

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Facultad de Ciencias Agroalimentarias

Escuela de Tecnología de Alimentos

Proyecto Final de Graduación presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos para optar por el grado de Licenciada en Ingeniería de Alimentos

**Condiciones de extracción de un pigmento rojo a partir
de la broza de café**

Elaborado por:

Melissa Quirós Soto

Carné: A64585

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

2014

HOJA DE APROBACIÓN

Proyecto de graduación presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos.



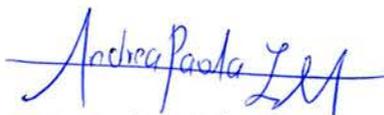
Ph.D. Elba Cubero Castillo
Directora del proyecto



Ph.D. Ana Ruth Bonilla Leiva
Asesora



M.Sc. Pedro Vargas Aguilar
Asesor



M.Sc. Andrea Irías Mata
Presidente del tribunal



M.Sc. Giselle Lutz Cruz
Profesora designada

DEDICATORIA

A mis papás y hermanos

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por su amor, apoyo, ayuda, paciencia y comprensión durante todo este tiempo, sin la compañía de ustedes, no hubiera sido posible

A Toño por toda su paciencia, apoyo, comprensión y por la fortaleza en los momentos que más la necesité.

A mi directora, Elba, gracias por creer en mí, por toda su ayuda, paciencia, comprensión y consejos.

A las profesoras Jackie y Yorle, por sus palabras de apoyo y a Nadia por su ayuda incondicional.

A Giova y a Luis Morales por toda su colaboración en el desarrollo de la parte experimental del proyecto.

A Pame, Abea, Javi, Yipi, Cata y Sofi por darme ánimo cuando más lo necesité.

A mis compañeros, amigos y personal de la escuela, gracias por el apoyo y colaboración durante todo el proceso.

ÍNDICE GENERAL

HOJA DE APROBACIÓN.....	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
ÍNDICE DE CUADROS.....	ix
RESUMEN	x
1. JUSTIFICACIÓN.....	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo general.....	3
2.2. Objetivos específicos	3
3. MARCO TEÓRICO.....	4
3.1. El café	4
3.1.1. Generalidades	4
3.1.2. Beneficiado.....	5
3.2. Composición de la broza de café.....	6
3.2.1. Antocianinas.....	7
3.3. Pardeamiento enzimático	13
3.3.1. Inhibición de PFO por medio de calor	13
3.3.2. Inhibición de PFO por medio del uso de acidulantes.....	14
3.4. Estabilidad de los pigmentos naturales a lo largo del tiempo	15
3.5. Teoría de la medida de color.....	15
3.6. Teoría de la medición de antocianinas y compuestos oscuros	18
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
4.1. Localización del proyecto.....	19
4.2. Materia prima	19
4.3. Metodología	19
4.3.1. Pruebas preliminares	19
4.3.2. Pruebas definitivas	22
4.3.3. Análisis de datos y diseño experimental	25
4.3.4. Métodos de análisis	29
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
5.1. Efecto del escaldado y del medio de extracción (ácido cítrico, ácido ascórbico y mezcla de ambos) sobre el color instrumental y antocianinas totales del pigmento de la broza de café secado por aspersión y concentrado al vacío.....	35

5.1.1. Pigmento de la broza de café concentrado al vacío	35
5.1.2. Pigmento de la broza de café secado por aspersión	45
5.2. Comparación del efecto de secado por aspersión y concentrado al vacío de los pigmentos obtenidos a partir de un extracto de broza de café sobre la conservación de antocianinas totales y el color determinado instrumentalmente.....	56
5.2.1. Antocianinas totales	56
5.2.2. Color	59
5.3. Conservación de color y de antocianinas en los pigmentos obtenidos al utilizar la disolución de ácido cítrico al 2% como medio de extracción, durante su almacenamiento en condiciones ambientales por un periodo de 28 días.	66
6. CONCLUSIONES	74
7. RECOMENDACIONES	75
8. BIBLIOGRAFÍA.....	76
9. ANEXOS.....	86
9.1. Análisis de la variabilidad de la toma de muestras.....	86
9.2. Resultados de la medición de color de producto en bolsa la minada y fuera de ella.....	91
9.3. Resultados de los análisis de varianza realizados para determinar el efecto del escaldado y del medio de extracción sobre las antocianinas y el color instrumental del pigmento de la broza de café secado por aspersión y concentrado al vacío.....	92
9.3.1. Análisis de varianza para el contenido de antocianinas en el extracto de broza de café concentrado al vacío.	92
9.3.2. Análisis de varianza para el color en el extracto de broza de café concentrado al vacío.....	92
9.3.3. Análisis de varianza para el contenido de antocianinas en el extracto de broza de café secado por aspersión.	94
9.3.4. Análisis de varianza para el color en el extracto de broza de café secado por aspersión.....	94
9.4. Resultados de los análisis de varianza realizados para comparar el efecto de secado por aspersión y concentrado al vacío de los pigmentos obtenidos sobre la conservación de antocianinas totales y el color.....	96
9.4.1. Análisis de varianza para el contenido de antocianinas en el extracto de broza de café concentrado al vacío y secado por aspersión.....	96
9.4.2. Análisis de varianza para color en el extracto de broza de café concentrado al vacío y secado por aspersión	97

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sección longitudinal y transversal del fruto de café (González, 2007)	4
Figura 2. Procesamiento húmedo de café (Adams y Ghaly, 2007).....	6
Figura 3. Estructura química general de las antocianinas (Guisti y Wrolstad, 2001).....	7
Figura 4. Estructura química de la cianidin-3-rutinósido (Torskangerpoll <i>et al.</i> 2005).....	8
Figura 5. Cambios en la estructura y color de las antocianinas debido al cambio de pH (Leyva, 2009)	9
Figura 6. Diagrama del espacio colorimétrico CIELAB (Hunter Lab, 2008)	15
Figura 7. Esquema gráfico de los valores de croma y tonalidad (Wee, 2002).....	16
Figura 8. Esquema tridimensional de la precepción humana del color (Montesinos, 2003)...	17
Figura 9. Extractos de broza de café, escaldados y sin escaldar, expuestos al aire y luz: (a) día cero; (b) día cuatro.....	20
Figura 10. Extracto de broza de café obtenido a partir de la disolución de etanol acidificada con 0,03% ácido cítrico.....	21
Figura 11. Muestra de pigmento en polvo expuestas a condiciones ambientales, (a) 0 horas de exposición; (b) 24 horas de exposición	28
Figura 12. Contenido de antocianinas resultante del promedio de las muestras escaldadas y no escaldadas, aplicados a los extractos de broza de café concentrados al vacío tratados con dos concentraciones de varios ácidos	35
Figura 13. Pigmentos obtenidos al concentrar al vacío los extractos de broza de café. De izquierda a derecha, lote 1, 2 y 3 para cada conjunto de productos.....	37
Figura 14. Croma resultante del promedio de las muestras, tratadas con varios ácidos a dos concentraciones, de extractos de broza de café concentrados al vacío.....	38
Figura 15. Croma resultante del promedio de las muestras escaldadas y no escaldadas, aplicados a los extractos de broza de café concentrados al vacío, tratados con dos concentraciones de varios ácidos	39
Figura 16. Tonalidad resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldados y no escaldados, tratados con diferentes ácidos a 1% y 2% de concentración de ácido, concentrados al vacío	41
Figura 17. Tonalidad resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldados y no escaldados, de diferentes ácidos, concentrados al vacío.....	42
Figura 18. Luminosidad resultante del promedio de las muestras escaldadas y no escaldadas, aplicados a los extractos de broza de café concentrados al vacío, tratados con dos concentraciones de varios ácidos.....	43
Figura 19. Contenido de antocianinas promedio de las muestras escaldadas y las no escaldadas de extractos de broza de café tratados con diferentes ácidos a dos concentraciones y secados por aspersión	45
Figura 20. Contenido de antocianinas resultante del promedio de las muestras escaldadas y no escaldadas, aplicados a los extractos de broza de café secados por aspersión, tratados con dos concentraciones de varios ácidos	46

Figura 21. Pigmentos obtenidos al secar por aspersión los extractos de broza de café. De izquierda a derecha, lote 1, 2 y 3 para cada conjunto de productos.....	48
Figura 22. Croma resultante del promedio de las muestras escaldadas y las no escaldadas de extractos de broza de café, tratadas con diferentes ácidos a dos concentraciones, secados por aspersión.....	50
Figura 23. Croma resultante del promedio de las muestras escaldadas y no escaldadas, aplicados a los extractos de broza de café secados por aspersión, tratados con dos concentraciones de varios ácidos.....	51
Figura 24. Tonalidad resultante del promedio de las muestras tratados con dos concentraciones de varios ácidos, escaldadas y no escaldadas, aplicados a los extractos de broza de café secados por aspersión.....	52
Figura 25. Tonalidad, en promedio de extractos de broza de café escaldados y no escaldados, secados por aspersión tratados con diferentes concentraciones de diferentes ácidos.....	53
Figura 26. Luminosidad, resultante del promedio de muestras escaldadas y no escaldadas, de los extractos de broza de café secados por aspersión tratados con diferentes concentraciones de diferentes ácidos.....	54
Figura 27. Contenido de antocianinas resultante del promedio de los extractos de broza de café, concentrados al vacío y secados por aspersión, escaldados y no escaldados, tratados con varios ácidos a dos concentraciones.....	56
Figura 28. Contenido de antocianinas, resultante del promedio de los extractos de broza de café escaldados y no escaldados, tratados con varios ácidos a dos concentraciones, concentrados al vacío y secados por aspersión.....	58
Figura 29. Croma resultante del promedio de los extractos de broza de café escaldados y no escaldados, tratados con varios ácidos a dos concentraciones, concentrados al vacío y secados por aspersión.....	59
Figura 30. Croma resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldadas y no escaldadas, tratadas con diferentes ácidos a concentraciones distintas, secados por aspersión y concentrados al vacío.....	60
Figura 31. Tonalidad resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldadas y no escaldadas, tratadas con diferentes ácidos a concentraciones distintas, secados por aspersión y concentrados al vacío.....	62
Figura 32. Luminosidad resultante del promedio de los extractos de broza de café, escaldados y no escaldados, tratados con diferentes ácidos a dos concentraciones, secados por aspersión y concentrados al vacío.....	63
Figura 33. Luminosidad resultante del promedio de los extractos de broza de café escaldados y no escaldados, tratados con diferentes ácidos a dos concentraciones, secados por aspersión y concentrados al vacío.....	64
Figura 34. Variación en el índice de oscurecimiento de los productos obtenidos mediante extracción con disolución de 2% de ácido cítrico (escaldados y no escaldados), a lo largo del tiempo de almacenamiento en condiciones ambientales.....	66

Figura 35. Variación en el contenido de antocianinas de los productos obtenidos mediante extracción con disolución de 2% de ácido cítrico (escaldados y no escaldados), a lo largo del tiempo de almacenamiento en condiciones ambientales.....	67
Figura 36. Variación promedio de la luminosidad de los productos obtenidos mediante extracción con disolución de 2% de ácido cítrico (escaldados y no escaldados), a lo largo del tiempo de almacenamiento en condiciones ambientales.....	68
Figura 37. Variación promedio del croma de los productos obtenidos mediante extracción con disolución de 2% de ácido cítrico (escaldados y no escaldados), a lo largo del tiempo de almacenamiento en condiciones ambientales.....	70
Figura 38. Variación promedio de la tonalidad de los productos obtenidos mediante extracción con disolución de 2% de ácido cítrico (escaldados y no escaldados), a lo largo del tiempo de almacenamiento en condiciones ambientales.....	71
Figura 39. Fotografías de los productos secados por aspersión obtenidos mediante extracción con disolución de 2% de ácido cítrico (escaldados y no escaldados), al inicio y al final del tiempo de almacenamiento	72
Figura 40. Fotografías de los productos concentrados al vacío obtenidos mediante extracción con disolución de 2% de ácido cítrico (escaldados y no escaldados), a diferentes tiempos del almacenamiento (los concentrados estaban empacados en bolsas transparentes)	73
Figura 41. Contenido de antocianinas resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldados y no escaldados, tratados con diferentes ácidos a dos concentraciones y concentrados al vacío.....	86
Figura 42. Contenido de antocianinas resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldados y no escaldados, tratados con diferentes ácidos a dos concentraciones y secados por aspersión	87
Figura 43. Luminosidad resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldados y no escaldados, tratados con diferentes ácidos a dos concentraciones y concentrados al vacío	88
Figura 44. Croma resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldados y no escaldados, tratados con diferentes ácidos a dos concentraciones y secados por aspersión	89
Figura 45. Luminosidad resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldados y no escaldados, tratados con diferentes ácidos a dos concentraciones y secados por aspersión	90

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro I. Tratamientos para obtención del extracto de la pulpa de café.....	23
Cuadro II. Diseño experimental de la extracción de un pigmento en polvo.....	25
Cuadro III. Diseño experimental de la extracción de un pigmento concentrado.....	26
Cuadro IV. Diseño experimental para comparar el efecto del secado y del concentrado en el pigmento obtenido a partir de la broza de café	27
Cuadro V. pH de las disoluciones utilizadas para obtener los extractos de pulpa de café	33
Cuadro VI. Color y contenido de antocianinas para los extractos de broza de café obtenidos con una disolución de 2% de ácido cítrico para el análisis de reproducibilidad de las operaciones	34
Cuadro A1. Diferencias total de color y diferencia de luminosidad entre los lotes de cada uno de los tratamientos aplicados para la obtención de los pigmentos concentrados al vacío	88
Cuadro A2. Diferencias total de color y diferencia de luminosidad entre los lotes de cada uno de los tratamientos aplicados para la obtención de los pigmentos secados por aspersión.....	89
Cuadro A3. Promedios de las mediciones de color realizadas a un objeto en bolsa y fuera de ella (n =6)	91
Cuadro A4. Resultados del análisis de varianza para la comparación de medida de color con bolsa y sin bolsa.....	91
Cuadro A5. Resultados del análisis de varianza para el contenido de antocianinas en el extracto de broza de café concentrado al vacío	92
Cuadro A6. Resultados del análisis de varianza para la variable C* del extracto de broza de café concentrado al vacío.....	92
Cuadro A7. Resultados del análisis de varianza para la variable h° del extracto de broza de café concentrado al vacío.....	93
Cuadro A8. Resultados del análisis de varianza para la variable L del extracto de broza de café concentrado al vacío.....	93
Cuadro A9. Resultados del análisis de varianza para el contenido de antocianinas en el extracto de broza de café secado por aspersión.....	94
Cuadro A10. Resultados del análisis de varianza para la variable C* del extracto de broza de café secado por aspersión.....	94
Cuadro A11. Resultados del análisis de varianza para la variable h° del extracto de broza de café secado por aspersión.....	95
Cuadro A12. Resultados del análisis de varianza para la variable L del extracto de broza de café secado por aspersión.....	95
Cuadro A13. Resultados del análisis de varianza para la variable contenido de antocianinas..	96
Cuadro A14. Resultados del análisis de varianza para la variable C*.....	97
Cuadro A15. Resultados del análisis de varianza para la variable h°.....	98
Cuadro A16. Resultados del análisis de varianza para la variable L.....	99

RESUMEN

Actualmente hay una tendencia a darle valor agregado y un uso más eficiente a los residuos agroindustriales como la pulpa o broza de café, la cual tiene un alto contenido de antocianinas. Además, los consumidores buscan productos saludables y funcionales, lo cual aumenta el interés en fuentes de colorantes naturales.

El objetivo del estudio fue determinar el efecto del escaldado y del tipo de ácido sobre las antocianinas y el color del extracto de broza de café secado por aspersión o concentración.

Broza de café escaldada y no escaldada fue sumergida durante 18 horas en seis diferentes disoluciones de dos ácido orgánicos (cítrico y ascórbico) o mezcla de ellos a dos concentraciones distintas: 1% m/v y 2% m/v. Fueron evaluados 12 tratamientos. La disolución utilizada para la extracción se dividió en dos partes, una de ellas se secó por aspersión y la otra se concentró al vacío hasta alcanzar 55 °Brix. A cada producto se le midió el color y el contenido de antocianinas.

Los pigmentos secos extraídos con ambos ácidos a 1% presentaron una tonalidad mayor que los concentrados. Los productos extraídos con ácido cítrico al 2% presentaron la tonalidad menor (más cercana al rojo), tanto para los concentrados como para los secados por aspersión.

En general, los productos concentrados tuvieron un color más oscuro y el más oscuro de todos fue el producto no escaldado, extraído con ácido cítrico al 2%.

Los productos secos tuvieron un mayor contenido de antocianinas que los concentrados, y los productos escaldados, mayor a los productos no escaldados. La disolución de ácido cítrico y la mezcla de ambos ácidos mantuvieron más antocianinas que la disolución de ácido ascórbico. Las disoluciones al 2% dieron mejores resultados que las disoluciones al 1%.

Los productos obtenidos a partir de la disolución al 2% de ácido cítrico, tanto concentrados como secados por aspersión, escaldados y no escaldados, se mantuvieron empacados en bolsas plásticas transparentes a temperatura ambiente durante 28 días. Cada dos días, durante las primeras dos semanas, y una vez por semana durante el resto del tiempo, se les midió el índice de oscurecimiento, el color y el contenido de antocianinas.

Los productos concentrados presentaron una disminución en la tonalidad, cambiando su coloración rojiza a violeta oscuro, mientras que los productos secos no presentaron cambios.

El contenido de antocianinas disminuyó en todos los productos, sin embargo, la disminución se dio con mayor velocidad en los productos líquidos. Este mismo comportamiento se presentó en el índice de oscurecimiento.

1. JUSTIFICACIÓN

En la industria alimentaria el uso de colorantes sintéticos se ha visto cada vez más regulado debido a problemas de toxicidad y alergias en cierta parte de la población, además de la posibilidad de ser cancerígenos, según algunos estudios. Esto, sumado a la búsqueda por parte de los consumidores de productos sanos y funcionales, las tendencias de producción con menor daño al medio ambiente y la oportunidad de crear nuevos mercados, ha aumentado el interés por los colorantes de fuentes naturales. Otra ventaja que conlleva el uso de estos pigmentos es que presentan menores restricciones en comparación con los colorantes sintéticos en países como Estados Unidos y los miembros de la Unión Europea. Sin embargo, existe la desventaja de la inestabilidad, pues los pigmentos naturales son sensibles a la luz, temperatura, oxígeno, pH, entre otros (Boo *et al.*, 2012; Cano, 2011; Cevallos y Cisneros, 2003; Garzón, 2008; Downham y Collins, 2000; Parize *et al.*, 2008).

Los pigmentos naturales pueden clasificarse en varios grupos dependiendo de su estructura química. Principalmente se dividen en clorofilas, carotenoides, flavonoides, xantonas, quinonas, derivados indigoides y pirimidinas sustituidas (Lock, 1997; López, 2010; Menéndez, 2008; Timberlake y Henry, 1986).

Dentro del grupo de los flavonoides se encuentran las antocianinas, compuestos de interés para la presente investigación. Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, compuestos por dos anillos aromáticos; son hidrosolubles y además son responsables de la gama de colores abarcando desde el rojo hasta el azul (según el pH) en varias frutas, vegetales y cereales, por ejemplo las uvas, bayas, col roja, manzanas, rábanos, tulipanes, rosas y orquídeas, entre otros. Inclusive, investigaciones recientes demuestran que la broza de café es una fuente potencial de antocianinas para su uso como colorantes en alimentos (Ariza, 2011; Castañeda-Ovando *et al.*, 2009; Garzón, 2008; Leyva, 2009; Prata y Oliveira, 2006).

En Costa Rica, el café ha sido un importante motor para el desarrollo, como se refleja en la producción nacional de café correspondiente a la cosecha durante los años 2011-2012, la cual fue de 2 382 965 fanegas de fruto de café, lo que equivale a 602 890 145 kg (ICAFE, 2012); además, para el 2012, la exportación de café representó el 3,6% de las exportaciones totales de nuestro país (COMEX, 2013). Del total de fruto de café, alrededor del 40% corresponde a la broza, la cual se puede utilizar como fertilizante, alimento animal o abono,

sin embargo, en su mayoría, es desechada luego del proceso de beneficiado, generando problemas de contaminación ambiental (Kassu, 2010). Debido a esto, se buscan maneras para utilizar dichos residuos.

Según Ariza (2011), al sumergir la broza en disoluciones de ácido ascórbico o ácido cítrico al 2%, se logra extraer y conservar las antocianinas y su capacidad de absorción de radicales oxígeno (ORAC). Algunos autores hacen referencia que para la extracción de las antocianinas y/o prevención del oscurecimiento de las mismas, se puede utilizar disoluciones de ácido cítrico en un rango de 0,5 y 2%, incluso de disoluciones de etanol al 90% acidificado a 0,03%; así como el uso de ácido ascórbico como antioxidante (Cano, 2011; Castañeda-Ovando *et al.*, 2009; Menéndez, 2008; Vargas, 2009).

En general, las antocianinas son compuestos lábiles, su estabilidad depende de la temperatura de almacenamiento, luz, oxígeno, estructura, pH y concentración de las antocianinas (Leyva, 2009; Wrolstad *et al.*, 2005), es por esto que deben protegerse de dichos factores con el fin de obtener un pigmento más estable.

Ariza (2011) en el estudio sobre la obtención de pigmentos con actividad antioxidante a partir de la broza de café, no realizó estudios de estabilidad para determinar si el pigmento obtenido a temperatura ambiente o expuesto al aire conserva el color rojo.

