



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
HIDALGO**

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA

LICENCIATURA DE QUÍMICA EN ALIMENTOS

**Determinación de la composición fisicoquímica del
capulín y su posible utilización como colorante natural
con propiedades funcionales en la elaboración de
productos alimenticios**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO DE QUÍMICA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

ELÍAS MARTÍNEZ TORRES

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. ARACELI CASTAÑEDA OVANDO



MINERAL DE LA REFORMA, HIDALGO, JUNIO DE 2015



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

Licenciatura de Química en Alimentos

M. en A. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO,
DIRECTOR DE CONTROL ESCOLAR
DE LA U.A.E.H.,
Presente:

Por este conducto le comunico que el jurado asignado al pasante de la Licenciatura de Química en Alimentos **Elias Martínez Torres**, quien presenta el trabajo de investigación "Determinación de la composición fisicoquímica del capulín y su posible utilización como colorante natural con propiedades funcionales en la elaboración de productos alimenticios", después de revisar el trabajo en reunión de Sinodales, estos han decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del Jurado:

Presidente	Dr. Javier Añorve Murga
Primer vocal	Dra. Araceli Castañeda Ovando
Segundo vocal	Dra. Judith Jaimez Ordaz
Tercer vocal	Dra. Gabriela A. Vázquez Rodríguez
Secretario	Dra. Elizabeth Contreras López
Primer suplente	Dr. Gilaan Arturo Álvarez Romero
Segundo suplente	M. en Q. Juan Ramírez Godínez

Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

ATENTAMENTE

"Amor, Orden y Progreso"

Pachuca Hidalgo, 16 de junio de 2015.

Dr. Gilaan Arturo Álvarez Romero
Coordinador Adjunto de la Licenciatura de
Química en Alimentos



Índice General

Índice de Figuras	iv
Índice de Tablas	v
1. Introducción	1
2. Antecedentes.....	2
2.1. Capulín	2
2.1.1. Descripción.....	2
2.1.2. Composición química	3
2.2. Antocianinas	5
2.2.1. Estructura química.....	5
2.2.2. Propiedades	7
2.2.3. Factores que afectan la estabilidad	9
2.2.3.1. pH.....	9
2.2.3.2. Presencia de dióxido de azufre.....	11
2.2.3.3. Temperatura	11
2.2.3.4. Presencia de enzimas	12
2.2.3.5. Adición de ácidos orgánicos	12
2.3. Bebidas no alcohólicas	14
2.3.1. La industria de bebidas no alcohólicas en México	14
2.3.2. Jugos y néctares.....	15
2.4. Confitería	16
2.4.1. La industria de confitería en México.....	16
2.4.2. Elaboración de confitados.....	18
2.5. Medidas de color	19
3. Objetivos.....	21
3.1. Objetivo general.....	21
3.2. Objetivos específicos.....	21
4. Metodología experimental.....	22
4.1. Reactivos.....	22
4.2. Muestras.....	22
4.3. Caracterización fisicoquímica del fruto de capulín (<i>Prunus serotina</i>)	23
4.3.1. Análisis proximal.....	23

4.3.1.1.	Determinación de humedad.....	23
4.3.1.2.	Determinación de cenizas totales	23
4.3.1.3.	Determinación de grasa cruda.....	24
4.3.1.4.	Determinación de proteína.....	24
4.3.1.5.	Determinación de fibra cruda.....	25
4.3.2.	Determinación de azúcares reductores.....	25
4.3.3.	Determinación de sólidos solubles totales (°Brix)	26
4.3.4.	Determinación de pH.....	26
4.3.5.	Determinación de acidez titulable	26
4.3.6.	Determinación de la actividad antioxidante	27
4.3.7.	Determinación de fenoles totales.....	28
4.4.	Efecto de la adición de ácidos orgánicos en la estabilidad de extractos antociánicos de capulín	29
4.4.1.	Extracción de antocianinas	29
4.4.2.	Determinación de antocianinas monoméricas.....	29
4.4.3.	Reacciones de condensación	30
4.4.3.1.	Determinación de índices de degradación y oscurecimiento.....	30
4.4.3.2.	Determinación de la actividad antioxidante.....	32
4.4.4.	Efecto de extractos modificados adicionados a néctar de granada.....	32
4.4.4.1.	Preparación de néctar de granada (<i>Punica granatum</i>).....	32
4.4.4.2.	Efecto de la temperatura	33
4.4.4.2.1.	Clarificación de la muestra	34
4.4.4.2.2.	Determinación de índices de degradación y oscurecimiento.....	34
4.4.4.2.3.	Determinación de la actividad antioxidante.....	34
4.4.4.2.4.	Determinación de color.....	34
4.5.	Aprovechamiento del capulín en la elaboración de productos alimenticios	35
4.5.1.	Néctar de granada adicionado con extracto modificado de antocianinas de capulín	35
4.5.1.1.	Preparación y pasteurización del néctar experimental	35
4.5.1.2.	Selección de la concentración de extracto modificado.....	36
4.5.1.3.	Efecto del pH.....	37
4.5.2.	Desarrollo de productos de confitería	37
4.5.2.1.	Obtención del extracto de antocianinas	37
4.5.2.2.	Formulaciones.....	37

4.5.2.3.	Análisis sensorial.....	38
4.5.2.4.	Análisis de actividad antioxidante y fenoles totales.....	39
4.5.2.4.1.	Preparación de muestra	39
4.5.2.4.2.	Actividad antioxidante.....	40
4.5.2.4.3.	Fenoles totales	40
5.	Resultados y discusión	41
5.1.	Capulín.....	41
5.1.1.	Análisis proximal.....	41
5.1.2.	Contenido de azúcares reductores	42
5.1.3.	Determinación de parámetros fisicoquímicos.....	43
5.2.	Estabilidad de extractos modificados de antocianinas de capulín	45
5.2.1.	Contenido de antocianinas monoméricas	45
5.2.2.	Reacciones de condensación	46
5.2.2.1.	Índices de degradación y oscurecimiento de los extractos modificados.....	47
5.2.2.2.	Actividad antioxidante de extractos modificados.....	48
5.2.3.	Efecto de extractos modificados adicionados a néctar de granada	49
5.2.3.1.	Efecto de la temperatura	49
5.2.3.1.1.	Índices de degradación y oscurecimiento y color.....	50
5.2.3.1.2.	Actividad antioxidante.....	62
5.3.	Aprovechamiento del capulín en la elaboración de productos alimenticios	64
5.3.1.	Néctares de granada experimentales. Comparación con productos comerciales	64
5.3.1.1.	Medidas del color	64
5.3.1.2.	Efecto del pH (presencia de colorantes naturales).....	68
5.3.2.	Análisis de los productos de confitería (gomitas y pulpa de capulín) a partir del fruto de capulín	73
5.3.2.1.	Análisis sensorial.....	73
5.3.2.2.	Análisis de actividad antioxidante y fenoles totales.....	74
6.	Conclusiones	76
	Perspectivas generales.....	77
	Anexos.....	78
	Referencias	80

Índice de Figuras

Figura 1. Imágenes del capulín: (A) árbol y (B) fruto	2
Figura 2. Estructura general de los flavonoides	7
Figura 3. Estructura general de las antocianinas	7
Figura 4. Equilibrios ácido-base para las antocianinas	10
Figura 5. Reacción de antocianina con sulfito ácido para formar aducto de ácido sulfónico incoloro de la antocianina	11
Figura 6. Formación de compuestos piranoantociánicos por reacción entre malvidina-3-glucósido y compuestos de carbonilo.....	13
Figura 7. Ejemplos de (a) ácidos hidroxibenzoico y (b) ácidos hidroxicinámicos.....	14
Figura 8. Proceso para la elaboración de un néctar de fruta	16
Figura 9. Representación de los espacios cromáticos rectangular (L^* , a y b^*) y cilíndrico (L^* , C^* y h°).....	20
Figura 10. Proceso para la elaboración de néctar de granada natural artesanal.....	33
Figura 11. Ficha de cata presentada a los jueces no entrenados.....	39
Figura 12. Extracto antociánico y extractos modificados de antocianinas de capulín	46
Figura 13. Cambios en la actividad antioxidante de los néctares analizados	63
Figura 14. Muestras de néctares experimentales. (a) Néctares de granada (GC y G1-G5); (b) néctares de granada con manzana (MGC y MGC1-5).....	64
Figura 15. Gama de color con respecto al aumento del pH de las muestras adicionadas con extracto modificado G1 y MG3, y las muestras comerciales C1 y C3.....	71
Figura 16. Gomitas con diferente concentración de extracto antociánico de capulín.....	73

Índice de Tablas

Tabla 1. Composición proximal del capulín	4
Tabla 2. Minerales contenidos en el capulín	4
Tabla 3. Fenoles y flavonoides totales en ciruela, uva y capulín	5
Tabla 4. Clases de compuestos fenólicos en plantas.....	6
Tabla 5. Identificación estructural de las antocianidinas o aglicones más comunes.....	8
Tabla 6. Clasificación de los productos de confitería.....	18
Tabla 7. Curva estándar DPPH con Trolox de referencia.....	27
Tabla 8. Curva estándar para determinar fenoles totales con ácido gálico como referencia	29
Tabla 9. Condiciones de trabajo para las reacciones de condensación	31
Tabla 10. Formulaciones para elaboración de productos de confitería (gomitas y barras de pupa) elaborados a partir del fruto de capulín	38
Tabla 11. Análisis proximal del fruto de capulín	41
Tabla 12. Azúcares reductores del fruto de capulín (n=3)	42
Tabla 13. Resultados para los parámetros fisicoquímicos evaluados para el capulín	43
Tabla 14. Índices de degradación y oscurecimiento de extracto antociánico (control y modificado) de capulín.....	47
Tabla 15. Actividad antioxidante de extractos de antociánicos y modificados de capulín .	48
Tabla 16. Índices de degradación y oscurecimiento del néctar de granada (control y adicionado con extractos modificados de antocianinas de capulín) a 20°C.....	51
Tabla 17. Parámetros de color en néctar de granada adicionado con extractos modificados de capulín a 20°C	52
Tabla 18. Índices de degradación y oscurecimiento del néctar de granada adicionado con extractos modificados de antocianinas de capulín a 40°C	53
Tabla 19. Parámetros de color en néctar de granada adicionado con extractos modificados de capulín a 40°C	54
Tabla 20. Índices de degradación y oscurecimiento del néctar de granada adicionado con extractos modificados de antocianinas de capulín a 60°C	55
Tabla 21. Parámetros de color en néctar de granada adicionado con extractos modificados de capulín a 60°C	56
Tabla 22. Índices de degradación y oscurecimiento del néctar de granada adicionado con extractos modificados de antocianinas de capulín a 80°C	57

Tabla 23. Parámetros de color en néctar de granada adicionado con extractos modificados de capulín a 80°C	58
Tabla 24. Imágenes digitalizadas de los néctares de granada sometidos a diferentes temperaturas (20, 40, 60 y 80°C).....	60
Tabla 25. Parámetros de color de néctares comerciales y néctares adicionados con extracto modificado de antocianinas de capulín.....	65
Tabla 26. Valores de pH y color promedio de néctares comerciales y elaborados artesanalmente	68
Tabla 27. Parámetros de color de C-1, C-3, G-1 y MG-3 con respecto al pH.....	72
Tabla 28. Evaluación de la actividad antioxidante (AA) y de fenoles totales (FT) de los productos confitados elaborados	74



El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Físicoquímica de Alimentos 2 del Área Académica de Química de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Parte del presente trabajo se presentó en el **VI Foro de Alimentos** organizado por los Cuerpos Académicos de “Química de Alimentos” y “Propiedades y Funcionalidad de Alimentos” de la UAEH, bajo el título *“Caracterización fisicoquímica, determinación de la capacidad antioxidante y fenoles totales del fruto de capulín (Prunus serotina).”*



**Con todo cariño y amor le
dedico este trabajo a mi familia:**

Mi papá Elías Martínez

Mi mamá Ma. Elena Torres

A mis hermanos

María Isabel

Oscar Enrique

Mi cuñado

Rodrigo Alonso

Mi sobrino

Rodrigo Fernando

Mi tía

Ma. Rosaura Torres

Mi prima

Yessica Yaraví

AGRADECIMIENTOS

Antes que nada agradezco enormemente a mis padres por su apoyo incondicional, ya que sin ellos no hubiera podido realizar muchos de los objetivos que me he propuesto para alcanzar mis metas, estoy muy agradecido con Dios por dejarme compartir momentos bonitos con mi familia.

Agradezco a mis hermanos (Isabel y Enrique) por apoyarme durante toda mi vida en todos los sentidos y a mi hermana Isabel que le he demostrado este gran aprecio donándole de todo corazón una parte de mí para darle otra oportunidad de vida, al igual agradezco a mi tía Rosaura por la motivación que me da para salir adelante, a mi cuñado Rodrigo por sus consejos, a mi sobrino Fernando por su motivación cuando me sentía a punto de caer y aunque era muy pequeño sus consejos de persona adulta me sirvieron de mucho y a mi prima Yessica que siempre la he visto como una hermana más, por sus consejos y apoyo leal.

A mis abuelitos Jesús (t) y Guadalupe (t) que aunque ya no están con nosotros han sido para mí una fuente de inspiración para salir adelante.

A mis amigos (as) Ingrid, Lupita, Ramón, Alexis y Erik, por sus consejos y apoyo moral, a mi amiga Liliana Soto que desde el primer semestre sabía que sería una de mis mejores amigas, al igual que Katherine gracias por compartir momentos conmigo, por tu apoyo y confianza de amiga; gracias a su apoyo he podido afrontar dificultades que han acontecido en mi vida personal y académica.

Durante la carrera he conocido personas que con el tiempo he llegado a apreciar mucho, el apoyo, la ayuda, el compañerismo, los consejos que me han brindado han hecho de mi poco a poco mejor persona, quiero plasmar esta gratitud en el presente trabajo, mencionando a Jaqueline, Laurita, Paola, Reyna, Abril, Jessica, Estefanía, Olga, Karla y Gissel.

Sin duda agradezco infinitamente a la Dra. Araceli Castañeda Ovando por tener la confianza en mí y aceptarme como su tesista, gran parte de los conocimientos que he adquirido han sido reforzados gracias a su enseñanza. Desde que me impartió la materia de Análisis de Alimentos me motivó que usted fuera mi directora de tesis. Dra. Araceli gracias por su apoyo para lograr mi participación en el Primer Concurso de Ciencia y Tecnología Vive Con Ciencia en el proyecto “Desarrollo de productos de confitería con

actividad antioxidante y sin la adición de colorantes sintéticos a partir del fruto de capulín (*Prunus serotina*).”

Agradezco a los catedráticos (as) de la Licenciatura de Química en Alimentos que me impartieron clases, por todos los conocimientos proporcionados para mi formación profesional, a la Dra. Judith Jaimez por su apoyo como mi asesora en el Primer Concurso de Panificación Organizado por Aceites y Esencias de México, S.A. de C.V. con el proyecto “Desarrollo de bollos rellenos elaborados con harinas integrales”.

Agradezco a mi jurado de tesis (Dr. Javier Añorve, Dra. Araceli Castañeda, Dra. Judith Jaimez, Dra. Gabriela A. Vázquez, Dra. Elizabeth Contreras, Dr. Giaan Arturo y M. en Q. Juan Ramírez) por aceptar evaluar mi trabajo y por las sugerencias para el mejoramiento de este trabajo.



Las frutas y hortalizas contienen compuestos orgánicos; algunos de ellos fungen como nutrientes y otros aportan algunas propiedades funcionales. Entre estos últimos están las antocianinas, que imparten una gama de colores (incluyendo el rojo brillante) y a su vez actúan como antioxidantes.

El capulín o cereza negra americana (*Prunus serotina*) es un fruto que está ampliamente distribuido en México. Se utiliza en la medicina tradicional mexicana y se consume fresco, seco o preparado en mermeladas artesanales; además, contiene antocianinas (cianidina-3-glucósido y cianidina-3-rutinósido). Aunque el capulín es un fruto cultivado en muchos estados del país, su uso en la industria alimentaria es muy pobre.

Por otro lado, el uso de extractos de antocianinas en el procesamiento de alimentos está condicionado por la inestabilidad de las moléculas cuando se someten a estrés; entre los factores que las afectan destacan el pH, temperatura, presencia de oxígeno, especies químicas inorgánicas (NO_2^- , SO_3^{2-} , H_2O_2 y O_2), entre otros. Por ello, algunos productos alimenticios (jugos y néctares), al ser procesados, incluyen la adición de colorantes sintéticos para mantener sus propiedades organolépticas; sin embargo, estos compuestos pueden afectar la salud de los infantes y ocasionar hiperactividad.

En la búsqueda de alternativas para estabilizar las antocianinas, se ha encontrado que en el añejamiento del vino tinto, la presencia de ácidos orgánicos puede mantener el color, aun cuando las moléculas se sometan a algún estrés. Sin embargo, no se han reportado estudios acerca de reacciones aceleradas entre extractos antociánicos y ácidos orgánicos.

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar las propiedades fisicoquímicas del capulín, mediante la determinación de la composición química y la estabilidad de las antocianinas extraídas del fruto, para desarrollar productos alimenticios con actividad antioxidante.

Los resultados obtenidos sirvieron de base para dar alternativas de aprovechamiento del extracto modificado de capulín como aditivo en néctares y la utilización del fruto de capulín en productos de confitería.

2.1. Capulín

2.1.1. Descripción

Con el nombre de capulín (Figura 1), derivado del náhuatl *capolin*, se designa en México a la especie *Prunus serotina* ssp. *Capuli* (Cav.) basónimo *Prunus capuli* Cav., perteneciente a la familia de las *Rosaceae* (Cedillo *et al.*, 2006). Corresponde a una de las especies polimórficas compuestas de un gran número de variedades y subespecies. El fruto crece en un árbol (del mismo nombre) de 5 a 15 m de altura y puede llegar hasta los 38 m; es nativo del norte de América y se cultiva en regiones de clima cálido y seco (McVaugh, 1951).

Su cultivo está ampliamente distribuido en México, donde se conoce como capulín; en Latinoamérica recibe diferentes apelativos, como cereza negra americana (Aguerrebere *et al.*, 2011), cerezo negro” o salvaje”, cerezo (en Guatemala), cerezo criollo (en Venezuela) y cerezo de los Andes (en Colombia) (Ordaz *et al.*, 1999).



Figura 1. Imágenes del capulín: (A) árbol y (B) fruto. Fuente: SIAP, 2014.

El árbol (Figura 1A) contiene numerosas flores pequeñas, agrupadas y blancas; su corteza ha sido utilizada por pueblos indígenas de las regiones de América del Norte para los síntomas relacionados con la diabetes y, tradicionalmente, para el tratamiento de enfermedades inflamatorias que presentan síntomas tales como fiebre, frío y dolor de

garganta. Se sabe que tiene propiedades contra el cáncer y efectos antiproliferativos a través de la regulación a la baja de la ciclina D1, expresión en células humanas de cáncer de colon (Aguerrebere *et al.*, 2011). Se ha utilizado con fines medicinales desde tiempos prehispánicos para tratar diversas enfermedades (Jiménez *et al.*, 2011).

Los frutos (Figura 1B) son de forma de drupa globosa, de color negro-rojizo (en la madurez) o púrpura brillante (Muratalla, 1992), de 12 a 20 mm de diámetro, de sabor agridulce y algo astringente; contienen una sola semilla (esférica y rodeada por un endocarpio) de sabor amargo. Se utilizan en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de la diarrea, tos (Aguerrebere *et al.*, 2011) e hipertensión (Revilla *et al.*, 2010). También son parte de la dieta mexicana, y se consumen frescos, secos o preparados en mermelada artesanal (Aguerrebere *et al.*, 2011).

El uso de la semilla de capulín, como alimento, tiene un historial antiguo y es muy consumida en los estados de México, Hidalgo, Tlaxcala y el Distrito Federal; en esta región del centro del país existe un comercio muy importante de hueso de capulín (Raya *et al.*, 2012).

Los chichimecas usaban la harina, que consistía en la mezcla del pedúnculo, semilla y hojas, para preparar tamales (mezquitamales) o mezclada con agua como bebida nutritiva (mezquitatole) o para elaborar una bebida embriagante por fermentación; además, algunos indígenas de Norte América consumían las semillas como alimento (McVaugh, 1951).

Aunque el capulín es un fruto cultivado en varios lugares del país, entre los que destacan el Distrito Federal y Estado de México como principales productores, su uso en la industria alimentaria es muy pobre. Molina y Córdoba (2006) realizaron un estudio del que resultó que el capulín es una especie de poca importancia económica, con una superficie cultivada de 78 Ha, una producción de 293 Ton y un valor de producción de \$774,000 anuales.

2.1.2. Composición química

El capulín, en su parte comestible, no presenta un aporte importante de nutrientes; sin embargo, la materia seca está constituida principalmente por carbohidratos, fibra cruda y proteína (Tabla 1).

El fruto del capulín es una fuente para la extracción de goma, que se obtiene en forma de lágrimas parduscas de tamaño variable y está constituida por el ácido metoxiglucurónico, galactosa y arabinosa; se usa como adulterante para fabricar dulces, pastas alimenticias, mucílagos y betunes (McVaugh, 1951).

Tabla 1. Composición proximal del capulín.

Componente	Parte comestible*	En base seca**
%Cenizas	NR	0.859
%Grasa	0	0.276
%Proteína	1.45	11.165
%Fibra cruda	0.63	21.170
%Carbohidratos	16.77	66.531
Contenido energético (Kcal/100g)	73.00	313.61

NR. No reportado. Datos reportados por: *Pérez *et al.* (2008) y **Revilla *et al.* (2010).

En la Tabla 2 se presenta el contenido de minerales en el capulín, en donde se observa que los más abundantes son el potasio, el fósforo y el sodio.

Tabla 2. Minerales contenidos en el capulín.

Elemento	mg/g ^a	% ^b
Sodio	1.1923	0.12
Potasio	9.7901	0.68
Calcio	0.6860	0.07
Magnesio	1.1260	0.13
Hierro	<0.0021	NR
Zinc	0.0032	NR
Fósforo	1.4939	0.17
Azufre	NR	0.11

Fuentes: ^aRevilla *et al.* (2010); ^bRaya *et al.* (2012). NR: no reportado.

El capulín, al igual que otras especies de bayas, contienen niveles elevados de compuestos fenólicos y flavonoides (Tabla 3), los cuales están asociados a una amplia variedad de efectos biológicos, dentro de los cuales se encuentra el efecto vasodilatador. Además, los flavonoides inhiben la lipoperoxidación, agregación de plaquetas y permeabilidad capilar (Revilla *et al.*, 2010).

Revilla y colaboradores (2010) compararon el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides del extracto acuoso de la cáscara de capulín con los frutos de uva y ciruela; se encontró que el capulín presenta una concentración ligeramente menor de fenoles y flavonoides con respecto a la uva, pero estos dos frutos son los que tienen los niveles más altos en fenoles (Tabla 3).

Tabla 3. Fenoles y flavonoides totales en ciruela, uva y capulín.

Fruto	Fenoles (mg GAE/g de extracto)	Flavonoides (mg CE/g de extracto)
Capulín	3.6±0.07	1.1±0.01
Ciruela	3.0±0.07	1.6±0.12
Uva	4.1±0.03	1.6±0.13

Fuente: Revilla *et al.* (2010). GAE: equivalentes de ácido gálico (por sus siglas en inglés); CE: equivalentes de catequina (por sus siglas en inglés).

Asimismo, se ha encontrado que el capulín contiene como antocianinas mayoritarias a la cianidina-3-glucósido y la cianidina-3-rutinósido (Castañeda *et al.*, 2012), lo que lo hace viable para utilizarlo en la elaboración de otros productos con propiedades funcionales.

El hecho de ser un alimento usado desde tiempos antiguos permite suponer que su toxicidad es muy baja, a diferencia de otras bayas ya comercializadas. Sin embargo vale la pena mencionar que la presencia de compuestos cianogénicos en los alimentos, en dosis pequeñas, puede provocar dolor de cabeza, mareo, vértigo, pérdida del apetito y trastornos del sueño (Raya *et al.*, 2012).

2.2. Antocianinas

El término antocianina se deriva de dos palabras griegas *anthos*, flor y *kyanos*, azul oscuro (Fennema, 2000), debido a que es uno de los colores que presenta este tipo de compuestos; también se conocen como flavonoides azules (Saavedra, 2012).

2.2.1. Estructura química

Las plantas producen una gran variedad de productos secundarios que contienen grupos fenoles. Estos compuestos forman un grupo químicamente heterogéneo de sustancias tales como fenoles, flavonoides, lignina y taninos condensados (Pokorny *et al.*,

2001). En la Tabla 4 se muestran las clases de compuestos fenólicos en plantas; los ácidos fenólicos, flavonoides y taninos se consideran como los principales compuestos fenólicos dietéticos (King y Young, 1999).

Tabla 4. Clases de compuestos fenólicos en plantas.

