,5	0,75
<i>Lycopersicum esculentum L.</i>	Tomate	5,0	1,0	0,5
<i>Malus domestica Borkh.</i>	Manzana	10	2,0	1,0
<i>Malus prunifolia (Willd.) Borkh. Malus sylvestris Mill.</i>	Manzana silvestre	15,4	3,08	1,54
<i>Mammea americana</i>	Mamey	13	2,6	1,3
<i>Mangifera indica L.</i>	Mango	10	2,0	1,0
<i>Morus sp.</i>	Mora	6,5	1,3	0,65
Musa: Especies incluidas <i>M. acuminata</i> y <i>M. paradisiaca</i> pero excluyendo los otros plátanos	Banana, banano, Plátano	18	3,6	1,8
<i>Pasiflora edulis</i>	Granadilla amarilla	12	2,4	1,2
<i>Prunus avium L.</i>	Cereza dulce	20	4	2
<i>Prunus armeniaca L.</i>	Albaricoque, chabacano, damasco	11,5	2,3	1,15
<i>Prunus cerasus L.</i>	Cereza agria	14,0	2,8	1,4
<i>Prunus cerasus L. c.v. Stevnsbaer</i>	Guinda	17,0	3,4	1,7

<i>Prunus domestica</i> L. subsp. <i>Domestica</i>	Ciruela	18,5	3,7	1,85
<i>Prunus domestica</i> L. Subsp. <i>domestica</i>	Ciruela Claudia	12,0	2,4	1,2
<i>Prunus persica</i> (L.) Batsch var. <i>nucipersica</i> (Suckow) c. K. Schneid.	Nectarina	10,5	2,10	1,05
<i>Prunus persica</i> (L.) Batsch var. <i>Persica</i>	Melocotón, durazno	10	2,10	1,0
<i>Psidium guajava</i> L.	Guayaba	8	1,6	0,8
<i>Punica granatum</i> L.	Granada	12	2,4	1,2
<i>Pyrus communis</i> L.	Pera	10	2	1,0
<i>Ribes rubrum</i> L.	Grosella blanca	10	2,0	1,0
<i>Ribes uva-cripa</i> L.	Uva espina	7,5	1,5	0,75
<i>Sambucus nigra</i> L. <i>Sambucus canadensis</i> .	Sauco	10,5	2,10	1,05
<i>Solanum quitoense</i> Lam.	Lulo o naranjilla	6	* <sup>9</sup>	** <sup>10</sup>
<i>Spondia lutea</i> L.	Marañón (caju)	10	2,0	1,0
<i>Tamarindus indica</i>	Tamarindo (dátil Indio)	13	* <sup>9</sup>	** <sup>10</sup>
<i>Theobroma cacao</i> L.	Pasta de cacao	14	2,8	1,4

<sup>9</sup> \* Elevada acidez, la cantidad suficiente para lograr una acidez mínima de 0,4% (como ácido cítrico)

<sup>10</sup> \*\* Elevada acidez, la cantidad suficiente para lograr un aporte mínimo de 5% de sólidos solubles de la fruta

<i>Baccinium macrocarpon</i> Aiton <i>Vaccinium oycoccos</i> L.	Arándano agrio	7,5	1,5	0,75
<i>Vaccinium, vitis -idaea</i> L.	Arándano rojo	10	2,0	1,0
<i>Vitis Vinifera</i> L. O sus híbridos <i>Vitis Labrusca</i> O sus híbridos	Uva	12	2,4	1,2
<i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Maracuyá amarillo	12	* <sup>9</sup>	** <sup>10</sup>
<i>Solanum sessiliflorum</i>	Cocona	12	2,4	1,2

Prohibida su reproducción total o parcial

**ANEXO B**  
(NORMATIVO)

**MÉTODOS DE ANÁLISIS**

<b>DISPOSICION</b>	<b>MÉTODO</b>	<b>PRINCIPIO</b>	<b>TIPO</b>
Ácido L-ascórbico (aditivos)	Método IFU N° 17A	CLAR (HPLC)	II
Ácido L-ascórbico (aditivos)	ISO 6557-1	Espectrometría de fluorescencia	IV
Ácido L-ascórbico (aditivos)	AOAC 967.21 ISO 6557-2	Método de indofenol	III
Ácido benzoico y sus sales	ISO 5518 ISO 6560	Espectrometría	III
Ácido benzoico y sus sales; Ácido sórbico y sus sales	Método IFU N° 63 NMKL 124	CLAR (HPLC)	II
Dióxido de carbono (aditivos y Coadyuvantes de elaboración)	Método IFU N° 42	Titulometría (titulación indirecta después de la precipitación)	IV
Ácido cítrico <sup>11</sup> (aditivos)	AOAC 986.13	CLAR (HPLC)	II
Ácido cítrico <sup>11</sup> (aditivos)	UNE EN 1137 Método IFU N° 22	Determinación enzimática	III