En esta investigación se persigue ampliar las condiciones utilizadas en el estudio previamente mencionado, incluyendo el escaldado de la broza, otras concentraciones de ácidos, mezclas de las mismas, inclusive el uso de etanol, además del secado por atomización y la evaporación para estabilizar las antocianinas a lo largo del tiempo y condiciones normales de almacenamiento.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar las operaciones de escaldado, secado y concentración, así como condiciones de extracción que pueden estabilizar el color rojo del pigmento de la broza del café, a lo largo del tiempo de almacenamiento.

2.2. Objetivos específicos

1. Determinar el efecto del escaldado y del medio de extracción con ácidos orgánicos (ácido cítrico, ácido ascórbico y mezcla de ambos) sobre las antocianinas totales y el color instrumental del pigmento de la broza de café secado por aspersion y concentrado al vacío.
2. Comparar el efecto de secado por aspersion y concentrado al vacío de los pigmentos obtenidos a partir de un extracto de broza de café sobre las antocianinas totales y el color determinado instrumentalmente.
3. Determinar la conservación de antocianinas y de color, así como el índice de oscurecimiento, en los pigmentos que hayan presentado mejores resultados durante la extracción, almacenándolos en condiciones ambientales por un periodo de 28 días.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. El café

3.1.1. Generalidades

El café pertenece al género *Coffea*, y su planta a la familia *Rubiaceae* y se denomina cafeto. Las tres principales especies de café que se cultivan ampliamente y que constituyen los tipos de café más utilizados a nivel comercial son: café arábigo (*Coffea arabica* L.), café canéfora (*Coffea canephora* L.) y café liberiano (*C. liberica*) (Belitz y Grosch, 2005; Cárdenas, 2007; González *et al.*, 2011).

El fruto del café (figura 1) consiste en una piel lisa, dura, generalmente de color verde en las frutas inmaduras, pero conforme madura se torna roja, hasta rojo-violeta intenso. Esta capa cubre la pulpa, la cual contiene dos semillas. Inmediatamente después de la pulpa se tiene el mucílago, una capa fina, translúcida y viscosa, seguida por el pergamino, membrana amarillenta, transparente adherida a las semillas (Belitz y Grosch, 2005; Esquivel y Jiménez, 2012; Vargas, 2009).

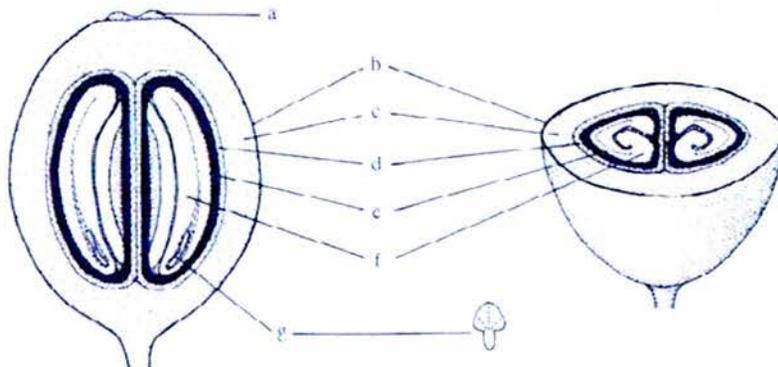


Figura 1. Sección longitudinal y transversal del fruto de café donde: (a) disco germinativo, (b) exocarpio o piel, (c) pulpa, (d) mucílago, (e) pergamino, (f) semilla, (g) embrión (Adaptado de González, 2007)

Del fruto de café se aprovecha en su mayoría la semilla, la cual se procesa con el fin de obtener el grano de oro. Durante el beneficiado el fruto de café es despulpado, donde la pulpa es desprendida por fricción. Esta pulpa, compone entre el 40 y 42% del peso total del fruto de café. Es el principal subproducto y se puede utilizar como fertilizante, alimento animal o abono, aplicaciones que solo utilizan una fracción de la cantidad disponible y no son

técnicamente muy eficientes, por lo tanto muchas veces se desecha la pulpa, generando una alta contaminación (Kassu, 2010).

3.1.2. Beneficiado

Existen dos métodos principales para el procesamiento del café, el seco y el húmedo. En el primer proceso, los frutos de café cosechados se dejan secar al sol y luego se separan sus partes mecánicamente (Esquivel y Jiménez, 2012).

En Costa Rica se lleva a cabo el proceso húmedo, el fruto se lleva a tanques de agua con el fin de eliminar los frutos verdes o en mal estado (éstos flotan en la superficie), luego se separa la pulpa del fruto por medio de fricción. La pulpa es trasladada y apilada para su posterior tratamiento o descarte. Seguidamente se da el desmucilaginado, operación que se lleva a cabo vía fermentación natural o por medios mecánicos. Luego las semillas son transportadas por un canal de agua, donde a su vez se les elimina el mucílago. Estas aguas de desecho se tamizan y los sólidos atrapados en el filtro se mezclan con la broza, mientras que el agua residual es enviada a una laguna para su respectivo tratamiento.

Finalmente se lleva cabo el secado, el cual se puede realizar en secadores o al sol, donde el grano se coloca en capas delgadas al sol. Una vez alcanzada la humedad deseada (alrededor de 11%) los granos son colocados en tambores vibratorios para desprender la capa delgada de celulosa que envuelve el grano (pergamino) (Adams y Ghaly, 2007; Noriega *et al.* 2009; Braham y Bressani, 1978; González, 2007; Alfaro y Rodríguez, 1994; Murthy y Naidu, 2012). En la figura 2 se presenta un esquema del procesamiento húmedo del café.

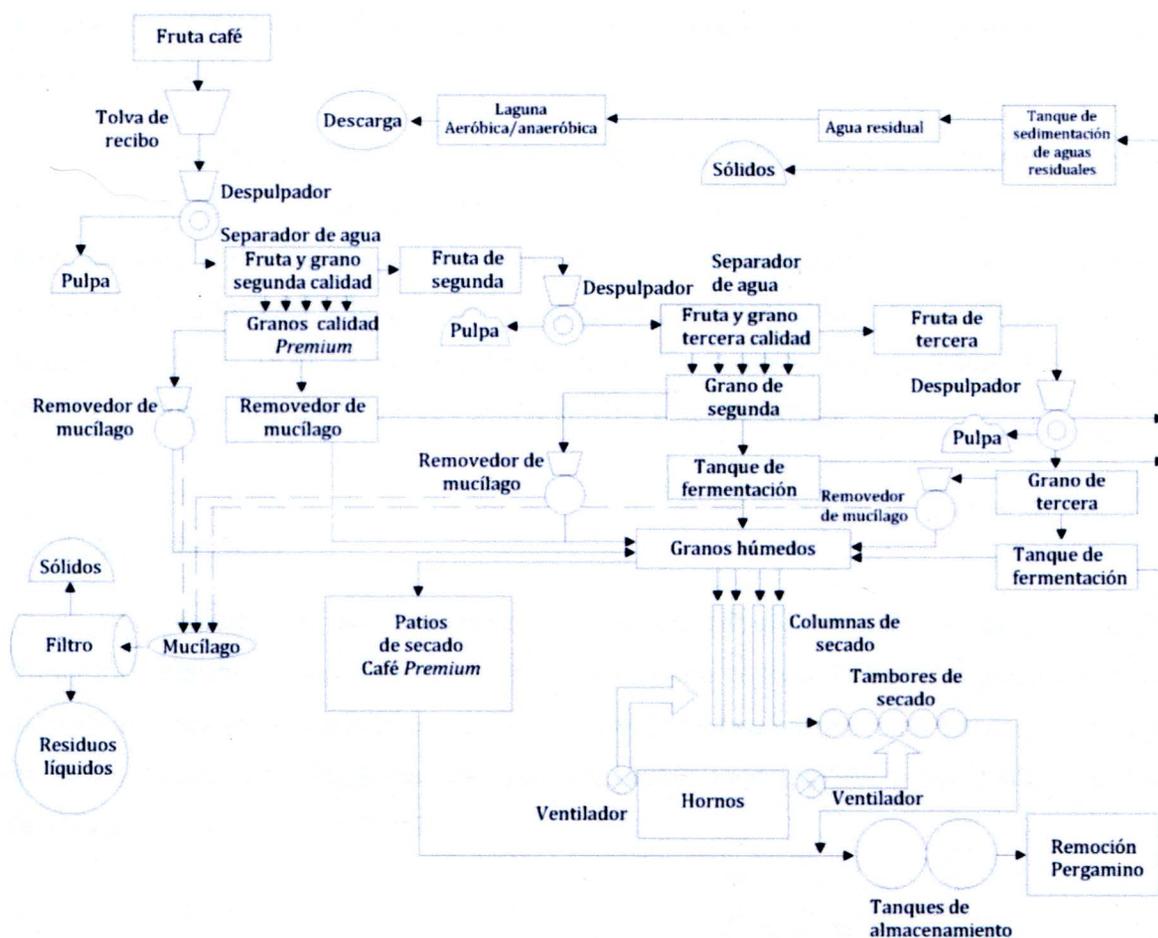


Figura 2. Procesamiento húmedo de café (Adaptado de Adams y Ghaly, 2007)

3.2. Composición de la broza de café

La pulpa de café, conocida en la jerga del beneficiado como broza, es el mayor subproducto de la industria cafetalera; ya que ésta representa el 40% del peso húmedo de los granos de café (Kassu, 2010; Muñoz y Soto, 2003).

En Costa Rica del proceso de despulpado se obtiene alrededor de 263 000 toneladas de broza fresca por año. La mayoría de esta broza se utiliza para hacer abono orgánico o combustible para los secadores, sin embargo, en algunos beneficios se presentan problemas

de espacio, o el transporte de la broza hacia lugares aptos para su procesamiento tiene costos muy altos (CYMA, 2006).

La broza está compuesta por pectinas, azúcares, cafeína, ácidos clorogénicos (fenoles principales en la composición), ácidos hidroxicinámicos, ácido cafeico, flavonoides, entre otros. Además, el principal pigmento presente en la broza son antocianinas, específicamente, la cianidin-3-rutinósido y la cianidin-3-glucósido (Arellano, 2009; Ariza, 2011; Barboza y Ramírez-Martínez, 1991; Braham y Bressani, 1978; Farah y Marino, 2006; Kassu, 2010; Mazzafera y Robinson, 2000; Vargas, 2009; Murthy y Naidu, 2012).

3.2.1. Antocianinas

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, compuestos por dos anillos aromáticos (figura 3); son hidrosolubles y además son responsables de la gama de colores abarcando desde el rosado salmón hasta rojo y desde violeta hasta el azul oscuro (según el pH) en varias frutas, vegetales y cereales (Garzón, 2008; Leyva, 2009; Prata y Oliveira, 2006; Torskangerpoll y Anderson, 2005).

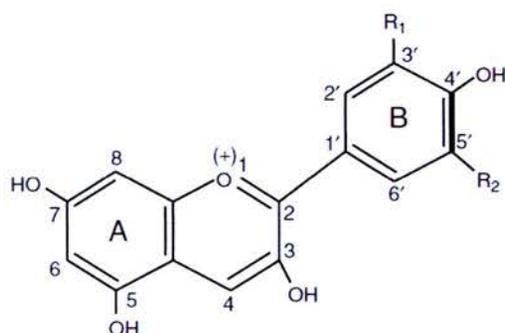


Figura 3. Estructura química general de las antocianinas (Guisti y Wrolstad, 2001)

Como se mencionó anteriormente, las antocianinas son el principal pigmento presente en la broza de café, contiene mayoritariamente cianidin-3-rutinósido (Ariza, 2011), cuya estructura se muestra en la figura 4.

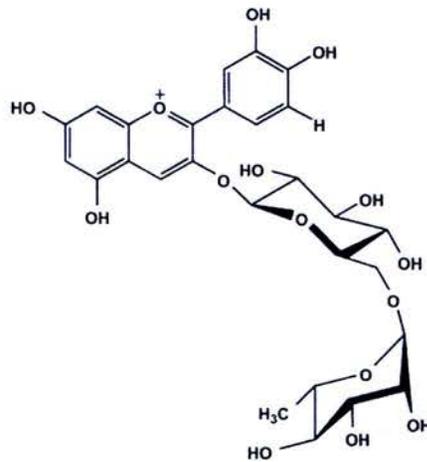


Figura 4. Estructura química de la cianidin-3-rutinósido (Adaptado de Torskangerpoll *et al.* 2005)

En general, las antocianinas son compuestos lábiles, su estabilidad depende de la temperatura de almacenamiento, luz, oxígeno, estructura, pH y concentración de las antocianinas (Leyva, 2009; Wrolstad *et al.*, 2005).

3.2.1.1. Efecto del pH

Las antocianinas pueden existir en cuatro especies distintas dependiendo del pH del medio donde se encuentran, afectando así el color de las mismas. Estas cuatro bases son: quinoidal, catión flavilio, pseudobase carbinol y chalcona (Calvacanti *et al.*, 2011). En la figura 5 se detallan dichas estructuras.

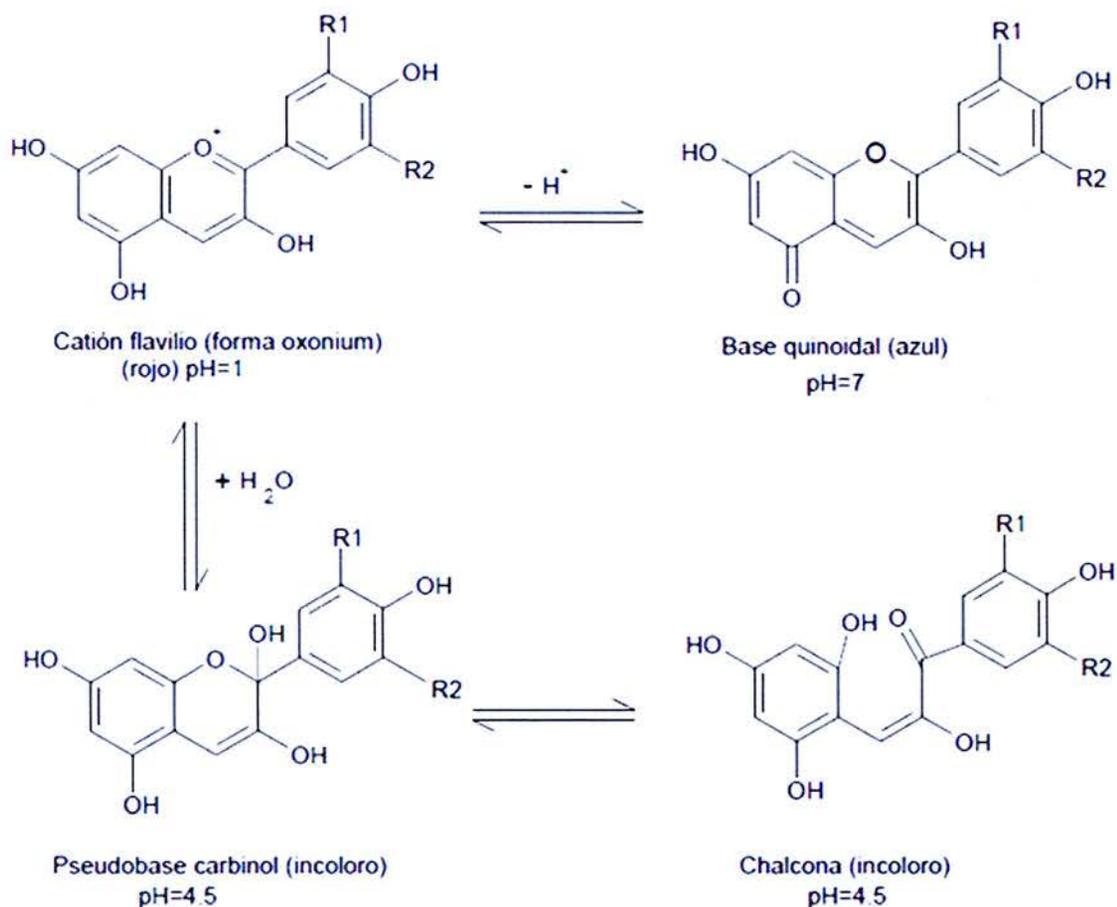


Figura 5. Cambios en la estructura y color de las antocianinas debido al cambio de pH (Leyva, 2009)

En medio ácido, la forma predominante es la del ion flavilio, el cual da coloración roja. Al aumentar el pH, el ion flavilio sufre un ataque nucleofílico generando la pseudobase carbinol a pH 4,5, lo que decolora el producto. Al acercarse a pH neutro, se forma la base quinoidal, dando coloraciones violetas. Las antocianinas tienen su máxima expresión de color a pH ácidos, alrededor de 1, dando como resultado coloraciones rojas intensas; sin embargo, se logran mantener a pH un poco mayores. Esta inestabilidad al pH genera problemas a la hora de estabilizar los pigmentos, es por esto que debe controlarse. En la industria alimentaria, se recomienda utilizar pH ácidos (tonalidades rojizas) o ligeramente neutros (tonalidades violetas/azules) para mantener el color deseado (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009; He y Guisti, 2010; Menéndez, 2008).

3.2.1.2. Efecto de la luz, temperatura y oxígeno

La luz es esencial para la biosíntesis de las antocianinas, sin embargo, en presencia de luz las antocianinas se degradan rápidamente, debido a que son oxidadas (Calvacanti *et al.*, 2011; Colín *et al.* 2009; Rein, 2005).

La estabilidad de las antocianinas presentes en los alimentos disminuye conforme aumenta la temperatura. Eventualmente, esta degradación genera el oscurecimiento del producto (Calvacanti *et al.*, 2011). Según Fuentes (2005), las antocianinas pueden mantenerse y no afectarse considerablemente a 30 °C.

Cabe destacar que existen algunas excepciones, por ejemplo, las antocianinas provenientes de las zanahorias negras logran mantenerse relativamente estables a temperaturas entre 70 y 80 °C. En algunos casos, es posible aplicar altas temperaturas por un corto tiempo, como una operación de escaldado, sin ocasionar pérdidas considerables (Patras *et al.* 2010; Delgado-Vargas *et al.*, 2000).

Este fenómeno de degradación se puede ver aumentado en presencia de oxígeno (Calvacanti *et al.*, 2011). El oxígeno actúa por medio de un mecanismo oxidativo directo o a través de oxidación indirecta, donde los componentes oxidados reaccionan con las antocianinas, dando lugar a productos incoloros o marrón (Rein, 2005).

3.2.1.3. Efecto de enzimas

Las antocianinas pueden ser degradadas enzimáticamente por la antocianin- β -glucosidasa y glucosidasas en general, generando una disminución en la coloración (Rein, 2005; Calvacanti *et al.*, 2011). Esta enzima se encuentra en frutas como mamón chino, también en algunos productos naturales como vinos, mermeladas y jaleas de algunas frutas. Sin embargo, no se ha reportado en café (Manzanares *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2005).

Enzimas que se encuentran naturalmente en frutas, como peroxidasas y fenolasas, más específicamente la polifenoloxidasas, también afectan a las antocianinas (Rein, 2005; Calvacanti *et al.*, 2011). El efecto de la polifenoloxidasas se detallará más adelante.

3.2.1.4. Efecto de la actividad de agua

La estabilidad de las antocianinas se puede aumentar notablemente al reducir la actividad de agua (a_w), pues una reducción en la misma está asociada con una menor tasa de degradación de las antocianinas. Este fenómeno ocurre debido a que la reacción de hidratación que conduce a especies incoloras de antocianinas está menos favorecida conforme el agua se vuelve limitante (Wrolstad *et al.*, 2005; Calvacanti *et al.*, 2011; Guisti y Wrolstad, 2001; Lopes da Silva, 2004).

Algunos autores indican que antocianinas en forma de polvo con un a_w menor o igual a 0,3 son relativamente estables a temperatura ambiente. Amr y Al-Tamimi (2007) determinaron que con un a_w de 0,37 se lograron mantener altos niveles de antocianinas durante el almacenamiento; inclusive, con una actividad de agua de 0,43 se logra disminuir notablemente la degradación de las antocianinas. Esta reducción del a_w se puede lograr por medio de secado por aspersión (Spray drying) o concentrando el producto (Selim *et al.*, 2008; Lopes da Silva, 2004).

3.2.1.4.1. Secado por aspersión

Al secar por aspersión normalmente se mezcla la materia prima con maltodextrina, la cual comúnmente se utiliza como vehículo en productos en polvo, por ejemplo en jugos de frutas. La maltodextrina previene la adhesión de partículas a las paredes del secador y se utiliza como microencapsulador, con el fin de crear una emulsión más estable y proteger las antocianinas de factores favorecedores de la oxidación (luz, aire y temperatura). Proteger de la temperatura durante este proceso es de suma importancia, puesto que el producto puede alcanzar altas temperaturas (Ariza, 2011; Calvacanti *et al.*, 2011; Chegini y Ghobadian, 2007; Parize *et al.*, 2008; Phisut, 2012; López *et al.*, 2009).

A pesar de trabajar con aire caliente, a altas temperaturas, normalmente 150 a 220 °C, la evaporación ocurre inmediatamente, y el producto llega a alcanzar temperaturas entre 50 y 80 °C, dependiendo de las condiciones iniciales, temperaturas que limitan la degradación térmica del producto (Phisut, 2012).