Clases	Estructura
Fenoles simples, benzoquinonas	C_6
Ácidos hidroxibenzoico	C_6-C_1
Acetofenonas, ácidos fenilacético	C_6-C_2
Ácidos hidroxicinámico, fenilpropanoides (cumarinas, isocumarinas, cromonas, cromenos)	C_6-C_3
Naftoquinonas	C_6-C_4
Xantonas	$C_6-C_1-C_6$
Estilbenos, antraquinonas	$C_6-C_2-C_6$
Flavonoides, isoflavonoides	$C_6-C_3-C_6$
Lignanós, neolignanós	$(C_6-C_3)_2$
Biflavonoides	$(C_6-C_3-C_6)_2$
Ligninas	$(C_6-C_3)_n$
Taninos condensados (proantocianidinas o flavolanos)	$(C_6-C_3-C_6)_n$

Fuente: Balasundram *et al.* (2006).

Los compuestos fenólicos desempeñan un papel importante en el crecimiento y la reproducción de las plantas y frutos, ya que proporcionan protección contra los patógenos y depredadores.

Un grupo muy importante de compuestos fenólicos son los flavonoides, cuya estructura general es $C_6-C_3-C_6$ (Figura 2). Su sustitución en el anillo C permite la identificación de las diferentes clases (flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanoles, isoflavonas y antocianidinas) (Balasundram *et al.*, 2006).

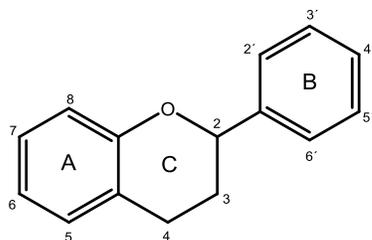


Figura 2. Estructura general de los flavonoides (Martínez *et al.*, 2002).

Dentro de los flavonoides destacan las antocianinas (colorantes naturales), compuestos con dos anillos aromáticos unidos por una estructura de tres átomos de carbono y sustituidos con uno o dos restos de azúcar (Figura 3).

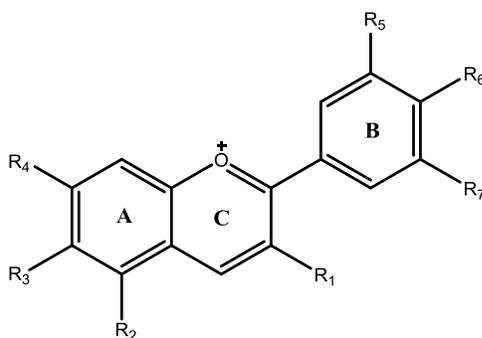


Figura 3. Estructura general de las antocianinas (Castañeda *et al.*, 2012). Donde R_1 , sacárido; R_2 , sacárido o H; R_3 , R_4 , R_5 , R_6 y R_7 pueden ser -H, -OH o CH_3O -.

El aglicón de la antocianina (Figura 3, donde R_1 y R_2 son H) es conocido como antocianidina; existen seis aglicones comunes y más de 540 pigmentos antociánicos se han identificado en la naturaleza, con la mayor variación estructural procedente de la sustitución glicosídico en R_1 y R_2 (Figura 3) y posible la acilación de restos de azúcar con ácidos orgánicos (Wrolstad *et al.*, 2005). En la Tabla 5 se presentan los patrones de sustitución de las principales antocianidinas en la naturaleza.

2.2.2. Propiedades

En general, los compuestos fenólicos exhiben una amplia gama de propiedades fisiológicas, tales como antialérgicos, antiarterogénicos, antiinflamatorios, antimicrobianos, antitrombóticos, efectos cardioprotector y vasodilatador (Balasundram *et al.*, 2006).

Tabla 5. Identificación estructural de las antocianidinas o aglicones más comunes.

Nombre	Abreviatura	Patrón de sustitución		Color (pH 1)	$\lambda_{\max}(\text{nm})$
		R ₅	R ₇		
Cianidina	Cy	OH	H	Naranja-rojo	510
Delfinidina	Dp	OH	OH	Azul-violeta	522
Malvidina	Mv	OMe	OMe	Azul-rojo	520
Pelargonidina	Pg	H	H	Naranja	505
Peonidina	Pn	OMe	H	Naranja-rojo	532
Petunidina	Pt	OMe	OH	Azul-rojo	546

Fuente: Saavedra, 2012. Me: grupo metilo.

En los últimos años, se ha dado una gran atención a los flavonoides y polifenoles, debido a la posible protección ejercida como antioxidantes naturales presentes en las plantas comestibles y a la reducción del riesgo de enfermedades coronarias (Cedillo *et al.*, 2006).

En lo que respecta a las antocianinas, el color y la actividad antioxidante que imparten son propiedades primordiales, tanto en la industria de alimentos como en el sector salud. Las antocianinas son responsables de impartir una gama de colores (azul, púrpura, violeta, magenta, rojo brillante y naranja), que influyen sensorialmente (Muñoz *et al.*, 2003) y son muy importantes en el procesamiento de alimentos (Fennema, 2000).

A las antocianinas se les ha considerado eficaces eliminadores de especies reactivas, como el oxígeno y los radicales libres (Jiménez *et al.*, 2011); esta propiedad es debido a la actividad antioxidante que aporta beneficios para la salud (Muñoz *et al.*, 2003; Harbourne *et al.*, 2008).

Las características que tienen las antocianinas (color y actividad antioxidante) han incrementado el interés de los científicos por emplearlas ampliamente en la industria alimentaria. Sin embargo, debido a que el color que imparten se ve afectado por muchos factores, es necesario ampliar la investigación en aspectos relacionados con la extracción, purificación y estabilización, ya que el color proporciona información sensorial que puede

interactuar con las propiedades gustativas, olfatorias y de textura, las cuales determinan la aceptabilidad del producto alimenticio (Muñoz *et al.*, 2003).

El conocimiento de la química de las antocianinas se puede utilizar para minimizar su degradación mediante la adecuada selección de procesos y por la elección de los pigmentos de antocianinas que sean más apropiados para la aplicación que se desea. Los principales factores que gobiernan la degradación de las antocianinas son el pH, la temperatura, el efecto de otras moléculas y la concentración de oxígeno (Rein, 2005).

2.2.3. Factores que afectan la estabilidad

Hay muchos factores que afectan la estabilidad de antocianinas, tales como la temperatura, el pH, la presencia de oxígeno, enzimas, copigmentos, iones metálicos, ácido ascórbico, dióxido de azufre, azúcares y productos de degradación de azúcar (Tseng *et al.*, 2006).

Los pigmentos de antocianina se degradan fácilmente durante el procesamiento y el almacenamiento de los productos alimenticios; esto puede tener un impacto dramático en la calidad de color y también puede afectar a las propiedades nutricionales (Wrolstad *et al.*, 2005). Por tal motivo, es necesario el desarrollo de colorantes naturales a base de antocianinas con mejor color y mayor estabilidad.

Con el objetivo de estabilizar el color de las antocianinas, se están realizando estudios tomando como base las reacciones que ocurren durante la maduración del vino (reacciones con ácidos orgánicos); en lo que respecta a esto, se han obtenido buenos resultados en la estabilidad del color, vía interacción con ácidos hidroxibenzoicos, tales como ferúlico, cafeico y *p*-cumárico (Balasundram *et al.*, 2006).

2.2.3.1. pH

Un problema que presentan las antocianinas es que son muy inestables y la mayor estabilidad ocurre en condiciones ácidas (Figura 4); viéndose impactadas, junto con el tono, por los sustituyentes en el aglicón (Giusti & Wrolstad, 2003). Además, es importante mencionar que a partir de pH 5 se presentan especies incoloras.

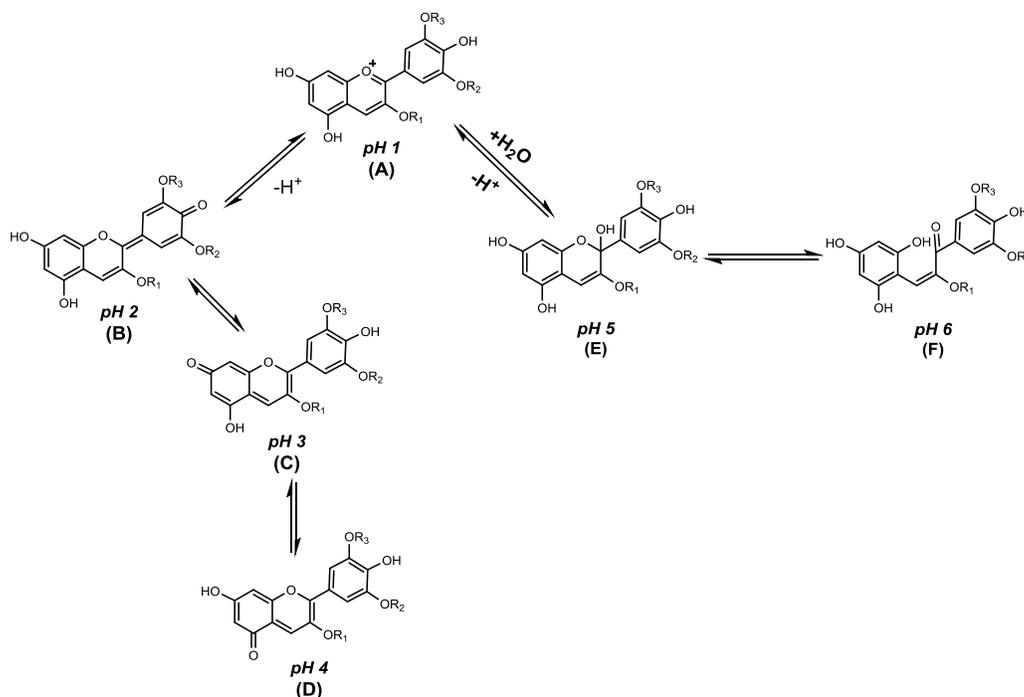


Figura 4. Equilibrios ácido-base para las antocianinas (Castañeda *et al.*, 2009). Donde R_1 , sacárido; R_2 , R_3 , pueden ser $-H$ o $-CH_3$

Las antocianinas pueden existir en una variedad protonada, desprotonada, formas hidratadas o isoméricas, y la proporción relativa de estas moléculas es fuertemente dependiente del pH; por ejemplo, el rojo del catión flavilio es dominante a pH muy ácido (pH 1-3). Asimismo, la actividad antioxidante de estos pigmentos está en función del número y posición de los grupos OH y del pH (Belitz *et al.*, 2009).

En medios acuosos, conforme se eleva el pH de 4 a 5, ocurren reacciones de hidratación y se genera la base pseudo-carbinol incoloro; a un pH de 2.5 a 5 y con aumento de temperatura, puede ocurrir la apertura del anillo, lo que forma una chalcona de color amarillo claro. El catión flavilio puede transformarse a través de bases quinonoidales, por reacciones de transferencia de protones y a pH entre 6 y 7, en aniones quinoidales azul-púrpura (Marja y Heinonen, 2003) (Figura 4).

Aunque el fruto de capulín tiene un pH de 4.83, conserva su color característico (púrpura); esto puede ser debido a otros factores, por ejemplo, a la copigmentación (Dimitrić *et al.*, 2005).

2.2.3.2. Presencia de dióxido de azufre

El dióxido de azufre se ha estudiado en la fermentación del vino tinto, en la que se ha establecido una influencia con la micro-oxigenación antes o después de la fermentación maloláctica, relacionado en especial con las diferentes concentraciones de dióxido de azufre y su reacción con peróxido y aldehído, lo que limita la condensación de antocianinas con taninos. Esta observación puede estar relacionada, a una menor tasa de formación de polímeros pigmentados de malvidina-3-glucósido y del tanino, con la presencia de una mayor concentración de SO_2 , por lo que éste tiene la capacidad de reducir los polifenoles oxidados de nuevo a su forma reducida y eliminar el peróxido (Tao *et al.*, 2007).

Las antocianinas monoméricas, al combinarse con sulfito ácido al pH de la mayoría de los alimentos y bebidas, forman un aducto de adición de ácido sulfónico que es incoloro (Wrolstad *et al.*, 2005). En la Figura 5 se muestra la reacción de pigmentos antociánicos en presencia de bisulfito.

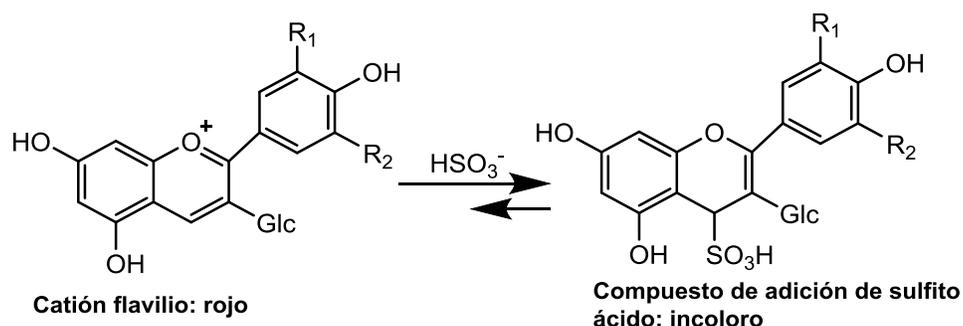


Figura 5. Reacción de antocianina con sulfito ácido para formar aducto de ácido sulfónico incoloro de la antocianina (Wrolstad *et al.*, 2005).

2.2.3.3. Temperatura

El efecto de la temperatura sobre la estabilidad de las antocianinas es bien conocido. Simpson (1985) sugirió que la degradación térmica de antocianinas podría ocurrir a través de dos mecanismos: (1) la hidrólisis de la antocianina-3-glucósido para formar el aglicón más lábil; y (2) la apertura del anillo hidrolítico de pirilio para formar una chalcona sustituida, que luego se degrada a un compuesto insoluble de color marrón y de naturaleza polifenólica (Tseng *et al.*, 2006).

La temperatura elevada puede afectar la estabilidad de la antocianina y causar la polimerización de antocianinas monoméricas, lo que es indeseable en algunos productos tales como jugos de frutas, en los que los consumidores perciben una indicación de calidad inferior; por lo anterior, varias investigaciones han estudiado la degradación de antocianinas basándose en métodos isotérmicos a temperaturas de hasta 100°C (Harbourne *et al.*, 2008).

2.2.3.4. Presencia de enzimas

Las enzimas polifenoloxidasas, peroxidasa y glucosidasa pueden tener un efecto devastador en las antocianinas. Estas enzimas pueden ser nativas del tejido de la planta, o sus fuentes pueden ser por una contaminación, o por la actividad de enzimas comerciales utilizadas como auxiliares tecnológicos. La glucosidasa actúa directamente en las antocianinas, pero la acción de la polifenoloxidasa y la peroxidasa es indirecta (Wrolstad *et al.*, 2005). Además, la polifenoloxidasa cataliza la oxidación de fenoles y genera polímeros oscuros (Ulloa, 2007).

2.2.3.5. Adición de ácidos orgánicos

Las antocianinas son compuestos lábiles al someterse a una serie de reacciones de degradación. Su estabilidad es muy variable dependiendo de su estructura y la composición de la matriz en la que existen; son más estables cuando un resto de azúcar del compuesto está acilado con ácidos cinámicos (Wrolstad *et al.*, 2005). Algunos autores han estudiado que las antocianinas aciladas no tienen efecto en el color, pero hacen más estable al pigmento. Esto ha permitido que los extractos de cáscara de uva y de col morada sean comercializados como colorantes alimenticios (Brouillard, 1983; Sing de Ugaz, 1997; Hoshino y Tamura, 1999; Rodríguez *et al.*, 1999; Stintzing *et al.*, 2002).

Durante el añejamiento del vino tinto se forman compuestos como las piranoantocianinas, que están relacionadas directamente con la estabilidad del color (Freitas y Mateus, 2011). Se ha encontrado que la vía de formación de estos compuestos depende directamente de la reacción de las antocianinas con acetaldehído (Figura 6).

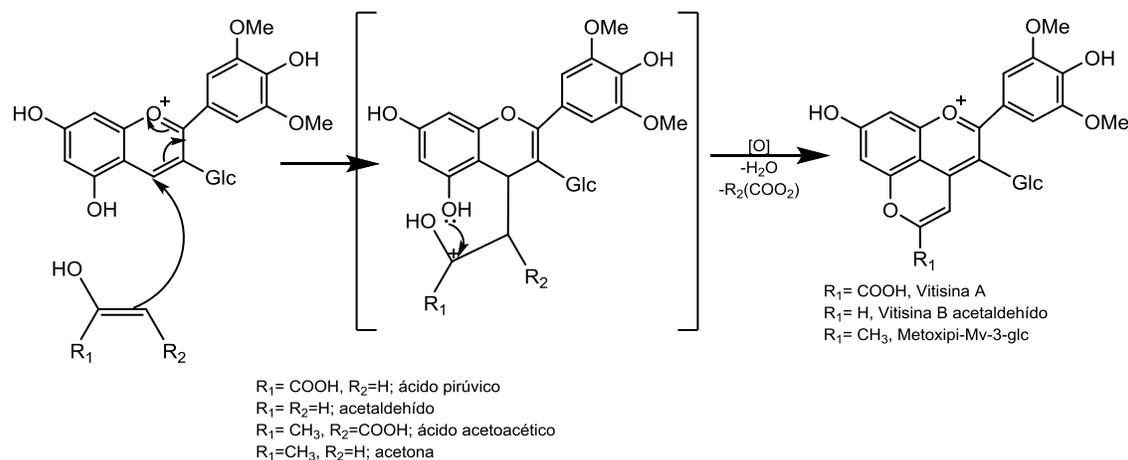


Figura 6. Formación de compuestos piranoantociánicos por reacción entre malvidina-3-glucósido y compuestos de carbonilo (Freitas y Mateus, 2011).

Las piranoantocianinas o vitisinas forman una familia de pigmentos que se derivan de las reacciones de condensación sobre las antocianinas, y se consideran como aductos de colores naranja-rojo o azulado, dependiendo de la estructura. La cicloadición en la que intervienen el C-4 y C-5 también estabiliza el color, ya que evita la formación de la base carbinol incoloro y protege la decoloración por SO_2 . Existe una correlación entre la formación de piranoantocianinas y la degradación de las antocianinas: al mismo tiempo que éstas se degradan, se forman las piranoantocianinas (Rentzscha *et al.*, 2007).

De esta forma, las antocianinas se condensan con otros compuestos fenólicos y forman pigmentos poliméricos de colores. Esta reacción puede acelerarse por la presencia de acetaldehído, pero en exposición a la luz promueve la destrucción del pigmento (Wrolstad *et al.*, 2005).

Los compuestos fenólicos con los que pueden condensarse las antocianinas son los ácidos fenólicos, que consisten en dos subgrupos: 1) los ácidos hidroxibenzoicos y 2) los ácidos hidroxicinámicos (Figura 7). Los ácidos hidroxibenzoicos incluyen el gálico, *p*-hidroxibenzoico, protocatéquico, vanílico y sirínico, que tienen en común la estructura $\text{C}_6\text{-C}_1$. Los ácidos hidroxicinámicos, son compuestos aromáticos con una cadena lateral de tres carbonos ($\text{C}_6\text{-C}_3$), como cafeico, ferúlico, *p*-cumárico y sinápico (Balasundram *et al.*, 2006).

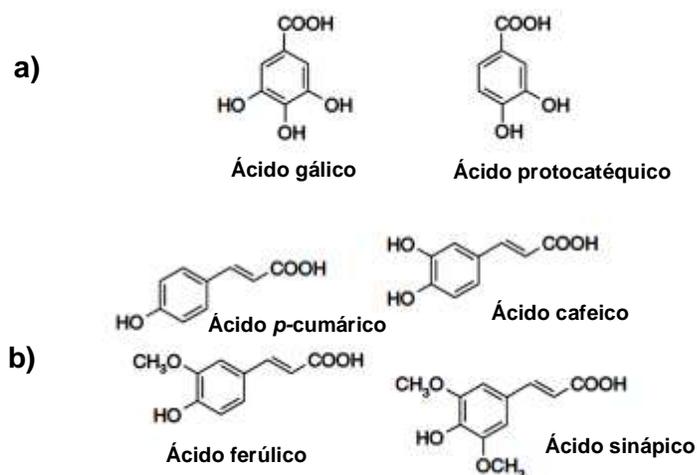


Figura 7. Ejemplos de (a) ácidos hidroxibenzoico y (b) ácidos hidroxicinámicos (Balasundram *et al.*, 2006).

2.3. Bebidas no alcohólicas

2.3.1. La industria de bebidas no alcohólicas en México

La NOM-218-SSA1-2011 contempla que una bebida no alcohólica es cualquier líquido, natural o transformado, que proporciona al organismo elementos para su nutrición; esta norma las clasifica según su composición o transformación tecnológica.

Existe una gran variedad de bebidas no alcohólicas en el mercado, que forman parte de la dieta de los mexicanos. Según sea el punto de referencia, el promedio de ingestión energética proveniente de bebidas calóricas para los mexicanos mayores de dos años ha aumentado de 100 a 300 Kcal al día. En los últimos quince años, la energía proporcionada por varias bebidas con aporte calórico se ha duplicado; entre estas se incluyen refrescos, aguas frescas, jugos de fruta sin azúcar adicionada y leche entera (Rivera *et al.*, 2008).

En las últimas décadas, con el fin de satisfacer al consumidor, la producción de néctares de fruta envasados ha mantenido una notable tendencia de crecimiento en el mercado nacional, y con ello, han aparecido nuevos productos que utilizan una gran variedad de frutas de forma individual, o que incluso mezclan dos o tres (El consumidor, 2014).

En la actualidad, la industria de las bebidas no alcohólicas ha lanzado al mercado bebidas con frutos rojos ricos en antioxidantes. Sin embargo, los problemas a los que se han enfrentado es la pérdida de color o alteración, debido a la degradación de los pigmentos (García y Pérez, 2004); y el alto costo que tienen los frutos rojos en México. Esto ha obligado a que se utilicen en conjunto con otros frutos de menor precio y que se les adicionen colorantes sintéticos.

2.3.2. Jugos y néctares

La norma CODEX STAN 247-2005 define al jugo de fruta como el líquido sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras y frescas o frutas que se han mantenido en buen estado por procedimientos adecuados, inclusive por tratamientos de superficie aplicados después de la cosecha de conformidad con las disposiciones pertinentes de la Comisión del Codex Alimentarius.

Esta norma considera que algunos jugos podrán elaborarse junto con sus pepitas, semillas y pieles, que normalmente no se incorporan al jugo, aunque serán aceptables algunas partes o componentes de pepitas, semillas y pieles que no puedan eliminarse mediante las buenas prácticas de fabricación (BPF).

Además, hace mención que los jugos se preparan mediante procedimientos adecuados que mantienen las características físicas, químicas, organolépticas y nutricionales esenciales de los jugos de la fruta de que proceden. Pueden ser turbios o claros, y contener componentes restablecidos 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. Pueden añadirse pulpa y células obtenidas, por procedimientos físicos apropiados, del mismo tipo de fruta.

Por néctar de fruta se entiende el producto sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene añadiendo agua con o sin la adición de azúcares de miel y/o jarabes, y/o edulcorantes o a una mezcla de éstos. Pueden añadirse sustancias aromáticas, componentes aromatizantes volátiles, pulpa y células, todos los cuales deben proceder del mismo tipo de fruta y obtenerse por procedimientos físicos (CODEX STAN 247-2005).

La diferencia entre un jugo y un néctar es que a este último puede añadirse otros ingredientes como agua y/o azúcar, entre otros constituyentes; en cambio, un jugo debe ser sólo el líquido obtenido de la fruta sin adición de otro ingrediente. En la Figura 8 se detalla el proceso de elaboración de un néctar de fruta.

Por su parte, la NOM-130-SSA1-1995 define los jugos y néctares como productos alimenticios que son envasados normalmente en recipientes herméticos, los cuales junto con el producto son sometidos a tratamientos térmicos. En esta norma se especifica que después del tratamiento térmico, los envases deben ser enfriados con agua clorada, cuya concentración final será como mínimo de 0.5 mg/kg de cloro residual, buscando una temperatura interna del producto de aproximadamente 40°C pudiendo efectuar un tratamiento ulterior con aire frío.

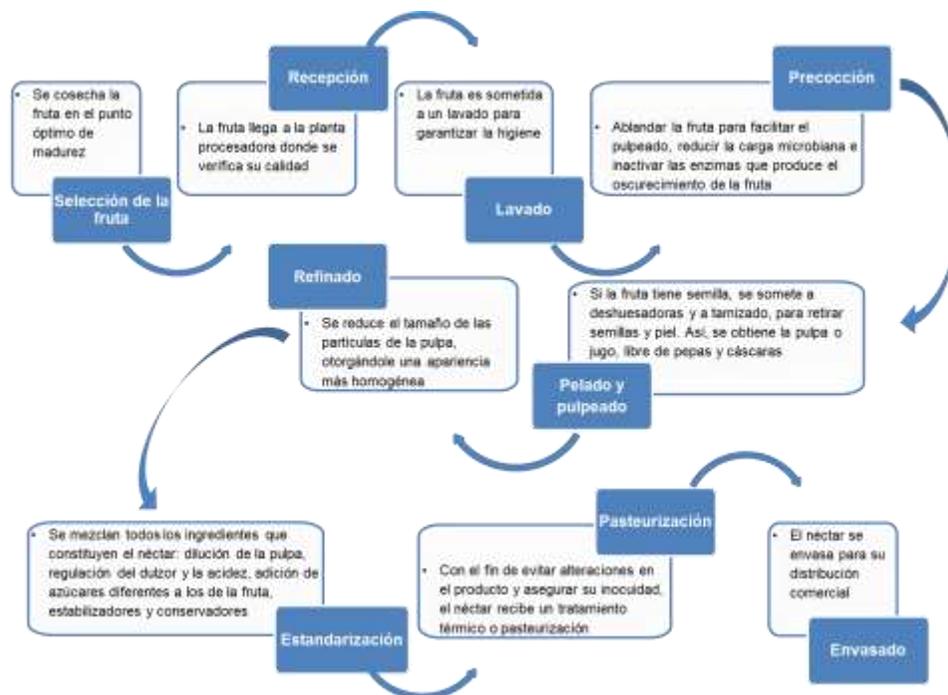


Figura 8. Proceso para la elaboración de un néctar de fruta (El consumidor, 2014).