<sup>11</sup> Todos los zumos excepto los zumos (jugos) a base de cítrico

Glucosa y fructosa (ingredientes permitidos)	UNE EN 12630 Método IFU N° 67 NMKL 148	CLAR (HPLC)	III
Glucosa-D y fructosa-D (ingredientes permitidos)	UNE EN 1140 Método IFU N° 55	Determinación enzimática	II
Ácido málico (aditivos)	AOAC 993.05	Determinación enzimática y CLAR	III
Ácido málico -D	UNE EN 12138 Método IFU N° 64	Determinación enzimática	II
Ácido málico -D En zumo (jugo) de manzana	AOAC 995.06	CLAR (HPLC)	II
Ácido málico -L	UNE EN 1138 Método IFU N° 21	Determinación enzimática	II
Pectina (aditivos)	Método IFU N° 26	Precipitación/fotometría	I
Conservantes en los zumos (jugos) de fruta (ácido sórbico y sus sales)	ISO 5519	Espectrometría	III
Sacarina	NMKL 122	Cromatografía líquida	II
Sólidos solubles	AOAC 983.17 UNE EN 12143 Método IFU N° 8 ISO 2173	Indirecto por refractometría	I
Sucrosa (sacarosa) (ingredientes permitidos)	UNE EN 12146 Método IFU N° 56	Determinación enzimática	III

Sucrosa (sacarosa) (ingredientes permitidos)	UNE EN 12630 Método IFU N° 67 NMKL 148	CLAR (HPLC)	II
Dióxido de azufre (aditivos)	AOAC 990.28 Método IFU N° 7A NMKL 132	Titulometría después de destilación	II
Dióxido de azufre (aditivos)	NMKL 135	Determinación enzimática	III
Dióxido de azufre (aditivos)	ISO 5522	Titulometría después de la destilación	III
Ácido tartárico en zumo (jugo) de uva (aditivos)	UNE EN 12173	CLAR	II
Nitrógeno total	UNE EN 12135 Método IFU N° 18	Digestión /volumetría	I

**ANEXO C**  
(INFORMATIVO)

**NORMAS QUE SERÁN REEMPLAZADAS POR LA  
PRESENTE NTP**

C.1	NTP 203.010:1970	JUGO DE MARACUYA
C.2	NTP 203.065:1974	CONCENTRADO DE FRUTAS. Definiciones, clasificación y requisitos generales
C.3	NTP 203.001:1971	JUGOS DE FRUTAS. Generalidades
C.4	NTP 203.005:1971	JUGO DE LIMON REAL
C.5	NTP 203.003:1976	JUGOS DE PIÑA (ANANA)
C.6	NTP 203.004:1976	JUGO DE NARANJA
C.7	NTP 203.006:1976	JUGO DE TORONJA (POMELO)
C.8	NTP 203.007:1976	JUGO DE MANZANA
C.9	NTP 203.008:1976	JUGO DE TOMATE
C.10	NTP 203.031:1977	NECTAR DE MANGO
C.11	NTP 203.032:1977	NECTAR DE ALBARICOQUE (DAMASCO)
C.12	NTP 203.033:1977	NECTAR DE MANZANA
C.13	NTP 203.034:1977	NECTAR DE PERA
C.14	NTP 203.035:1977	NECTAR DE DURAZNO
C.15	NTP 203.036:1977	NECTAR DE GUAYABA



C.16	NTP 203.037.1977	NECTAR DE PIÑA (ANANA)
C.17	NTP 203.038.1977	NECTAR DE PAPAYA
C.18	NTP 203.062:1977	NECTAR DE COCONA
C.19	NTP 203.063.1977	NECTAR DE PLATANO
C.20	NTP 203.039:1977	NECTAR DE NARANJILLA (LULO)
C.21	NTP 203.011.1979	NECTAR DE MARACUYA
C.22	NTP 203.064:1979	NECTAR DE MARAÑON

Prohibida su reproducción total o parcial