El secado por aspersión ofrece la ventaja de un secado rápido para productos sensibles al calor, así como un tamaño y densidad de partícula controlables dentro de ciertos límites. Los alimentos sensibles al calor se pueden secar a presión atmosférica y a bajas temperaturas, produciendo partículas relativamente uniformes y con casi la misma proporción de compuestos que en el líquido a secar. En general, se obtienen productos de buena calidad y bajo a_w , lo que aumenta su vida útil. Además de ser un proceso económico, se logra obtener un producto de volumen o peso menor que los productos líquidos, lo que facilita el transporte y el almacenamiento (García, 2011; Lozano, 2009; López *et al.*, 2009; Phisut, 2012).

3.2.1.4.2. Concentración

Una alta concentración de antocianinas genera una mayor estabilidad de color. Cuando la concentración alcanza valores altos, se presentan fenómenos de autoasociación. Estas uniones ocurren entre dos cationes flavilio, dos formas hemicetal, dos bases quinoidales, o entre una base quinoidal y un catión flavilio, protegiendo así la antocianina. Además, si se tiene una actividad de agua baja, se disminuye la interacción entre el agua y el catión flavilio, evitando la formación de una pseudobase inestable, y por consiguiente la degradación de las antocianinas (Broas, 2012; Calvacanti *et al.*, 2011; Garzón, 2008).

Para concentrar una disolución que contenga antocianinas es necesario realizar dicho procedimiento al vacío. La concentración al vacío es un procedimiento que permite evaporar el solvente o la disolución de extracción y además permite concentrar el principio activo hasta prácticamente sequedad. Durante este proceso se pueden alcanzar presiones absolutas de hasta 20 mbar dentro del recipiente, lo que permite trabajar a temperaturas bajas (25-30 °C), protegiendo así compuestos termosensibles. Otra ventaja es que al trabajar al vacío la sustancia no está en contacto con el aire, lo que protege el producto de posible oxidación. Durante este proceso es importante controlar los parámetros (temperatura y vacío), además del contacto con la luz (Condorchem, s.f.).

3.3. Pardeamiento enzimático

El pardeamiento enzimático está relacionado con la actividad de la enzima polifenoloxidasas (PFO; EC 1.10.3.2). La PFO es la enzima responsable de la hidroxilación de monofenoles a orto-difenoles y la oxidación de orto-difenoles a orto-diquinonas, estas reacciones se dan cuando el tejido donde se encuentra está dañado. Como resultado de dichas interacciones se forman compuestos con tonalidades desde café hasta negras, indeseables en la industria alimentaria (Mazzafera y Robinson, 2000; Leyva, 2009; Vargas, 2009).

En el caso del café, al ser despulpado, se daña el tejido, conduciendo a la formación de las quinonas. Las antocianinas se degradan enzimáticamente en presencia de polifenoloxidasas, además, la formación de compuestos pardos puede llegar a encubrirlas (Mazzafera y Robinson, 2000; Vargas, 2009; Patras *et al.*, 2010).

El pardeamiento enzimático en los alimentos, generalmente es indeseable, por lo que se han desarrollado métodos para evitar este fenómeno por medio de la inhibición de la enzima. La inactivación de la PFO se puede llevar por medio de la aplicación de calor, con el uso de agentes reductores, acidulantes, eliminando el oxígeno, por medio de reactivos químicos, entre otros (Herrera *et al.*, 2003).

3.3.1. Inhibición de PFO por medio de calor

La inactivación por medio de calor se puede llevar a cabo por medio del escaldado. Este consiste en un tratamiento térmico moderado, pero no se considera un método de conservación *per se*. El principal objetivo del escaldado es la inactivación enzimática, con lo que se disminuyen los daños provocados por enzimas como cambios de color o textura, la producción de aromas y sabores extraños y la degradación de nutrientes. Por lo tanto al inactivar las enzimas, específicamente la PFO, por medio del escaldado, se evita el encubrimiento de los colores propios de la pulpa (Brennan, 2006; Fellows, 2000).

Para lograr la máxima eficacia y eficiencia en un proceso de escaldado, se deben controlar muy de cerca los factores de tiempo/temperatura. Comúnmente se utilizan tiempos de proceso entre 1 y 15 minutos y temperaturas entre 70 a 100 °C. Para el caso de la polifenoloxidasas, esta se ve inhibida a temperaturas entre 70 y 90 °C; sin embargo, para lograr

una inactivación completa la temperatura y el tiempo de contacto varía de producto a producto. Por ejemplo, la PFO presente en las peras se logra inhibir a 80 °C durante 2 minutos, mientras que la enzima presente en el banano debe ser sometida a 90 °C durante 2 minutos para lograr una completa inhibición. En general, para obtener productos con oscurecimiento mínimo, se deben escaldar con vapor por 3 minutos a 100 °C o durante 5 minutos a 94 °C (Almeida y Nogueira, 1995; Bolaños, 2012; Brennan, 2006; Vargas, 2009).

3.3.2. Inhibición de PFO por medio del uso de acidulantes

Con respecto al uso de acidulantes, se pueden utilizar los ácidos ascórbico y cítrico, los cuales han dado buenos resultados en la inhibición de la enzima en papas, manzanas, entre otros (Berendt, 2009). Esta inactivación se logra debido a la disminución del pH, por debajo del pH óptimo de la actividad catalítica de la enzima (Rojano, 2009).

La PFO presente en el café tiene un pH óptimo entre 6 y 7 (Mazzafera y Robinson, 2000), al disminuirlo alrededor de 2,5 se logra inactivar, de forma que, si luego se aumenta el pH, la enzima no es capaz de funcionar nuevamente, impidiendo así el pardeamiento (Gil *et al.*, s.f.; Guerrero, 2009; Roquesa e Higuera, 2007).

El ácido ascórbico es un agente reductor y tiene un efecto inhibitor sobre la PFO. A pesar de no ser un inhibidor por sí mismo, reacciona con o-quinonas para formar productos no coloreados más estables. Este ácido es oxidado al ácido deshidroascórbico en forma irreversible durante el proceso de reducción, confiriendo una inhibición temporal, lo cual permite el pardeamiento posteriormente. Es por esto que varios autores recomiendan el uso de ácidos orgánicos como el cítrico, el cual en conjunto con el ácido L-ascórbico, mantiene estable el pH en el medio y controla el pardeamiento (Denoya *et al.*, 2012; Gil *et al.*, s.f.; Guerrero, 2009).

3.4. Estabilidad de los pigmentos naturales a lo largo del tiempo

Para determinar la calidad de los pigmentos naturales es importante determinar el color y la concentración del pigmento en sí. Mantener un color fuerte y estable en pigmentos naturales durante el procesamiento y almacenamiento puede ser problemático debido a las sensibilidades que presentan a la luz, oxígeno, temperatura, pH, entre otros (Garzón, 2008; Alighourchi y Barzegar, 2009; Bąkowska *et al.*, 2003). Para el caso de las antocianinas, durante el almacenamiento éstas se pueden degradar o también pueden verse polimerizadas, lo que de igual manera, disminuye el contenido de la o las antocianinas deseadas (Alighourchi y Barzegar, 2009).

Con respecto al color, para el caso de antocianinas, estudios en granadas, indican que principalmente a lo largo del almacenamiento se reducen los valores de a^* , es decir el rojo. Esta disminución se atribuye a la degradación de las antocianinas previamente mencionada, lo que hace notar la estrecha relación entre el color y el contenido de antocianinas (Alighourchi y Barzegar, 2009).

3.5. Teoría de la medida de color

La escala tridimensional CIELAB, como se muestra en la figura 6, se basa en la teoría de los colores opuestos y se miden los parámetros L^* , a^* , b^* ; donde L^* es la luminosidad que va de 0 (negro) a 100 (blanco); a^* es el eje rojo-verde, donde valores positivos son rojos y negativos verdes; el eje b^* corresponde a los colores amarillos (positivos) y azules (negativos). Tanto en el eje a^* como en el b^* , el valor cero indica neutralidad (Good, 2004).

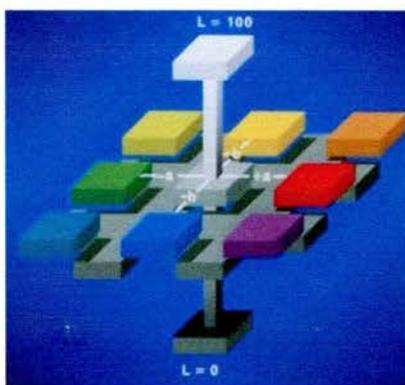


Figura 6. Diagrama del espacio colorimétrico CIELAB (Hunter Lab, 2008)

Los resultados del color instrumental se presentan en tres parámetros: luminosidad (L^*), tono (h°) y croma (C^*). Los últimos dos parámetros se basan en la mediciones de a^* (rojo-verde) y b^* (amarillo-azul) (Good, 2004; Wee, 2002). El tono se calcula como se muestra en la ecuación 1, y el croma con la ecuación 2.

$$h^\circ = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (1)$$

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (2)$$

En la figura 7 se presentan dichos parámetros gráficamente.

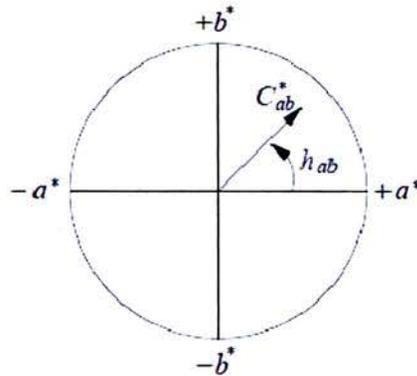


Figura 7. Esquema gráfico de los valores de croma y tonalidad (Wee, 2002)

El tono (h°) hace referencia al color en sí, ya sea un solo color, como rojo o azul, o una combinación de ellos como morado. La luminosidad (L^*) evalúa la sensación visual de claro u oscuro y finalmente el croma (C^*) evalúa la sensación de vivo u opaco (Montesinos, 2003). En la siguiente figura se presenta un esquema tridimensional de la percepción humana del color.

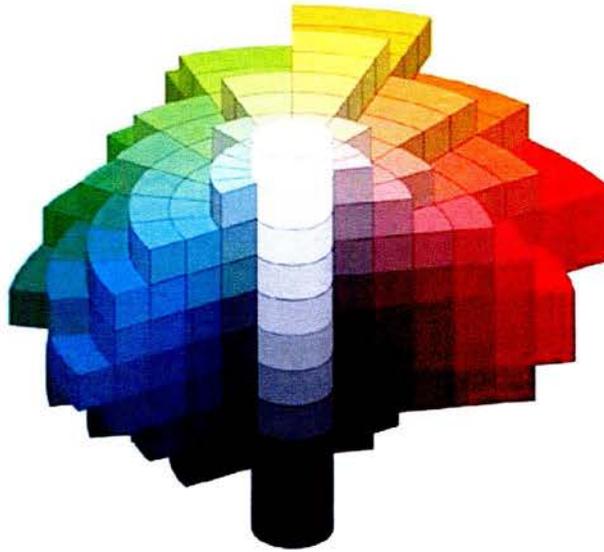


Figura 8. Esquema tridimensional de la percepción humana del color (Montesinos, 2003)

Basándose en el diagrama anterior, la luminosidad se relaciona con el eje central, el tono es el giro y el croma indica la separación respecto al eje central. Así, por ejemplo en una misma tonalidad, aquellos colores con mayor croma están más alejados del eje central que los colores con croma menor (Montesinos, 2003; Wee, 2002).

Otro valor que se utiliza para la comparación de colores es la diferencia total de color o ΔE (Wee, 2002; Montesinos, 2003). Este valor toma en cuenta la luminosidad, a^* y b^* , y se determina según la ecuación 3.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (3)$$

Según Montesinos (2003), un ΔE mayor a 5 se considera una diferencia perceptible no aceptable, mientras que valores menores a 5 y mayores a 1 indican que hay diferencia pero que es tolerable o aceptable a nivel industrial. Valores menores a 1 indican que no hay diferencia perceptible al ojo humano (Hunter Lab, 2008).

3.6. Teoría de la medición de antocianinas y compuestos oscuros

Como se mencionó previamente, las antocianinas cambian de color dependiendo del pH en que se encuentren; el oxonio coloreado predomina a pH 1,0, mientras que el hemiacetal incoloro se forma a pH 4,5. Este comportamiento facilita la cuantificación total de antocianinas sin importar la presencia de otros compuestos, por ejemplo, las antocianinas poliméricas no se ven afectadas por el pH, por lo tanto no son cuantificadas con este método.

Esta técnica se ha utilizado en la determinación del contenido de antocianinas en jugos de frutas, vinos, pigmentos naturales, entre otros (Guisti y Wrolstad, 2001; Lee *et al.*, 2005).

Por otra parte, la medición de compuestos oscuros se puede realizar mediante el índice de oscurecimiento. Este índice se utiliza como un método indirecto para detectar y monitorear la degradación de antocianinas a lo largo del tiempo (Del Pozo-Insafran *et al.*, 2007; Jiménez *et al.*, 2010). Para esto se miden dos absorbancias distintas, la primera donde se presenta la absorbancia máxima de las antocianinas (510 nm) y la segunda donde se detecten no solo antocianinas sino también productos pardos (420 nm) (Buglione y Lozano, 2002; Del Pozo-Insafran *et al.*, 2007; Jiménez *et al.*, 2010; Wrolstad, 2005).

De esta manera, al disminuir el contenido de antocianinas y/o aumentar la cantidad de productos pardos, se obtendrá un índice de oscurecimiento menor. Es decir, tiene una relación inversa, un índice de oscurecimiento menor, indica un mayor oscurecimiento, es decir una disminución en el contenido de antocianinas.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Localización del proyecto

El proyecto se realizó en las instalaciones de la Universidad de Costa Rica, en la sede Rodrigo Facio, localizada en San Pedro de Montes de Oca, en la provincia de San José. Los análisis físico-químicos se llevaron a cabo en el laboratorio de química de la Escuela de Tecnología de Alimentos de la Universidad de Costa Rica.

4.2. Materia prima

La materia prima principal es la broza de café, la cual se obtuvo de café arábigo, proveniente de la finca y beneficio Helsar en Zarcero, la cual se encuentra a una altitud de 1700 msnm. Se utilizó broza de café orgánico debido a que se procura que los productos orgánicos estén libres de agroquímicos. Se procuró que el café tuviese un grado de maduración adecuado para el uso comercial, es decir frutos con coloraciones rojizas.

La materia prima se recolectó durante dos visitas, el 12 y 19 de febrero de 2013. En la finca se seleccionó, se lavó y se procedió a despulpar. Una vez despulpado, se escaldó la mitad de las muestras y luego se sumergió cada muestra, tanto las escaldadas como las no escaldadas, en diferentes disoluciones para su posterior tratamiento.

4.3. Metodología

4.3.1. Pruebas preliminares

4.3.1.1. Efecto del escaldado

En el estudio realizado por Ariza (2011), previo a la extracción no se escaldó la muestra, sin embargo, estudios indican que la polifenoloxidasas presente en la pulpa de café actúa muy rápido una vez dañado el tejido, por lo que es de interés analizar si por medio del escaldado con vapor se logra mejorar el producto final (Mazzafera y Robinson, 2000).

Se prepararon tres lotes de broza no escaldada y tres lotes de broza escaldada al vapor durante 10 minutos, luego se realizó la extracción como se indicará en la sección 4.3.2.1 utilizando una disolución de ácido ascórbico al 2% m/m.

Se tomaron 150 mL de extracto de broza de café y se colocaron en *beakers* abiertos al aire, a temperatura ambiente y expuestos a la luz por cuatro días. Se tomaron fotos al día cero y a los cuatro días y se observó un cambio de color como se muestra en la figura 9.

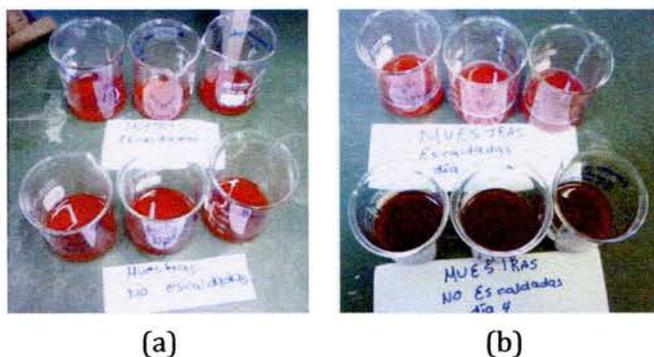


Figura 9. Extractos de broza de café, escaldados y sin escaldar, expuestos al aire y luz: (a) día cero; (b) día cuatro

Se puede observar, como los extractos al tiempo cero tenían una coloración similar, así como se muestra en la figura 9.a. Al pasar cuatro días de estar los extractos expuestos a la luz y al oxígeno, las muestras no escaldadas presentaron un cambio de color (figura 9.b), se oscurecieron, razón por la cual aumentó el interés de analizar muestras tanto escaldadas como no escaldadas.

4.3.1.2. Disolución de etanol acidificado como medio de extracción

Se utilizó una disolución de etanol al 90% acidificado con 0,03% ácido cítrico que, según Cano (2011) y Menéndez (2008) permite obtener un extracto de antocianinas.

Los resultados de las pruebas con la disolución sugerida no fueron satisfactorios, ya que, como se presenta en la figura 10, se obtuvo una coloración café desde el inicio de la extracción, distinta a la coloración rojiza deseada. Por esta razón, no se realizaron extracciones con dicha disolución.



Figura 10. Extracto de broza de café obtenido a partir de la disolución de etanol acidificada con 0,03% ácido cítrico

4.3.1.3. Funcionamiento y condiciones del rotavapor y grado de concentración del extracto

Los extractos obtenidos son acuosos, por lo que las condiciones del rotavapor deben ser adecuadas para lograr la evaporación del agua; y también a una temperatura donde se reduzca la degradación de las antocianinas. Según Fuentes (2005), las antocianinas pueden mantenerse y no afectarse considerablemente a 30 °C.

Según las tablas de vapor y líquido saturado, para que el agua hierva a 30 °C, la presión debe ser por lo menos de 4,25 kPa (42,5 mbar), sin embargo, para hacer el proceso más eficiente se puede trabajar a presiones menores.

El rotavapor disponible en el laboratorio de química de la Escuela de Tecnología de Alimentos, un Büchi R-124, cuenta con un baño de agua Büchi R-480, así como una bomba de vacío Büchi V-700, la cual tiene capacidad de alcanzar 24 mbar (Büchi Labortechnik, 2007).

Basándose en la capacidad del equipo, la temperatura máxima que se mencionó y los datos de presión de saturación del agua a diferentes temperaturas, se decidió utilizar el rotavapor a 25 mbar y una temperatura alrededor de los 30 °C.

Para determinar el grado de concentración del extracto se hicieron varias pruebas. El extracto de broza se llevó a tres concentraciones diferentes: 35,5, 55 y 67 °Brix. Este extracto concentrado se aplicó a un yogurt natural, donde se observó que con el más diluido no se logró una coloración adecuada, con las otras dos concentraciones se logró la coloración deseada; sin embargo, la manipulación del extracto con mayor cantidad de sólidos solubles

fue muy engorrosa (ya que adquirió una consistencia pegajosa, dificultando su manipulación), por lo tanto se decidió trabajar con extractos de broza de café a 55 °Brix.

4.3.1.4. Determinación de la reproducibilidad de las condiciones del proceso de secado y de evaporación

Con el fin de determinar si las operaciones de evaporación al vacío y secado por aspersión generan alguna variación en los resultados se tomó un lote de broza de café de 3 kg, se escaldó y se colocó una solución de ácido cítrico al 2% (1kg broza en 2 L de solución). Luego la solución donde se extrajeron los pigmentos se dividió en seis partes, tres se secaron y tres se evaporaron. Se evaporó y se secó cada muestra por aparte, luego se midieron las antocianinas totales y el color. Se calculó la desviación estándar de las tres muestras secadas y de las tres muestras evaporadas, para cada variable respuesta escogida, y se compararon con la desviación estándar de los valores de antocianinas y color del extracto sin tratar, dichos resultados se presentan en la sección 5. Si las desviaciones estándar cambiaban se podría definir que el atomizador y el rotavapor, por sí solos, ejercieron un efecto sobre la estabilidad de los pigmentos.

4.3.2. Pruebas definitivas

4.3.2.1. Tratamiento de la muestra antes de la extracción

Se seleccionaron los frutos de café orgánico con coloraciones rojizas, evitando los frutos verdes y los podridos. Una vez seleccionados se procedió a lavarlos exhaustivamente con el fin de eliminar tierra, hojas, palos y basuras en general. Luego se despulparon (chancaron), separando los granos de la pulpa; esta última se recolectó para seguir con el proceso de extracción.

4.3.2.2. Obtención del extracto de la broza de café

Como se mencionó anteriormente, se pueden utilizar distintas disoluciones para llevar a cabo una extracción adecuada, conservando las antocianinas. A partir de esto se aplicaron las siguientes disoluciones para la obtención del extracto de la broza de café:

1. 2% m/v ácido ascórbico (Ariza, 2011)
2. 1% m/v ácido ascórbico
3. 2% m/v ácido cítrico (Ariza, 2011; Vargas, 2009)
4. 1% m/v ácido cítrico
5. 1% m/v ácido cítrico + 1% m/v ácido ascórbico (Denoya *et al.*, 2012)
6. 0,5% m/v ácido cítrico + 0,5% m/v ácido ascórbico (Denoya *et al.*, 2012)

La extracción se realizó según el procedimiento de Ariza (2011), el cual consiste en una relación 2 a 1 de disolución – broza. Por lo que se sumergió 1 kg de broza en 2 L de disolución.