En la actualidad, los jugos con antioxidantes han incrementado su demanda por los consumidores. Entre los jugos y néctares que destacan son los elaborados a base del fruto de granada; García y Pérez (2013) mencionan que la granada es considerada un potencial promotor de la salud debido a su capacidad captadora de radicales libres y su atractivo color rojo como característica organoléptica; además tiene propiedades nutricionales y terapéuticas (García y Pérez, 2004).

2.4. Confitería

2.4.1. La industria de confitería en México

Los productos de confitería son aquellos que están elaborados principalmente con sacarosa, glucosa, fructosa, lactosa o combinaciones de estos azúcares, y de acuerdo

con Jackson (1990) se catalogan como caramelo duro, suave, gomas y jaleas, rellenos, malvaviscos, tabletas, pastillas, gomas de mascar y chocolate (Reyo *et al.*, 2010).

Los productos de confitería se pueden clasificar en confites o confitados. El confite agrupa una gran cantidad de productos como el caramelo duro, el caramelo suave, el caramelo aireado, las pastillas de goma, todo tipo de chocolates, etc.; el confitado corresponde a una amplia gama de productos que se recubren con dulce, por ejemplo: las frutas cristalizadas, centros dulces (duros y suaves), goma de mascar, centros de chocolate con diferentes semillas (cacahuates, almendras, nueces, etc.).

Los productos de confitería tienen su origen desde hace 3000 años en Egipto, donde existen jeroglíficos que muestran la preparación de dulces. Los romanos también tenían el gusto por los dulces. En la Edad Media surgió la elaboración de productos con azúcar; en el siglo XIV los persas descubrieron el azúcar de caña y su refinación por lo que se promovió la elaboración de confitería que después se potenció en la Revolución Industrial por la maquinaria especializada. En México, la historia del cacao se remonta a muchos siglos antes de la Conquista (Ramírez *et al.*, 2004).

Durante las últimas décadas se ha manifestado un gran desarrollo en la elaboración de productos de confitería, cuyo principal objetivo es proporcionar una sensación placentera mediante la unión del sabor dulce con aromas, texturas y colores (Reyo *et al.*, 2010).

Tradicionalmente el consumo de confitería no se recomienda, tanto por su alto contenido de azúcar como por su asociación a problemas nutricionales y de salud. Sin embargo, hoy en día, hay una innovación de productos de confitería que sigue las tendencias hacia una alimentación saludable y permite el ingreso al grupo de los alimentos funcionales. Así, la industria de las golosinas ha apostado hacia la fortificación con vitaminas y minerales y la utilización de sustancias bioactivas que promuevan beneficios a la salud (Pérez *et al.*, 2012).

La Cámara de la Industria Alimenticia de Jalisco (CIAJ) reveló que el consumo per cápita de dulces en México es de 4.5 kg anual. En el año 2011, el consumo total de la industria confitera sumó 315,350 Ton, de las cuales, 148,800 correspondieron a dulces y el resto a chocolates y chicles. El nicho principal de la confitería se encuentra entre los menores de 20 años, que representan el 52% de la población mexicana; de este grupo el

60% son niños, lo que ha ocasionado que el fabricante de confitería, galletas, chocolates y botanas se esté preocupando por añadir vitaminas, minerales y otros componentes que sean benéficos para la salud sin que se sacrifiquen las propiedades atractivas de estos productos (Mexican Business Web, 2012).

2.4.2. Elaboración de confitados

La confitería engloba a los productos elaborados principalmente con azúcar; surgió como técnica desde tiempos antiguos para poder conservar algunos alimentos de temporada como son las frutas. En México la confitería es muy extensa y cuenta con gran variedad de técnicas (Meza y Rodas, 2007).

La elaboración de los productos de confitería, de manera general, se basa en la preparación de jarabes concentrados de azúcar, los que después de una cocción lenta, sostenida y cuidadosa se convierten en una masa que adquiere la textura característica del dulce según su tipo. Se dividen en grupos amorfos, si el azúcar no es cristal (productos con apariencia vítrea); y cristalinos, si el azúcar se encuentra cristalizada (Ramírez *et al.*, 2004). En la Tabla 6 se da una clasificación de los productos de confitería.

Tabla 6. Clasificación de los productos de confitería (Ramírez *et al.*, 2004).

Amorfos no cristalinos	No amorfos cristalinos
Caramelos	Chocolates
Melazas	Crema
Chiclosos	Fudge
Palanqueta	Nougats
Dulce duro	Lozenges
Orozuz	Centros suaves
Gelatinas	Mazapán y pastas
Gomas	Pralines
Paletas	Tabletas de azúcar comprimida

Distintas investigaciones han demostrado que el consumo regular de alimentos con aporte de actividad antioxidante, como parte de una dieta saludable, puede reducir el riesgo de enfermedades degenerativas ocasionadas por el estrés oxidativo, donde se incrementa la generación de radicales libres. Lo anterior es de suma importancia, debido

a que en nuestro país se ha observado un incremento alarmante de enfermedades cardiovasculares (Gutteridge y Halliwell, 1999).

Sin embargo, actualmente existe una preocupación por la ingesta de algunos colorantes sintéticos que pueden ocasionar alteraciones en la salud de los consumidores; por ejemplo, el rojo 40 (rojo allura), cuyo consumo se relaciona con modificaciones en la hiperactividad de niños de edad escolar, lo cual puede considerarse un mal neuronal agudo (Breakey *et al.*, 2002; McCann *et al.*, 2007). Por tal situación, se buscan alternativas para sustituir los colorantes artificiales por colorantes de origen natural. De hecho, existe la posible prohibición por el FDA de colorantes sintéticos como el rojo # 3 y # 40 (Ordaz *et al.*, 1999).

Las características que tiene el capulín (composición química y presencia de antioxidantes y colorantes) lo hacen un buen candidato para la elaboración de otros productos alimenticios.

2.5. Medidas de color

El color es un parámetro visual de apariencia de un producto; esta propiedad se relaciona con los valores de las coordenadas cromáticas rectangulares (L^* , a^* y b^*). Aunque estas mediciones no necesariamente dan una definición precisa del color, son eficaces para medir las diferencias de éste y darle seguimiento durante cambios en el procesamiento y almacenamiento del producto (Wrolstad *et al.*, 2005).

En el espacio cromático rectangular L^* , a^* y b^* (Figura 9), L^* (luminosidad) va de una escala de 0 hasta 100, donde 0 es igual al negro y 100 a blanco; $+a^*$ (rojo), $-a^*$ (verde); $+b^*$ (amarillo) y $-b^*$ (azul).

En el espacio cromático cilíndrico L^* , C^* y h° (Figura 9), los valores de ángulo de Tono_{ab} (h°) van de 0 a 360°; 0° indica el tono rojo, 90° corresponde al amarillo, 180° verde y 270° azul (Wrolstad *et al.*, 2005). El croma (C^*) es un parámetro que mide la pureza, intensidad o saturación de un color en una escala de 0 a 100, donde 100 expresa la mayor pureza; mientras menos puro o saturado es un color, es más descolorido y grisáceo (Padrón y Padrón, 2012). Para a^* y b^* positivos se calcula el tono con la Ecuación 1; para a^* negativo y b^* positivo, este parámetro se obtiene con la Ecuación 2. El croma o pureza se deduce con la Ecuación 3 (Padrón y Padrón, 2012).

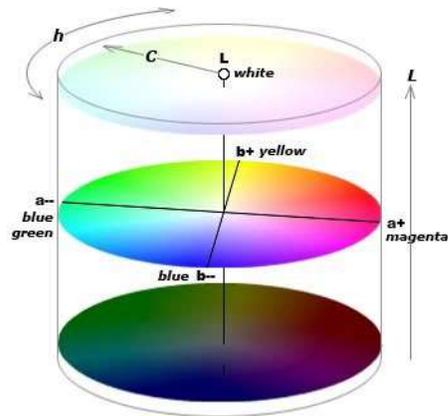


Figura 9. Representación de los espacios cromáticos rectangular (L^* , a y b^*) y cilíndrico (L^* , C^* y h°). Fuente: Quora (2012).

$$\text{Tono } (h^\circ) = \arctan \left[\frac{b^*}{a^*} \right] \quad (1)$$

$$\text{Tono } (h^\circ) = 180 + \arctan \left[\frac{b^*}{a^*} \right] \quad (2)$$

$$\text{Croma } (C^*) = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (3)$$

3.1. Objetivo general

Evaluar las propiedades fisicoquímicas del capulín, mediante la determinación de la composición química y la estabilidad de las antocianinas extraídas del fruto, para desarrollar productos alimenticios con actividad antioxidante.

3.2. Objetivos específicos

1. Caracterizar el fruto de capulín mediante la medición de propiedades fisicoquímicas para determinar su calidad nutrimental y/o funcional.
2. Obtener extractos modificados a partir de la interacción de antocianinas con diferentes ácidos orgánicos (*p*-cumárico, cafeico y ferúlico) para evaluar su estabilidad en productos alimenticios.
3. Desarrollar productos alimenticios con propiedades antioxidantes y sin adición de colorantes sintéticos a partir del fruto del capulín para diversificar su uso.

4.1. Reactivos

Los reactivos utilizados durante el trabajo experimental fueron éter de petróleo, H₂SO₄, NaOH, ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH), metanol, ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox), reactivo de Folin-Ciocalteu, alcohol etílico, HCl, acetato de sodio, ácido acético, ácido *p*-cumárico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido ascórbico, metabisulfito de potasio (K₂S₂O₅), los cuales fueron adquiridos de grado analítico.

Los aditivos utilizados en la elaboración de los productos de confitería (sacarosa, grenetina, glucosa, ácido cítrico, cloruro de sodio, pectina, alginato y cloruro de calcio) fueron de grado alimentario; junto con los chiles guajillo y piquín (otros ingredientes), se adquirieron en un establecimiento de materias primas.

4.2. Muestras

Durante el transcurso de toda la parte experimental se trabajó con un lote de capulín de 3.380 kg que se adquirió en un establecimiento comercial. Debido a que es un fruto de temporada, una vez obtenido el lote de trabajo, los frutos se lavaron y se sometieron a congelación a -15°C en un congelador Frigidaire, y se fue tomando la cantidad necesaria para cada experimento.

La separación de la semilla, la pulpa y la piel del capulín se realizó manualmente, con la ayuda de un cuchillo mondador curvo de acero inoxidable de 6 cm de longitud. Para obtener los extractos modificados, se utilizó la piel de capulín, Freeze dry system/freezone 4.5 con alto vacío (100x10⁻³ mBar) y una temperatura de -40 °C.

El fruto de granada se adquirió en un establecimiento comercial. Antes de la preparación del jugo, se lavaron y se desgranaron los frutos, se empaquetaron en bolsas de 500 g y se conservaron en ultra congelación a -70°C en un equipo Thermo ELECTRON CORPORATION 8607.

El colorante adicionado a los néctares experimentales fue el extracto modificado de antocianinas de capulín con mayor estabilidad, seleccionado en base a las determinaciones de porcentaje de color polimérico (%CP), actividad antioxidante (AA) y parámetros de color (CIE-L*a*b*).

La comparación de color de los néctares experimentales se realizó con 4 néctares comerciales y una bebida energizante, los cuales se adquirieron en una tienda de autoservicio.

Todos los análisis se realizaron por triplicado, excepto la obtención de los extractos modificados de antocianinas de capulín, los cuales se hicieron por duplicado, y cada uno de ellos se analizó por triplicado para el análisis de sus propiedades.

4.3. Caracterización fisicoquímica del fruto de capulín (*Prunus serotina*)

4.3.1. Análisis proximal

El análisis proximal se realizó a muestras de capulín entero, pulpa, piel y semilla, mediante los métodos oficiales de análisis de la AOAC.

4.3.1.1. Determinación de humedad

El contenido de humedad se llevó a cabo mediante el Método AOAC 925.09, por secado en estufa. En charolas de aluminio a peso constante se colocaron muestras de 5 g aproximadamente de fruto de capulín entero, pulpa y semilla (todas las muestras molidas); y 3 g aproximadamente de piel molida. Las muestras se llevaron a peso constante en un horno FELISA FE-291AD a 105°C por 4 horas. Los resultados se obtuvieron utilizando la Ecuación 4.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_i - P_f}{m} \times 100 \quad (4)$$

donde: m=Peso de la muestra (g); P_i=Peso de la charola con muestra antes del secado; P_f=Peso de la charola con la muestra seca.

4.3.1.2. Determinación de cenizas totales

La determinación de cenizas totales se llevó a cabo por el Método AOAC 923.03. Se utilizaron crisoles a peso constante y se colocaron aproximadamente 3 g de muestra

molida y se incineraron en parrilla de calentamiento hasta la desaparición del humo en una campana de extracción. Posteriormente, el residuo se colocó en una mufla Thermo SCIENTIFIC FB 1415M a 550°C por 6 h aproximadamente. Los resultados se obtuvieron aplicando la Ecuación 5.

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P_f - P_0}{m} \times 100 \quad (5)$$

donde: m=Peso de la muestra (g); P_o=Peso del crisol; P_f= Peso del crisol con la muestra calcinada.

4.3.1.3. Determinación de grasa cruda

El contenido de grasa se determinó mediante el Método AOAC 920.39 Soxhlet. Se colocaron muestras libres de humedad en un saco de papel filtro y se introdujeron en la cámara de extracción de un equipo Soxhlet LAB-LINE MULTI-UNIT. En matraces balón de 250 mL a peso constante se adicionaron 150 mL de éter de petróleo; se juntó cada matraz con la cámara de extracción y el condensador y se procedió a calentamiento moderado hasta la extracción de grasa durante 8 h aproximadamente. Para finalizar, se recuperó el solvente y el resto se eliminó colocando el matraz en una estufa a 65°C. Los resultados se obtuvieron aplicando la Ecuación 6.

$$\% \text{ Grasa cruda} = \frac{P_f - P_i}{m} \times 100 \quad (6)$$

donde: m=Peso de la muestra fresca referido al peso original (g); P_i=Peso inicial del matraz a peso constante; P_f=Peso del matraz con extracto etéreo.

4.3.1.4. Determinación de proteína

La determinación se realizó por el Método AOAC 990.03 Dumas. Se pesaron 70 mg aproximadamente de muestras libres de grasa y humedad, que se introdujeron en el carrusel para su lectura en un equipo Dumas LECO FP-528. El método consiste en que la muestra se somete a una combustión a 800°C, y el equipo detecta el % de nitrógeno presente en las muestras analizadas. Se utilizó el factor de conversión de nitrógeno a proteína de 6.25 (Lees, 1982) para obtener el porcentaje de proteína presente en las muestras.

4.3.1.5. Determinación de fibra cruda

La determinación de fibra se realizó por el Método AOAC 7.073. Se pesaron aproximadamente 2 g de muestras de fruto de capulín libres de humedad y grasa, se colocaron en vasos de Berzelius y se procedió a una digestión ácida con H₂SO₄ al 1.25% por 30 minutos a reflujo en un digestor. Las muestras de la primera digestión se filtraron en una tela de lino y se prosiguió con una digestión básica con NaOH al 1.25% por 30 minutos a reflujo. Se filtró el resto de la muestra no digerida con la misma tela de lino y se colocó en un crisol, que previamente se llevó a peso constante en estufa a 105°C por 1 hora para eliminar la humedad. Después, se incineró en una parrilla de calentamiento hasta la desaparición de humo en una campana de extracción. Posteriormente, se colocaron los crisoles en una mufla Thermo SCIENTIFIC FB 1415M a 550°C por 6 horas. Los resultados se obtuvieron aplicando la Ecuación 7; se utilizó un blanco (tela de lino) para la corrección de los resultados restando el blanco a las muestras.

$$\% \text{ Fibra bruta} = \frac{P_1 - P_2}{W} \times 100 \quad (7)$$

donde: W=peso de la muestra (g); P₁=peso del crisol secado a temperatura de 105°C (g); P₂=peso del crisol con muestra incinerada (g).

4.3.2. Determinación de azúcares reductores

Se realizó la determinación de azúcares reductores por el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) descrito por Miller (1959), siguiendo la metodología de Nuñez y colaboradores (2012). Se pesó 1 g de muestra molida (fruto de capulín entero, piel, pulpa y semilla) y se llevó a 20 mL con agua destilada, para la extracción de los azúcares reductores. La muestra de semilla de capulín se clarificó con solución de acetato de plomo concentrado para eliminar la grasa y se centrifugó a 8500 rpm en una centrifuga mini spin Eppendorf®.

Para la aplicación del método DNS, se preparó el reactivo disolviendo 0.8 g de NaOH en 10 mL de agua destilada; luego se adicionaron 0.5 g de DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) y 25 mL de agua destilada. Todo se mezcló y posteriormente se agregaron 15 g de tartrato de sodio y potasio tetrahidratado y se aforó a 50 mL con agua destilada.

Para calcular el contenido de azúcares reductores, se realizó una curva de calibrado. Para ello, se preparó una solución estándar de glucosa de 100 mg/L, tomando

los volúmenes necesarios para preparar 10 mL de soluciones patrón en el intervalo de 20-100 mg/L (n=5). A cada matraz volumétrico se le agregaron 3 mL de DNS, se colocaron en un baño de agua a 100°C por 5 min y se completó el volumen con agua destilada. Se dejó en reposo 15 min para después tomar la lectura de absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro 10S UV-Vis GENESYS.

Una vez construida la curva patrón, se aplicó el método DNS a cada una de las muestras. Se mezclaron 0.2 mL de muestra con 3 mL de reactivo DNS; posteriormente, se le realizó el mismo tratamiento que a los estándares.

4.3.3. Determinación de sólidos solubles totales (°Brix)

La determinación de °Brix se llevó a cabo mediante el método descrito por la Norma Mexicana NMX-F-103-1982. Se colocaron 5 gotas del jugo del fruto en el prisma del refractómetro (previamente limpio y calibrado con agua) y se determinó el porcentaje de sólidos solubles totales directamente en la escala, a 18°C.

4.3.4. Determinación de pH

La medida de pH se realizó mediante el procedimiento descrito en la Norma Mexicana NMX-F-102-S-1978. Se pesaron 75 g del fruto de capulín sin semilla y molido, y se mezclaron con 200 mL de agua destilada en un vaso de precipitados de 500 mL. Se tomaron las lecturas de pH directamente en un potenciómetro calibrado pH/ORP/ISE Meter (HANNA H3221).

4.3.5. Determinación de acidez titulable

Se determinó mediante el procedimiento descrito en la Norma Mexicana NMX-F-102-S-1978. Se pesaron 75 g del fruto sin semilla y molido y se colocaron en un vaso de precipitados de 500 mL que contenía 200 mL de agua destilada; el vaso se colocó en calentamiento a 70°C en una parrilla de calentamiento durante 1 hora. Transcurrido este tiempo, se filtró la muestra y se realizaron 3 lavados de 50 mL con agua destilada caliente. El contenido se transfirió a un matraz volumétrico de 500 mL, y se completó el volumen con agua destilada.

Se tomaron alícuotas de 25 mL de muestra y se colocaron en un vaso de precipitados de 250 mL; se adicionaron a cada réplica 50 mL de agua destilada. Las muestras se valoraron con una solución de NaOH 0.1N; primero se adicionó solución

valorante hasta un pH= 6, después se fue adicionando lentamente hasta un pH=7 y posteriormente en porciones de 4 gotas hasta completar un pH= 8.3. Los cálculos se obtuvieron con la ecuación 8 y el resultado se expresó en mg de ácido tartárico/100g de capulín.

$$AT = \frac{V_m \times C \times meq \times FD \times 100}{m} \quad (8)$$

donde: V_m =volumen de NaOH 0.1N gastado en la muestra; C= concentración de NaOH (0.1N); meq= miliequivalentes del ácido mayoritario (tartárico, 75.04); FD= Factor de dilución (20); $m_{muestra}$ = masa de la muestra (g).

4.3.6. Determinación de la actividad antioxidante (AA)

La actividad antioxidante del fruto de capulín se determinó mediante el método del DPPH (2,2-difenil-1-picrihidracilo) descrito por Williams y colaboradores (1995) con modificaciones (Ozgen *et al.*, 2010; Jiménez y Girbés, 2012). Se preparó una solución de DPPH 0.1 mM (radical) en metanol y una solución estándar de Trolox 1mM (antioxidante de referencia) en metanol, con el que se realizó una curva de calibración. Para la curva de calibración se prepararon las soluciones que se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Curva estándar DPPH con Trolox de referencia (Jiménez y Girbés, 2012).

Reactivo	Blanco	Control	Estándar (μ M)			
			1	2	3	4
Metanol (μ L)	3000	100	75	50	25	---
DPPH (μ L)		2900	2900	2900	2900	2900
Trolox (μ L)			25	50	75	100

La mezcla se dejó reaccionar por 50 min en la oscuridad y transcurrido el tiempo se midieron las absorbancias en una celda de cuarzo de 1 cm de paso óptico en un espectrofotómetro 10S UV-Vis GENESYS a 515 nm.

Los parámetros de regresión para la curva de calibración se obtuvieron de graficar %DPPH_{remanente} vs [Trolox]. Los cálculos de %DPPH_{remanente} se realizaron con la Ecuación 9 (Sharma *et al.*, 2013).

$$\%DPPH_{remanente} = \left[\frac{A_{muestra} - A_{blanco}}{A_{control}} \right] \times 100 \quad (9)$$

donde: $A_{muestra}$ =Absorbancia de la muestra con DPPH; $A_{control}$ =Absorbancia del DPPH sin muestra; A_{blanco} =Absorbancia de la muestra sin DPPH.

Para el análisis de las muestras, se pesaron 10 g del fruto de capulín molido sin semilla; luego se mezclaron con agua destilada en un vaso de precipitados de 100 mL y se filtró la mezcla completando el volumen a 50 mL. Posteriormente se tomó una alícuota de 1 mL y se aforó en un matraz volumétrico de 10 mL con agua destilada. Después, se tomaron tres alícuotas de 100 μ L de esta solución y se les realizó el mismo tratamiento que a los estándares. Los resultados se expresaron como mg de Trolox/100 g de muestra.

4.3.7. Determinación de fenoles totales (FT)

La cuantificación se realizó utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu (tungstofosfato y molibdofosfato), método descrito por Jiménez y Girbés (2012), con modificaciones en la concentración de ácido gálico (como fenol de referencia) para la construcción de la curva de calibración.

Se preparó una solución de ácido gálico a 100 mg/L y una de Na₂CO₃ al 7.5% en agua destilada. En la Tabla 8 se muestra la preparación de los estándares.

Cada tubo de ensayo se dejó reaccionar por 10 minutos en un baño María a 50°C; transcurrido el tiempo de la reacción, se realizó la lectura de las absorbancias en una celda de cuarzo de 1 cm de paso óptico en un espectrofotómetro 10S UV-Vis GENESYS a 760 nm.

Para el análisis de la muestra se pesaron 10 g de capulín molido sin semilla, y en un vaso de precipitado de 100 mL se mezclaron con 50 mL de agua destilada. La muestra se filtró, de la que se tomó una alícuota de 1 mL y que posteriormente se aforó a 10 mL en un matraz volumétrico. De esta solución se tomaron 100 μ L de muestra y se realizó el mismo tratamiento que para los estándares.

Tabla 8. Curva estándar para determinar fenoles totales con ácido gálico como referencia (Jiménez y Girbés, 2012).

Componente	Blanco	Estándar (mg/L)				
		20	40	60	80	100
Agua destilada, μL	700	680	660	640	620	600
AG 100mg/L, μL		20	40	60	80	100
Na_2CO_3 (7.5%), μL	600	600	600	600	600	600
Reactivo de Folin Ciocalteau, μL	200	200	200	200	200	200

AG: ácido gálico

4.4. Efecto de la adición de ácidos orgánicos en la estabilidad de extractos antociánicos de capulín

4.4.1. Extracción de antocianinas

La extracción se realizó siguiendo la metodología descrita por Castañeda *et al.* (2012) con modificación de solvente utilizado para la extracción. Se pesaron 50 g de piel de capulín liofilizado y se les adicionaron 500 mL de solución etanólica de HCl al 0.2% (v/v); luego la mezcla se maceró en la oscuridad durante 24 horas. Posteriormente, la solución se filtró y el filtrado obtenido se aforó en un matraz volumétrico de 500 mL con solución etanólica acidificada al 0.2%.

4.4.2. Determinación de antocianinas monoméricas

El contenido de antocianinas se determinó mediante el método de pH diferencial descrito por Wrolstad y colaboradores (2005) utilizando como soluciones amortiguadoras HCl 0.1 M (pH=1) y acetatos 0.4M (pH=4.5).

Se tomó 1 mL del extracto de antocianinas y se aforó en un matraz volumétrico de 10 mL con etanol acidificado al 0.2%; de la muestra diluida se tomaron dos réplicas de 1 mL. Una se aforó a 10 mL con solución amortiguadora de acetatos y otra con la solución a pH=1 de HCl 0.1 M. De cada solución se midió la absorbancia en una celda de cuarzo de 1 cm de paso óptico en un espectrofotómetro 10S UV-Vis GENESYS a 515 y 700 nm. Para calcular la absorbancia final se utilizó la Ecuación 10.

$$A = (A_{515nm} - A_{700nm})_{pH=1} - (A_{515nm} - A_{700nm})_{pH=4.5} \quad (10)$$

Para calcular la concentración de antocianinas monoméricas (mg L^{-1}) se utilizó la Ecuación 11.

$$\text{Antocianinas monoméricas} = \frac{A \times \text{PM} \times \text{FD} \times 10^3}{\epsilon \times l} \quad (11)$$

donde: A= Absorbancia final de la muestra; PM= Peso molecular referido a cianidina 3-glucósido (449.2 g mol^{-1}); FD= Factor de dilución; ϵ = Absortividad molar ($26900 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$); l= Longitud de paso óptico (1 cm).

4.4.3. Reacciones de condensación

Los experimentos se realizaron considerando los resultados óptimos que se han logrado en el grupo de investigación con trabajos anteriores (Saavedra, 2012; Castillo, 2013; Hernández, 2013), los cuales se detallan en la Tabla 9. Con la concentración molar obtenida de la determinación de antocianinas monoméricas, se realizaron los cálculos para los experimentos de la Tabla 9. Los extractos modificados se obtuvieron bajo las condiciones de trabajo señaladas.

En frascos de vidrio debidamente marcados se adicionaron 20 mL de extracto antociánico y la cantidad de ácido orgánico para cada experimento; se llevaron a cabo las reacciones con sus respectivas condiciones. Para mantener la temperatura se utilizó un baño BOEKEL GRANT PB-3600. Aquellos frascos donde era necesario desplazar el oxígeno se sellaron a modo de no dejar escapar el gas de nitrógeno que provocó una atmósfera inerte.

4.4.3.1. Determinación de índices de degradación y oscurecimiento

Para la determinación de índices de degradación y oscurecimiento (IDO) se utilizó la metodología descrita por Giusti y Wrolstad. (2001). Se preparó una solución blanqueadora de sulfito ácido (HSO_3^-) 0.6M, a partir de metabisulfito de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$).

Se tomaron dos réplicas de 500 μL de cada muestra (extractos antociánico y modificados). En matraces volumétricos de 10 mL debidamente marcados (control y muestra) se agregó a cada réplica por separado. La solución control se aforó a 10 mL con agua destilada y a la solución muestra se le adicionó 1 mL de solución blanqueadora de sulfito ácido que luego se aforó a 10 mL con agua destilada.

Tabla 9. Condiciones de trabajo para las reacciones de condensación.

Exp.	Ácido	[Ácido]/[Ant]	T (°C)	t _{Rx} (h)	pH	P° O ₂	[Ácido ascórbico] mg/L
1	<i>p</i> -cumárico	150	60	5	1	---	---
2	Cafeico	250	60	5	1	0	---
3	Ferúlico	150	40	1	3	---	125
4	<i>p</i> -cumárico	150	60	5	1	0	---
5	<i>p</i> -cumárico	150	60	5	1	0	125
6	Cafeico	250	60	5	1	0	125
7	Ferúlico	150	40	1	3	0	125
8	Cafeico	150	60	5	1	0	125
9	Ferúlico	150	40	5	1	0	125
10	Ferúlico	150	60	5	1	0	125

Para ambas soluciones (control y muestra) se midieron las absorbancias con una celda de cuarzo de 1cm de paso óptico en un espectrofotómetro 10S UV-Vis GENESYS a 420, 515 y 700 nm.

Para el cálculo de la densidad de color (DC) se utilizó la Ecuación 12, con los datos de la solución control (agua destilada).

$$\text{Densidad de color} = [(A_{420nm} - A_{700nm}) + (A_{515nm} - A_{700nm})] \times FD \quad (12)$$

donde: A= Absorbancia de la solución control a su respectiva longitud de onda; FD= Factor de dilución.

Para el cálculo del color polimérico (CP) se utilizó la Ecuación 13, con los datos de la solución muestra (tratada con sulfito ácido).

$$\text{Color polimérico} = [(A_{420nm} - A_{700nm}) + (A_{515nm} - A_{700nm})] \times FD \quad (13)$$

donde: A= Absorbancia de la solución muestra a su respectiva longitud de onda; FD= Factor de dilución.

Para el cálculo de % de color polimérico (%CP) se utilizó la Ecuación 14, con los resultados que se obtuvieron de DC y CP.

$$\% \text{Color polimérico} = \left(\frac{\text{Color polimérico}}{\text{Densidad de color}} \right) \times 100 \quad (14)$$

Para el cálculo del índice de oscurecimiento (IO) se utilizó la Ecuación 15, con los datos obtenidos de la solución muestra (tratada con sulfito ácido).

$$\text{Índice de oscurecimiento} = (A_{420nm} \times FD) \quad (15)$$

4.4.3.2. Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante de los extractos antociánico y modificado de capulín se determinó mediante el método del DPPH descrito en la sección 4.3.6.

4.4.4. Efecto de extractos modificados adicionados a néctar de granada

4.4.4.1. Preparación de néctar de granada (*Punica granatum*)

Se elaboró el néctar de granada natural y se tomó un nivel mínimo de °Brix, como lo indica la Norma General del CODEX para zumos (jugos) y néctares de frutas (CODEX STAN 247-2005).

Se utilizaron 18.91 kg de granos de granada, y se obtuvieron 15.14 L de jugo. Después se elaboró el néctar, de acuerdo a la metodología mostrada en la Figura 10. Se midieron los °Brix con un refractómetro digital Reichert AR200.



Figura 10. Proceso para la elaboración de néctar de granada natural artesanal.

El jugo de granada se elaboró de manera artesanal (sin uso de equipo industrial) y se extrajo la mayor cantidad posible de antocianinas para los análisis colorimétricos (IDO, AA y valores CIE-L*a*b*). Se adicionó agua potable para obtener el néctar a 12°Brix.

4.4.4.2. Efecto de la temperatura

Los extractos modificados con mayor % de color polimérico y actividad antioxidante (7 y 10) se adicionaron a 75 mL de néctar de granada en una concentración de 5% (v/v), tomando como fundamento las buenas practicas de manufactura (BPM) de la NOM-130-SSA1-1995. Cada uno de los frascos se cerró herméticamente y se mantuvo a temperaturas controladas de 20, 40, 60 y 80°C, utilizando baños termostatzados. Además, se tomó como control el néctar de granada, sin adición de extractos modificados.

Se realizaron mediciones aleatorias (días 1, 4, 8, 11, 15, 18 y 21) de los índices de degradación y oscurecimiento, de la actividad antioxidante y del color de cada una de las muestras, y se hicieron siete mediciones, que son suficientes para realizar el análisis estadístico.

4.4.4.2.1. Clarificación de la muestra

De cada muestra (néctar de granada y néctar de granada con adición de extracto modificado) se tomaron 5 mL, se introdujeron en tubos Eppendorf de 1.5 mL y se centrifugaron por 10 min a 8500 rpm en una centrifuga mini spin Eppendorf.

4.4.4.2.2. Determinación de índices de degradación y oscurecimiento

Se determinaron los IDO de acuerdo a la metodología descrita en la sección 4.4.3.1, tomando 500 μ L de cada una de las muestras clarificadas.

4.4.4.2.3. Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante se determinó mediante el método del DPPH descrito en la sección 4.3.6. De las muestras clarificadas se tomaron 500 μ L y se aforaron a 10 mL con agua destilada para la determinación de la AA.

4.4.4.2.4. Determinación de color

La determinación del color se realizó utilizando los valores CIE-L*a*b* mediante imágenes digitales analizadas con el software Photoshop® CS3 Extended, de acuerdo a la metodología propuesta por Padrón (2010).

El software empleado fue Adobe® Photoshop® CS3 Extended Versión 10.0. Se utilizó una notebook, provista de un procesador Intel® Core i5-2450M de segunda generación a 2.5 GHz, hasta 3.1 GHz con Turbo Boost con memoria gráfica Intel HD 3000 hasta un total de 1696 MB de memoria de gráficos, pantalla con retroiluminación LED de alta definición BrightView de 14.0 pulgadas en diagonal con resolución de 1366x768 pixeles, memoria SDRAM DDR3 de 6 GB (2 DIMM) y sistema operativo Microsoft® Windows 7®, Home Premium.

Para la calibración del monitor, se tomó en cuenta que la luz ambiental fuese inferior a la de intensidad del monitor y sin incidencia directa sobre el mismo. El monitor fue calibrado definiendo punto blanco del hardware en 6500°K (temperatura de color correlacionada, describe el nivel de calidez o frialdad de una fuente lumínica, se basa en el color de la luz emitida por una fuente incandescente). El perfil de trabajo en el programa fue sRGB iec61966-2.1.

Para la captación de imágenes se utilizó una cámara digital marca Canon (Rebel), modelo T2i/ EOS 550D. La misma posee un sensor CMOS, y aporta tamaños de

imágenes de 18 megapíxeles efectivos. La cámara se colocó en modo de valor de apertura, flash desactivado, enfoque en modo normal y tamaño de imagen 5.0 megapíxeles. Para el ajuste manual de balance de blancos, se calibró mediante una hoja de papel bond blanco iluminado con luz blanca dentro de una caja blanca, temperatura de color 6500°K (D65). La luz blanca se hizo incidir sobre la hoja a distancia de 20 cm y la cámara a distancia de 50 cm aproximadamente. La geometría de las direcciones de iluminación/observación fue de 45°/0°.

Cada muestra clarificada se introdujo en la caja blanca iluminada con luz blanca a una distancia de 20 cm y se realizó la toma de las imágenes a una distancia de la cámara a 50 cm.

Los valores de color CIE-L*a*b* se determinaron utilizando el software Photoshop® CS3 Extended, donde L* es la luminosidad (0 = negro y 100 = blanco), y a* y b* son las coordenadas cromáticas rectangulares (+a = rojo y -a = verde / +b = amarillo y -b = azul). Las fotografías se tomaron por duplicado y las coordenadas fueron promediadas y graficadas.

A partir de los valores a* y b*, se calcularon las coordenadas polares tono o matiz (h°) y croma o pureza (C*) (Ecuaciones 1-3).

4.5. Aprovechamiento del capulín en la elaboración de productos alimenticios

4.5.1. Néctar de granada adicionado con extracto modificado de antocianinas de capulín

4.5.1.1. Preparación y pasteurización del néctar experimental

Para la pasteurización, se tomaron muestras de 50 mL de néctar de granada y se adicionó extracto modificado de antocianinas de capulín (de mayor estabilidad) a concentraciones de 1, 2, 3, 4 y 5% (v/v). Estos valores se tomaron teniendo como referencia la NOM-130-SSA1-1995 en el que se establece el uso del colorante con BPM. Estos néctares se codificaron como G1-G5 (el número indica el % de extracto adicionado). Se tomó como control el néctar de granada (codificado como GC).

También se preparó un néctar simulando a los jugos de extracto de granada comerciales; éste contenía 26% de néctar de manzana clarificado, 4% de jugo de granada

y agua potable. Se tomaron 5 muestras de 50 mL y se les adicionó 1, 2, 3, 4 y 5% de extracto modificado de capulín); cada una se codificó como MG1-MG5 (el número indica el % de extracto adicionado). Como control se tomó al néctar que contenía granada y manzana (codificado como MGC).

Los néctares se envasaron en recipientes de vidrio con tapa hermética y capacidad de 60 mL, previamente esterilizados. El tiempo y temperatura de pasteurización se tomaron de acuerdo a Barclay y Wiggins (1984) para jugos de frutas con $\text{pH} < 4.5$; para ello, los frascos conteniendo los néctares se introdujeron en un baño de agua termostático (BOEKEL GRANT PB-3600) y se tomó un néctar como referencia, donde se introdujo un termómetro digital para verificar que la temperatura fuera de 88°C en el centro del néctar y se dejó por 15 s. Los frascos se taparon y se invirtieron para generar vacío.

Los frascos se enfriaron después del proceso de pasteurizado, siguiendo la NOM-130-SSA1-1995. Por lo anterior, el enfriamiento de los envases después del tratamiento térmico se realizó con agua clorada, cuya concentración de cloro residual fuera de 0.5 mg/kg como mínimo, buscando una temperatura interna del producto de aproximadamente 40°C . Los envases se almacenaron a 1.5°C en un refrigerador TORREY CTI-V.

4.5.1.2. Selección de la concentración de extracto modificado

La selección de la concentración de extracto modificado de antocianinas de capulín se realizó mediante la determinación de los parámetros del color de los néctares experimentales (valores $\text{CIE-L}^*\text{a}^*\text{b}^*$), los cuales se compararon con productos comerciales de néctar de manzana con extracto de granada y néctar de manzana con extracto de arándano. Las medidas de los parámetros de color se realizaron tal como se describe en la sección 4.4.4.2.4.

Se tomaron 1.5 mL de cada muestra de néctar pasteurizado después de 24 h de almacenamiento a 1.5°C , se introdujeron en recipientes para captar las imágenes digitales y se llevó a cabo el cálculo de los valores $\text{CIE-L}^*\text{a}^*\text{b}^*$. A partir de los valores a^* y b^* , se calcularon las coordenadas polares croma o pureza (C^*ab) y tono o matiz ($\text{h}^{\circ}\text{ab}$) con las ecuaciones (1-3).

4.5.1.3. Efecto del pH

A 25 mL de las muestras, tanto comerciales como experimentales (C1-C5, GC, G1-G5, MGC y MG1-5), se les midió el pH inicial, utilizando un electrodo combinado de pH conectado a un potenciómetro. Después, se adicionó NaOH 1M, primero para alcanzar un pH entre 4 y 4.5 y después para que fuera ≥ 6.0 . En cada caso, se obtuvieron las imágenes digitalizadas para obtener los parámetros de color (sección 4.4.3.2.4).

Posteriormente, a 25 mL de cada una de las muestras se les agregó diferentes volúmenes de NaOH 1M, incrementando el pH en 0.2 unidades, hasta obtener un valor de 4.6. En cada incremento se tomaron imágenes digitalizadas para poder medir los parámetros de color.

4.5.2. Desarrollo de productos de confitería

Se utilizó la pulpa de capulín restante de la extracción de la piel del fruto en la sección 4.4.1, con la finalidad de encontrar un uso a esta materia prima y evitar su desecho como residuo sólido, debido a que contiene nutrientes que pueden ser aprovechados. Para ello, se siguieron los principios de Producción Más Limpia (P+L) para el desarrollo y diseño del producto; que aborda la reducción de impactos negativos a lo largo del ciclo de vida del producto, desde la extracción de la materia prima hasta la disposición final (ONU, 1992; Oestreich *et al.*, 2012).

4.5.2.1. Obtención del extracto de antocianinas

Para el extracto antocianínico se pesaron 65.20 g de piel de capulín previamente liofilizada que se dejaron en maceración por 24 horas en 75 mL de etanol para extraer las antocianinas. Posteriormente, el extracto se filtró y aforó a 100 mL con etanol. El extracto antocianínico se mantuvo en refrigeración y cubierto con papel aluminio hasta su uso, con el fin de evitar la degradación de los pigmentos.

4.5.2.2. Formulaciones

Se plantearon formulaciones en base a la literatura para la elaboración de los productos de confitería, proponiendo gomitas y barras de pulpa. En la Tabla 10 se muestran los porcentajes de la materia prima utilizada en la elaboración de los dos productos elaborados.

Para las gomitas se utilizó saborizante de grosella a diferentes concentraciones (0.33, 0.67 y 1% (v/m)) y el extracto antociánico como colorante (1, 2 y 3% (v/m)).

Tabla 10. Formulaciones para elaboración de productos de confitería (gomitas y barras de pupa) elaborados a partir del fruto de capulín.

Ingrediente (%)	Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3
<i>Gomitas</i> (Curiel, 2007; Álvarez <i>et al.</i> , 2010; Esparza y García, 2013).			
Agua	60	49.38	38.56
Sacarosa	23.80	37.03	38.56
Grenetina	8.40	4.32	5.51
Glucosa	8.30	9.25	16.53
Ácido cítrico	0.50	-----	0.82
<i>Barras de pulpa</i> (Curiel, 2007).			
Pulpa de fruta	55.60	55.60	55.60
Sacarosa	27.80	27.80	27.80
Glucosa	13.90	13.90	13.90
Chile guajillo	1.10	1.10	1.10
Chile piquín	0.80	0.80	0.80
Ácido cítrico	0.33	0.33	0.33
Sal	0.27	0.27	0.27
Pectina	---	0.18	0.18
Alginato	0.17	---	0.17
Cloruro de calcio	0.02	----	0.02

4.5.2.3. Análisis sensorial

Los métodos afectivos en las pruebas sensoriales no requieren de jueces analíticos, por lo que se emplean grupos representativos de los consumidores potenciales o habituales del producto. El número de jueces que se recomienda emplear debe ser mayor de 80; pueden utilizarse de 25 a 30 jueces, sólo si el resultado es a nivel de laboratorio (Espinosa, 2007).

Con la finalidad de conocer la preferencia y el nivel de agrado de las gomitas y las barras de pulpa propuestas, se realizaron pruebas sensoriales preliminares con tres grupos de jueces no entrenados (primer grupo, para la selección de textura de gomitas y barras de pulpa, n=16; segundo grupo, para la selección de concentración de sabor en gomitas, n=16 y tercer grupo, para la prueba hedónica, n=35) conformado por estudiantes

de nivel medio y superior así como profesores de la Licenciatura de Química en Alimentos de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. La edad de los participantes estaba comprendida entre 15 a 40 años.

A los jueces se presentaron muestras de 5 g de gomitas y 4 g de pulpa de fruto de capulín, codificadas con números de tres dígitos, elegidos al azar; y la prueba escalar hedónica verbal de 5 puntos. En la Figura 11 se muestra la ficha de cata.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA
LICENCIATURA DE QUÍMICA EN ALIMENTOS

Fecha: _____ Edad: _____

Para la muestra recibida marque con una (X) sobre la escala según su aceptación.

	Muestras			
	Pulpa c/chile	Pulpa c/azúcar	Gomita c/chile	Gomita c/azúcar
Me encantó	_____	_____	_____	_____
Me gustó	_____	_____	_____	_____
Indiferente	_____	_____	_____	_____
No me gustó	_____	_____	_____	_____
Odié	_____	_____	_____	_____

Figura 11. Ficha de cata presentada a los jueces no entrenados.

4.5.2.4. Análisis de actividad antioxidante y fenoles totales

Mediante el análisis de actividad antioxidante y fenoles totales, se evaluó si los productos elaborados a partir del fruto de capulín aportan propiedades funcionales.

4.5.2.4.1. Preparación de muestra

Para obtener las muestras en solución, se pesaron 10 g de cada confite desarrollado (gomitas con ácido cítrico, gomitas sin ácido cítrico, pulpa con chile y pulpa sin chile), que se introdujeron en vasos de precipitado de 50 mL debidamente marcados. Se adicionaron 40 mL de agua destilada y se dejaron en una parrilla de calentamiento a 50°C por 5 min para disolver las muestras. Posteriormente, se filtraron y se llevaron a 50 mL en un matraz volumétrico con agua a 50°C.

4.5.2.4.2. Actividad antioxidante

De cada muestra en solución se tomaron 100 μ L y se siguió el procedimiento para determinar la actividad antioxidante de la forma descrita en la sección 4.3.6.

4.5.2.4.3. Fenoles totales

Para las muestras de pulpa de capulín, se tomó 1 mL de la muestra en solución preparada y se diluyó a 10 mL con agua destilada; después, se tomaron 100 μ L de ésta y se realizó el procedimiento de la sección 4.3.7.

5.1. Capulín

5.1.1. Análisis proximal

Los resultados del análisis proximal del fruto del capulín se muestran en la Tabla 11; son inferiores a los obtenidos por Revilla y colaboradores (2010), debido a que dichos autores reportaron en base seca. También se observan diferencias con lo encontrado por Pérez y colaboradores (2008), quienes únicamente analizaron la parte comestible del fruto (pulpa y piel); esta variabilidad podría atribuirse a la diversidad que existe entre las especies de los frutos de capulín, a las condiciones ambientales, variedad, estado de madurez del fruto, tipo de suelo en donde se cultiva y manejo de muestra (Balasundram *et al.*, 2006).

Tabla 11. Análisis proximal del fruto de capulín.

Muestra	%H	%C	%GC	%PC	%FC	%CHOs	Energía (Kcal)
Entero	62.42±2.23	0.88±0.02	0.50±0.02	3.10±0.00	11.93±0.30	21.17	101.58
Piel	70.81±0.60	0.77±0.01	0.05±0.00	2.34±0.12	0.60±0.02	25.43	111.53
Pulpa	77.70±0.31	0.83±0.01	0.01±0.00	2.10±0.03	0.97±0.03	18.39	82.05
Semilla	30.45±1.21	0.74±0.03	2.30±0.01	7.00±0.07	47.60±1.35	11.91	96.34
Literatura ^a	NR	NR	0	1.45	0.63	16.77	73.00
Literatura ^b	NR	0.859	0.276	11.165	21.170	66.531	313.61

%H: porcentaje de humedad, %C: porcentaje de cenizas, %GC: porcentaje de grasa cruda, %PC: porcentaje de proteína cruda, %FC: porcentaje de fibra cruda, %CHOs: porcentaje de carbohidratos (obtenidos por diferencia). ^aDatos reportados por Pérez *et al.*, (2008). NR, no reportado. ^bDatos reportados por Revilla *et al.*, (2010).

La calidad nutrimental del fruto en estudio se puede comparar con la de otros frutos rojos; por ejemplo, con la cereza, la uva roja y el arándano. El contenido de nutrientes que presenta el capulín (Tabla 11) es superior al de la cereza, la uva y el arándano. La cereza presenta la siguiente composición proximal (en g/100g de fruto fresco): proteína 1.00, lípidos 0.30, fibra 1.60, cenizas 0.40 y carbohidratos 12.18 (Menchú

y Méndez, 2012); la uva (en %): proteína 0.58, lípidos 0.35, carbohidratos 17.09 y fibra 0.93; y el arándano (en %): proteína 0.41, lípidos 0.16, carbohidratos 12.11 y fibra 4.55 (Pérez *et al.*, 2008).

En cuanto a la semilla, esta parte del fruto presenta un contenido de lípidos, proteína y fibra importante; de hecho, hay estados como Michoacán en los que se consume tostada y/o confitada (El Colegio de Michoacán, 1999), a pesar de que se ha descrito que presenta compuestos cianogénicos que podrían ser tóxicos en dosis pequeñas (Raya *et al.*, 2012).

5.1.2. Contenido de azúcares reductores

Para el análisis de las muestras, éstas se diluyeron con la finalidad de realizar la cuantificación por interpolación a la curva de calibración obtenida. Los resultados se presentan en la Tabla 12, los cuales se expresan en base húmeda. Para obtener los resultados se realizó una curva de calibración de Absorbancia vs [Glucosa], mg/L. Los parámetros de regresión se muestran en la Tabla I del apartado de Anexos.

Tabla 12. Azúcares reductores del fruto de capulín (n=3).

Muestra	Azúcares reductores, mg/g de muestra
Capulín entero	130.47±1.96
Piel	129.87±3.00
Pulpa	196.33±2.60
Semilla	18.51±0.91

La mayor concentración de azúcares reductores se encuentra en la pulpa de capulín (196.33±2.60 mg/g de muestra), la cual es mayor que la que tiene el fruto de la fresa, con un valor de 6.1±0.56 g/100 g de muestra (Beltrán *et al.*, 2010). Esto podría explicar el hecho de que el capulín presente reacciones de oscurecimiento de forma acelerada. El análisis de azúcares reductores es importante, ya que estos componentes son indispensables para las fermentaciones, en las que se obtiene alcohol no solo para bebidas, si no también con fines energéticos (Ávila *et al.*, 2012). Además, los azúcares reductores son especies reactivas, por lo que pueden ser interferentes en los análisis de actividad antioxidante y fenoles totales.

5.1.3. Determinación de parámetros fisicoquímicos

Muratalla (1992) evaluó el comportamiento fisiológico antes y después de la cosecha de cinco selecciones de capulín (*Prunus serotina*); reportó tres estados de madurez del fruto (amarillo-rojo, rojo y púrpura), y encontró que la cosecha temprana fue sobresaliente por un balance adecuado de la relación °Brix/acidez. No obstante, los frutos tienden a ser más perecederos, y solo pueden comercializarse por dos días después de la cosecha bajo condiciones ambientales.

En la Tabla 13 se presentan los parámetros fisicoquímicos del fruto de capulín. En el resultado de sólidos solubles totales se obtuvo un promedio de 18.33°Brix del fruto de capulín en estado de madurez púrpura, que es distinto al reportado de 17.2°Brix por Ordaz y colaboradores (1999). La variación puede atribuirse a la diferente madurez del fruto, la variedad de la especie o también a las condiciones agronómicas y de cultivo.

Tabla 13. Resultados para los parámetros fisicoquímicos evaluados para el capulín.