Se trabajó tanto con broza escaldada como no escaldada, dando como resultado 12 extractos (Cuadro III) por lote, se trabajó con tres lotes (ver anexo 9.1). Para el caso de los tratamientos con broza escaldada, antes de sumergirla en la disolución se escaldó 1 kg con vapor durante 10 minutos (por lotes) utilizando una vaporera de vegetales.

Cuadro I. Tratamientos para obtención del extracto de la pulpa de café aplicados a tres lotes

Tratamiento	Disolución	Concentración	Broza escaldada
1	Ácido ascórbico	2%	Sí
2			No
3	Ácido ascórbico	1%	Sí
4			No
5	Ácido cítrico	2%	Sí
6			No
7	Ácido cítrico	1%	Sí
8			No
9	Ácido cítrico + Ácido ascórbico	2%	Sí
10			No
11	Ácido cítrico + Ácido ascórbico	1%	Sí
12			No

Una vez sumergida la broza en la disolución se dejó en reposo durante 18 horas en recipientes plásticos, oscuros y tapados, a temperatura ambiente. Luego, se colaron las muestras y el extracto obtenido se filtró para eliminar impurezas. Estos extractos se almacenaron a -40 °C (Ariza, 2011).

4.3.2.3. Concentración y secado del extracto coloreado de la broza de café

4.3.2.3.1. Secado por aspersión

El secado por aspersión se realizó en el secador por atomización marca Büchi Mini Spray Dryer B-290 del laboratorio de química de la Escuela de Tecnología de Alimentos utilizando los siguientes parámetros: 160 °C de temperatura de entrada, el aspirador al 90%, bomba en 12% y limpiador o *nozzle* en 3 (Ariza, 2011). El extracto obtenido se mezcló con 8% de maltodextrina (% m/m) previo al secado.

Una vez obtenido el pigmento, se empacó en bolsas Doy Pack con laminado metálico y se almacenaron a -40 °C para su posterior análisis.

4.3.2.3.2. Concentración al vacío

Los extractos acuosos se concentraron a una presión de 25 mbar, a una temperatura de 30 °C y se trabajó con una velocidad de rotación de 15 r.p.m., por aproximadamente 6 horas. El recipiente contenedor fue cubierto con papel aluminio para evitar el contacto con la luz.

Igualmente, el concentrado obtenido, a 55 °Brix, se empacó en bolsas Doy Pack con laminado metálico y se almacenaron a -40 °C para su posterior análisis.

4.3.2.4. Efecto del tiempo de exposición a las condiciones ambientales sobre las antocianinas de los pigmentos secos y en el extracto

Se tomaron muestras del pigmento seco y del pigmento concentrado, que produjeron los mejores resultados (color más rojo y mayor cantidad de antocianinas), y se colocaron en bolsas laminadas transparentes. Se dejaron a temperatura ambiente expuestas a la luz del laboratorio por 28 días. Cada dos días, durante los primeros 14 días se midió el contenido de antocianinas, el índice de oscurecimiento y el color de estas muestras. Luego se hicieron dos mediciones más en los días 21 y 28.

4.3.3. Análisis de datos y diseño experimental

4.3.3.1. Efecto del escaldado, del medio de extracción y la concentración sobre el índice de oscurecimiento, antocianinas totales y el color instrumental del pigmento de la broza de café en los productos concentrados y en los productos secados por aspersión

Se utilizó un diseño irrestricto aleatorio con un arreglo factorial de 3 factores (escaldado, tipo de ácido y concentración), con niveles 2x3x2. Para cada uno de los tratamientos se realizaron tres repeticiones. Se aplicó un ANDEVA a los datos del pigmento concentrado y otro ANDEVA a los datos del pigmento seco, ambos con un nivel de significancia de 0,05.

Cuadro II. Diseño experimental de la extracción de un pigmento en polvo

Escaldado	Tipo de ácido	Concentración (%)
Sí	Ácido cítrico	1
Sí	Ácido cítrico	2
Sí	Ácido ascórbico	1
Sí	Ácido ascórbico	2
Sí	Ácido cítrico+ Ácido ascórbico	1
Sí	Ácido cítrico+ Ácido ascórbico	2
No	Ácido cítrico	1
No	Ácido cítrico	2
No	Ácido ascórbico	1
No	Ácido ascórbico	2
No	Ácido cítrico+ Ácido ascórbico	1
No	Ácido cítrico+ Ácido ascórbico	2

Cuadro III. Diseño experimental de la extracción de un pigmento concentrado

Escaldado	Tipo de ácido	Concentración (%)
Sí	Ácido cítrico	1
Sí	Ácido cítrico	2
Sí	Ácido ascórbico	1
Sí	Ácido ascórbico	2
Sí	Ácido cítrico+ Ácido ascórbico	1
Sí	Ácido cítrico+ Ácido ascórbico	2
No	Ácido cítrico	1
No	Ácido cítrico	2
No	Ácido ascórbico	1
No	Ácido ascórbico	2
No	Ácido cítrico+ Ácido ascórbico	1
No	Ácido cítrico+ Ácido ascórbico	2

En ambos casos, las variables respuesta son color instrumental (luminosidad, croma, y hue) y antocianinas totales.

4.3.3.2. Efecto de dos preparaciones del pigmento a partir de un extracto de broza de café (secado por aspersion y concentrado al vacío) sobre la conservación de antocianinas totales y el color instrumental

Se utilizó un diseño irrestricto aleatorio con un arreglo factorial de 4 factores (tratamiento, escaldado, tipo de ácido y concentración) con niveles 2x2x3x2. Se aplicó un ANDEVA a los datos para las variables respuesta: color (luminosidad, croma y hue) y antocianinas; con un nivel de significancia de 0,05.

Cuadro IV. Diseño experimental para comparar el efecto del secado y del concentrado en el pigmento obtenido a partir de la broza de café

Producto	Escaldado	Tipo de ácido	Concentración (%)
Polvo	Sí	Ácido cítrico	1
Polvo	Sí	Ácido cítrico	2
Polvo	Sí	Ácido ascórbico	1
Polvo	Sí	Ácido ascórbico	2
Polvo	Sí	Ácido cítrico+ Ácido ascórbico	1
Polvo	Sí	Ácido cítrico+ Ácido ascórbico	2
Polvo	No	Ácido cítrico	1
Polvo	No	Ácido cítrico	2
Polvo	No	Ácido ascórbico	1
Polvo	No	Ácido ascórbico	2
Polvo	No	Ácido cítrico+ Ácido ascórbico	1
Polvo	No	Ácido cítrico+ Ácido ascórbico	2
Concentrado	Sí	Ácido cítrico	1
Concentrado	Sí	Ácido cítrico	2
Concentrado	Sí	Ácido ascórbico	1
Concentrado	Sí	Ácido ascórbico	2
Concentrado	Sí	Ácido cítrico+ Ácido ascórbico	1
Concentrado	Sí	Ácido cítrico+ Ácido ascórbico	2
Concentrado	No	Ácido cítrico	1
Concentrado	No	Ácido cítrico	2
Concentrado	No	Ácido ascórbico	1
Concentrado	No	Ácido ascórbico	2
Concentrado	No	Ácido cítrico+ Ácido ascórbico	1
Concentrado	No	Ácido cítrico+ Ácido ascórbico	2

4.3.3.3. Efecto del tiempo de exposición a las condiciones ambientales sobre las antocianinas de los pigmentos secos y en extracto

El diseño es irrestricto aleatorio con un factor (tratamiento de extracción) y los niveles se definieron con base en las mejores condiciones de extracción, escogidas con el análisis de datos de la sección 4.3.3.2.

Para este análisis se colocaron muestras de pigmentos en polvo y concentrados en placas Petri sin tapa y se dejaron a condiciones ambientales. Al pasar 24 horas la muestra en polvo se humedeció (figura 11) de tal manera que se imposibilitó la toma de muestras por la dureza que adquirió.



Figura 11. Muestra de pigmento en polvo expuestas a condiciones ambientales, (a) 0 horas de exposición; (b) 24 horas de exposición

Al no poder tomar muestras debido a la textura de la muestra humedecida, se decidió empacar las muestras en bolsas laminadas transparentes, de esta manera, se exponen las muestras a la luz y a temperatura ambiente sin verse afectadas por la humedad.

Así mismo, se analizó la posibilidad de medir el color de las muestras en análisis directamente en la bolsa, esto con el fin de no desperdiciar muestra en los recipientes de medición. Para esto se midió el color de un objeto varias veces, tanto en bolsa como fuera de ella. El análisis de varianza de los parámetros de color se presenta en el anexo 9.2.

A pesar de obtener una diferencia significativa para los tres parámetros, se decidió realizar la medición de color con la muestra en la bolsa, ya que el empaque sería siempre el mismo, por lo que no incluiría error alguno.

Se aplicó una regresión con el tiempo como variable continua a los datos para las variables respuesta: color (luminosidad, croma y hue), antocianinas e índice de oscurecimiento; con un nivel de significancia de 0,05.

4.3.4. Métodos de análisis

4.4.3.1. Análisis físico-químicos

4.3.4.1.1. Determinación de antocianinas totales

A continuación se detalla la metodología para la determinación del contenido total de antocianinas monoméricas según el método propuesto por Guisti y Wrolstad (2001).

1. Se determinó el factor de dilución (FD) adecuado para la muestra, diluyendo con KCl 0,025 M, pH=1, hasta lograr que la absorbancia a $\lambda_{\text{vis-máx}}$ esté dentro del rango adecuado (entre 0,2 y 0,8) para que se cumpla la ley de Beer (Pino y Pérez, 1983). Para este caso, la $\lambda_{\text{vis-máx}}$ es 510 nm, según lo indicado por Wrolstad *et al.* (2005) para las antocianinas principales de la broza de café, cianidin-3-rutinósido y la cianidin-3-glucósido. Para lograr estas especificaciones se tomó una masa de la muestra alrededor de 0,40 g y se llevó a un balón de 25,0 mL por medio de trasvases cuantitativos.

Cabe destacar que se decidió medir masa en vez de volumen ya que había muestras sólidas, además, para las muestras líquidas, en algunos casos, las alícuotas variaban su volumen debido a la naturaleza de las mismas, éstas se deslizaban de la pipeta y de la micropipeta antes de comenzar a verter el contenido.

2. Se prepararon dos diluciones de la muestra; la primera con KCl 0,025 M, pH 1 y la otra con acetato de sodio 0,4 M, pH 4,5, utilizando el factor de dilución determinado en el punto 2. Se dejó en reposo las muestras por 15 minutos.
3. Se midió la absorbancia de ambas muestras a 510 y 700 nm (la longitud de onda de 700 nm se utilizó como parámetro de corrección), contra una cubeta con agua destilada. Las mediciones se hicieron en un lapso de tiempo entre 15 y 60 minutos.
4. Se calculó la absorbancia de la muestra diluida con la ecuación 3:

$$A = (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{510 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 4,5} \quad (3)$$

5. Se calculó la concentración de antocianinas monoméricas (mg/g) en la muestra original según la ecuación 4:

$$\text{Concentración de antocianinas monoméricas} = \frac{(A \cdot MM \cdot 1000 \cdot V)}{(\Sigma \cdot l \cdot m)} \quad (4)$$

Donde MM es la masa molar de la antocianina mayoritaria (cianidin-3-rutinósido (Ariza, 2011)), se utilizó $631 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Ariza, 2011; Polyphenols Laboratories, s.f.). A es el valor obtenido según la ecuación 3; 1000 es el factor de conversión de gramos a miligramos, V es el volumen del balón, Σ es la absorptividad molar, se utilizó $28\,800 \text{ L}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ (Ariza, 2011; Prata y Oliveira, 2006) y m es la masa de la muestra en gramos. En esta fórmula se asumió una longitud de recorrido de luz de 1 cm . El resultado obtenido se expresó en mg de cianidin-3-rutinósido/ g de muestra ($\text{mg cid-3-rut/g muestra}$).

Esta determinación se realizó con el espectrofotómetro marca Jasco, modelo V-630 del laboratorio de química de la Escuela de Tecnología de Alimentos

Es importante especificar que el resultado se expresó en base seca. Además, para obtener resultados comparables entre los concentrados y los polvos, a estos últimos se les calculó la materia seca proveniente de la maltodextrina y la materia seca del extracto inicial, con el fin de reportar los resultados en base seca excluyendo la cantidad que correspondía a maltodextrina.

Para esto se determinó la humedad del extracto inicial, la de la maltodextrina (MD) y la del producto final. Luego, la materia seca (MS) del producto final se multiplicó por el porcentaje de materia seca del extracto inicial sin maltodextrina. Este segundo porcentaje se obtiene al restar 1 menos el contenido de materia seca en el 8% de la maltodextrina. El contenido de materia seca en este 8% se calcula según la ecuación 5:

$$\frac{0,08}{MS_{prom i} + MS_{prom MD}} \quad (5)$$

Donde $MS_{prom i}$ es la materia seca promedio del extracto inicial y $MS_{prom MD}$ es la materia seca promedio de la maltodextrina.

4.3.4.1.2. Determinación del índice de oscurecimiento

Para la determinación de este parámetro se midió la absorbancia de la muestra a pH 1 (sección 4.4.3.1.1; punto 4) a dos longitudes de onda diferentes: 510 nm, donde se presenta la absorbancia máxima de las antocianinas, y 420 nm, donde se detectan no solo antocianinas sino también productos pardos (Buglione y Lozano, 2002; Del Pozo-Insafran *et al.*, 2007; Jiménez *et al.*, 2010; Wrolstad, 2005).

Este índice se calculó como se indica en la ecuación 6:

$$\text{Índice de oscurecimiento} = \frac{A_{510 \text{ nm}}}{A_{420 \text{ nm}}} \quad (6)$$

Para dicha determinación se utilizó el espectrofotómetro marca Jasco, modelo V-630 del laboratorio de química de la Escuela de Tecnología de Alimentos.

4.3.4.1.3. Determinación instrumental de color

El color se determinó con un colorímetro marca Hunter Lab, modelo Color Flex, del laboratorio de química de la Escuela de Tecnología de Alimentos, por medio de la escala CIE L*, a*, b* (CIELAB), utilizando una fuente de luz D65, un ángulo de visión de 10 °, con geometría óptica 45/0.

Una vez medidos dichos parámetros se procedió a determinar el croma (saturación), la tonalidad (hue) y la luminosidad (L*). Además, se tomaron fotografías para demostrar la diferencia de colores entre los pigmentos.

4.3.4.1.4. Determinación de materia seca

Para la determinación de materia seca tanto del producto en polvo como del producto concentrado, se determinó la humedad utilizando una estufa de vacío, como se indica en el método de la AOAC 920.151: Sólidos totales en frutas y productos de frutas (AOAC, 2002 a). Es importante el uso de arena para esta determinación.

Para el pigmento en polvo, inicialmente se le agregó maltodextrina (8% m/v) al extracto para secarlo, por lo que a la materia seca obtenida se le debía restar la maltodextrina

para calcular cuánto era pigmento, para obtener valores de materia seca comparables con la materia seca de los extractos concentrados.

4.3.4.1.5 Determinación de pH

Para determinar el pH de las disoluciones para la extracción se utilizó un pHmetro, previamente calibrado, siguiendo el método establecido por la AOAC 981.12: pH de alimentos acidificados (AOAC, 2002b).

4.3.4.1.6. Determinación de °Brix o sólidos solubles totales

A las muestras concentradas se les midió los °Brix para alcanzar el punto final de la concentración. Para esto se utilizó el método AOAC 932.12: Sólidos (solubles) en frutas y productos de frutas, utilizando un refractómetro Abbé con control de temperatura (AOAC, 2002c).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para poder obtener los extractos de broza de café, se sumergió cada lote de broza en diferentes disoluciones de ácido o de mezcla de ácidos.

A continuación se presentan los pH de las disoluciones utilizadas para las extracciones de los diferentes lotes.

Cuadro V. pH de las disoluciones utilizadas para obtener los extractos de pulpa de café

Disolución	Lote 1	Lote 2 y 3 ¹
1% ácido ascórbico	2,93 ± 0,05	2,89 ± 0,05
2% ácido ascórbico	2,78 ± 0,05	2,77 ± 0,05
1% ácido cítrico	2,39 ± 0,04	2,38 ± 0,05
2% ácido cítrico	2,20 ± 0,05	2,18 ± 0,04
0,5% ácido cítrico + 0,5% ácido ascórbico	2,54 ± 0,05	2,54 ± 0,05
1% ácido cítrico + 1% ácido ascórbico	2,21 ± 0,04	2,24 ± 0,05

Los resultados de pH se expresan como el promedio de cuatro réplicas para cada lote y su respectiva desviación estándar (\pm).

La polifenoloxidasas presente en el café tiene un pH óptimo (pH al que presenta una máxima actividad) entre 6 y 7 (Mazzafera y Robinson, 2000) y al disminuirlo alrededor de 2,5 se logra inactivar dicha enzima, evitando, así, un posible pardeamiento del producto (Gil *et al.*, s.f.; Guerrero, 2009; Roquesa e Higuera, 2007).

Como se presenta en el cuadro V, las disoluciones para la extracción de ácido ascórbico al 1 y 2%, a pesar de presentar pH menor al óptimo de la PFO, presentaron un pH mayor al de la inactivación (2,5 según Gil *et al.* (s.f.), Guerrero (2009) y Roquesa e Higuera (2007)), por lo que la broza sumergida en dichas disoluciones tenía posibilidad de presentar pardeamiento enzimático.

También se analizó la reproducibilidad del proceso de secado por aspersion y del proceso de concentración con el fin de confirmar que dichos procesos se comportan siempre igual, es decir que los cambios que las operaciones generaban a las diferentes muestras fueran siempre constantes.

¹ El pH de las disoluciones extractores de los lotes 2 y 3 se encuentran agrupados puesto que se utilizó la misma disolución y la recolección se llevó a cabo el mismo día.

Para esto se extrajo la broza de café en una disolución de ácido cítrico al 2% m/v. El extracto obtenido se dividió en seis partes o sublotos, tres se secaron y tres se concentraron y se comparó el color y contenido de antocianinas de cada uno. A continuación se presentan los resultados obtenidos.

Cuadro VI. Color y contenido de antocianinas para los extractos de broza de café obtenidos con una disolución de 2% de ácido cítrico para el análisis de reproducibilidad de las operaciones

Extracto	Antocianinas (mg cid-3-rut/g muestra)	Color			
		C*	h°	L*	ΔE
Inicial (sin tratamiento)	1,129 ± 0,009	16,9 ± 0,3	61,2 ± 0,3	9,7 ± 0,2	0,5
Secado por aspersión	1,30 ± 0,03	24,9 ± 0,7	9 ± 1	75,2 ± 0,5	1,0
Concentrado	0,90 ± 0,01	13,7 ± 0,7	14 ± 1	5,2 ± 0,4	0,8

Los resultados para cada operación se expresan como el promedio de tres réplicas para cada uno de los tres sublotos (n=9) y su respectiva desviación estándar (±).

La desviación obtenida para los parámetros de color fue muy similar tanto en las muestras secadas por aspersión como para las muestras concentradas, difiriendo únicamente en 0,1 en la luminosidad. Para el caso de las antocianinas, la diferencia en la desviación fue de 0,02 mg/g.

Cabe destacar también, con respecto al color, se obtuvo diferencia (ΔE) entre las muestras secadas, las muestras concentradas y los extractos iniciales, sin embargo, estos valores fueron iguales o menores a 1, lo que quiere decir que entre las réplicas de cada tipo de producto, no hubo diferencia perceptible al ojo humano de acuerdo con lo expuesto por Montesinos (2003) y Hunter Lab (2008).

A pesar de generar diferencias en las desviaciones, se puede decir que ambos procesos eran reproducibles y no conllevaron a un error en las comparaciones realizadas.

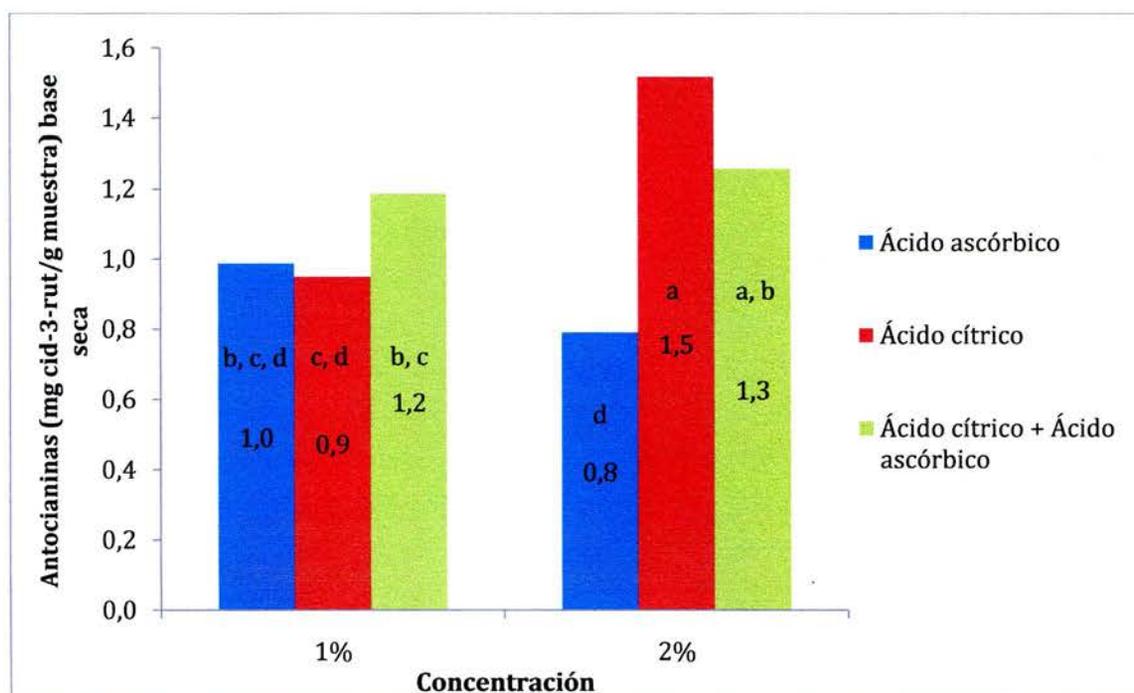
5.1. Efecto del escaldado y del medio de extracción (ácido cítrico, ácido ascórbico y mezcla de ambos) sobre el color instrumental y antocianinas totales del pigmento de la broza de café secado por aspersion y concentrado al vacío.