Parámetro	Valor
°Brix	18.33±0.25
Acidez (meq de AT/100g de fruto fresco)	3.02±0.15
pH	4.83±0.05
Actividad antioxidante (µmolTE/100g de fruto fresco)	4784.71±3.80
Fenoles totales (mg de AG/100 g de fruto fresco)	348.94±1.88

AT: ácido tartárico; TE: Trolox equivalente; AG: ácido gálico.

El fruto de capulín analizado presenta mayor cantidad de sólidos solubles totales que otros frutos rojos de mayor consumo; por ejemplo, la ciruela (*Spondias purpurea*), que oscila de 7.0 a 15.6° Brix (Ramírez *et al.*, 2007), o la pulpa de uva de mesa de 13°Brix (García *et al.*, 2002).

El valor de °Brix es importante, ya que es un parámetro que se toma como referencia para la elaboración de algunos productos, tales como, bebidas (alcohólicas y no alcohólicas), mermeladas, alimentos cristalizados y compotas, entre otros (Moreno *et al.*, 2002; Sánchez, 2003; CODEX STAN 296, 2009).

El valor de la acidez del fruto de capulín fue de 3.02 meq de AT/100 g de muestra (0.23%). Este valor varía significativamente al compararlo con la acidez de 0.86% de la pulpa de uva de mesa (García *et al.*, 2002). Se ha reportado que la acidez de los frutos

depende del grado de maduración: entre más maduro sea, menor acidez presenta (Muratalla, 1992; Zambrano, 1995). El capulín es de sabor agridulce (McVaugh, 1951), y esta propiedad organoléptica se ve influenciada por la acidez y °Brix del fruto, por lo que depende de su madurez.

De acuerdo a la clasificación dada por Muratalla (1992), el fruto de capulín analizado (18.33°Brix y 3.02 meq de AT/100 g de fruto) se encontraba en un estado de madurez púrpura; mientras que, tomando los datos de Ordaz y colaboradores (1999), en la que reportan 17.2°Brix, el fruto de capulín se puede categorizar en un estado de madurez rojo o bien amarillo-rojo, por lo que se espera que su acidez sea más alta.

El pH obtenido del capulín fue de 4.83 ± 0.05 ; este valor no presenta variación significativa en comparación con el pH de la pulpa de uva de mesa, que es de 4.50 (García *et al.*, 2002); En cambio, la pulpa de frutos colectados en poblaciones silvestres y cultivadas de diferentes variedades de ciruela mexicana (*Spondias purpurea L*) en Jalisco, Colima y Nayarit se considera más ácida, con un valor de pH de 2.7 a 3.3 (Ramírez *et al.*, 2007).

La AA del capulín determinada fue de 4784.71 ± 3.80 $\mu\text{molTE}/100$ g de fruto fresco. Se sabe que esta propiedad se debe, principalmente, a las antocianinas presentes en la piel de los frutos (Gil & Ruíz, 2010).

Gil y Ruíz (2010) reportan la actividad antioxidante de algunos frutos rojos; por ejemplo, las uvas rojas de 1260, las cerezas de 3365, las ciruelas de 6259 y las fresas de 3577 $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$; de acuerdo con estos valores, el capulín sólo se ve superado por las ciruelas, lo que permite considerar al fruto de estudio como una buena fuente de antioxidantes. Los cálculos de la AA se obtuvieron mediante una curva de calibración; en la Tabla II del apartado de Anexos se muestran los parámetros de regresión de las líneas de calibrado, $\%DPPH_{\text{remanente}}$ vs [Trolox] (μM).

El resultado obtenido de fenoles totales para el fruto de capulín fue de 348.94 ± 1.88 mg de AG/100 g de fruto fresco; este valor varía muy poco con lo reportado por Revilla y colaboradores (2010), quienes encontraron un contenido de fenoles totales de 360 mg AG/100 g, sin embargo, ellos realizaron el cálculo en términos del extracto. Por otro lado, se ha estudiado que los grupos fenólicos contenidos en los alimentos vegetales dependen de factores intrínsecos (como el género, la especie, el tipo de cultivo) y extrínsecos (tipo

de agronomía empleada, aspecto ambiental, la manipulación y almacenamiento) (Balasundram *et al.*, 2006), lo que puede ocasionar las diferencias que se presentaron entre los valores.

Se ha reportado el contenido de fenoles de otros frutos rojos; entre estos destacan la cereza, la ciruela, la fresa y la uva roja, con valores de 339, 367, 368 y 177 mgAG/100g de fruto, respectivamente (Gil y Ruíz, 2010). El capulín mostró un mayor contenido que la cereza y la uva roja, y ligeramente menor que la fresa y la ciruela. En la Tabla III del apartado de Anexos se muestran los parámetros de regresión de las líneas de calibrado, Absorbancia vs [Ácido gálico] (mg L^{-1}).

En conclusión, se debe fomentar el consumo de frutas, en particular de bayas como el capulín, que tienen un contenido importante de compuestos bioactivos, como los fenoles y polifenoles, haciéndolos deseables debido a su actividad antioxidante (Naczk & Shahidi, 2006).

5.2. Estabilidad de extractos modificados de antocianinas de capulín

5.2.1. Contenido de antocianinas monoméricas

Se utilizó la piel de capulín liofilizada, debido a que las antocianinas en muestras secas pueden exhibir mayor estabilidad (Wrolstad *et al.*, 2005); además, es indispensable que para fines de rendimiento se utilicen frutos muy maduros, ya que la concentración de las antocianinas se incrementa rápidamente en frutas a medida que van madurando (Cedillo *et al.*, 2006). La extracción con etanol acidificado presenta mayor porcentaje de rendimiento, en comparación con otros extractos con solución acuosa, acetona y metanol (Jiménez *et al.*, 2011).

Se determinaron las antocianinas monoméricas del extracto antociánico de la piel de capulín obteniéndose 149.17 ± 0.96 mg/L, lo que equivale a 298.34 mg/100 g de piel de capulín liofilizado. Para tomar como referencia este valor en las reacciones de condensación, se calculó la concentración molar, que fue de $3.32 \times 10^{-4} \pm 2.14 \times 10^{-6}$ M.

Ordaz y colaboradores (1999) determinaron la concentración de antocianinas en piel de capulín, utilizando acetona como solución extractante, reportaron una concentración de 272 mg/100 g de la piel, la cual es ligeramente menor a la obtenida en este trabajo,

posiblemente por la metodología de extracción utilizada, la madurez del fruto, la variedad, entre otros.

Cedillo y colaboradores (2006) determinaron antocianinas monoméricas a dos variedades de fruto de capulín entero, reportaron valores de capulín de Tepetlixpa 12.44 mg/L y capulín obtenido en el mercado de la Merced 11.98 mg/L. Existen diferencias significativas en los resultados reportados en esta investigación y los reportados por Ordaz y colaboradores (1999); porque dichos análisis fueron realizados al fruto de capulín entero, mientras que en el presente trabajo de investigación se realizó la extracción sólo a la piel de capulín liofilizada, por lo que hay una mayor concentración de antocianinas porque se elimina el agua y la pulpa para evitar interferentes.

5.2.2. Reacciones de condensación

En la Figura 12 se muestran el extracto antociánico y los extractos modificados de antocianinas de capulín obtenidos. A simple vista, se observó un color más intenso en todos los extractos modificados (Figura 12) después de que finalizó la reacción de condensación, en comparación al extracto de antocianinas de capulín.



Figura 12. Extracto antociánico y extractos modificados de antocianinas de capulín.

Se trabajó sólo con ácidos derivados del hidroxicinámico (p-cumárico, ferúlico y cafeico) debido a que exhiben mayor actividad antioxidante en comparación con los ácidos hidroxibenzoicos; esta actividad puede ser debida al grupo $\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$, que garantiza una mayor capacidad de donar protones y estabilizar los radicales, en comparación con el grupo $-\text{COOH}$ en los ácidos hidroxibenzoicos (Balasundram *et al.*, 2006).

5.2.2.1. Índices de degradación y oscurecimiento de los extractos modificados

Se determinaron los índices de degradación y oscurecimiento del extracto antociánico y de los extractos modificados. En la Tabla 14 se muestran los resultados obtenidos en la determinación.

Tabla 14. Índices de degradación y oscurecimiento de extracto antociánico (control y modificado) de capulín.

Extracto	Índices de degradación y oscurecimiento			
	DC	CP	% CP	IO
Antocianinas	56.40±0.00	12.50±0.50	22.10±0.0	11.40±0.52
1	45.20±0.56	17.63±0.42	39.02±1.40	15.93±0.37
2	40.50±0.14	15.15±0.77	37.41±0.13	13.18±0.73
3	30.80±0.84	9.11±0.11	29.59±1.10	8.36±0.51
4	42.90±1.27	15.70±0.32	36.60±1.90	13.90±0.14
5	41.80±1.13	14.33±0.47	34.30±0.20	12.96±0.32
6	51.60±0.0	15.06±0.28	29.20±0.55	13.23±0.23
7	26.10±0.70	12.50±0.40	47.93±2.90	11.06±0.32
8	45.10±2.12	15.53±0.75	34.44±0.05	14.06±0.56
9	52.10±0.70	13.23±0.32	25.40±0.30	12.10±0.32
10	37.20±2.20	14.73±0.37	39.61±1.01	12.50±0.30

DC: densidad de color, CP: color polimérico; %CP: porcentaje de color polimérico; IO: índice de oscurecimiento.

El parámetro que se tomó en cuenta para la selección de los mejores experimentos y que se utilizó para evaluar el efecto de los extractos modificados de capulín en néctar de granada natural es el % de color polimérico; ya que los derivados poliméricos de las antocianinas no se blanquean con sulfito ácido, porque la posición C-4 está enlazada con un derivado fenólico (Wrolstad *et al.*, 2005).

El %CP es el parámetro que está ligado con la estabilidad del color de los extractos, ya que valores mayores de éste, indican que el extracto es más resistente a la presencia de especies nucleofílicas (como el sulfito ácido), y otros componentes nucleófilos que contienen los alimentos, tales como el propio sulfito, nitrito, peróxidos, entre otros (Castañeda *et al.*, 2011). Tomando ese parámetro, se seleccionaron los experimentos 7 (%CP=47.93%) y 10 (%CP=39.61%), éstos presentan un %CP mayor al del extracto

antociánico, que fue de 22.10%, lo que indica que pueden llegar a ser más estables, por lo menos a cambios de color. El %CP del extracto antociánico es similar a lo reportado por Ordaz y colaboradores (1999), que reportan 22.6%.

El índice de oscurecimiento es un parámetro de degradación relacionado con la formación de especies poliméricas derivadas de los azúcares, lo que conlleva a una coloración ámbar. Por lo tanto, a mayores valores, indica que el extracto es más propenso a reacciones de oscurecimiento (Giusti y Wrolstad, 2001). Los experimentos seleccionados (7 y 10) presentan mayores IO, muy cercanos al extracto antociánico, pero tienen mayor %CP que los hace más viables para estabilizar el color.

5.2.2.2. Actividad antioxidante de extractos modificados

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se debe a su capacidad de eliminar los radicales libres, átomos de hidrógeno o donar electrones, o cationes de metales de quelatos (Balasundram *et al.*, 2006), por lo que los extractos modificados pueden eliminar el radical DPPH en mayor proporción que las antocianinas monoméricas del capulín.

Tabla 15. Actividad antioxidante de extractos de antociánicos y modificados de capulín.

Muestra	Actividad antioxidante (mg Trolox/100 mL de extracto)
Extracto antociánico	231.32±0.77
1	232.35±0.35
2	236.65±0.06
3	248.42±1.38
4	238.36±1.90
5	232.54±0.62
6	238.30±6.70
7	252.13±0.14
8	245.39±5.50
9	219.45±0.34
10	243.53±0.70

En la Tabla 15 se puede apreciar que en los resultados hay un incremento en la actividad antioxidante, así como sucedió con el %CP, por lo que pueden relacionarse

estos dos valores, los experimentos que muestran mayor %CP (7 y 10) a su vez se incrementó la actividad antioxidante en comparación con el extracto antociánico. También se observó que los experimentos 3 y 8 tienen mayor actividad antioxidante que los experimentos seleccionados (7 y 10), sin embargo, presentan valores más bajos de %CP.

5.2.3. Efecto de extractos modificados adicionados a néctar de granada

Para evaluar el efecto de la adición de los extractos modificados a un néctar de granada, se eligieron los experimentos 7 y 10 por presentar mayor actividad antioxidante y %CP más alto.

El jugo de granada obtenido de manera natural presentó 12.8°Brix, este valor fue ajustado a 12°Brix, con la finalidad de obtener un néctar. Realizando los cálculos necesarios, de acuerdo a la norma CODEX STAN 247-2005, se utilizaron 4.69 L de jugo de granada y 310 mL de agua embotellada para obtener 5L del néctar de granada con el que se trabajó.

5.2.3.1. Efecto de la temperatura

Se evaluó la estabilidad del color del néctar de granada (control y adicionado con extractos modificados de capulín) a diferentes temperaturas (20, 40, 60 y 80°C) por un tiempo máximo de 21 días.

Harbouner y colaboradores (2008) consideran que la mayoría de los procesos de esterilización térmicos industriales utilizan UHT (ultra alta temperatura) que implican temperaturas de 137-140°C, durante tiempos entre 2-10 s.

No hay datos de cinética publicadas a temperaturas arriba de 100°C, debido a que los métodos isotérmicos no pueden utilizarse para estimar la cinética de degradación, porque la duración de las fases de calentamiento y enfriamiento son grandes (Harbouner, 2008). Por lo tanto, es necesario trabajar con temperaturas más bajas, para estimar la cinética de degradación mediante métodos isotérmicos.

Por tal situación, se eligieron temperaturas de 20°C (considerándola como temperatura ambiente), 40°C (como referencia para llevar un seguimiento de temperatura gradual) y 60 a 80°C (tomándolas como temperaturas extremas).

Se tomó como control néctar de granada. Los néctares problema contenían 5% (v/v) de extractos modificados (experimentos 7 y 10). Todos fueron sometidos a las

diferentes temperaturas. Los experimentos se realizaron por duplicado. En total se tuvieron 24 muestras, de las cuales se midieron los índices de degradación y oscurecimiento, la actividad antioxidante y el color, utilizando como control el néctar de granada sin extracto modificado.

Las muestras se codificaron como C-20, C-40, C-60 y C-80 (muestras control a las diferentes temperaturas); E7-20, E7-40, E-7-60 y E-7-80 (néctar de granada adicionado con extracto modificado 7, a diferentes temperaturas); y E10-20, E10-40, E10-60 y E10-80 (néctar de granada adicionado con extracto modificado 10, a diferentes temperaturas).

5.2.3.1.1. Índices de degradación y oscurecimiento y color

Se determinaron los Índices de degradación y oscurecimiento (IDO) a los néctares de granada adicionados con los extractos modificados (7 y 10). En la Tabla 16 se presentan los resultados obtenidos a 20°C.

En el día 21, el E10-20 presentó mayor índice de oscurecimiento que el E7-20; este efecto es más notable conforme fue aumentando la temperatura, posiblemente por la formación de compuestos polifenólicos insolubles de color marrón (Tseng *et al.*, 2006).

En el procesamiento industrial, es necesario controlar continuamente los cambios de color para garantizar la calidad del producto (Kara y Alben, 2013); por lo que se midieron los valores de color mediante imágenes digitales, en la Tabla 18 se presentan las coordenadas en el espacio de color CIE- $L^*a^*b^*$ y el color promedio de las muestras de néctar adicionado con extracto modificado de antocianinas a 20°C.

A 20°C, las muestras control tuvieron una degradación mayor de color que los néctares adicionados con los extractos modificados de antocianinas de capulín (Tabla 17). En las mediciones de índices de oscurecimiento los néctares adicionados con extracto fueron presentando mayor índice que el control, éste último fue perdiendo color.

Se sabe que la presencia de antocianinas y polifenoles proporcionan coloraciones específicas que pueden ser calculadas por parámetros de color (Jiménez *et al.*, 2011), por tal motivo se determinaron estos valores para evaluar la estabilidad. A 20°C se observaron cambios menos notables en la coloración de los néctares analizados, de hecho, en el tratamiento de las fotografías se obtuvo la gama de colores de cada uno de ellos (Tabla 17).

Tabla 16. Índices de degradación y oscurecimiento del néctar de granada (control y adicionado con extractos modificados de antocianinas de capulín) a 20°C.

IDO	Muestra	Días						
		1	4	8	11	15	18	21
	C-20	2.0±0.0	2.0±0.0	1.1±0.0	1.1±0.0	1.2±0.0	1.3±0.0	1.4±0.0
DC	E7-20	2.4±0.0	1.9±0.0	2.8±0.0	2.6±0.0	2.6±0.0	2.8±0.0	2.7±0.0
	E10-20	2.9±0.10	2±0.0	2.9±0.0	2.8±0.0	2.7±0.0	3.0±0.01	3.1±0.0
	C-20	1.8±0.0	1.4±0.0	0.8±0.0	0.6±0.0	0.8±0.0	0.8±0.0	1.0±0.0
CP	E7-20	1.6±0.0	1.2±0.0	1.3±0.04	1.1±0.01	1.2±0.0	1.3±0.0	1.6±0.0
	E10-20	1.0±0.0	0.8±0.0	1.2±0.0	1.1±0.0	1.2±0.0	1.4±0.0	1.8±0.0
	C-20	90.0±0.0	70.0±0.0	69.3±3.7	58.2±2.6	63.9±0.0	60±0.0	75.2±1.8
%CP	E7-20	66.7±0.0	63.3±4.7	44.6±1.0	43.8±1.0	44.9±0.2	44.1±0.0	59.6±1.7
	E10-20	34.5±1.7	40.0±0.0	40.4±1.5	39.7±1.0	45.1±0.3	48.8±0.2	60.1±0.0
	C-20	1.2±0.0	0.9±0.0	0.6±0.0	0.5±0.0	0.6±0.0	0.6±0.0	0.8±0.0
IO	E7-20	1.0±0.0	0.8±0.0	0.9±0.0	0.8±0.0	0.8±0.0	0.8±0.0	1.1±0.0
	E10-20	0.8±0.0	0.6±0.0	0.9±0.0	0.8±0.0	0.9±0.0	1.0±0.0	1.3±0.0

IDO= Índice de degradación y oscurecimiento; DC= Densidad de color; CP= Color polimérico; %CP= % de color polimérico; IO= Índice de oscurecimiento.

Se observó que en las muestras que presentaban una disminución de la luminosidad (L^*) había un aumento en el índice de oscurecimiento. Cuando el valor de la luminosidad aumenta, indica que se aclara la solución, es decir, se pierde la coloración característica. Este comportamiento es más visible en la muestra control, en la cual este valor aumento, viéndose reflejado en la disminución de la coloración rojiza. En las muestras E7-20 y E10-20, disminuye este valor, pero en la gama de colores presentada en la Tabla 17 no hay diferencias.

El croma (parámetro relacionado con la pureza del color) disminuye en las tres muestras; el orden de decaimiento es C-20>E10-20>E7-20, esto significa que el extracto

modificado de capulín permite que aumente la saturación del color en el néctar, siendo más significativo el extracto 7.

El tono (h°) aumenta en la muestra control, esto significa que hay mayor proporción de amarillo que de rojo, conforme pasa el tiempo. En las muestras E7-20 y E10-20 h° es cercano a 0, lo que indica que el color que predomina es el rojo, sin tener cambios considerables.

Tabla 17. Parámetros de color en néctar de granada adicionado con extractos modificados de capulín a 20°C.

Parámetro	Muestras	Día							
		1	4	8	11	15	18	21	
Coordenadas rectangulares	L*	C-20	48	46	45	45	40	45	51
		E7-20	33	30	29	28	23	27	28
		E10-20	31	28	28	24	18	19	25
	a*	C-20	59	53	52	52	50	48	43
		E7-20	55	52	49	48	44	48	47
		E10-20	52	49	48	42	37	40	45
	b*	C-20	33	29	30	34	35	44	33
		E7-20	42	39	37	36	32	34	35
		E10-20	39	37	33	29	25	28	30
Color promedio	C-20								
	E7-20								
	E10-20								
Relación a*/b*	C-20	1.78	1.82	1.73	1.52	1.42	1.10	1.30	
	E7-20	1.31	1.33	1.32	1.33	1.37	1.41	1.34	
	E10-20	1.33	1.32	1.45	1.44	1.48	1.42	1.5	
Croma _{ab}	C-20	67.60	60.42	60	62.13	61	65.12	54.20	
	E7-20	69.20	65	61.40	60	54.41	58.80	58.60	
	E10-20	65	61.40	58.25	51	44.65	48.83	54.10	
Tono _{ab} (h°)	C-20	29.22	28.67	29.99	33.18	35	42.51	37.50	
	E7-20	37.36	36.87	37.10	36.90	36.03	35.31	36.70	
	E10-20	36.87	37.10	34.51	34.62	34	35	33.70	

A 40°C se observó que en las tres muestras aumentó el %CP (en los días de análisis), siguiendo el orden de C-40<E7-40<E10-40 (Tabla 18). Esto puede deberse a un

efecto de copigmentación entre el extracto adicionado y las antocianinas que contiene el néctar de granada, el cual se ve favorecido por esta temperatura, ya que no permite la degradación de los colorantes.

Tabla 18. Índices de degradación y oscurecimiento del néctar de granada adicionado con extractos modificados de antocianinas de capulín a 40°C.

IDO	Muestra	Días						
		1	4	8	11	15	18	21
	C-40	2.2±0.0	1.6±0.0	1.8±0.04	1.7±0.02	1.7±0.0	1.8±0.0	1.7±0.0
DC	E7-40	2.7±0.1	12.2±0.0	2.5±0.04	2.2±0.01	2.4±0.02	2.3±0.02	3.0±0.01
	E10-40	2.7±0.1	2.4±0.0	2.6±0.0	2.2±0.0	2.2±0.0	2.2±0.0	2.2±0.01
	C-40	1.7±0.1	1.3±0.01	1.5±0.0	1.2±0.01	1.3±0.0	1.3±0.0	1.4±0.0
CP	E7-40	1.4±0.0	1.2±0.0	1.6±0.0	1.6±0.0	1.8±0.0	1.8±0.0	2.3±0.0
	E10-40	1.3±0.1	1.3±0.04	1.6±0.01	1.3±0.02	1.4±0.0	1.6±0.0	1.8±0.0
	C-40	77.3±0	78.1±4.4	82.0±2.0	68.5±0.3	77.4±1.7	72.5±0.0	84.5±0.0
%CP	E7-40	51.9±2.7	54.5±0.0	66.4±0.0	70.0±0.4	74.6±0.3	79.1±1.0	79.0±0.1
	E10-40	48.2±2.5	58.3±0.0	60.1±0.5	60.4±1.3	64.9±1.3	71.8±0.0	80.5±0.5
	C-40	1.1±0.1	1.0±0.0	0.9±0.0	0.8±0.0	0.9±0.01	1.0±0.0	1.0±0.0
IO	E7-40	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.1±0.0	1.1±0.0	1.4±0.0
	E10-40	1.1±0.1	1.1±0.01	1.1±0.0	0.9±0.01	1±0.02	1.1±0.0	1.2±0.0

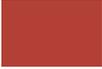
IDO= Índice de degradación y oscurecimiento; DC= Densidad de color; CP= Color polimérico; %CP= % de color polimérico; IO= Índice de oscurecimiento.

El índice de oscurecimiento, a 40°C, no tuvo cambios importantes, ni entre las muestras, ni entre los días de experimentación. Sin embargo, el color de los néctares si mostró cambios visuales (Tabla 19).

De acuerdo a los valores de luminosidad (L^*), éste parámetro aumentó en las tres muestras, siendo el orden de C-40>E10-40>E7-40, esto indica que la muestra de néctar

adicionada con E7 (extracto modificado 7) tiene menor pérdida de color, esto se puede corroborar con los otros parámetros de color (C^* y h°).

Tabla 19. Parámetros de color en néctar de granada adicionado con extractos modificados de capulín a 40°C.

Parámetro	Muestras	Día							
		1	4	8	11	15	18	21	
Coordenadas rectangulares	L*	C-40	45	44	45	51	51	49	61
		E7-40	36	35	36	39	43	40	47
		E10-40	35	32	29	38	36	36	49
	a*	C-40	59	47	40	34	28	30	19
		E7-40	58	56	53	50	49	49	44
		E10-40	56	51	47	48	46	46	35
	b*	C-40	37	32	35	34	41	43	43
		E7-40	44	41	40	39	44	48	45
		E10-40	43	37	36	40	44	43	44
Color promedio	C-40								
	E7-40								
	E10-40								
Relación a*/b*	C-40	1.60	1.47	1.14	1	0.68	0.70	0.44	
	E7-40	1.32	1.37	1.33	1.28	1.11	1.02	0.98	
	E10-40	1.30	1.38	1.31	1.2	1.05	1.07	0.78	
Croma _{ab}	C-40	67	56.86	53.20	48.10	49.70	52.43	47	
	E7-40	72.80	69.40	66.40	63.41	65.90	68.60	62.94	
	E10-40	70.60	63	59.20	62.50	63.66	62.97	56.22	
Tono _{ab} (h°)	C-40	32.10	34.25	41.19	45	55.67	55.10	66.16	
	E7-40	37.18	36.21	37.04	38	41.90	44.41	45.64	
	E10-40	37.52	35.97	37.50	39.80	43.73	43.10	51.50	

Los valores de croma (C^*) disminuyeron en todas las muestras, su tendencia fue de $E7-40 < E10-40 < C-40$, lo que significa que el color en el néctar adicionado con E7 es más puro que en las otras muestras. Por otro lado, el tono (h°) aumentó en las tres muestras, siendo $C-40 > E10-40 > E7-40$, esto denota que en la muestra control tiende a aparecer una tonalidad al amarillo, más rápido que en los néctares adicionados con extracto modificado de capulín.

A 40°C se observa, en todas las muestras, una mayor pérdida de color, en comparación con 20°C, formándose colores marrones, y traduciéndose en una disminución de los valores de a^* y un aumento en los valores de b^* .

A 60°C se mantuvieron los extractos sólo hasta los 18 días (Tabla 20), debido a que el cambio de color fue muy pronunciado, tendiendo al marrón, lo cual indica que ya hubo degradación de antocianinas; este comportamiento fue mayor en el néctar control.

El %CP disminuyó en las muestras C-60 y E10-60, esto puede deberse a que los colorantes poliméricos se han degradado y dan inicio las reacciones de oscurecimiento. Este parámetro tuvo un aumento en la muestra E7-60, aunque no tan pronunciado como a 40°C.

A 60°C empiezan a haber cambios mayores en el IO, el cual está relacionado con la aparición de colores ámbar (Tabla 21); este parámetro es mayor en la muestra E10-60.

Tabla 20. Índices de degradación y oscurecimiento del néctar de granada adicionado con extractos modificados de antocianinas de capulín a 60°C.

IDO	Muestra	Días					
		1	4	8	11	15	18
DC	C-60	2.4±0.0	2.1±0.0	2.0±0.0	1.6±0.0	2.0±0.0	2.4±0.0
	E7-60	3.0±0.0	3.0±0.0	2.9±0.0	2.5±0.0	2.8±0.0	4.2±0.0
	E10-60	3.3±0.1	2.7±0.01	3.2±0.04	2.8±0.2	3.4±0.0	4.7±0.0
CP	C-60	1.9±0.1	1.7±0.01	1.7±0.02	1.2±0.01	1.5±0.0	1.8±0.01
	E7-60	1.7±0.1	2.2±0.0	2.4±0.0	2.1±0.01	2.2±0.0	2.9±0.0
	E10-60	2.2±0.0	1.8±0.0	2.6±0.0	2.1±0.0	2.1±0.0	2.9±0.0
%CP	C-60	79.2±0.0	81.1±5.4	81.8±2.0	74.1±0.9	75.4±0.2	75.6±1.5
	E7-60	56.7±4.7	73.3±0.0	82.2±0.8	83.9±1.0	76.4±0.5	69.7±0.0
	E10-60	66.7±2.9	66.7±3.5	81.6±0.6	75.4±0.8	62.4±0.0	63.1±0.0
IO	C-60	1.4±0.0	1.2±0.0	1.2±0.0	0.9±0.0	1.1±0.0	1.3±0.0
	E7-60	1.2±0.0	1.6±0.0	1.5±0.0	1.3±0.0	1.3±0.0	1.8±0.0
	E10-60	1.6±0.0	1.2±0.0	1.7±0.0	1.4±0.0	1.5±0.0	2.1±0.0

IDO= Índice de degradación y oscurecimiento; DC= Densidad de color; CP= Color polimérico; %CP= % de color polimérico; IO= Índice de oscurecimiento.

Los valores de a^* en las muestras tratadas a 60°C disminuyeron, este efecto se observa en la muestra control (C-60), donde la caída del color rojo fue de un valor de 55 a 7, siendo esta coordenada la más importante; porque se relaciona con la presencia de

antocianinas en una fruta, jugo o néctar (Padrón, 2010). Los valores de b^* aumentan en las tres muestras, siguiendo el orden de C-60>E7-60>E10-60, el incremento en este parámetro está relacionado con la aparición del color amarillo, y que se puede corroborar con la gama de colores presentada en la Tabla 21.

Tabla 21. Parámetros de color en néctar de granada adicionado con extractos modificados de capulín a 60°C.

Parámetro	Muestras	Día						
		1	4	8	11	15	18	
Coordenadas rectangulares	L*	C-60	51	59	65	69	65	65
		E7-60	38	43	46	50	50	49
		E10-60	34	39	43	50	39	41
	a*	C-60	55	18	9	6	7	7
		E7-60	59	51	46	38	38	37
		E10-60	54	42	37	28	37	37
	b*	C-60	29	40	47	44	48	48
		E7-60	43	45	46	46	49	49
		E10-60	39	40	45	45	43	43
Color promedio	C-60							
	E7-60							
	E10-60							
Relación a*/b*	C-60	1.90	0.50	0.20	0.14	0.15	0.15	
	E7-60	1.37	1.13	1	0.83	0.78	0.76	
	E10-60	1.38	1.10	0.82	0.62	0.86	0.86	
Croma _{ab}	C-60	62.18	43.86	47.85	44.41	48.51	48.51	
	E7-60	73	68	65.10	59.67	62	61.40	
	E10-60	66.61	58	58.26	53	56.73	56.73	
Tono _{ab} (h°)	C-60	27.80	65.77	79.16	82.23	81.70	81.70	
	E7-60	36.10	41.42	45	50.44	52.20	52.94	
	E10-60	35.84	43.60	50.57	58.11	49.29	49.29	

El croma o intensidad de color disminuye en todas las muestras, lo que habla de que hay una pérdida de saturación; contrariamente, el tono (h°) aumenta, lo que indica la aparición del tono amarillo y disminución del rojo; siendo para ambas medidas C-60>E7-60>E10-60 (Tabla 21).

Las muestras tratadas a 80°C se midieron hasta el día 8, porque presentaron una coloración café-marrón, degradándose los pigmentos de las muestras, esto pudo deberse a una reacción de oscurecimiento no enzimático debido al tratamiento térmico (Kara y Alben, 2013).

En la Tabla 22 se muestran los valores obtenidos para los IDO de las muestras tratadas a 80°C. Se puede observar que en la muestra control (C-80) hay un %CP superior al 100, esto es debido a que como se dijo anteriormente, hay un oscurecimiento no enzimático, en el cual se generan compuestos poliméricos, que sin pertenecer a la familia de antocianinas, pueden tener una contribución a este parámetro.

Tabla 22. Índices de degradación y oscurecimiento del néctar de granada adicionado con extractos modificados de antocianinas de capulín a 80°C.

IDO	Muestra	Días		
		1	4	8
DC	C-80	2.7±0.1	2.6±0.0	4.1±0.01
	E7-80	3.4±0.0	2.8±0.0	3.9±0.0
	E10-80	3.6±0.0	3.4±0.0	7.93±0.0
CP	C-80	2.9±0.1	2.2±0.2	2.8±0.01
	E7-80	3.3±0.1	2.2±0.0	3.4±0.02
	E10-80	3.1±0.1	2.4±0.0	5.7±0.0
%CP	C-80	107.5±5.6	84.6±0.0	68.1±0.1
	E7-80	97.1±4.2	78.6±0.0	88.7±0.08
	E10-80	86.1±4.0	70.6±0.0	71.9±0.1
IO	C-80	2.0±0.0	1.7±0.0	2.2±0.0
	E7-80	2.4±0.0	1.6±0.0	2.6±0.0
	E10-80	2.2±0.0	1.8±0.0	4.3±0.0

IDO= Índice de degradación y oscurecimiento; DC= Densidad de color; CP= Color polimérico; %CP= % de color polimérico; IO= Índice de oscurecimiento.

A 80°C, el aumento en el índice de oscurecimiento es más representativo, teniendo cambios más importantes en la muestra E10-80. Esta medida también está relacionada con la formación de especies poliméricas, vía oscurecimiento no enzimático (melanoidinas).

Los parámetros de color para muestras tratadas a 80°C se presentan en la Tabla 23. El valor L* disminuyó drásticamente, este cambio se observó más en la muestra control (C-80). La variación en la luminosidad de muestras tratadas con calor se puede tomar como una medida del pardeamiento (Lozano e Ibarz, 1997); de hecho, a esta temperatura es innecesario un análisis del cambio de los parámetros C* y h°, ya que como se puede observar en la gama de colores presentada en la Tabla 23, en el día 4 empiezan a aparecer las tonalidades marrón, características del pardeamiento.

Tabla 23. Parámetros de color en néctar de granada adicionado con extractos modificados de capulín a 80°C.

Parámetro	Muestras	Día			
		1	4	8	
Coordenadas rectangulares	L*	C-80	45	55	25
		E7-80	34	43	38
		E10-80	28	42	20
	a*	C-80	53	14	30
		E7-80	55	36	32
		E10-80	49	31	27
	b*	C-80	30	47	30
		E7-80	41	44	44
		E10-80	37	45	25
Color promedio	C-80				
	E7-80				
	E10-80				
Relación a*/b*	C-80	1.77	0.30	1	
	E7-80	1.34	0.82	0.73	
	E10-80	1.32	0.69	1.10	
Croma _{ab}	C-80	60.90	49.04	42.43	
	E7-80	68.60	56.85	54.41	
	E10-80	61.40	54.64	36.80	
Tono _{ab} (h°)	C-80	29.51	73.41	45	
	E7-80	36.70	50.71	53.97	
	E10-80	37.10	55.44	42.80	

La magnitud, duración y el tipo de método de calentamiento tienen una fuerte influencia en la estabilidad de antocianinas. Durante el calentamiento, la degradación y la

polimerización por lo general conducen a su decoloración (Kara y Alben, 2013); en las muestras a 60 y 80°C se observa, más pronunciada, la pérdida de color promedio.

Las mediciones de los parámetros de color predicen que tan estables son los extractos modificados de antocianinas de capulín en el néctar a diferentes temperaturas, presentando mayor propiedad en color el E7 por presentar mayor valor de a^* (rojo) y pureza (Croma_{ab}) en comparación del E10 y el control.

Las temperaturas de pasteurización de alimentos varía de 63 a 90°C, la temperatura aplicada depende del tipo de alimento y el tiempo de exposición (siendo máximo de 30 min) (Tortora *et al.*, 2007).

Es importante conocer la estabilidad de las antocianinas de los frutos para sugerir el mejor tratamiento térmico y evitar la pérdida de las antocianinas. La degradación de antocianinas en gran medida depende de la temperatura (Kara y Alben, 2013).

Un estudio realizado por Harbouner y colaboradores (2008) a un jugo de grosella negra, donde se aplicaron temperaturas de 4, 21, 40, 60, 80 y 100°C, con un método isotérmico en baños de agua y horno de aire forzado; y de 100 a 140°C con un método no isotérmico en una autoclave, determinaron que en el aumento de la temperatura y el tiempo el contenido de antocianinas monoméricas en mg/100 g disminuye drásticamente. Los resultados de la degradación de antocianinas indican claramente que estas moléculas en el concentrado del fruto de morera negra son menos estables al calor, seguido de los de jugo de mora y concentrado de cereza agria. En este sentido, las diferentes susceptibilidades de antocianinas de jugo de frutas al calor podría ser debido a su composición antociánico variable, y podría ser no necesario la medición de antocianinas por espectrofotometría, porque la ventaja de utilizar el color visual es que podría ser medido como un parámetro de calidad (Kara y Alben, 2013).

Las muestras expuestas a diferentes temperaturas (20, 40, 60 y 80°C) que presentaron valores a^* y b^* más altos; indica una mayor presencia de antocianinas y polifenoles (Jiménez *et al.*, 2011).

Tabla 24. Imágenes digitalizadas de los néctares de granada sometidos a diferentes temperaturas (20, 40, 60 y 80°C).

Muestra	Temperatura (°C)	Días						
		1	4	8	11	15	18	21
Control	20							
	40							
	60							
	80							
Adicionada con E7	20							
	40							
	60							
	80							
Adicionada con E10	20							
	40							
	60							
	80							

Como se puede observar los valores de a^* , b^* y L^* varían conforme pasa el tiempo dependiendo de la temperatura empleada. Se sabe que, las temperaturas elevadas pueden afectar la estabilidad de las antocianina y causar la polimerización de antocianinas monoméricas que son indeseables en algunos productos como en jugos de frutas, donde los consumidores perciben como una indicación de mala calidad (Harbourne *et al.*, 2008). Estas características son observables en la Tabla 24, donde se muestran las imágenes digitales de los néctares de granada adicionados con extractos modificados.

El color que es un indicador de la concentración de pigmento, se puede medir de forma instantánea utilizando colorímetros Hunter para el control de calidad en línea. No hay datos reportados referentes a la relación entre el color y el cambio en el contenido de antocianinas durante el procesamiento térmico (Kara y Alben, 2013); sin embargo, se pueden utilizar imágenes digitales para la medición de los parámetros del color, que se podrían correlacionar con el contenido de antocianinas, sobre todo el valor de a^* .

El procesamiento de alimentos generalmente incluye tratamientos térmicos que conservan con eficacia los productos alimenticios y también proporcionan propiedades sensoriales deseables. Sin embargo, el conocimiento actual indica que el tratamiento térmico, sobre todo en condiciones severas, pueden afectar los niveles de antocianinas en productos de frutas y verduras (Domeneghini *et al.*, 2013).

Los cambios de color observados en las imágenes debido al tratamiento térmico aplicado, pueden ayudar a predecir la estabilidad del color en los alimentos. En la medición del día 1 (Tabla 24), el color es rojo intenso en las muestras con adición de extractos modificados de capulín, por lo que en la pasteurización de los alimentos (exposición a temperaturas altas durante tiempos cortos), el color rojo característico de los néctares de granada puede permanecer sin dar indicios a coloraciones de defecto.

Se observan cambios visibles en el color, la muestra control (néctar de granada sin extracto modificado) va perdiendo su color conforme pasa el tiempo, este cambio es más drástico cuando se expone a temperaturas elevadas (60 y 80°C).

Se sabe que los jugos y néctares; tiene una alta concentración de azúcar, y algunos presentan alta formación de polímeros coloreados que otorgan al producto un color atractivo (García y Pérez, 2013); estos azúcares, presentes en los jugos, al someterse a temperaturas altas durante tiempos prolongados, pueden caramelizarse o

bien involucrarse en reacciones de pardeamiento no enzimático, como en el caso de las muestras sometidas a temperaturas de 80°C, y que se observa su cambio de coloración notable, estas muestras presentaron un olor característico a caramelo.

Estos experimentos se realizaron con la finalidad de evaluar los extractos modificados de capulín y posiblemente con ello predecir su estabilidad a las diferentes temperaturas. El extracto modificado 7 presentó mayor estabilidad a la temperatura en comparación con el extracto modificado 10, por lo que se sugiere evaluar su posible concentración en néctares y/o jugos de granada natural pasteurizados bajo las BPM como lo indica la NOM-130-SSA1-1995 para la utilización como colorantes orgánicos.

5.2.3.1.2. Actividad antioxidante

Se determinó la actividad antioxidante de los néctares de granada adicionados con extracto modificado de antocianinas de capulín (experimentos 7 y 10). Se hicieron 7 medidas aleatorias en los 21 días de experimentación, para las muestras sometidas a 20 y 40°C. Para 60 y 80°C no se determinó la AA en muestras que presentaban alteraciones de color notables. En la Tabla IV del apartado de Anexos se reportan los valores obtenidos de las determinaciones de la actividad antioxidante.

Las muestras adicionadas con extracto modificado de capulín (E7 y E10) presentaron menos pérdida de la actividad antioxidante, comparadas con los controles (néctar de granada) (Figura 13), esto puede ser debido al efecto que tiene el ácido ferúlico en esta propiedad.

Los néctares adicionados tienen desde el inicio (día 1) mayor actividad antioxidante que los controles (Tabla IV del Anexo). Los néctares adicionados con extracto modificado de capulín (E7 y E10), a 60 y 80°C, aparentemente presentaron mayor actividad antioxidante; sin embargo, mostraban una coloración marrón, que se puede deber a las reacciones de oscurecimiento.

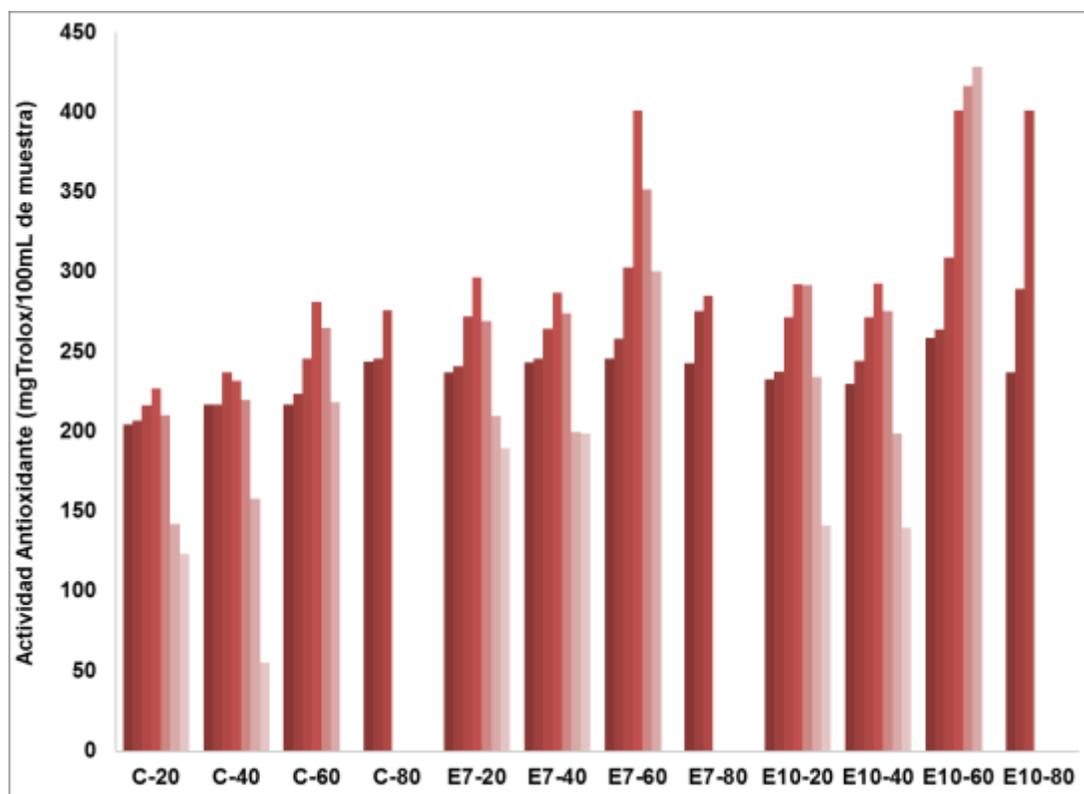


Figura 13. Cambios en la actividad antioxidante de los néctares analizados. Codificación: C, control; E7, néctar adicionado con el extracto modificado 7; E10, néctar adicionado con extracto modificado 10. La numeración 20,40, 60 y 80 se refiere a la temperatura (°C) de exposición de los néctares. ■ 1 día; ■ 4 días; ■ 8 días; ■ 11 días; ■ 15 días; ■ 18 días y ■ 21 días.

Las muestras adicionadas con extracto modificado 7 mostraron mayor actividad antioxidante, sobre todo a 20 y 40°C; además tuvieron menor pérdida de color durante el tiempo de experimentación.

Con los resultados obtenidos del análisis de índices de degradación y oscurecimiento, color y actividad antioxidante, los extractos modificados de antocianinas de capulín pueden ser una alternativa para utilizarse como aditivos alimentarios, aportando estabilidad de color y a la vez un incremento en la actividad antioxidante a un alimento (néctar de granada).

Es de gran interés la identificación de fuentes de pigmentos antociánicos naturales y la estabilidad de éstos para las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética, por la demanda del consumidor por ser naturales, en lugar de colorantes sintéticos, debido a las propiedades benéficas que tienen como los antioxidantes (Ordaz *et al.*, 1999).

5.3. Aprovechamiento del capulín en la elaboración de productos alimenticios

5.3.1. Néctares de granada experimentales. Comparación con productos comerciales

Se eligieron medir los parámetros de color debido a que las pérdidas de pigmento durante el procesamiento es de interés primordial para las industrias procesadoras de alimentos (Kara y Alben, 2013).

5.3.1.1. Medidas del color

A pesar de que se agregó el extracto modificado de antocianinas de capulín en medio etanólico, este solvente tiene un punto de ebullición de 78°C (IPCS, 2005), que debido al tratamiento térmico se evapora, por lo que el alcohol residual podría estar por debajo del 0.5% que marca la NOM-218-SSA1-2011 y de 3-5 g/kg que reporta la FAO (2013) para jugos.

El ácido clorhídrico puede utilizarse con la función tecnológica como un regulador del pH (DOF, 2012). Por lo que, la acidificación del extracto antociánico con HCl al 0.2% puede ser una opción para regular el pH del producto.

Los néctares de granada experimentales se muestran en la Figura 14; en la fila (a) se tienen los néctares de granada (GC y G1-G5) y en la fila (b) los néctares de granada con manzana (MGC y MG1-5). Las muestras se tomaron después de que fueron almacenadas en refrigeración a 1.5°C.



Figura 14. Muestras de néctares experimentales. (a) Néctares de granada (GC y G1-G5); (b) néctares de granada con manzana (MGC y MG1-5).

Como se dijo anteriormente, en la codificación de las muestras, los números indican el porcentaje de extracto modificado de antocianinas de capulín. Los néctares experimentales (GC, G1-5, MGC y MG1-5) se compararon con los comerciales (C1-C5) utilizando los parámetros de color.

Los néctares comerciales fueron: C1, 26% néctar de manzana y 4% de granada; C2, néctar de manzana y granada (no reportan las proporciones, tiene rojo Allura como aditivo); C3, 26% néctar de manzana y 4% de arándano; C4, néctar de manzana y de arándano-uva (no reportan proporciones); y C5 es una bebida energizante que en sus ingredientes reporta Rojo 40 (se seleccionó sólo para fines comparativos con respecto al color).

En la Tabla 25 se presentan los parámetros de color de las muestras comerciales, néctar de granada y néctar de manzana con granada (adicionados con extracto modificado de antocianinas de capulín).

En el procesamiento y análisis del color de imágenes, la representación del espacio de color en coordenadas polares puede revelar características que no son visibles en la representación mediante coordenadas rectangulares (Hanbury y Serra, 2002); por tal situación, es conveniente calcular los datos relacionando los valores de a^* y b^* para conocer la pureza y el Tono ($^{\circ}h$) que dan información acerca del color que predomina más.

Tabla 25. Parámetros de color de néctares comerciales y néctares adicionados con extracto modificado de antocianinas de capulín.

Muestra	Coordenadas rectangulares			Color promedio	Relación a^*/b^*	Croma _{ab}	Tono _{ab} ($^{\circ}h$)
	L*	a*	b*				
C1	31	49	38		1.29	62	37.80
C2	39	62	50		1.24	79.65	38.88
C3	34	52	31		1.68	60.54	30.80
C4	14	30	19		1.60	35.51	32.35
C5	53	71	59		1.20	92.31	39.73
GC	39	54	33		1.64	63.29	31.43

G1	39	57	36		1.58	67.42	32.28
G2	37	57	38		1.5	68.51	33.70
G3	32	52	34		1.53	62.13	33.18
G4	30	50	35		1.43	61.03	35
G5	29	48	34		1.41	58.82	35.31
MGC	65	12	56		0.21	57.27	77.91
MG1	52	42	51		0.82	66.07	50.53
MG2	43	57	49		1.16	75.17	40.68
MG3	39	58	46		1.30	74.03	38.42
MG4	33	54	43		1.26	69.03	38.53
MG5	32	54	44		1.23	69.66	39.17

C= néctares y jugos comerciales (1 al 5), GC= néctar de granada control sin adición de extracto, G= néctar de granada adicionado con extracto (1 al 5= al % de adición de extracto v/v), MGC= néctar de manzana con granada control sin adición de extracto, MG= néctar de manzana con granada adicionados con extracto (1 al 5= al % de adición de extracto v/v).

Los productos comerciales C2 y C5 tuvieron valores más altos en pureza ($Croma_{ab}$), estas muestras presentaron cualidades atractivas en color, pero en su preparación se adicionaron colorantes sintéticos. Los néctares C1 y C3 presentaron un valor aproximado de la pureza de color de 60 ($Croma_{ab}$) y un intervalo de tono de 30 a 40°, entre menor sea este valor, predomina el color rojo.

En cuanto a los néctares de granada experimentales (GC y G1-G5), se observó que el néctar GC, a pesar de tener parámetros de color aceptables (63.29 de croma y 31.43° de tono), perdía color conforme pasaba el tiempo, aún a 20°C.

El néctar de granada con adición del 1% de extracto modificado de antocianinas de capulín (G1) presentó 67.42 de pureza del color y 32.28°h, que comparado con el néctar de granada con adición del 2% de extracto modificado de antocianinas de capulín (G2), con 68.51 de pureza y 33.70°h (predominando el rojo), es más rojo.

Los néctares G1 y G2 presentan valores muy cercanos de croma y tono; sin embargo, tienen mayor pureza de color que los comerciales C1 y C3. Para fines de rendimiento y costos, el 1% es el porcentaje de extracto modificado de antocianinas de capulín que es seleccionado para adicionar a los néctares de granada.