5.1.1. Pigmento de la broza de café concentrado al vacío

5.1.1.1. Antocianinas en el extracto de broza de café concentrado al vacío

Para el contenido de antocianinas en el extracto de broza de café concentrado al vacío se encontró un efecto significativo ($p \leq 0,05$) de la combinación del tipo de ácido y su concentración (interacción y se presentan dichos resultados en el anexo 9.3.1, cuadro A4). No hubo diferencias debidas al proceso de escaldado ($p > 0,05$) en el contenido de antocianinas.

En la figura 12 se presenta el efecto que tuvo en conjunto el tipo de ácido y su concentración sobre el contenido de antocianinas del producto obtenido.



Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 12. Contenido de antocianinas resultante del promedio de las muestras escaldadas y no escaldadas, aplicados a los extractos de broza de café concentrados al vacío tratados con dos concentraciones de varios ácidos

Para el caso de los ácidos utilizados al 1%, no se presentó diferencia significativa en el contenido de antocianinas para los diferentes ácidos aplicados. Para el caso de los ácidos al 2%, se determinó que las muestras tratadas con ácido ascórbico presentaron un contenido de antocianinas significativamente menor que los tratados con ácido cítrico o la mezcla de ácidos. Según Garzón (2008) y Guisti y Wrolstad (2001), la presencia de ácido ascórbico puede acelerar la degradación de las antocianinas, pues al haber una mayor cantidad de ácido ascórbico, se presenta una mayor degradación de las mismas. Esta degradación se debe a la condensación entre el ácido ascórbico y la molécula de la antocianina, debido a esta condensación, ambos compuestos se degradan (De Rosso y Mercadante, 2007).

El hecho que en los productos obtenidos con la extracción tanto con ácido cítrico como con la mezcla de ácidos al 2% se obtuvo un mayor contenido de antocianinas se pudo deber al efecto protector que tiene el ácido cítrico sobre las antocianinas, donde dicho ácido funciona como agente quelante, secuestrando el cobre del centro activo de la enzima, logrando así la inhibición de la misma (Hernández, 2009; Sarni-Machado et al., 2006; Jing y Guisti, 2008; Durge *et al.*, 2013). Al estar en una concentración mayor logró proteger más antocianinas que la disolución al 1%.

5.1.1.2. Color en el extracto de broza de café concentrado al vacío

Para una mejor comparación entre los resultados numéricos obtenidos y los colores vistos al ojo humano, se tomaron fotografías a todos los pigmentos obtenidos, incluyendo los tres lotes estudiados. A continuación se presentan dichas fotografías.

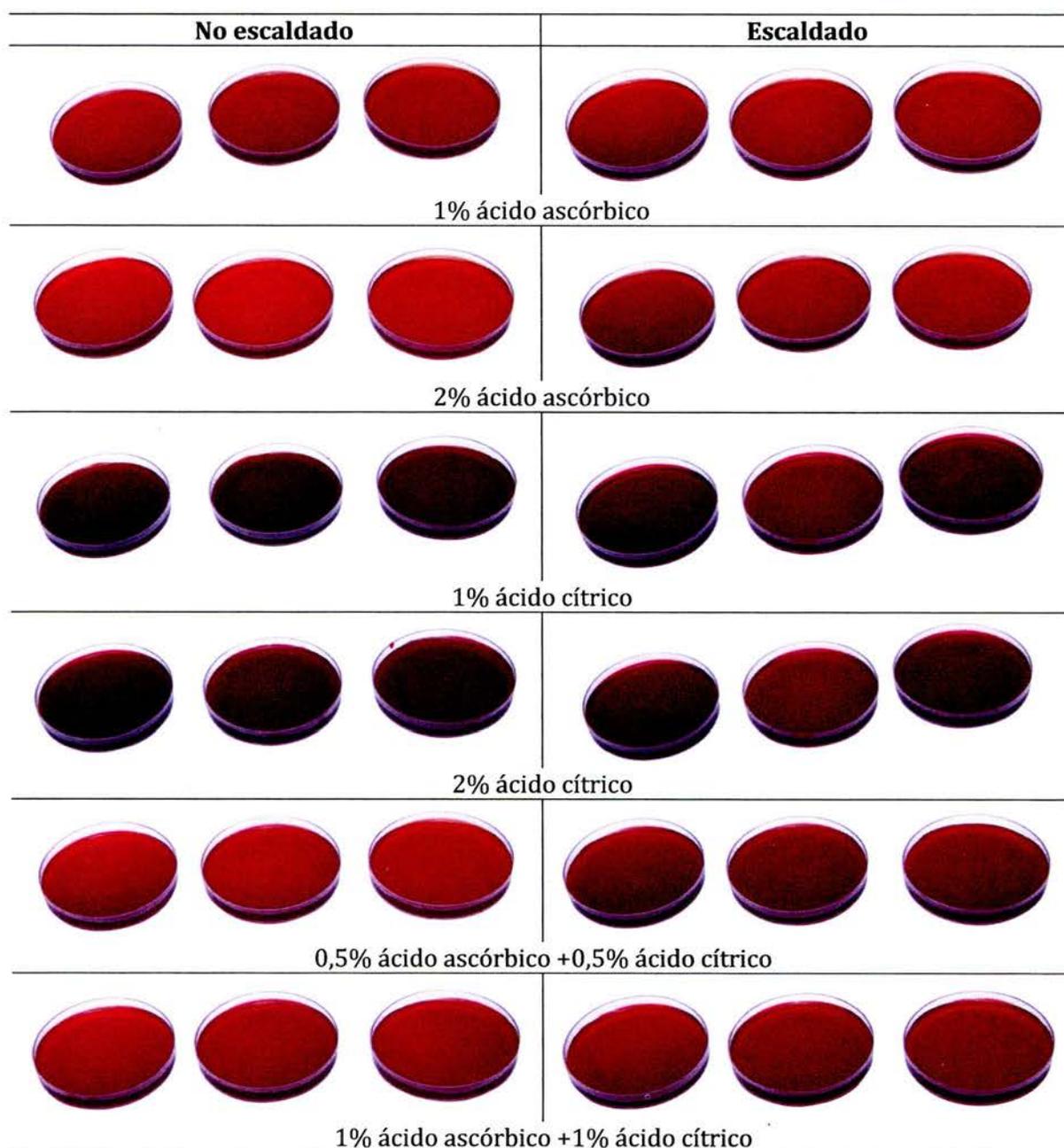


Figura 13. Pigmentos obtenidos al concentrar al vacío los extractos de broza de café. De izquierda a derecha, lote 1, 2 y 3 para cada conjunto de productos

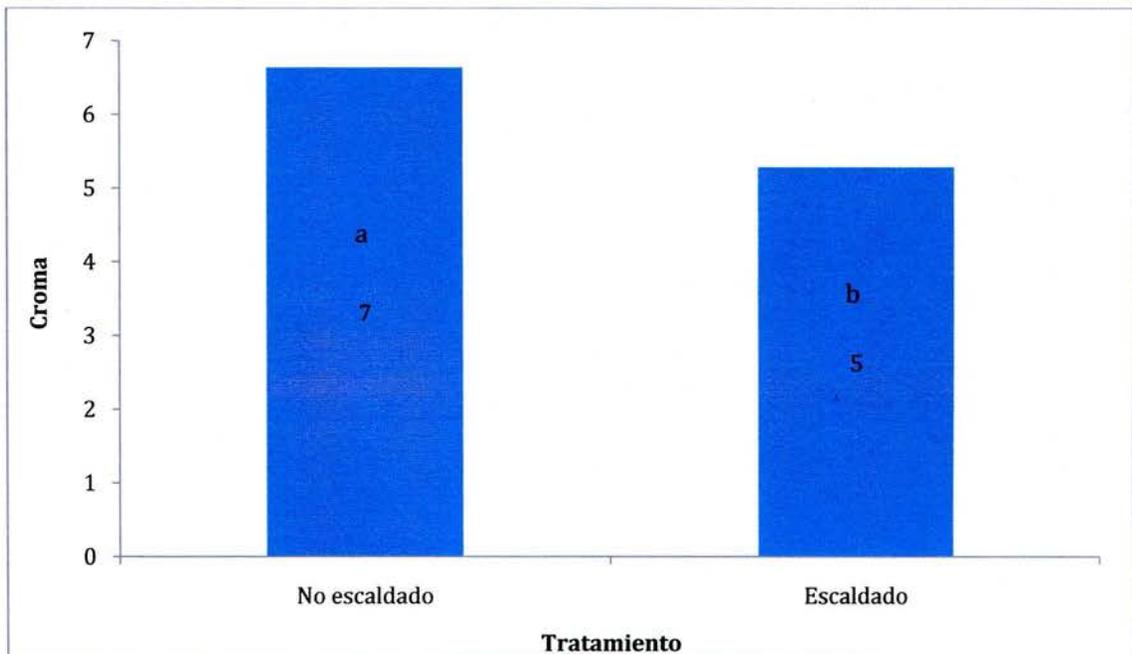
En la figura anterior se puede observar que, a simple vista, los pigmentos obtenidos a partir de disoluciones de ácido cítrico fueron más oscuros que los obtenidos con ácido ascórbico y con la mezcla de ácidos. La mezcla de ácidos permitió extraer pigmentos menos oscuros que con ácido cítrico, pero más oscuros que con ácido ascórbico. Para determinar las diferencias se utilizó la medida instrumental de color.

Se comparó el tratamiento (escaldado y no escaldado), la muestra o ácido utilizado para la extracción y la concentración de ácido utilizada. En las siguientes secciones se presentarán los resultados con diferencias significativas.

5.1.2.1.1. Croma

Para el croma se presentó diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre escaldado y no escaldado y para la combinación tipo de ácido y su concentración (interacción, se presentan dichos resultados en el anexo 9.3.3.1, cuadro A6).

En la figura 14 se presenta la diferencia encontrada entre tratamiento, es decir entre muestras escaldadas y no escaldadas.



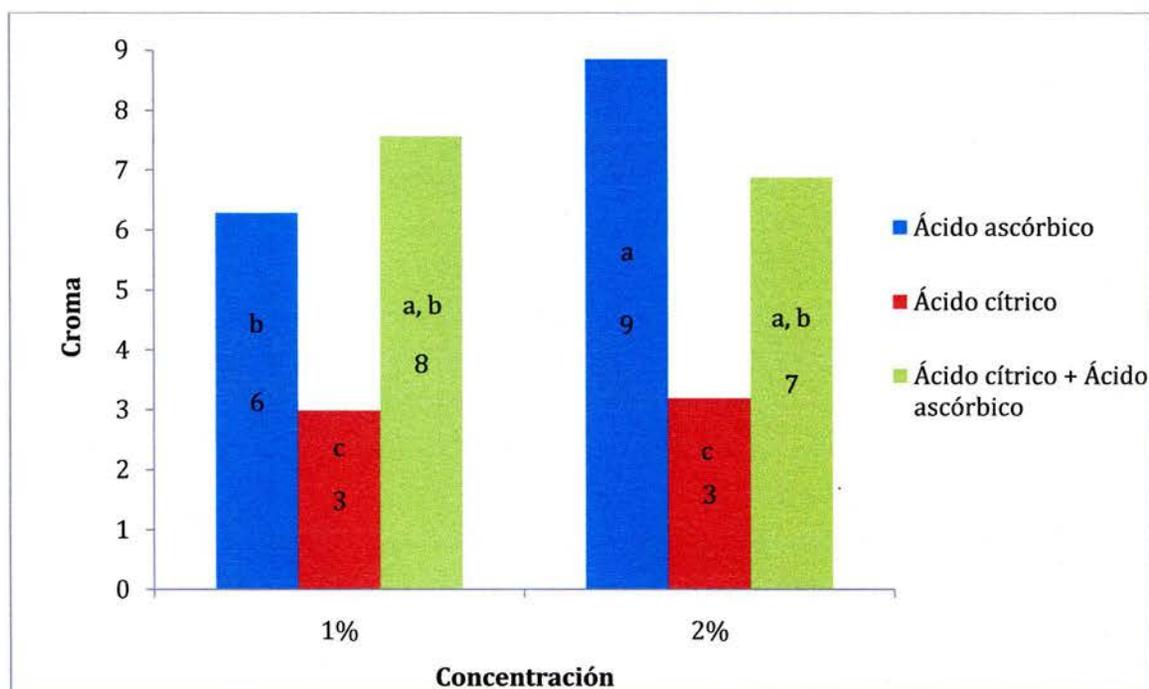
Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 14. Croma resultante del promedio de las muestras, tratadas con varios ácidos a dos concentraciones, de extractos de broza de café concentrados al vacío

La diferencia encontrada indicó que, en promedio, los productos obtenidos a partir de broza no escaldada presentaron un croma mayor, es decir, fueron más vivos o menos opacos.

Patras *et al.* (2010) y Delgado-Vargas *et al.* (2000) comentan que algunas antocianinas pueden mantenerse relativamente estables a temperaturas entre 70 y 80 °C, durante periodos cortos, sin ocasionar pérdidas considerables; lo cual ocurrió en este caso pues, como se mencionó, no hubo diferencias en el contenido de antocianinas de las muestras escaldadas y no escaldadas. Sin embargo, Yan *et al.* (2008) encontraron una correlación positiva entre el croma y la degradación de las antocianinas donde, al disminuir el croma se generan coloraciones más opacas, afectando el croma de algunos productos. Es posible que una pequeña degradación térmica de antocianinas (debido al escaldado) se refleje mayormente en la opacidad del color.

En la figura 15 se presentan los resultados de la interacción tipo de ácido*concentración.



Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

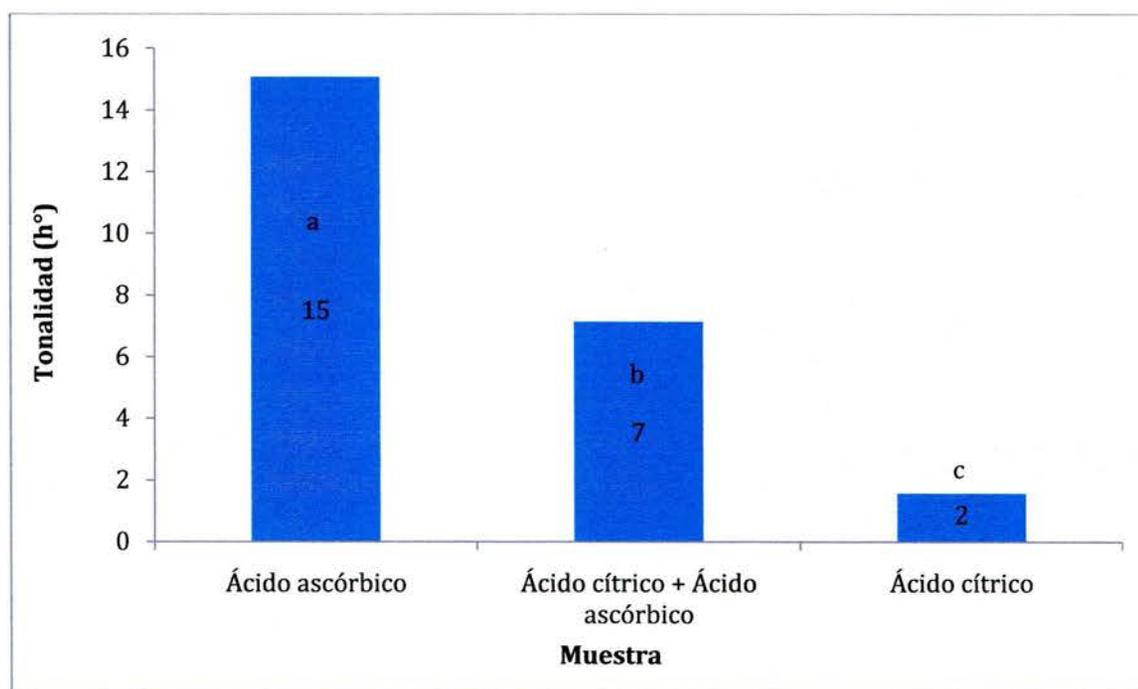
Figura 15. Croma resultante del promedio de las muestras escaldadas y no escaldadas, aplicados a los extractos de broza de café concentrados al vacío, tratados con dos concentraciones de varios ácidos

Para ambas concentraciones, el ácido cítrico fue el que presentó valores menores en el croma. La diferencia de color respecto a los demás ácidos, en ambas concentraciones, se puede observar en la figura 13, donde se nota que la coloración de los productos obtenidos con ácido cítrico fueron menos vivos. Esta diferencia se pudo deber a dos razones distintas: la degradación de las antocianinas o a una alta concentración de las mismas.

Como se mencionó anteriormente (sección 5.1.1.1, figura 12), el producto obtenido con disolución de ácido cítrico al 2% fue el que presentó mayor contenido de antocianinas, por lo que el alto contenido de antocianinas pudo haber generado una disminución en el croma, como lo reportaron Mozetic *et al.* (2004). En lo que respecta al croma bajo del producto obtenido a partir de la disolución de ácido cítrico al 1%, se pudo deber a un contenido menor de antocianinas que generaron productos de degradación que no eran rojos, debido a que dicha disolución no presentó el efecto protector mencionado.

5.1.2.1.2. Tonalidad (*hue*)

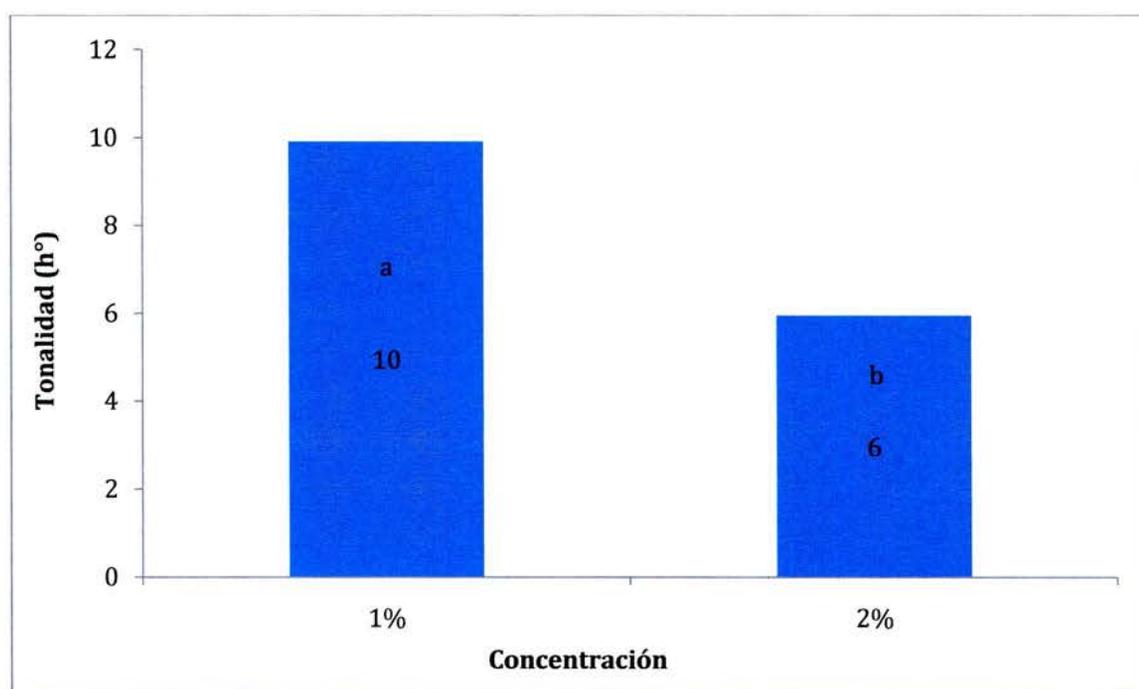
Para la tonalidad se presentaron diferencias significativas en el tipo de ácido y en la concentración utilizada para la extracción ($p \leq 0,05$) (se presentan los resultados en el anexo 9.3.2.2, cuadro A7). El escaldado no generó diferencias en la tonalidad de los extractos ($p > 0,05$).



Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 16. Tonalidad resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldados y no escaldados, tratados con diferentes ácidos a 1% y 2% de concentración de ácido, concentrados al vacío

Como se observa, las muestras tratadas con ácido ascórbico presentaron una tonalidad mayor, seguidas por las muestras tratadas con la mezcla de ácidos y por último por ácido ascórbico. Sin embargo, los tres tipos de ácido generaron tonalidades entre -15 y 15°, lo que indica color rojo puro (Hunter Lab, 2008). Así mismo, la concentración que se utilizó para la extracción también generó diferencia entre tonalidades, tal y como se presenta en la figura 17.



Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 17. Tonalidad resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldados y no escaldados, de diferentes ácidos, concentrados al vacío

Se presentó una diferencia entre el promedio de la tonalidad de las muestras tratadas con diferentes porcentajes de ácidos donde un 1% de ácido presentó una tonalidad mayor que las muestras tratadas con 2% de ácido.

Cabe destacar que la tonalidad tiene 360°, de 0° a 180° y de 0° a -180°. El valor predeterminado de una gama de colores es de 90°, de los cuales 30° corresponden a colores plenos y los restantes 60° tienen un efecto difuminado, es decir, hacia otras coloraciones (Zuber, 2010).

El color rojo se encuentra entre -45° y 45°, las muestras analizadas se encontraron entre dicho rango (sin importar el tipo de ácido ni la concentración), a pesar de haber encontrado diferencias numéricas, según lo presentado en las figuras 16 y 17, los productos cumplieron con el propósito de obtener un pigmento rojo, tal y como se presentó en la figura 13.

5.1.2.1.3. Luminosidad

Para la luminosidad se presentaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en la interacción tipo de ácido*concentración (se presentan los resultados en el anexo 9.3.2.3, cuadro A8). El escaldado no generó diferencias en la tonalidad de los extractos ($p > 0,05$).

El tipo de ácido o mezcla de ácidos en conjunto con la concentración utilizada también presentaron un efecto sobre la luminosidad del producto final. Dichos resultados se resumen en la figura 18.

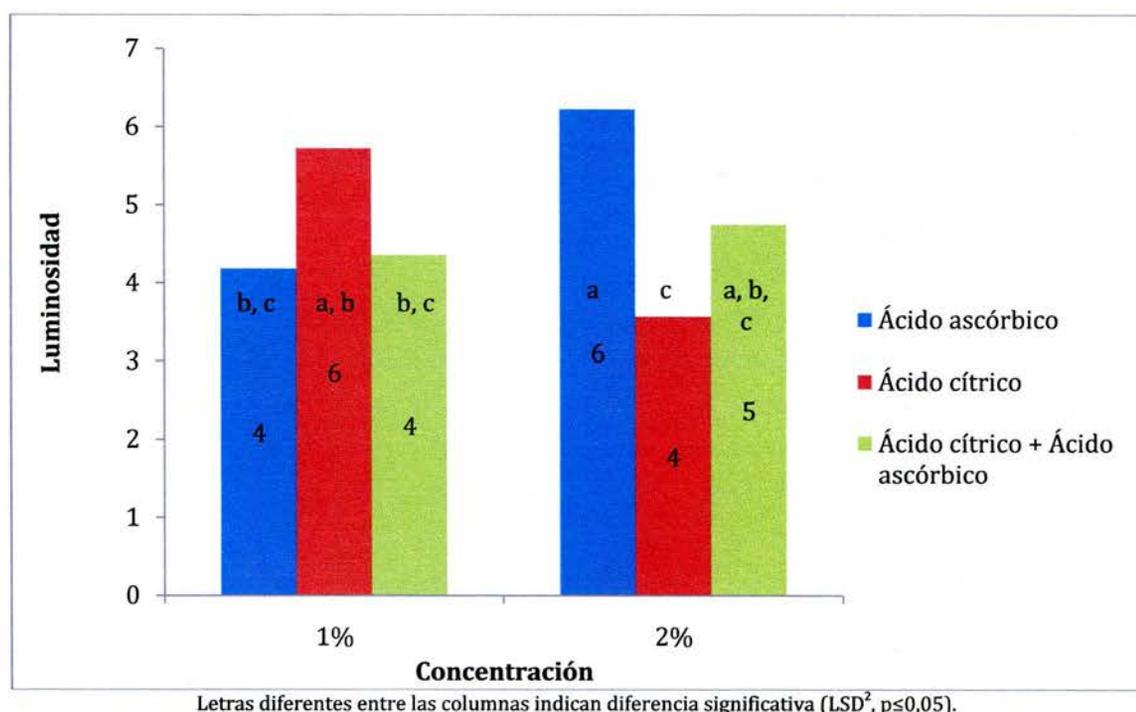


Figura 18. Luminosidad resultante del promedio de las muestras escaldadas y no escaldadas, aplicados a los extractos de broza de café concentrados al vacío, tratados con dos concentraciones de varios ácidos

Para el caso de los productos obtenidos a partir de la extracción con disoluciones al 1%, estadísticamente, no hubo diferencias en la luminosidad de los mismos ($p \leq 0,05$), al

² Al realizar la comparación de medias de Tukey no se presentó diferencia significativa entre los ácidos y la mezcla de ácidos en ninguna de las dos concentraciones, razón por la cual se decidió realizar una prueba menos conservadora, LSD.

comparar el resultado estadístico con las imágenes presentadas en la figura 13, se puede observar que esto no se cumplió, puesto que al ojo humano sí se observó una leve diferencia en la claridad de los productos, donde los productos tratados con ácido cítrico, al ojo humano, se ven más oscuros.

Las disoluciones al 2% generaron comportamientos diferentes, donde sí hubo diferencia significativa entre los productos obtenidos a partir de ácido ascórbico y ácido cítrico, siendo estos últimos los más oscuros. La mezcla de ácidos no generó diferencia en la luminosidad con respecto a los otros productos tratados con disoluciones al 2%.

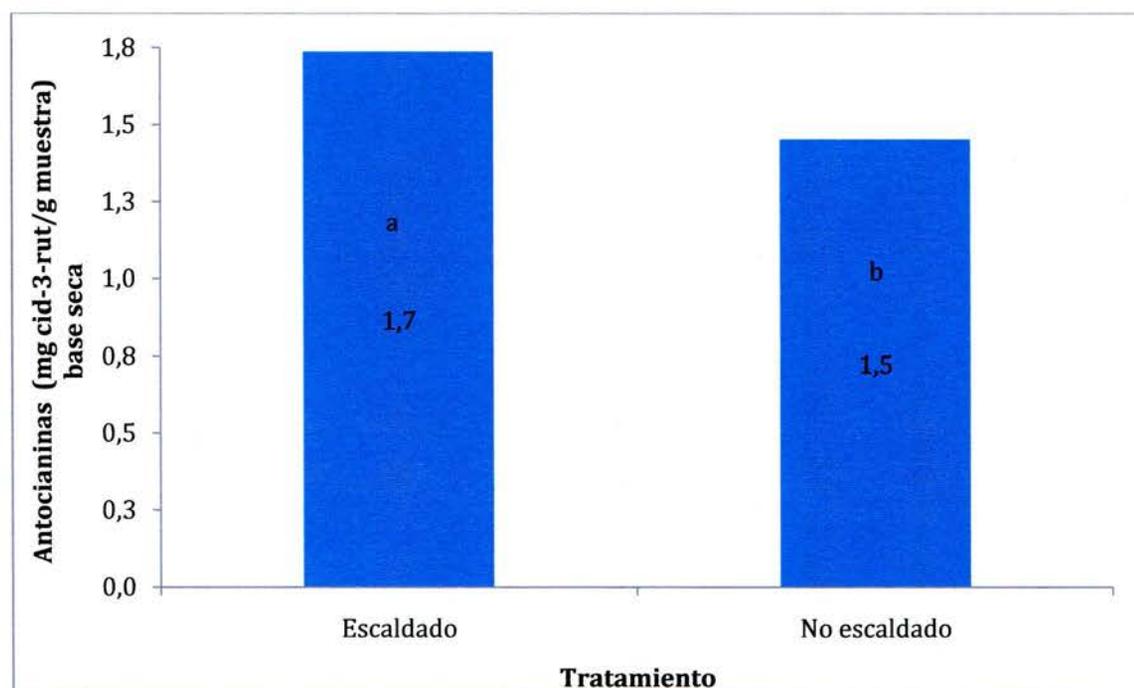
Estas diferencias de luminosidad obtenidas se pudieron deber al contenido de antocianinas de los productos, en donde una alta luminosidad podría indicar un menor contenido (Mozetic *et al.*, 2004).

5.1.2. Pigmento de la broza de café secado por aspersión

5.1.2.1. Antocianinas en el extracto de broza de café secado por aspersión

Con respecto al contenido de antocianinas en el extracto de broza de café secado por aspersión se determinó diferencia significativa ($p \leq 0,05$) para escaldado y para la interacción tipo de ácido*concentración (se presentan dichos resultados en el anexo 9.3.3, cuadro A9).

En la figura 19 se presenta el efecto generado por el escaldado sobre el contenido de antocianinas, donde se observa que en promedio, las muestras escaldadas contenían una mayor cantidad.



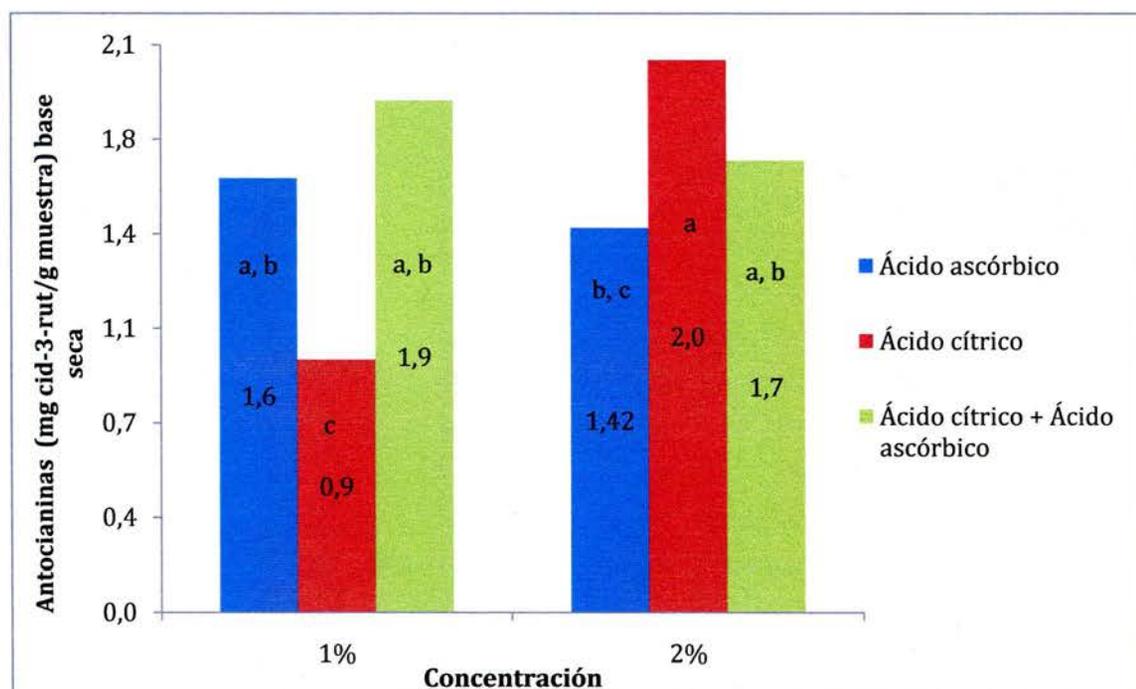
Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 19. Contenido de antocianinas promedio de las muestras escaldadas y las no escaldadas de extractos de broza de café tratados con diferentes ácidos a dos concentraciones y secados por aspersión

El efecto generado por el escaldado se debió a que con dicho tratamiento se logró inhibir la PFO, enzima que, como se mencionó anteriormente, degrada las antocianinas (Mazzafera y Robinson, 2000; Patras *et al.*, 2010). Por lo tanto, al inhibir dicha enzima, los

productos escaldados tuvieron un factor de degradación de antocianinas menor que los no escaldados, dando como resultado un mayor contenido de antocianinas.

En la figura 20 se presenta el efecto en conjunto del tipo de ácido utilizado para la extracción y de la concentración de los ácidos sobre el contenido promedio de antocianinas.



Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 20. Contenido de antocianinas resultante del promedio de las muestras escaldadas y no escaldadas, aplicados a los extractos de broza de café secados por aspersión, tratados con dos concentraciones de varios ácidos

Se puede observar como en promedio, al utilizar una disolución al 1%, se obtuvo menor contenido de antocianinas en aquellos productos tratados con ácido cítrico. Los tratados con ácido ascórbico y la mezcla de ambos presentaron un contenido de antocianinas mayor.

Con respecto a las disoluciones de extracción al 2%, el producto tratado con ácido cítrico, como se observa en la figura 16, fue el que presentó mayor contenido de antocianinas, caso contrario a lo sucedido con las disoluciones al 1%, lo cual se debe que la disolución de ácido cítrico al 2% ejerció un efecto protector que éste tiene sobre las antocianinas (efecto

que no se obtiene con las disoluciones al 1%), tal y como se presentó de igual manera en los productos concentrados (Sarni-Machado et al., 2006; Jing y Guisti, 2008; Durge *et al.*, 2013).

5.1.2.2. Color en el extracto de broza de café secado por aspersión

Al igual que para los pigmentos concentrados al vacío, se tomaron fotografías a todos los pigmentos obtenidos al secar por aspersión los distintos extractos de broza de café. A continuación se presentan dichas fotografías.

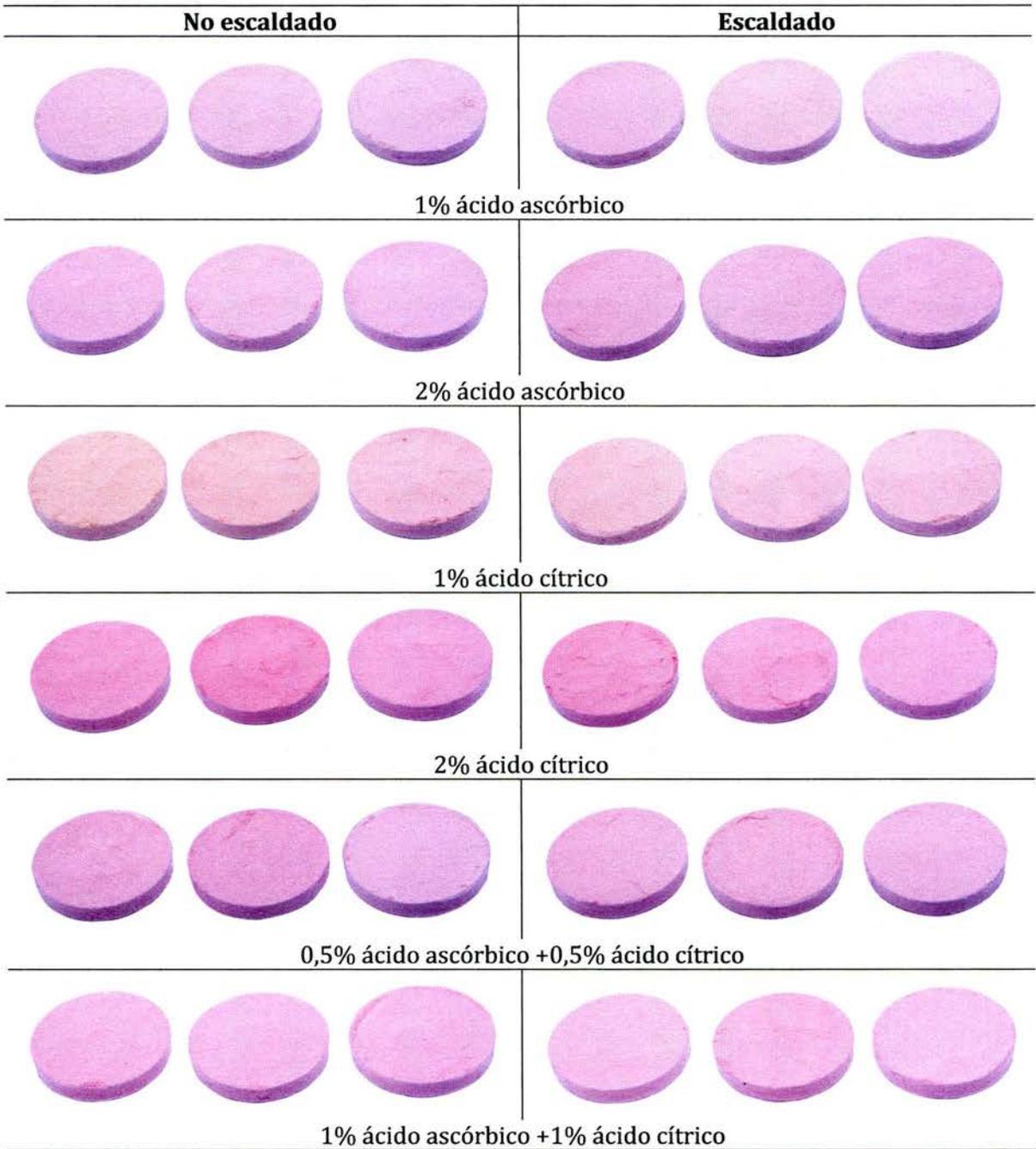


Figura 21. Pigmentos obtenidos al secar por aspersion los extractos de broza de café. De izquierda a derecha, lote 1, 2 y 3 para cada conjunto de productos

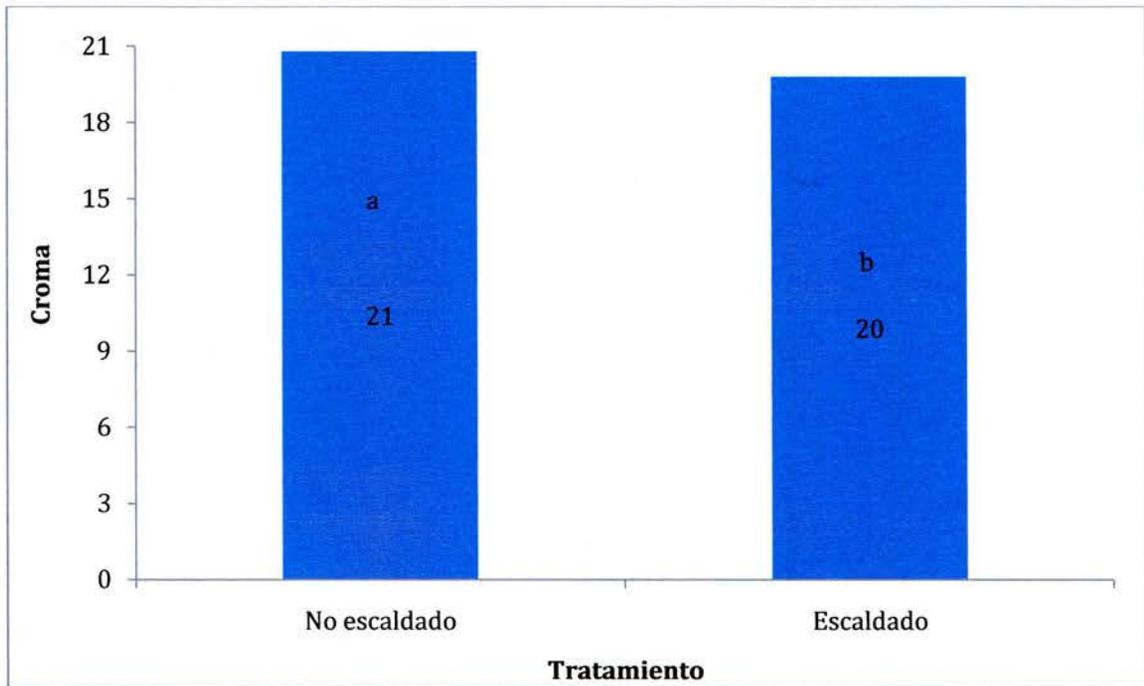
Se puede observar que los pigmentos obtenidos con ácido cítrico al 2% fueron más oscuros que los demás pigmentos, mientras que los extraídos a partir de ácido cítrico al 1% presentaron una tonalidad amarillenta. Los pigmentos obtenidos con ácido ascórbico fueron los más claros. Al comparar entre los pigmentos escaldados y los no escaldados para cada ácido y concentración, no se logró observar diferencia de color.

Al igual que para los pigmentos concentrados, con los extractos secados por aspersion se comparó el tratamiento (escaldado y no escaldado), la muestra o ácido utilizado para la extracción y la concentración de ácido utilizada. A continuación se presentan los resultados que presentaron diferencia significativa.

5.1.2.2.1. Croma

Para el croma se determinó diferencia significativa ($p \leq 0,05$) entre producto escaldado y no escaldado y para la interacción tipo de ácido*concentración (se presentan dichos resultados en el anexo 9.3.4.1, cuadro A10).

Según los resultados obtenidos, tal y como se presenta en la figura 22, en promedio, las muestras no escaldadas superaron al promedio del croma de las muestras escaldadas, es decir, fueron más saturadas.