Las muestras experimentales de néctar de manzana al 26% y granada al 4% se elaboraron para simular los néctares comerciales. La muestra MGC (néctar control) presenta mayor color amarillo (por tal situación en las industrias utilizan colorantes naturales y/o artificiales), impartido por el néctar de manzana; presentó mayor Tono ($^{\circ}h$) amarillo, estas coordenadas predicen mejor el color que predomina, en comparación con las coordenadas rectangulares ($L^* a^* b^*$).

Las muestras MG1 y MG2 presentaron valores de tono de 50.53 y 40.68 $^{\circ}$, respectivamente; éstas se descartan por presentar valores mayores a 40 $^{\circ}h$, donde va predominando el color amarillo, además, la pureza es menor que en las demás muestras (MG3-5).

El MG3 presentó un valor de Tono ($^{\circ}h$) de 38.42 $^{\circ}$ (predominando rojo), que es ligeramente menor al obtenido del C2 con 38.88 $^{\circ}$; en cuanto a pureza de color, la del C2 es mayor (79.62), no hay que olvidar que este parámetro se debe a que en este producto se utiliza un colorante sintético.

La pureza de MG3 (74.03) es mayor que en los comerciales C1 y C3 (62 y 60.54, respectivamente); por lo que la adición del 3% de extracto modificado de antocianinas de capulín a los néctares de manzana con granada, presenta aspectos de color rojo parecidos a los comerciales adicionados con colorantes artificiales.

Por otro lado, el extracto modificado de antocianinas de capulín (E7) presenta cualidades de color para ser utilizado en bebidas preparadas a base de jugos y/o néctares de frutas rojas, como es el caso de néctar de granada o arándano, o bien, néctar de manzana con extractos de estos frutos rojos en combinación o por separado.

De acuerdo a los estudios de estabilidad de color realizados, es probable que al adicionarse los extractos modificados de antocianinas de capulín a los néctares de frutas, éstos conserven sus atributos organolépticos referidos al color, ya que normalmente se almacenan en refrigeración o bien a temperatura ambiente.

5.3.1.2. Efecto del pH (presencia de colorantes naturales)

En el mercado normalmente se encuentran bebidas preparadas a base de néctar de manzana y extracto de granada. Sin embargo, actualmente estos productos se elaboran y colorean a partir de materiales diferentes a la granada (López *et al.*, 2010). Por tal situación, se decidió corroborar, mediante cambios de pH y medidas de parámetros de color, si los néctares de manzana con granada comerciales (C1-C5) contienen colorantes naturales o artificiales, y a la vez comparar los néctares comerciales con los néctares adicionados con extracto modificado de antocianinas de capulín, con el fin de conocer la concentración ideal de este último.

En la Tabla 26 se muestran los valores de pH de los néctares y promedio del color antes y después de la adición de NaOH 1M hasta alcanzar un pH de $4 \geq \text{pH} \leq 4.5$ y $\text{pH} \geq 6$ donde se observa un cambio visible al ojo humano.

Tabla 26. Valores de pH y color promedio de néctares comerciales y elaborados artesanalmente.

Muestra	pH inicial del néctar	Color promedio	Color promedio	
			$4 \geq \text{pH} \leq 4.5$	$\text{pH} \geq 6$
C1	2.6			
C2	3.0			
C3	2.4			
C4	2.5			
C5	3.2			
GC	3.2			
G1	3.2			
G2	3.2			
G3	3.1			
G4	3.1			
G5	3.0			

MGC	3.3			
MG1	3.2			
MG2	3.1			
MG3	2.9			
MG4	2.8			
MG5	2.7			

C= néctares y jugos comerciales (1 al 5), GC= néctar de granada control sin adición de extracto, G= néctar de granada adicionado con extracto (1 al 5= al % de adición de extracto v/v), MGC= néctar de manzana con granada control sin adición de extracto, MG= néctar de manzana con granada adicionados con extracto (1 al 5= al % de adición de extracto v/v).

En las muestras C2 y C5 se intensifica el color rojo al adicionar NaOH 1M, puesto que son colorantes sintéticos y son más estables, estos productos si etiquetan en los ingredientes la utilización de colorantes sintéticos.

Las muestras C1, C3 y C4 en su etiqueta reportan el uso de colorantes naturales (antocianinas), por lo que al aumentar el pH pierde estabilidad el color. Las antocianinas reversiblemente cambian de color conforme aumenta el pH, lo que limita su uso efectivo como colorantes alimentarios para muchas aplicaciones (Wrolstad *et al.*, 2005).

En las muestras comerciales C1 y C3 a pH entre 4.0 y 4.5 la pérdida del color es muy notable, percibiéndose al ojo humano un color marrón; por tal motivo, las bebidas que en su formulación tienen pigmentos naturales no estables al pH, utilizan agentes reguladores del pH para mantener las bebidas en medios ácidos, donde las antocianinas se presentan en forma estable.

Cabe destacar que en las muestras adicionadas con extractos modificados de antocianinas de capulín, en un rango de pH 4.0-4.5, no presentan un color café, como en las muestras C1 y C3, salvo las muestras MG1 y MG2, las cuales puede ser debido a la adición de néctar de manzana. Por lo que, se puede utilizar el extracto modificado de antocianinas de capulín en un rango de pH menor a 3.8 para néctar de granada y pH menor a 3.4 para néctar de manzana con granada.

También es de interés saber en qué pH es estable el extracto modificado de antocianinas de capulín, se sabe que, el cambio de color es evidente en función del pH; mientras que a valores menores a 4.0 predomina un color rojo intenso, a medida que se encuentra en el región alcalina el extracto es de color café (Cedillo *et al.*, 2006).

De acuerdo a los resultados obtenidos, los néctares con extracto modificado de antocianinas de capulín, además de presentar mejores parámetros de color que los néctares comerciales, presentan mayor estabilidad al cambio de pH. Por ello, se seleccionaron cuatro muestras (C1, C3, G1 y MG3) para comparar los cambios en los parámetros de color, conforme aumenta el pH.

En la Tabla 27 se presentan los parámetros de color de las muestras C1, C3, G1 y MG3. En la muestra C1 a pH=2.6 predomina el rojo a 37.8° de tono, pero la muestra de néctar con extracto modificado G1 a pH=4 tiene un valor de 35.79°, lo que indica que aun predomina el rojo, por lo que se establece que los extractos modificados de antocianinas de capulín resisten más el cambio de pH.

La muestra C1 a pH=3.8 tiene un tono de 46.55°, que indica que predomina más el amarillo, en cambio a ese mismo pH la muestra MG3 presenta un valor intermedio de rojo-amarillo de 43.57°; de acuerdo a estos resultados, se demuestra la estabilidad del extracto modificado de antocianinas de capulín ante el pH, presentando buenas cualidades para su uso como colorante de jugos y/o néctares.

En la Figura 15 se muestra la gama de color con respecto al pH de las muestras elegidas (G1 y MG3) por presentar los mejores atributos de color, y las muestras comerciales C1 y C3 como comparación, ya que están adicionadas con colorantes naturales, no se hizo la comparación con las muestras C2 y C5 porque contienen colorantes artificiales que presentan mayor estabilidad ante el cambio de pH.

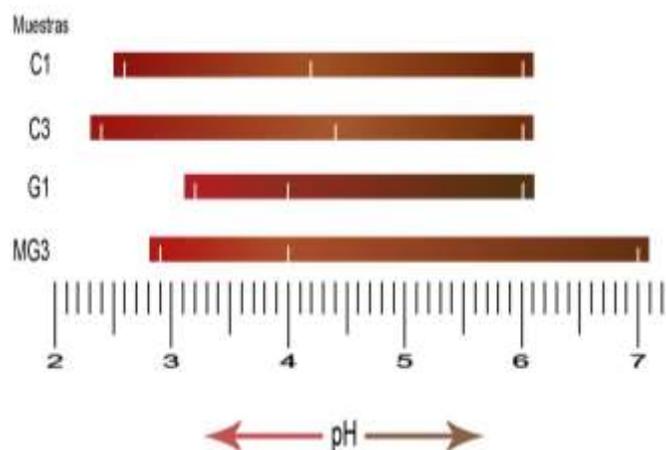


Figura 15. Gama de color con respecto al aumento del pH de las muestras adicionadas con extracto modificado G1 y MG3, y las muestras comerciales C1 y C3.

Para obtener la escala de la Figura 15 y conocer los valores L^* , a^* y b^* de las muestras conforme aumenta el pH, se tomó el primer y segundo puntos para obtener el gradiente de color, y después el segundo y el tercero (puntos obtenidos de las imágenes digitales conforme se realizó la valoración midiendo el pH), dicho gradiente es de unión, ya que al seleccionar los valores de color y unirse se alinearon con reglas para la obtención de los valores tomando como referencia 3 puntos el del pH inicial del jugo, el de pH de 4 y el último punto registrado en la valoración en un intervalo de pH de 6 a 7.

Tabla 27. Parámetros de color de C-1, C-3, G-1 y MG-3 con respecto al pH.

Parámetro	Muestras	pH												
		2.4	2.6	2.9	3	3.2	3.4	3.6	3.8	4	4.2	4.4	4.6	
Coordenadas rectangulares	L*	C1	NC	31	33	33	35	36	38	40	42	44	42	41
		C3	34	34	36	36	37	39	40	42	43	45	46	44
		G1	NC	NC	NC	NC	39	38	37	35	34	34	33	31
		MG3	NC	NC	39	39	40	41	42	43	45	44	43	42
	a*	C1	NC	49	48	47	44	42	39	36	33	31	31	31
		C3	52	52	49	48	45	43	40	37	34	31	29	29
		G1	NC	NC	NC	NC	57	55	50	46	43	42	39	35
		MG3	NC	NC	58	58	55	51	46	41	38	38	36	35
	b*	C1	NC	38	38	38	38	38	37	38	39	39	38	38
		C3	31	40	39	39	38	37	37	37	37	37	37	37
		G1	NC	NC	NC	NC	36	35	33	32	31	31	30	29
		MG3	NC	NC	46	46	44	42	41	39	39	39	38	37
Relación a*/b*	C1	NC	1.29	1.26	1.24	1.24	1.11	1.05	0.95	0.85	0.80	0.82	0.82	
	C3	1.68	1.3	1.26	1.23	1.18	1.16	1.08	1	0.92	0.84	0.78	0.78	
	G1	NC	NC	NC	NC	1.58	1.57	1.52	1.48	1.39	1.35	1.3	1.21	
	MG3	NC	NC	1.26	1.26	1.25	1.21	1.12	1.05	0.98	0.98	0.95	0.94	
Croma _{ab}	C1	NC	62	61.22	60.40	58.14	56.64	53.76	52.35	51.10	49.82	49.04	49.04	
	C3	60.54	65.60	62.63	61.85	58.90	56.73	54.50	52.33	50.25	48.28	47	47	
	G1	NC	NC	NC	NC	67.42	65.20	59.91	56.04	53.01	52.20	49.20	45.45	
	MG3	NC	NC	74.03	74.03	70.43	66.07	61.62	56.59	54.45	54.45	52.35	50.93	
Tono _{ab} (°)	C1	NC	37.80	38.37	38.96	40.82	42.14	43.50	46.55	49.76	51.52	50.80	50.80	
	C3	30.80	37.57	38.52	39.10	40.18	40.70	42.77	45	47.42	50.04	51.91	51.91	
	G1	NC	NC	NC	NC	32.28	32.48	33.42	34.82	35.79	36.43	37.57	39.64	
	MG3	NC	NC	38.42	38.42	38.66	39.47	41.71	43.57	45.74	45.74	46.55	46.60	

C1 y C3= néctares comerciales, G-1= néctar de granada adicionado con 1% de extracto modificado (v/v) y MG-3=néctar de manzana y granada adicionado con 3% de extracto modificado (v/v). NC=No calculado, debido a que el $pH_{inicial} > pH_{análisis}$

5.3.2. Análisis de los productos de confitería (gomitas y pulpa de capulín) a partir del fruto de capulín

5.3.2.1. Análisis sensorial

Se realizaron las distintas formulaciones de gomitas y de pulpa de fruto de capulín y se llevaron a cabo las pruebas sensoriales correspondientes a nivel laboratorio. En cuanto a la textura de las gomitas, la formulación 1 fue la más dura, resultando desagradable para 15 jueces. Las formulaciones 2 y 3 presentaron una textura esponjosa, siendo la formulación 3 la preferida por el 60% de los panelistas al resultar suave y agradable a la masticación lo cual se le atribuye al porcentaje equilibrado de los ingredientes. Para la selección de la concentración de sabor el 70% de los panelistas prefirieron la formulación con 0.5 mL de saborizante comprendiendo el 0.33% de la formulación.

Con respecto a la concentración de extracto antociánico de capulín, se realizaron pruebas adicionando 1, 2 y 3 mL del extracto, lo que comprende del 1 al 3% de la formulación, en la Figura 16 se presentan las gomitas con diferente concentración de extracto y una formulación con un colorante sintético para comparar.



Figura 16. Gomitas con diferente concentración de extracto antociánico de capulín.

En la Figura 16A se presentan las gomitas con la formulación 2, observándose una degradación del color, esto se relaciona a que no contenía ácido cítrico. Las antocianinas son relativamente inestables y la mayor estabilidad ocurre en condiciones ácidas; viéndose afectadas, junto con el tono (Belitz *et al.*, 2009).

En la Figura 16B se muestran las gomitas obtenidas de la formulación 3, que contenía ácido cítrico, protegiéndose el tono de las antocianinas; en la Figura 16C se elaboraron las gomitas con un colorante artificial, la concentración al 3% de extracto antociánico de capulín, presenta mejores aspectos visuales en cuanto al color pudiéndose asociar más a una gomita sabor grosella. En base a los resultados sensoriales las gomitas se elaboraron con la formulación 3: 0.33% de saborizante y 3% de extracto antociánico del capulín.

Por otro lado, en la selección de la textura de la barra de pulpa de capulín el 70% de los panelistas eligieron la fórmula 1, por dar mejores propiedades texturales al masticar y disolverse el confitado en la boca. Los panelistas sugirieron que las gomitas se cubrieran con azúcar y con chile; y en el caso de las barras de pulpa se adicionó en la formulación chile y azúcar.

Se realizó la prueba hedónica de 5 escalas (Odié, No me gustó, Indiferente, Me gustó y Me encantó) a 35 panelistas. Para las gomitas con azúcar el 52% le encantó y el 40% les gustó, para las gomitas con chile el 63% les gustó y el 34% les encantó; para las barras de pulpa dulce el 60% les fue indiferente y el 34% les gustó, mientras que en la barra con chile el 57% les gustó y el 32% les encantó. Algunos comentarios expresados por los jueces durante la evaluación de las muestras fueron: está muy rica, la textura es agradable, sabe bien, huele bien, entre otros.

Se realizó el peso promedio por gomita con azúcar 4.52 g y 4.45 g con chile, la barra de pulpa con chile de 23.31 g y 25.59 g con azúcar.

5.3.2.2. Análisis de actividad antioxidante y fenoles totales

En la Tabla 28 se muestran los resultados de AA y FT para los productos elaborados y la pulpa de capulín. Las gomitas aportan un contenido muy bajo de AA y FT (12 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ de gomitas y 10-12 $\text{mgAG}/100\text{ g}$ de muestra), los dos valores se les puede atribuir a las antocianinas del extracto de piel capulín, que fueron adicionadas como colorantes. Un factor importante en la formulación de gomitas es la adición de ácido cítrico, el cual evitó que las antocianinas se degraden por completo, esto por efecto del pH.

Tabla 28. Evaluación de la actividad antioxidante (AA) y de fenoles totales (FT) de los productos confitados elaborados.

Muestra	AA, $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$ de muestra	FT, $\text{mg AG}/100\text{g}$ de muestra
Gomitas con ácido cítrico	12.00 \pm 0.03	12.0 \pm 0.1
Gomitas sin ácido cítrico	12.00 \pm 0.00	10.0 \pm 0.1
Pulpa de capulín sin procesar	1596.00 \pm 7.52	
Barra de pulpa con chile	1416.00 \pm 32.00	329.0 \pm 14.0
Barra de pulpa con azúcar	1360.00 \pm 24.00	270.0 \pm 0.5

TE: Trolox equivalente. AG: Ácido Gálico.

La pulpa de capulín sin procesar presentó una AA de 1596 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$, el cual es menor a la AA encontrada para el fruto fresco (4784 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ de fruto fresco, Tabla 13), esto indica que la mayor AA está presente en la piel de capulín, en la que se concentra la mayor cantidad de antocianinas.

Para la barra de pulpa de capulín los contenidos son mayores (Tabla 28), con respecto a la uva roja, que tiene una AA de 1260 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ de fruta; sin embargo, se observó que durante el procesamiento (calentamiento) de la pulpa de capulín con chile, disminuye de 1596 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ de pulpa de capulín a 1416 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ de pulpa de capulín con chile, teniendo un descenso de 11.28% de su AA. Esta es una cifra aceptable, ya que esta propiedad funcional del fruto de capulín no se afecta del todo a la hora de procesar los confitados.

El contenido de fenoles totales encontrado para la barra de pulpa de capulín (con chile y con azúcar) fue de 329 y 270 $\text{mgAG}/100\text{ g}$ de muestra, este valor es superior al de reportado por Gil y Ruíz (2010) para la uva verde y uva roja (145 y 177 $\text{mgAG}/100\text{ g}$ de fruta fresca), el incremento de los FT en la muestra con chile se le puede atribuir al ingrediente añadido.

La barra de pulpa de capulín se puede considerar un alimento funcional, por contener agentes bioactivos que contribuyen al bienestar de los consumidores. Algunas de las condiciones requeridas para hacer esta consideración es que el agente bioactivo sea identificado y cuantificado por metodologías analíticas (Lutz, 2009); los compuestos funcionales como los fenólicos y las antocianinas, se ha identificado que pueden neutralizar los radicales libres y reducen el riesgo de padecer cáncer (Izuchukwu *et al.*, 2015).

Los productos de confitería propuestos aportan propiedades funcionales (actividad antioxidante y contenido de fenoles totales). Aunque no se ha aclarado completamente el mecanismo exacto por el cual algunos glucósidos fenólicos son absorbidos desde el tracto gastrointestinal, se estima que en relación con la ingesta total de compuestos fenólicos del 5 al 10% se absorbe en el intestino delgado (Balansundram *et al.*, 2006). Sin embargo, el sitio primario del metabolismo depende de la dosis, las más pequeñas se metabolizan en la mucosa intestinal, con el hígado jugando un papel secundario, mientras que dosis más grandes se metabolizan en el hígado (Scalbert y Williamson, 2000).

El contenido de nutrientes que presenta el capulín es superior al de otros frutos rojos, como la cereza, la uva y el arándano. Este fruto puede considerarse como un alimento con buen aporte de antioxidantes y compuestos fenólicos, que llegan a superar a algunos frutos rojos como la uva roja y la cereza y que le confieren propiedades funcionales.

Los extractos modificados de antocianinas de capulín que presentaron mayor porcentaje de color polimérico y actividad antioxidante se obtuvieron al adicionar el ácido ferúlico. Se evaluaron dos extractos modificados de antocianinas de capulín (E7 y E10) en néctar de granada a diferentes temperaturas. El E7 presentó mejores resultados en las determinaciones de índices de degradación y oscurecimiento, actividad antioxidante y parámetros de color.

Los néctares en los que se adicionó extracto modificado de antocianinas de capulín presentaron mejores parámetros de color que los comerciales, que utilizan en su formulación colorantes naturales; además, sus valores de croma (pureza de color) fueron ligeramente menores que en las muestras comerciales con contenido de colorantes sintéticos.

El extracto modificado de capulín presenta ventajas para su utilización como un aditivo alimentario, por aportar color con tonalidad roja característica de jugos o néctares de frutos rojos, aporta actividad antioxidante y además es más estable al pH en comparación con los colorantes naturales utilizados en los néctares comerciales.

Se desarrolló una formulación para gomitas con pigmento antociánico de capulín estabilizándose el tono con el ácido cítrico adicionado, aunque la actividad antioxidante y los fenoles totales que aporta es muy baja. La barra de pulpa de capulín con chile presentó valores de actividad antioxidante y fenoles totales altos, comparados con los de la uva roja, que hace considerar este producto como probable alimento funcional y que su consumo puede ser benéfico para la salud.

El desarrollo de productos de confitería a base de capulín se ofrece como una alternativa para el uso de este fruto poco explotado. Además, los resultados de pruebas sensoriales preliminares indican que fueron del agrado de los jueces participantes.

Perspectivas generales

Dentro de las perspectivas se sugiere:

- Aprovechar la semilla de capulín para la extracción de aceite esencial, al presentar la semilla mayor porcentaje de lípidos, en comparación con la pulpa y piel.
- Realizar análisis toxicológicos al extracto modificado de antocianinas de capulín, para asegurar su utilización como aditivo.
- Probar el extracto modificado de antocianinas de capulín en productos alimenticios diferentes a bebidas no alcohólicas.
- Desarrollar otros alimentos en que se pueda aprovechar el fruto de capulín para facilitar su consumo.
- Por las características que presenta el fruto del capulín (mayor aporte nutrimental, actividad antioxidante y contenido de fenoles totales que otros frutos rojos), se sugiere darle aplicaciones tecnológicas en la industria alimentaria; por ejemplo, en la elaboración de bebidas alcohólicas y no alcohólicas, o en la industria de la confitería.
- Evaluar la concentración de extracto modificado de antocianinas de capulín (E7) en jugos y/o néctares de frutas, para su posible utilización como aditivo alimentario, por presentar menores índices de oscurecimiento, menor descenso de la actividad antioxidante y mayor aporte en la intensidad y pureza de color.

Anexos

Tabla I. Parámetros de regresión de la línea de calibrado, Absorbancia vs concentración de glucosa [mg/L].

Parámetro	Valor
Desviación estándar residual, s_e	0.0077
Número de estándares, n	6
Coefficiente de correlación, r^2	0.9990
Ordenada en el origen, $a \pm s_a$	0.0286 \pm 0.012
Pendiente, $b \pm s_b$	0.0058 \pm 0.0002
Intervalo lineal (mg L ⁻¹)	9.6-100
Límite de detección (mg L ⁻¹)	2.9
Límite de cuantificación (mg L ⁻¹)	9.6
Reproducibilidad (%DER, n=3, 60 mg L ⁻¹)	1.3

Tabla II. Parámetros de regresión de las líneas de calibrado, %DPPH remanente vs concentración de Trolox (μ M).

Parámetro	Valor
Desviación estándar residual, s_e	1.9518
Número de estándares, n	5
Coefficiente de correlación, r^2	0.9967
Ordenada en el origen, $a \pm s_a$	102.07 \pm 3.55
Pendiente, $b \pm s_b$	-2.21 \pm 0.14
Intervalo lineal (μ M)	6.83-33.32
Límite de detección (μ M)	2.35
Límite de cuantificación (μ M)	6.83
Reproducibilidad (%DER, n=3, 16.66 μ M)	0.07

Tabla III. Parámetros de regresión de las líneas de calibrado, Absorbancia vs concentración de ácido gálico (mg L⁻¹).

Parámetro	Valor
Desviación estándar residual, s_e	0.008372
Número de estándares, n	5
Coeficiente de correlación, r^2	0.9982
Ordenada en el origen, $a \pm ts_a$	-0.0913 \pm 0.0206
Pendiente, $b \pm ts_b$	0.0053 \pm 0.0003
Intervalo lineal (mg L ⁻¹)	16.34-100
Límite de detección (mg L ⁻¹)	4.9
Límite de cuantificación (mg L ⁻¹)	16.34
Reproducibilidad (%DER, n=3, 60 mg L ⁻¹)	0.19

Tabla IV. Actividad antioxidante de néctar de granada adicionado con extracto modificado de capulín, expresada como mg Trolox/100 mL de néctar.

Muestras	Días						
	1	4	8	11	15	18	21
C-20	204.2 \pm 0.5	206.9 \pm 0.0	216.3 \pm 0.9	226.9 \pm 0.0	210.0 \pm 0.5	141.9 \pm 0.4	123.3 \pm 0.0
E7-20	237.0 \pm 0.0	240.8 \pm 0.0	271.9 \pm 0.0	296.3 \pm 0.0	269.1 \pm 1.0	209.7 \pm 0.4	189.5 \pm 0.0
E10-20	232.5 \pm 0.0	237.4 \pm 0.0	271.6 \pm 0.4	292.1 \pm 0.0	291.8 \pm 0.0	234.1 \pm 0.9	141.1 \pm 0.0
C-40	216.8 \pm 0.0	216.8 \pm 0.3	236.9 \pm 0.0	231.4 \pm 1.0	219.5 \pm 0.0	158.0 \pm 0.8	55.4 \pm 0.0
E7-40	243.2 \pm 0.0	245.7 \pm 0.0	264.1 \pm 0.4	286.7 \pm 0.5	274.1 \pm 0.0	199.6 \pm 0.4	198.6 \pm 0.0
E10-40	229.7 \pm 0.0	244.0 \pm 0.3	271.6 \pm 0.4	292.5 \pm 0.0	275.1 \pm 1.0	198.6 \pm 0.0	136.7 \pm 0.5
C-60	216.8 \pm 0.0	223.7 \pm 0.3	245.3 \pm 0.4	281.0 \pm 1.0	264.9 \pm 0.0	218.3 \pm 0.9	
E7-60	245.3 \pm 0.0	257.8 \pm 0.0	302.8 \pm 0.4	401.1 \pm 0.5	351.6 \pm 0.5	300.4 \pm 0.4	
E10-60	258.4 \pm 0.2	263.6 \pm 0.3	309.0 \pm 0.4	401.1 \pm 0.5	416.5 \pm 0.0	428.5 \pm 0.4	
C-80	243.6 \pm 0.5	245.7 \pm 0.0	275.9 \pm 0.4				
E7-80	242.5 \pm 0.0	275.3 \pm 0.3	284.7 \pm 0.4				
E10-80	237.0 \pm 0.0	289.0 \pm 0.0	401.1 \pm 0.0				

C= Control, E7= Experimento 7, E10= Experimento 10. La numeración 20,40, 60 y 80 se refiere a la Temperatura (°C) de exposición de los néctares.