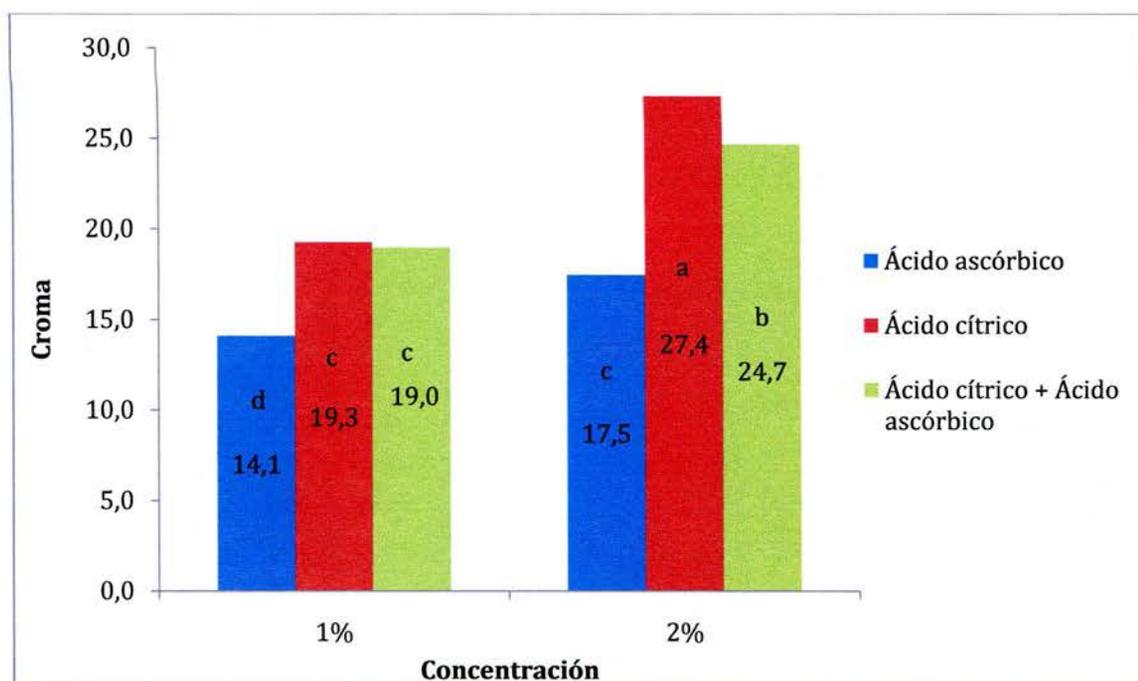


Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 22. Cromo resultante del promedio de las muestras escaldadas y las no escaldadas de extractos de broza de café, tratadas con diferentes ácidos a dos concentraciones, secados por aspersion

Al observar las fotografías de la figura 22, entre tratamientos (escaldado o no escaldado) no se logró apreciar la diferencia que se determinó numéricamente. Al calcular la diferencia total entre los promedios de color de las muestras escaldadas y de las muestras no escaldadas se obtuvo un valor de 1,2. Por lo que prácticamente la diferencia determinada instrumentalmente no se logró percibir al ojo humano (Montesinos, 2003).

Existe un efecto significativo entre la concentración en la que se realizó la extracción y el tipo de ácido que se utilizó. Dichos resultados se observan a continuación.



Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 23. Croma resultante del promedio de las muestras escaldadas y no escaldadas, aplicados a los extractos de broza de café secados por aspersion, tratados con dos concentraciones de varios ácidos

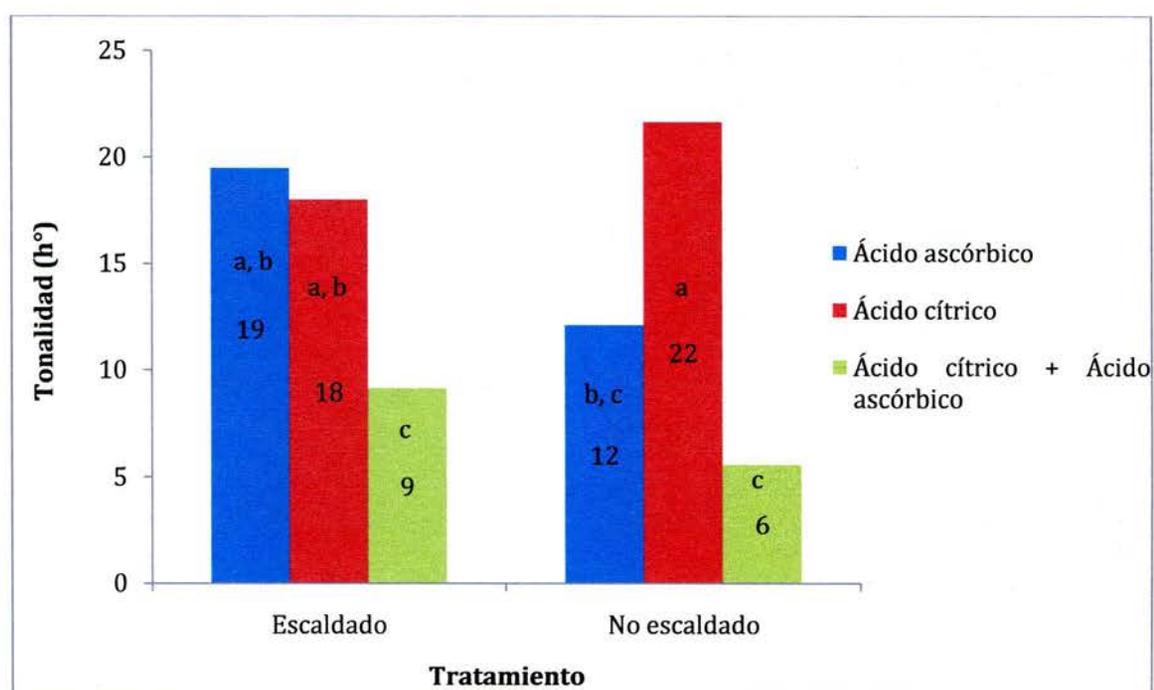
Como se mencionó anteriormente, el croma evalúa la sensación de vividez u opacidad. Al comparar entre los diferentes ácidos utilizados al 1%, se observa que el ácido que generó diferencias fue el ascórbico. Mientras que para la concentración de 2%, todas las muestras presentaron, en promedio, diferentes cromas, lo cual se aprecia claramente en la figura 21.

Además, al comparar específicamente las muestras tratadas con ácido cítrico, se observa como la tratada con 1% presentó un croma menor, dando como resultado un color menos vivo. Dicho fenómeno se pudo deber a que la disolución de ácido cítrico al 2% retuvo mayor cantidad de antocianinas que la disolución al 1% (sección 5.1.1.2). Este mismo resultado se obtuvo en un análisis de la coloración y retención de antocianinas en arroz previo a su extrusión, donde se obtuvo el mismo comportamiento con respecto al croma y además la disolución de ácido cítrico al 2% logró retener un 63,24% de antocianinas, mientras que la disolución al 1% solamente un 59,97% ($p < 0,05$) (Durge *et al.*, 2013).

5.1.2.2.2. Tonalidad

Para la tonalidad se determinó diferencia significativa ($p \leq 0,05$) para las interacciones tratamiento de escaldado*tipo de ácido y tipo de ácido*concentración (se presentan dichos resultados en el anexo 9.3.4.2, cuadro A11).

En la figura 24 se presentan los resultados para la interacción entre el tipo de ácido utilizado para la extracción y el tratamiento de escaldado que recibió la broza previo a la extracción.

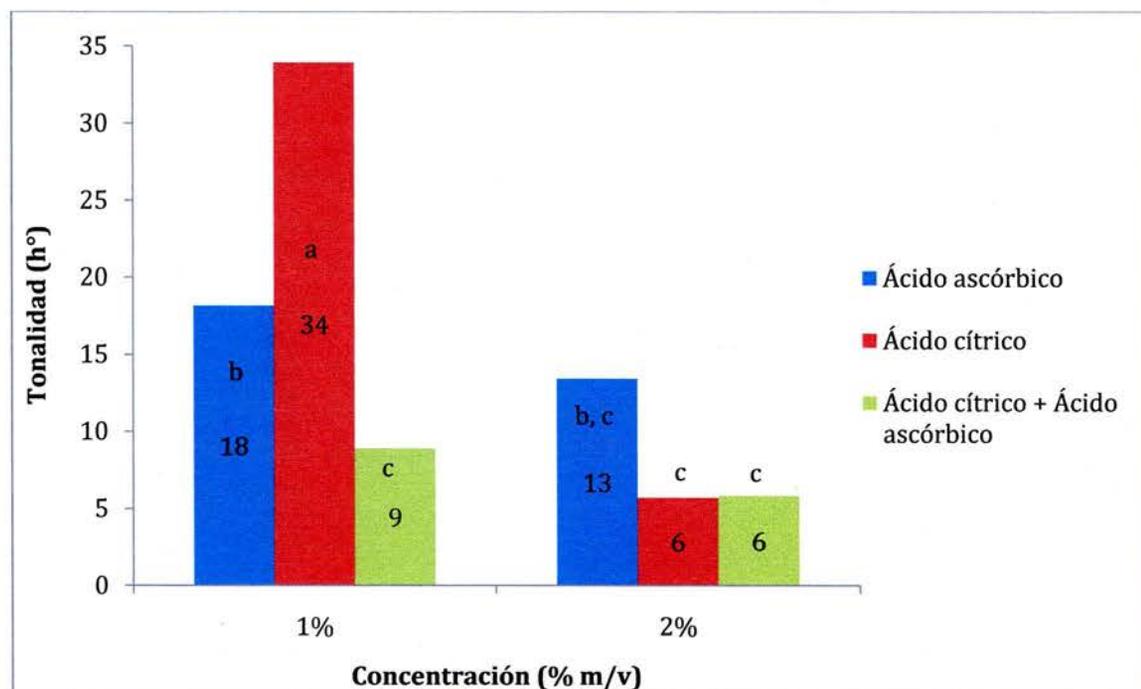


Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey $p \leq 0,05$).

Figura 24. Tonalidad resultante del promedio de las muestras tratados con dos concentraciones de varios ácidos, escaldadas y no escaldadas, aplicados a los extractos de broza de café secados por aspersión.

Anteriormente se mencionó que el color rojo se encuentra entre -45° y 45° , por lo que todas las muestras presentaron coloraciones rojizas.

Cabe resaltar que en la figura 21 se observa un grupo de productos que se aprecian a simple vista muy diferentes del resto. Estos fueron tratados con 1% m/v de ácido cítrico, ya sea escaldado o no escaldado. Dicha diferencia se presenta numéricamente en la figura 25.



Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 25. Tonalidad, en promedio de extractos de broza de café escaldados y no escaldados, secados por aspersión tratados con diferentes concentraciones de diferentes ácidos

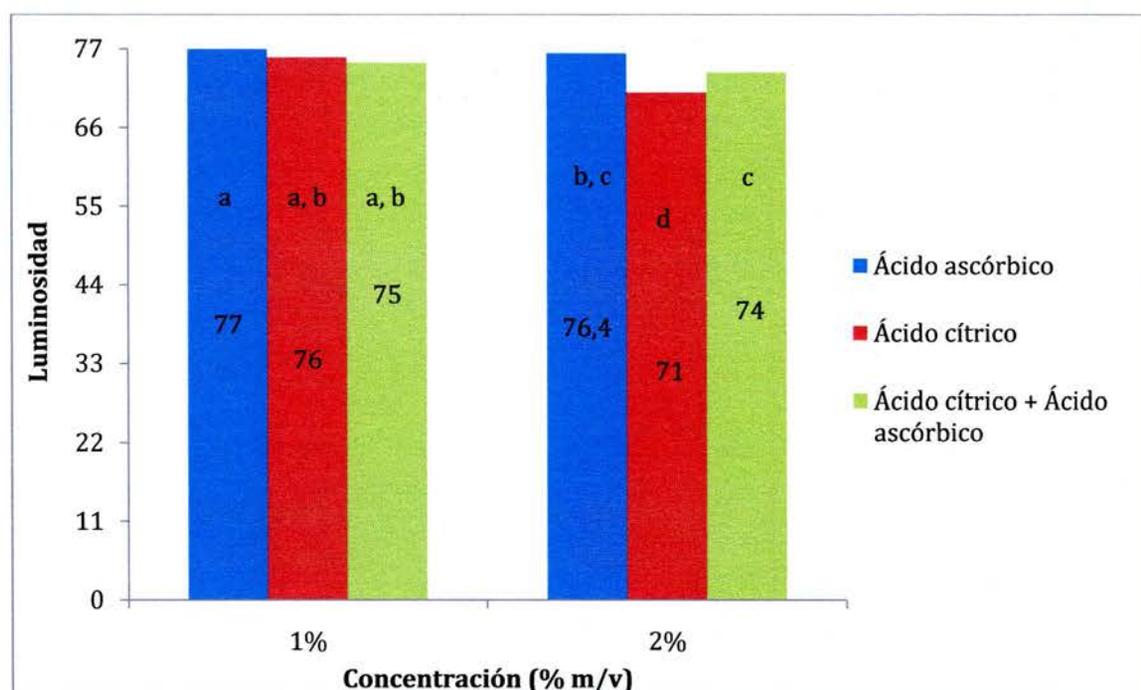
Todas las tonalidades se encontraron entre el rango -45° y 45° , sin embargo, la muestra tratada con la disolución de 1% de ácido cítrico, se encontró en promedio alrededor de 34° , es decir fuera del rango de rojo puro (-15° y 15°), más bien se encontró difuminado hacia tonalidades amarillentas como se observa en la figura 21. Esta tonalidad amarillenta se debe a que la disolución en mención no logró una buena retención de las antocianinas (Durge *et al.*, 2013), como se menciona en la sección 5.1.2.2.

Para los otros dos ácidos al 1% m/v, al igual que para los ácidos al 2% m/v, se presentaron tonalidades en el rango de rojo puro (a excepción del ácido ascórbico al 1%, sin embargo, este no presentó diferencia significativa respecto a la combinación de ácidos).

5.1.2.2.3. Luminosidad

Para la luminosidad se determinó diferencia significativa ($p \leq 0,05$) para la interacción tipo de ácido*concentración (se presentan dichos resultados en el anexo 9.3.4.3, cuadro A12). El escaldado no generó diferencias en la tonalidad de los extractos ($p > 0,05$).

Al igual que en casos anteriores, el ácido utilizado y la concentración del mismo generaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en la luminosidad del producto final. Estos resultados se resumen en la figura 26.



Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 26. Luminosidad, resultante del promedio de muestras escaldadas y no escaldadas, de los extractos de broza de café secados por aspersion tratadas con diferentes concentraciones de diferentes ácidos

Los resultados de la figura anterior se pueden corroborar visualmente en la figura 21, donde las muestras tratadas con disoluciones al 1% fueron similares con respecto a la luminosidad, únicamente. Las muestras tratadas con disoluciones al 2% (ácido cítrico y mezcla de ácidos) fueron menos claras, lo que se debió a un mayor contenido de antocianinas como se analizó en la sección 5.1.2.2.

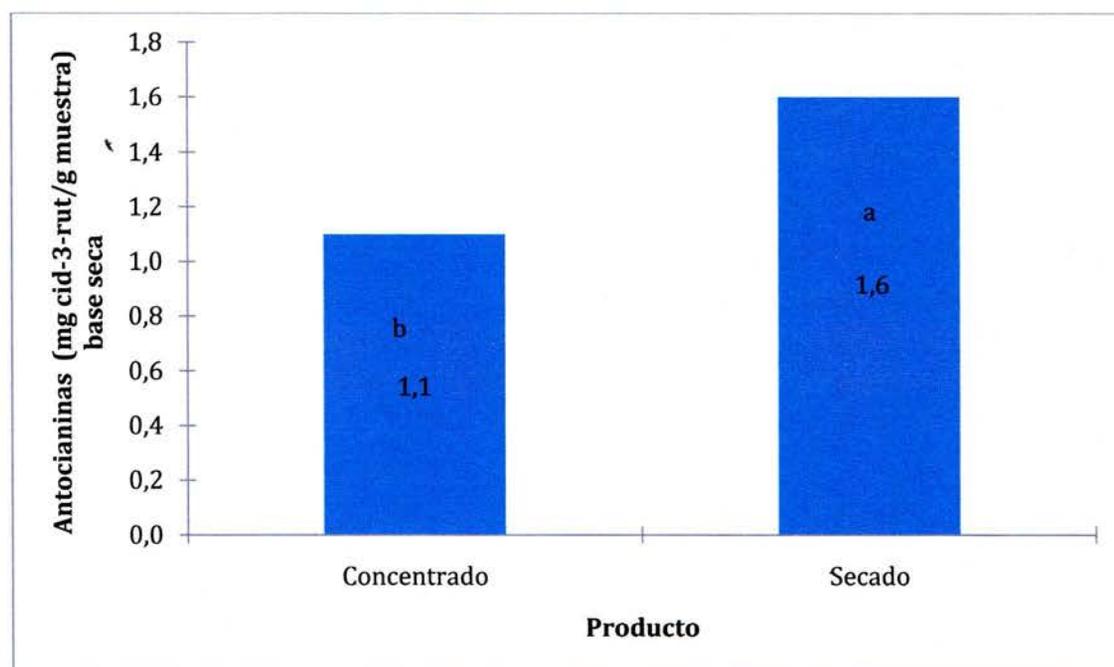
En la siguiente sección se presenta la comparación general entre los productos secados por aspersión y los productos concentrados al vacío con el fin de analizar el efecto de dichas operaciones sobre el contenido de antocianinas y el color.

5.2. Comparación del efecto de secado por aspersión y concentrado al vacío de los pigmentos obtenidos a partir de un extracto de broza de café sobre la conservación de antocianinas totales y el color determinado instrumentalmente.

5.2.1. Antocianinas totales

Para el contenido de antocianinas en el extracto de broza de café secado por aspersión se determinó que existió diferencia significativa ($p \leq 0,05$) entre los dos productos, y también entre los tratamientos de escaldado y para la interacción tipo de ácido*concentración (ya analizada previamente) (se presentan dichos resultados en el anexo 9.4.1, cuadro A13).

Con respecto al producto seco, en promedio, presentaron un mayor contenido de antocianinas por gramo de muestra, como se observa en la figura 27, que el producto concentrado.



Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 27. Contenido de antocianinas resultante del promedio de los extractos de broza de café, concentrados al vacío y secados por aspersión, escaldados y no escaldados, tratados con varios ácidos a dos concentraciones

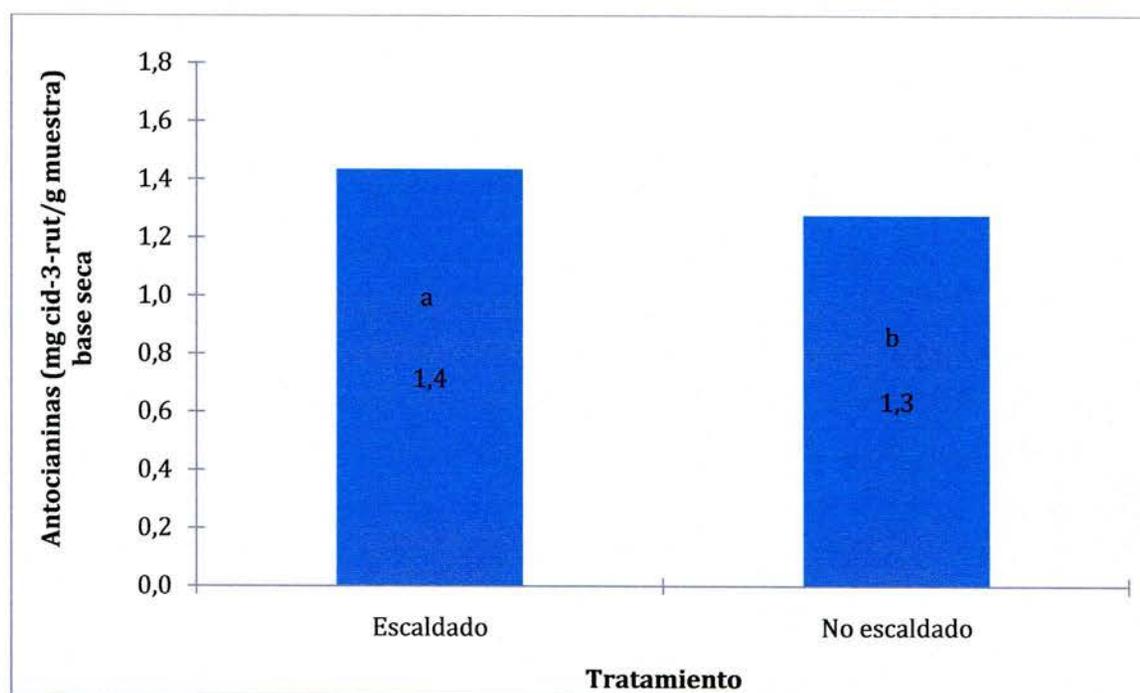
Cabe destacar que ambos resultados se presentaron en base seca, y a los polvos se le calculó la materia seca propia de la maltodextrina y se eliminó del cálculo para poder comparar las antocianinas entre polvo y concentrado.

Durante el proceso de secado se trabajó con temperaturas altas, específicamente de 160 °C, sin embargo la evaporación ocurre inmediatamente, y el producto llega a alcanzar temperaturas alrededor de 50 – 80 °C (Phisut, 2012). A pesar que anteriormente se mencionó que las antocianinas se degradan a altas temperatura, específicamente mayores a 30 °C, en este caso, se logró obtener mayor contenido de antocianinas que en los productos concentrados, debido a que antes de realizar el secado, al extracto inicial se le agregó maltodextrina, la cual tiene función de microencapsulador, protegiendo las antocianinas de la luz, aire y temperatura (Ariza, 2011; Calvacanti *et al.*, 2011; Chegini y Ghobadian, 2007; Parize *et al.*, 2008; López *et al.*, 2009), evitando así la degradación de las mismas. Además, durante el secado por aspersion, el producto llega a alcanzar temperaturas entre 50 y 80 °C, por unos cuantos segundos, lo que hace que el periodo de exposición a temperaturas altas sea muy corto y se minimice el daño (Phisut, 2012).

A los extractos iniciales previo a la concentración no se les agregó maltodextrina, lo que indica que, a pesar de mantener, durante la concentración, las disoluciones a temperaturas menores a la de la degradación de las antocianinas y protegidas de la luz, siempre se presentó cierta degradación, probablemente porque el tiempo del proceso fue de seis horas aproximadamente.