Referencias

- Aguerreberre, I. A., Molina, R. A., Omah, B. D., & Drover, J. C., (2011). Characteristics of Prunus serotina seed oil. Food Chemistry, 124, 983–990. doi:10.1016/j.foodchem.2010.07.040
- Álvarez, G., Lazcano, H., González, S., & Navarro, C. (2010). Desarrollo de formulaciones de gomitas a base de miel, propóleo, menta y eucalipto. Recuperado el 20 de octubre de 2014 de: http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2010/ee-092010/documentos/desarrollo_nuevos_productos/DPN54.pdf.
- Ávila, N., Rivas, P., Hernández, M., & Chirinos, M. (2012). Contenido de azúcares totales, reductores y no reductores en *Agave cocui* Trelease. Multiciencias, 12 (2), 129 - 135.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry, 99, 191–203. doi:10.1016/j.foodchem.2005.07.042
- Barclay, M. N., & Wiggins, A. (1984). Technical note: Batch pasteurization of liquid whole egg. Journal of Food Science & Technology, 19 (6), 745-747. doi: 10.1111/j.1365-2621.1984.tb01894.x
- Belitz, D.H., Grosch, W. & Schieberle, P. (2009). Fruits and Fruit Products. En Belitz, D. H. *et al* (Cuarta edición), Food Chemistry (pp 822-834). Alemania: Springer.
- Beltrán, A., Ramos, M., & Álvarez, M. (2010). Estudio de la Vida Útil de Fresas (*Fragaria vesca*) Mediante Tratamiento con Radiación Ultravioleta de Onda Corta (UV-C). Revista Tecnológica ESPOL-RTE, 23 (2), 17-24.
- Breakey, J., Reilly, C., & Connell, H. (2002). The Role of Food Additives and Chemicals in Behavioral, Learning, Activity, and Sleep Problems in Children. En: Astrid G. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. Acta Biológica Colombiana., 13 (3), 27-36.

-
- Brouillard, R. (1983). The in vivo expression of anthocyanin colour in plants. *Phytochemistry*, 22 (6), 1311–1323. Doi:10.1016/S0031-9422(00)84008-X
- Castañeda, O. A., Ondra, S., Havel, J., Pacheco, L., Galán, V., & Contreras L. (2012). Identification of Anthocyanins in Red Grape, Plum and Capulin by MALDI-ToF MS. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 56(4), 378-383.
- Castañeda, O. A., Pacheco, H., Páez, H., Rodríguez, J., Galán, V. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113 (4), 859–871. doi:10.1016/j.foodchem.2008.09.001
- Castañeda, O. A., Zúñiga, A., Contreras, E., Castillo, A., & Jaimez, J., (2011). Aumento de la estabilidad del color de extractos de zarzamora mediante reacciones de condensación. Recuperado el 12 de Abril de 2013 de http://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icbi/LI_FisicAlim/Araceli_Ovan/1.pdf
- Castillo Gómez, A. (2013). Determinación de la actividad antioxidante de antocianinas y piranoantocianinas de extractos de cereza. (Tesis inédita de Licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Mineral de la Reforma, HG.
- Cedillo, L. D., Beltrán, O., Salgado, C. (2006). Cuantificación y estabilidad de los pigmentos presentes en dos variedades del fruto del capulín (*Prunus Serotina Ehrenb. subs. Capulí (Cav.) McVaught*). Recuperado el 17 de noviembre de 2014 de: <http://www.informatica.sip.ipn.mx/colmex/congresos/morelia/MEMORIAS%202006/TRABAJOS%20EN%20EXTENSO/E-129.pdf>
- CODEX STAN 247 2005. Norma General del CODEX para zumos (jugos) y néctares de frutas. Recuperado el 20 de noviembre de 2014 de: <http://www.codexalimentarius.org/standards/es/>
- CODEX STAN 296-2009. Norma del Codex para las confituras, jaleas y mermeladas. Recuperado el 18 de mayo de 2015 de: <http://www.codexalimentarius.org/standards/es/>
- Curiel, M. (2007). La Dulcería Mexicana Historia, Ciencia y Tecnología. Limusa: México pp. 175-176, 182-183.

- DOF. (2012). ACUERDO por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias. Recuperado el 18 de Mayo de 2015 de: http://www.salud.gob.mx/cdi/nom/compi/Acuerdo_aditivos_160712.pdf
- Dimitrić, M. J., Petranović, N. A., & Baranac, J. M. (2005). The copigmentation effect of sinapic acid on malvin: a spectroscopic investigation on colour enhancement. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 78 (3), 223–228.
- Domenechini, M., Pez, J., Tessaro, I., & Ferreira, M. (2013). Degradation kinetics of anthocyanins in acerola pulp: Comparison between ohmic and conventional heat treatment. *Food Chemistry*, 136, 853–857. doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.024
- El Colegio de Michoacán. (Ed). (1999). Frutos del Campo Michoacano. Recuperado el 15 de mayo de 2014 de: <https://books.google.es/books?id=1NaHLhC30QwC&pg=PA136&dq=consumo+de+semilla+de+capul%C3%ADn+en+Michoacan&hl=es&sa=X&ei=eK9wVbSrA4j1yATDqIDYDg&ved=0CCEQ6AEwAA#v=onepage&q=consumo%20de%20semilla%20de%20capul%C3%ADn%20en%20Michoacan&f=false>
- El Consumidor. (2014). El laboratorio Profeco reporta Néctares de Fruta, mucho dulce y pocas frutas. Recuperado el 7 de noviembre de 2014 de: <http://www.consumidor.gob.mx/wordpress/wp-content/uploads/2014/05/Estudio-Nectares.pdf>
- Esparza, V., & García, M. (2013). Implementación de un programa de desarrollo de nuevos productos a partir de pitahaya. Recuperado el 20 de octubre de 2014 de: http://www.iberopuebla.edu.mx/microSitios/ACISA/docsProyectos/luzEsparza_lilianGarcia.pdf
- Espinosa Manfugás, J. (2007). Evaluación sensorial de los alimentos. Ed. Universitaria pp 81-84.
- FAO. (2013). Gaceta No. 230. Reglamento técnico para jugos y néctares de frutas. Recuperado el 17 de mayo de 2015 de: <http://faolex.fao.org/docs/pdf/cos136106.pdf>
- Fennema, O. (2000). Química de los alimentos. Acribia: España, pp.807

- Freitas, V., & Mateus, N., (2011). Formation of pyranoanthocyanins in red wines: a new and diverse class of anthocyanin derivatives. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401, 1463–1473. doi:10.1007/s00216-010-4479-9
- García, I., Moreno, A., & Hidalgo, B. (2002). Composición química de la vid Palieri. *Revista de la Facultad de Agronomía.*, 19 (4), 332-337.
- García, V., & Pérez, V. (2004). La granada. Alimento rico en polifenoles antioxidantes y bajo en calorías. *Alimentación Nutrición y Salud*, 11 (4), 113-120.
- García, V., & Pérez, V. (2013). La fruta granada alimento rico en antioxidantes. Recuperado el 10 de abril de 2015 de: <http://www.zumodegranada.com/la-fruta-granada-alimento-rico-en-antioxidantes-2/>
- Gil, A., & Ruíz, L. (2010). Tratado de nutrición, composición y calidad nutritiva de los alimentos. Ed. Medica Panamericana: España, pp. 174-176
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001) Anthocyanins. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UVVisible Spectroscopy. In: Wrolstad, R., Ed., *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Inc., New York, F1.2.1-F1.2.13.
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2003). Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, 14, 217-225. doi: 10.1016/S1369-703X(02)00221-8
- Gutteridge, J., & Halliwell, B. (1999). *Reactive oxygen species in biological systems*. New York, USA: D.L. Gilbert and C.A. Colton, eds. pp. 189-218
- Hanbury, A., & Serra, J. (2002). A 3D-polar Coordinate Colour Representation Suitable for Image Analysis. Recuperado el 5 de marzo de 2015 de: http://allan.hanbury.eu/lib/exe/fetch.php?media=prip_tr77.pdf
- Harbourne, N., Jacquier, J., Morgan, D., & Lyng, J. (2008). Determination of the degradation kinetics of anthocyanins in a model juice system using isothermal and non-isothermal methods. *Food Chemistry*, 111, 204–208. doi:10.1016/j.foodchem.2008.03.023

- Hernández Hernández, A. (2013). Optimización del proceso de obtención de piranoantocianinas a partir de *Hibiscus sabdariffa* y su aplicación en la reducción in vitro de colesterol. (Tesis inédita de Licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Mineral de la Reforma, HG.
- Hoshino, T. & Tamura, H. (1999). Anthocyanidin glycosides: color variation and color stability. In: Naturally occurring glycosides: Ikan, R. John Wiley & Sons, New York, 1999, 43–82. Recuperado el 25 de Mayo de 2015 de: <http://www.cabdirect.org/abstracts/20000306227.html>
- IPCS. (Ed). (2005). Fichas internacionales de seguridad química. Recuperado el 20 de marzo de 2015 de: <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/FISQ/Ficheros/0a100/nspn0044.pdf>
- Izuchukwu, A., Chima, O., & Maduka, O. (2015). Functional components and medicinal properties of food: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 2522–2529. DOI 10.1007/s13197-014-1396-5
- Jiménez, L., & Girbés, J. (2012). Determinación del contenido total de polifenoles en alimentos con el reactivo de Folin-Ciocalteu. Recuperado el 24 de octubre de 2014 de: https://alojamientos.uva.es/guia_docente/uploads/2012/470/45808/1/Documento17.pdf
- Jiménez, M., Catillo, I., Azuara, E., & Beristain, C. (2011). Antioxidant and antimicrobial activity of capulin (*Prunus serotina subsp capuli*) extracts. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 10 (1), 29-37.
- Jiménez, P., & Girbés, T. (2012). Método del radical DPPH. 2,2-difenil –1-picrylhydrazyl. Determinación de la capacidad antioxidante en extractos de manzana, brócoli y alcachofa. Recuperado el 12 de marzo de 2013 de https://alojamientos.uva.es/guia_docente/uploads/2012/470/45808/1/Documento14.pdf
- Kara, S., & Alben, E. (2013). Thermal degradation kinetics of anthocyanins and visual colour of Urmu mulberry (*Morus nigra L.*). *Journal of Food Engineering*, 116, 541–547. doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.12.030

-
- King, A., & Young, G. (1999). Characteristics and Occurrence of Phenolic Phytochemicals. *Journal of the American Dietetic Association*, 99 (2), 213-218. doi: 10.1016/S0002-8223(99)00051-6
- Lees, R. (1982). *Análisis de los alimentos, métodos analíticos y de control de calidad*. 2da. Edición, Editorial Acribia: España. Pp 179
- López, M. O., López, M., & Palou, E. (2010). Granada (*Punica granatum L.*): una fuente de antioxidantes de interés actual. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 4 (1), 64-73.
- Lozano, J. E., & Ibarz, A. (1997). Colour changes in concentrated fruit pulp during heating at high temperaturas. *Journal of food Engineering*, 31 (3), 365-373. doi: 10.1016/S0260-8774(96)00079-9
- Lutz, M., (2009). Alimentos funcionales en la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles. En Lutz, M., Edel, L., aspectos nutricionales y saludables de los productos de panificación (pp 38-50). Chile: Universidad del Valparaíso. Recuperado el 16 de junio de 2015 de: http://www.agro.unc.edu.ar/~uninvestigacion/cyted/files/2009_Aspectos_nutricional_es_y_saludables_de_los_productos_de_panificacion.pdf#page=37
- Marja, P., & Heinonen, M. (2003). Antioxidant Activity of Anthocyanins and Their Aglycons. *Journal of Agricultural and. Food Chemistry*, 51 (3), 628-633.
- Martínez, F. S., González, G., Culebras, J., & Tuñón, M^a. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17 (6), 271-278.
- McCann, D., Barrett, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., & Grimshaw, K. (2007). Food Additives and Hyperactive Behaviour in 3-Year-old and 8/9-Year-old Children in the Community: A Randomised, Double-Blinded, Placebo-controlled Trial. *The Lancet*. 370 (9598),1560-1567.
- McVaugh, R. (1951). Sistema Nacional de Información Forestal: SEMARNAT. *Prunus serotina* subsp. capuli (Cav). Recuperado el 13 de febrero de 2015 de: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:IXPL2wkZyQMJ:www.cnf.gob.mx:8090/snif/portal/libraries/phpsnif/usos/UsosPDF.php%3FespecieURL%3DPrunusSerotina+%&cd=7&hl=es&ct=clnk&gl=mx>
-

-
- Menchú, M. T., & Méndez, H. (2012). Tabla de composición de los alimentos de centro América. Segunda edición. Recuperado el 6 de mayo de 2015 de: www.incap.org.gt/.../80-tabla-de-composicion-de-alimentos-de-centroam...
- Mexican Business Web. (2012). Recuperado el 25 de octubre de 2014 de 2014 de: <http://www.mexicanbusinessweb.mx/sector-de-servicios-en-mexico/comercial/mexicanos-consumen-4-5-kg-de-dulces-al-ano/>
- Meza, H., & Rodas, C. (2007). El tejocote en la confitería. Recuperado el 6 de mayo de 2015 de: <http://201.147.150.252:8080/xmlui/handle/123456789/3339>
- Miller, G. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31, 426-428.
- Molina, M., & Córdova, T. (2006). Informe nacional sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la agricultura y la alimentación. SAGARPA:SOMEFI. Pp 18-19. Recuperado el 20 de septiembre de 2014 de: <http://www.fao.org/docrep/013/i1500e/mexico.pdf>
- Moreno, A. M., Vilorio, M. A., & López, E., & Douglas, B. (2002). Estabilidad de antocianinas en jugos pasteurizados de mora (*Rubus glaucus Benth*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 52 (2). Recuperado el 4 de junio de 2015 de: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0004-06222002000200010&script=sci_arttext
- Muñoz, O., Schwartz, M., & Loyola, E. (2003). Antocianos, colorantes naturales de aplicación industrial. *Revista de Fitoterapia*, 3 (2), 147-154.
- Muratalla Lua, M. E. (1992). Physiological behaviour before and after the harvest of five selections of cherry (*Prunus serotina, var. Capuli*). Recuperado el 12 de enero de 2015 de: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=MX19950099042>
- Nacz, M., & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41 (5), 1523–1542.

-
- NMX-F-102-S-1978. Determinación de la acidez titulable en productos elaborados a partir de frutas y hortalizas. Recuperado el 4 de mayo del 2013 de: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-102-S-1978.PDF>
- NMX-F-103-1982. Alimentos. Frutas y Derivados. Determinación de grados Brix. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. Recuperado el 24 de agosto de 2013 de: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-103-1982.PDF>
- NOM-130-SSA1-1995. Norma Oficial Mexicana, Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. Recuperado el 21 de noviembre de 2014 de: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/130ssa15.html>
- NOM-218-SSA1-2011, Norma Oficial Mexicana. Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones sanitarias. Métodos de prueba. Recuperado el 13 de enero de 2015 de: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5233379&fecha=10/02/2012
- Núñez, Á. R., Rivas, P., Hernández, M., & Chirinos, M. (2012). Content of total, Reducing and Non-Reducing Sugars in Agave cocui Trelease. *Multiciencias*, 12 (2), 129–135.
- Oestreich, A., Keller, M., Rocco, V., (2012). Producción más limpia y competitividad: Un camino hacia la excelencia empresarial sustentable. Recuperado el 20 de marzo de 2015 de: <http://socrates.ieem.edu.uy/wp-content/uploads/2012/05/ProduccionMasLimpia.pdf>
- ONUDI. (1992). Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial. Manual de Producción más Limpia. Recuperado el 21 de abril de 2015 de: http://www.unido.org/fileadmin/important/71360_1Textbook.pdf
- Ordaz, G. A., Wesche, E., Wrolstad, R., Rodríguez, S., & Argai, J. (1999). Purification and identification of Capulin (*Prunus serotina Ehrh*) anthocyanins. *Food Chemistry*, 65, 201-206.
- Ozgen, M., Scheerens, J., Reese, R., & Miller, R. (2010). Total phenolic, anthocyanin contents and antioxidant capacity of selected elderberry (*Sambucus canadensis L.*) accessions. En Jiménez, P., & Girbés, T. (2012). Método del radical DPPH. 2,2-

- difenil -1-picrylhydrazyl. Determinación de la capacidad antioxidante en extractos de manzana, brócoli y alcachofa. Recuperado el 12 de marzo de 2013 de https://alojamientos.uva.es/guia_docente/uploads/2012/470/45808/1/Documento14.pdf
- Padrón Pereira, C. (2010). Procesamiento digital de imágenes de frutos de semeruco (*Malpighia glabra* L.) durante el crecimiento y maduración. Revista Científica Electrónica de Agronomía, 17 (2), 1-17.
- Padrón, P., & Padrón, L. (2012). Determinación del color de epicarpios de mango (*Mangifera* sp.) y plátano (*Musa* AAB) en maduración mediante sistema de visión computarizada. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos, 3 (2),
- Pérez, C., Reyes, B., Godines, H., & Casillas, P. (2012). Desarrollo y caracterización de golosinas con ingredientes de interés nutrimental. Ciencia UAT, 6 (3), 50-55. Recuperado el 15 de mayo de 2015 de: <http://www.revistaciencia.uat.edu.mx/index.php/CienciaUAT/article/view/47/37>
- Pérez, L, A., Palacios, G, B., & Castro, B, A. (2008). Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes. Ed. Ogali: México. Tercera edición Pp.19
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. (2001). Antioxidants in food. Recuperado el 12 de marzo de 2013 de: <https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=CpCKAgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Pokorny+2001&ots=AWg2ahBGZ3&sig=N6D5By4n-2GAg3lag0-oQvFGBul#v=onepage&q=Pokorny%202001&f=false>
- Quora. (2012). Is the a^*b^* plane of the $L^*a^*b^*$ colorspace a singular-value decomposition?. Recuperado el 17 de junio de 2015 de: http://www.quora.com/Is-the-a*b*-plane-of-the-L*a*b*-colorspace-a-singular-value-decomposition
- Ramírez, H., Barrios, E., Castellanos, R., Muñoz, U., Palomino, H., & Pimienta, B. (2007). Sistemas de producción de *Spondias purpurea* (*Anacardiaceae*) en el centro-occidente de México. Revista de Biología Tropical, 56 (2), 675-687.
- Ramírez, S., Olgún, M., Favela, T. (2004). Confitería. En AÁPPA. (Ed). Introducción a la tecnología de alimentos. (pp. 131-133). México:Limusa. Recuperado el 15 de mayo de 2015 de: https://books.google.es/books?id=V2lqmVapJWkC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

-
- Raya, P. J., Aguirre, M. C., Tapia, A., Ramírez, P. J., & Covarrubias, P. J. (2012). Caracterización de las proteínas de reserva y composición mineral de la semilla de capulín (*Prunus serotina*). *Poli botánica*, 34, 203-215. Recuperado el 27 de mayo de 2015 de: <http://www.redalyc.org/pdf/621/62123051010.pdf>
- Rein, M. (2005). Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Recuperado el 16 de junio de 2013 de: <https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/20822/copigmen.pdf?sequence=1>
- Rentzscha, M., Schwarzb, M., & Winterhalter, P., (2007). Pyranoanthocyanins e an overview on structures, occurrence, and pathways of formation. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 526-534. doi:10.1016/j.tifs.2007.04.014
- Revilla Castellanos, F. M., Ibarra Alvarado, F. J., & Luna Vázquez, F. J. (2010). Cuantificación de compuestos fenólicos y actividad vasodilatadora. Recuperado el 12 de marzo de 2013 de: <http://www.veranos.ugto.mx/Memorias/12VeranoCienciaRegionCentro/documentos/258.pdf>
- Reyo, H., Macías, O., Soto, A., & Ortiz, P. (2010). Desarrollo de formulaciones de productos de confitería de bajo aporte calórico utilizando alcoholes polihídricos como edulcorantes. Recuperado el 8 de noviembre de 2014 de: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:yv1B-A5nZ0AJ:www.respyn.uanl.mx/especiales/2010/ee-09-2010/documentos/miscelaneos/OT70.pdf+&cd=2&hl=es&ct=clnk&gl=mx>
- Rivera, J., Onofre, M., Rosas, P., Aguilar, S., Popkin, M., & Willett, C. (2008). Consumo de bebidas para una vida saludable: recomendaciones para la población mexicana. *Salud pública de México*, 50 (2), 173-195.
- Rodríguez, S., Wrolstad, R., & Pereira, C. (1999). Glycoalkaloid content and anthocyanin stability to alkaline treatment of red-fleshed potato extracts. *Journal of Science*, 64 (3), 445-450. doi: 10.1111/j.1365-2621.1999.tb15060.x
- Sánchez, P. M. (2003). Proceso de elaboración de alimentos y bebidas. Recuperado el 3 de junio de 2015 de: <https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=Pxrlhy9UbZkC&oi=fnd&pg=PA21&dq=parametros+para+elaborar+bebidas+y+me>
-

rmeladas&ots=Jv3w43lKgK&sig=_X9B7A07OSZ4sdleHINfZKOx688#v=onepage&q&f=false

Savedra Pérez, Y. (2012). Obtención y aplicación de colorantes semisintéticos a partir de la reacción de antocianinas de la flor de Jamaica con ácido p-cumárico. (Tesis inédita de Licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Mineral de la Reforma, HG.

Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. Recuperado el 12 de febrero de 2015 de: <http://jn.nutrition.org/content/130/8/2073S.full.pdf+html>

Sharma, R., Yadav, A., & Bhardwaj, R. (2013). DPPH free radical scavenging activity of phenolic compounds in argemone Mexicana linn. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5 (3), 683-686.

SIAP. (2014). Servicio de Información Agroalimentaria y pecuaria. Capulín. Recuperado el 11 de junio de 2015 de: <http://www.siap.gob.mx/capulin/>

Sing de Ugaz, O. L. (1997). Colorantes naturales. Recuperado el 26 de mayo de 2015 de: https://books.google.com.mx/books?id=LjmH_3qjaEIC&pg=PA277&lpg=PA277&dq=Colorantes+naturales,+Pontificia+Universidad+Cat%C3%B3lica+de+Per%C3%B3+A,&source=bl&ots=mJwRhom2mt&sig=_tD6oYsHukEe0LcKnKV60pIMv3I&hl=es&sa=X&ei=81VIVZ35O8vJsAWV14G4Bw&ved=0CBwQ6AEwAA#v=onepage&q=Colorantes%20naturales%20Pontificia%20Universidad%20Cat%C3%B3lica%20de%20Per%C3%BA%2C&f=false

Stintzing, F. C., Stintzing, A. S., Carle, R., Frei, B., & Wrolstad, R. E. (2002). Color and Antioxidant Properties of Cyanidin-Based Anthocyanin Pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (21) ,6172–6181. doi: 10.1021/jf0204811

Tao, J., Dykes, S., & Kilmartin, P. (2007). Effect of SO₂ Concentration on Polyphenol Development during Red Wine Micro-oxygenation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*., 55 (15), 6104-6109. doi: 10.1021/jf070625h

Tortora, G., Funke, B., & Case, Ch. (2007). Introducción a la microbiología. Recuperado el 1 de junio de 2015 de: <https://books.google.es/books?id=Nxb3iETuwpIC&pg=PA193&dq=temperaturas+de+pasteurizacion&hl=es&sa=X&ei=TjZxVfjEJ5G2yAS>

Hq4CICg&ved=0CCQQ6AEwAA#v=onepage&q=temperaturas%20de%20pasteurizacion&f=false

Tseng, CH. K., Chang, M. H., & James, S. B. (2006). Degradation kinetics of anthocyanin in ethanolic solutions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 30, 503–514.

Ulloa, J. A., (2007). Frutas auto estabilizadas en el envase por la tecnología de obstáculos. Recuperado el 12 de marzo de 2015 de: <https://books.google.es/books?id=d9f5Gko6V7kC&pg=PA58&dq=pasteurizacion+de+jugos&hl=es&sa=X&ei=LIBOVZzREoehyQTnv4GADg&ved=0CCEQ6AEwAA#v=onepage&q=pasteurizacion%20de%20jugos&f=false>

William Horwitz., & George, W. (1995) Official methods of analysis of AOAC international.

Williams, B., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of a free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 28 (1), 25-30. doi:10.1016/S0023-6438(95)80008-5

Wrolstad, R., Durst, R., & Lee, J. (2005). Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 423–428. doi:10.1016/j.tifs.2005.03.019

Zambrano, J., Moyeja, J., & Pacheco, L. (1995). Efecto del estado de madurez en la composición y calidad de frutos de tomate. *Agronomía Tropical*, 46 (1), 61-72.