En promedio, los productos escaldados presentaron un contenido mayor de antocianinas como se aprecia en la figura 28.

Al hacer el promedio de los productos secos y concentrados para comparar el efecto del escaldado se observa una diferencia en los resultados con el producto concentrado que no presentó diferencia entre escaldado y no escaldado en el contenido de antocianinas (sección 5.1.1.1). De ahí la importancia de analizar cada producto por separado, como ya se hizo.



Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 28. Contenido de antocianinas, resultante del promedio de los extractos de broza de café escaldados y no escaldados, tratados con varios ácidos a dos concentraciones, concentrados al vacío y secados por aspersión

El efecto del escaldado inhibe las enzimas, específicamente la PFO, que es la enzima que degrada las antocianinas (Patras *et al.*, 2010; Rein, 2005). En promedio, los productos secos y concentrados, mantienen la tendencia que se observó previamente en la figura 19, sección 5.1.2.2, en la cual los productos escaldados tenían un mayor contenido de antocianinas.

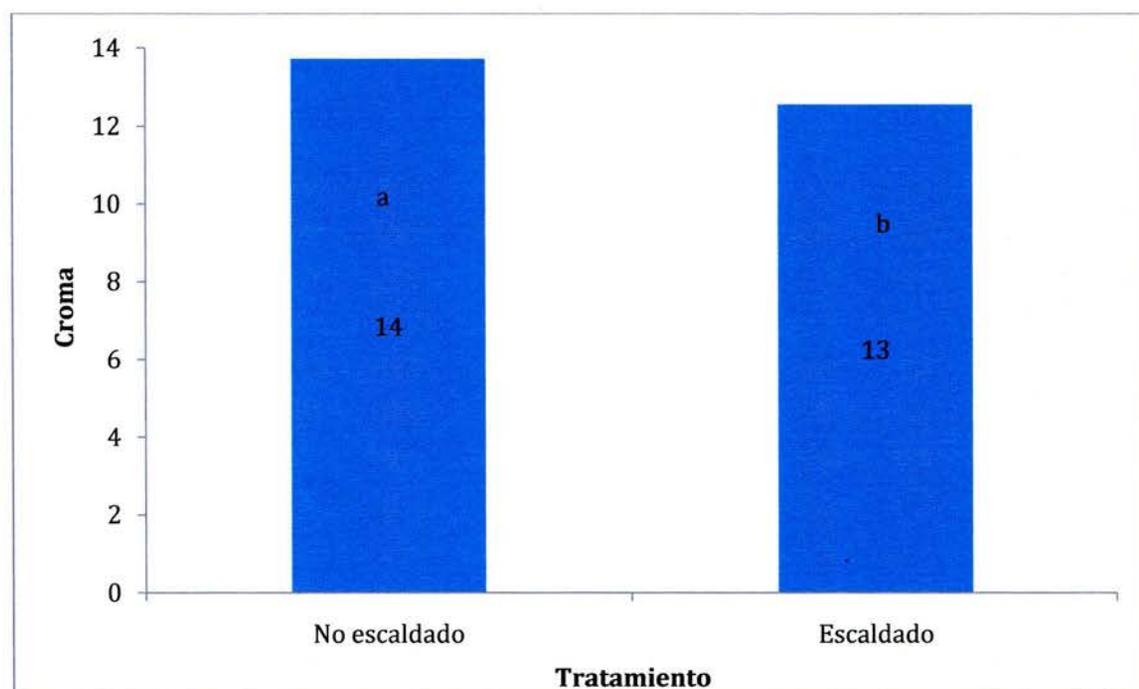
5.2.2. Color

Para los análisis de color, solamente se tomará en cuenta la comparación entre el tipo de producto (concentrado y secado por aspersion). Lo demás fue evaluado exhaustivamente en las secciones anteriores.

5.2.2.1. Croma

Para el croma se determinó diferencia significativa ($p \leq 0,05$) para tratamiento de escaldado (analizado con anterioridad) y para la interacción producto*tipo de ácido*concentración, para esta última se realizó un análisis unifactorial de 12 niveles (se presentan dichos resultados en el anexo 9.4.2.1, cuadro A14).

En la figura 29 se observan los resultados promedio del croma, de los productos concentrados y de los productos secados tanto escaldados como no escaldados.

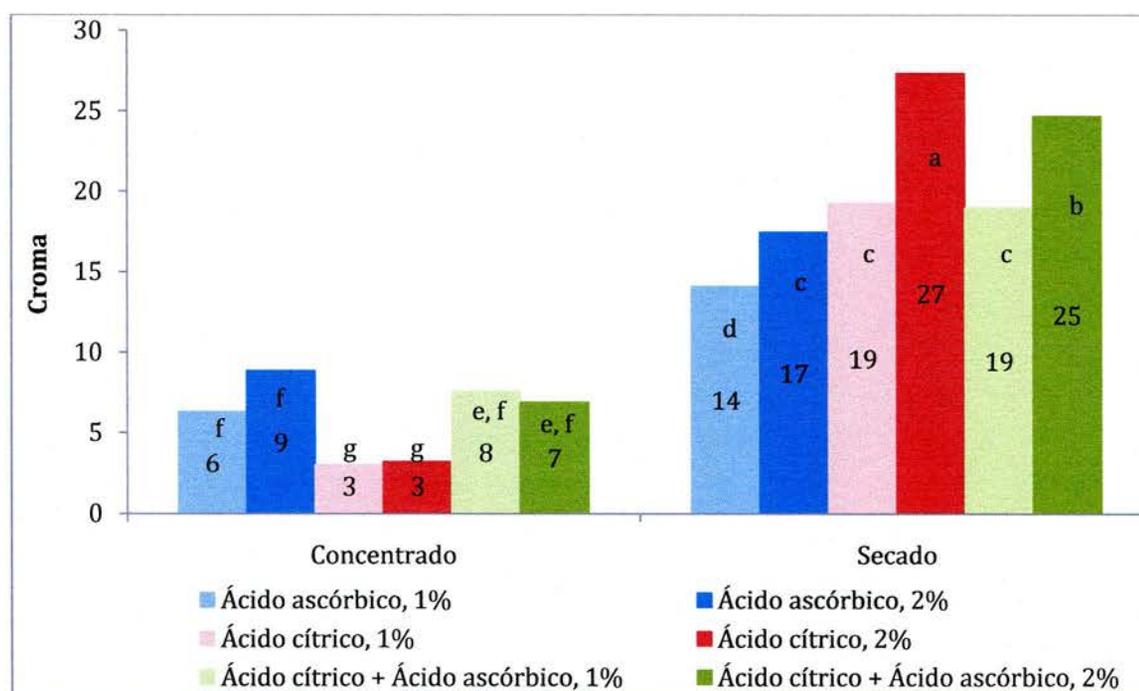


Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 29. Croma resultante del promedio de los extractos de broza de café escaldados y no escaldados, tratados con varios ácidos a dos concentraciones, concentrados al vacío y secados por aspersion

Se puede observar que los productos secos y concentrados y escaldados presentaron, en promedio, un croma menor, tendencia que se observó anteriormente. Esto se debió a que los productos escaldados presentaron un mayor contenido de antocianinas (como se presentó en la figura 28), disminuyendo la saturación del producto (Mozetic *et al.*, 2004).

En la figura 30 se presenta el efecto de cada uno de los ácidos utilizados, así como su concentración, sobre el croma de los productos, secos y concentrados.



Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 30. Croma resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldadas y no escaldadas, tratadas con diferentes ácidos a concentraciones distintas, secados por aspersión y concentrados al vacío

En general, los productos concentrados presentaron un croma menor que los que fueron secados por aspersión, es decir tenían colores menos vivos. Dicho fenómeno se observa en la figuras 13 y 21.

El hecho que los productos concentrados presentaron colores oscuros se debió al contenido de agua. En la figura 11.b se presentó una muestra de polvo humedecida, la cual

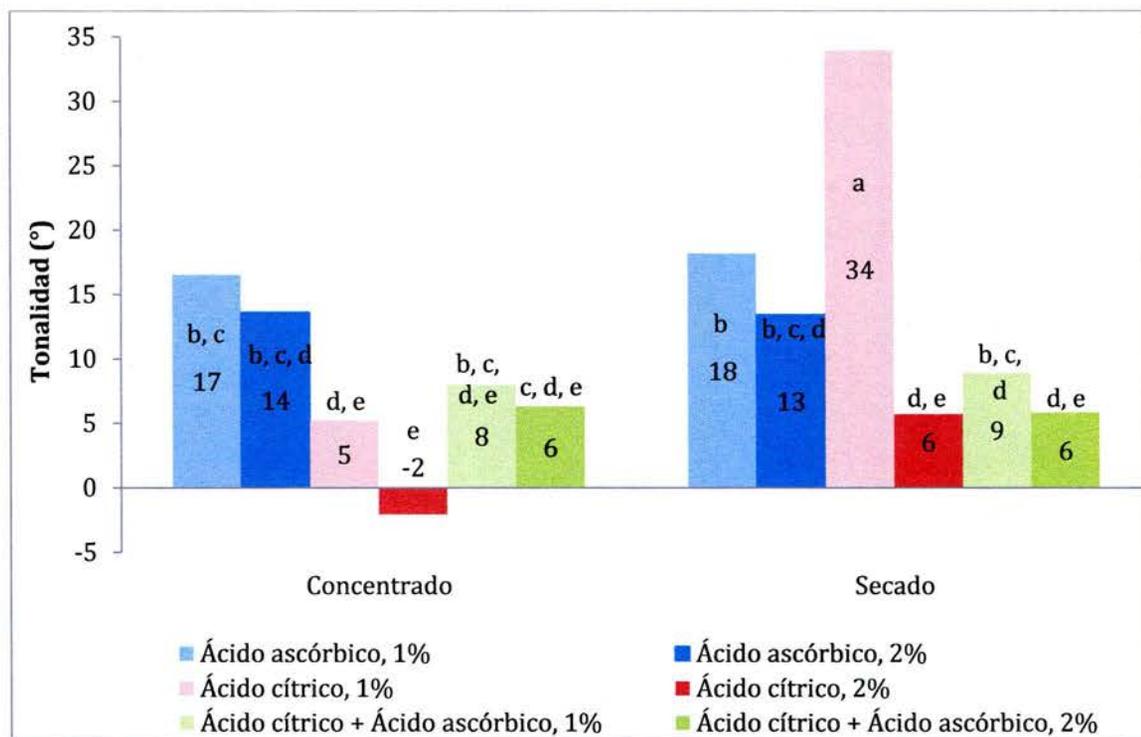
tenía un color similar a los concentrados, además los pigmentos secos tenían maltodextrina que es un polvo blanco, que aclaró los pigmentos.

Para los productos concentrados, aquellos tratados con ácido ascórbico y los tratados con la mezcla de ácidos presentaron, en promedio, un croma similar. Para las muestras tratadas con ácido cítrico el croma fue menor, para ambas concentraciones como se discutió anteriormente.

Para los productos secados por aspersion, los que fueron extraídos con disoluciones al 2%, en promedio, presentaron un croma mayor a los tratados con 1%. El ácido cítrico al 2% fue el que presentó un croma mayor, seguido por la mezcla de ácidos con esa misma concentración. Este caso se analizó previamente en la figura 23, sección 5.1.2.2.1.

5.2.2.2. Tonalidad

Para la tonalidad se determinó diferencia significativa ($p \leq 0,05$) para la interacción producto*tipo de ácido*concentración (se presentan dichos resultados en el anexo 9.4.2.2, cuadro A15). Al haber interacción triple se realizó un análisis de datos comparando entre seco y concentrado (unifactorial de 12 niveles), los resultados se muestran en la figura 31.



Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 31. Tonalidad resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldadas y no escaldadas, tratadas con diferentes ácidos a concentraciones distintas, secados por aspersión y concentrados al vacío

Se puede observar como los productos tratados con ácido ascórbico y luego concentrados presentaron en promedio tonalidades similares, al igual se presentó similitud en los productos secos tratados con ácido ascórbico. Mismo caso sucede con las muestras tratadas con la mezcla de ácidos.

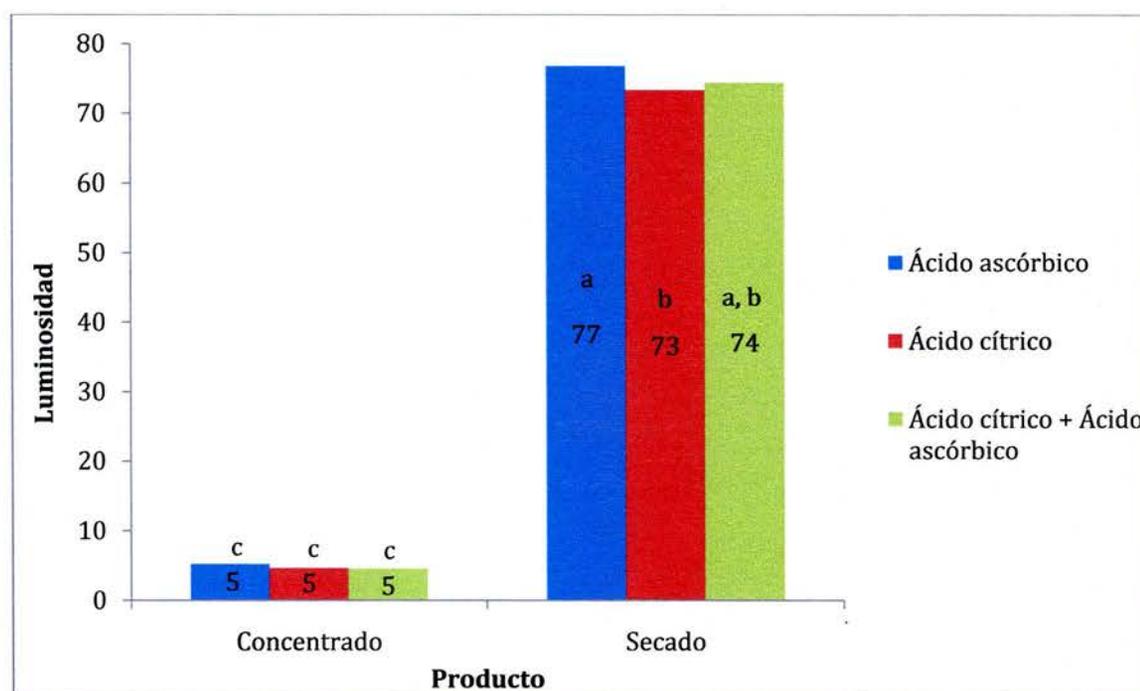
En el caso de las tonalidades de los productos secados por aspersión, se observa como en promedio, las muestras tratadas con 1% de ácido cítrico presentaron una tonalidad mayor, la cual se salió del rango de rojos puros y se encontró en el rango de rojos difuminados, específicamente hacia tonalidades amarillas. Este valor numérico se puede corroborar al observar la figura 21. El ácido cítrico al 1% no presentó efecto protector sobre las antocianinas, por lo que la tonalidad obtenida indicó un menor contenido de antocianinas como se presentó en la figura 20.

Cabe destacar, como se mencionó anteriormente, tanto los productos concentrados como los productos secados por aspersión, presentaron tonalidades en el rango -45° y 45° , es decir presentaron tonalidades rojas.

5.2.2.3. Luminosidad

Para la luminosidad se determinó diferencia significativa ($p \leq 0,05$) para las interacciones producto*tipo de ácido y producto*concentración, para las cuales se realizó un análisis unifactorial de 6 y 4 niveles respectivamente (se presentan dichos resultados en el anexo 9.4.2.3, cuadro A16).

El tipo o mezcla de ácidos utilizados durante la extracción, se comportaron de manera distinta en los concentrados y en los polvos tal y como se presenta en la figura 32.



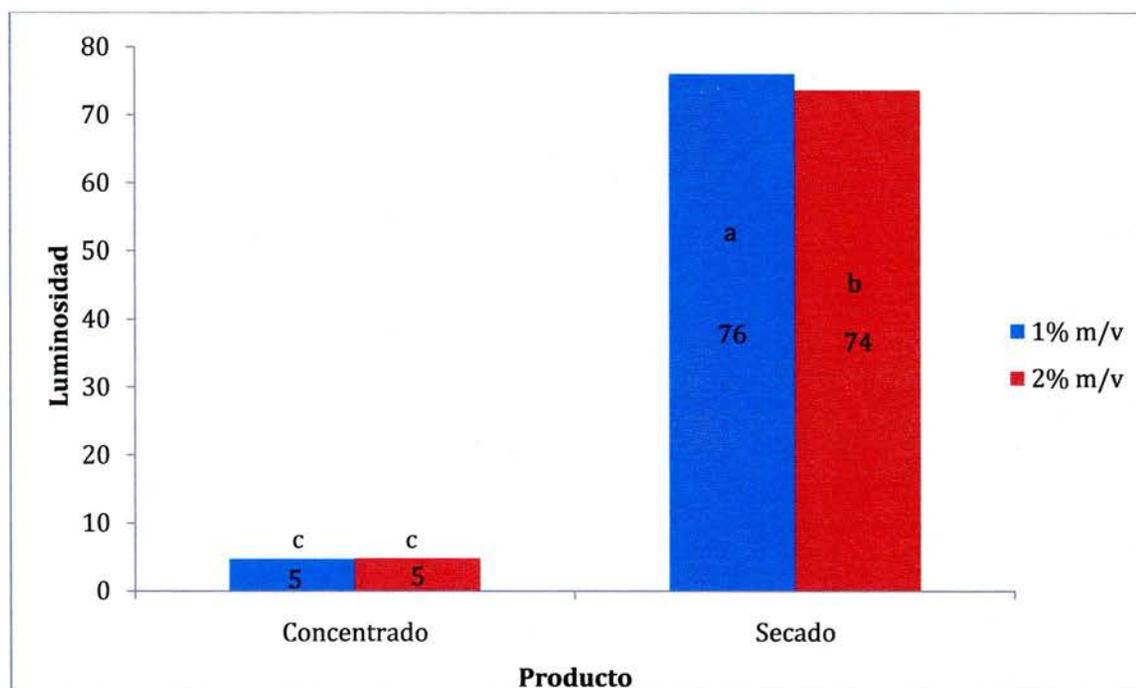
Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 32. Luminosidad resultante del promedio de los extractos de broza de café, escaldados y no escaldados, tratados con diferentes ácidos a dos concentraciones, secados por aspersión y concentrados al vacío

Se puede observar que los productos concentrados presentaron una luminosidad menor que los productos secos, lo cual se debió, como se mencionó anteriormente, al contenido de agua en la muestra. Además, a los productos secados por aspersión se les agregó maltodextrina, que es un polvo blanco y ejerce un efecto de dilución.

Con respecto a los ácidos utilizados, se observa que los productos concentrados no presentaron diferencia significativa, mientras que en los polvos, en promedio, las muestras tratadas con ácido cítrico presentaron una luminosidad levemente menor, lo que indicó un mayor contenido de antocianinas.

La concentración utilizada durante la extracción generó diferencias en la luminosidad en los productos en polvo únicamente, como se puede observar a continuación:



Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 33. Luminosidad resultante del promedio de los extractos de broza de café escaldados y no escaldados, tratados con diferentes ácidos a dos concentraciones, secados por aspersión y concentrados al vacío

Los productos que fueron obtenidos luego de una extracción con un 1% de ácido y luego secados por aspersión, presentaron, en promedio, luminosidad mayor. Las muestras

tratadas con 1% fueron mucho más claras que las demás, presentando luminosidades mayores. Caso contrario a las muestras tratadas con 2% de ácido cítrico, las cuales, a simple vista fueron más oscuras. Esto se debe al contenido de antocianinas, en donde un mayor contenido de antocianinas (figura 20) se reflejó en una menor luminosidad.

Además se puede observar nuevamente que los extractos de broza de café secados por aspersion presentaron una luminosidad mayor, lo cual se analizó previamente.

De estos resultados se obtuvo que los productos obtenidos a partir de la extracción con la disolución de 2% de ácido cítrico presentaron un color más cercano al rojo y un mayor contenido de antocianinas, lo cual fue el objetivo principal de esta investigación. Estos resultados se obtuvieron tanto para los productos concentrados como para los secados por aspersion, teniendo estos últimos un mejor resultado.

Por esta razón, se decidió analizar los productos obtenidos con dicho medio de extracción, escaldados y no escaldados, concentrados y secados por aspersion, con el fin de analizar el comportamiento a lo largo del tiempo. Los resultados obtenidos se presentan en la sección 5.3.

5.3. Conservación de color y de antocianinas en los pigmentos obtenidos al utilizar la disolución de ácido cítrico al 2% como medio de extracción, durante su almacenamiento en condiciones ambientales por un periodo de 28 días.

Previamente se mencionó que las antocianinas presentan inestabilidad a lo largo del tiempo debido a factores como exposición a la luz, al oxígeno, humedad del producto, presencia de ácido ascórbico, entre otros factores (Leyva, 2009; Wrolstad *et al.*, 2005). Debido a esta inestabilidad, se analizó el comportamiento de las antocianinas y del color del producto obtenido a partir de la extracción con disolución de ácido cítrico al 2%, tanto escaldados como no escaldados, así como para los concentrados y para los secados por aspersión.

El índice de oscurecimiento se utiliza para la medición de compuestos oscuros, es un método indirecto para detectar y monitorear la degradación de antocianinas a lo largo del tiempo (Del Pozo-Insafran *et al.*, 2007; Jiménez *et al.*, 2010).

En la figura 34 se presenta el índice de oscurecimiento promedio a lo largo del tiempo de almacenamiento de las muestras en estudio.

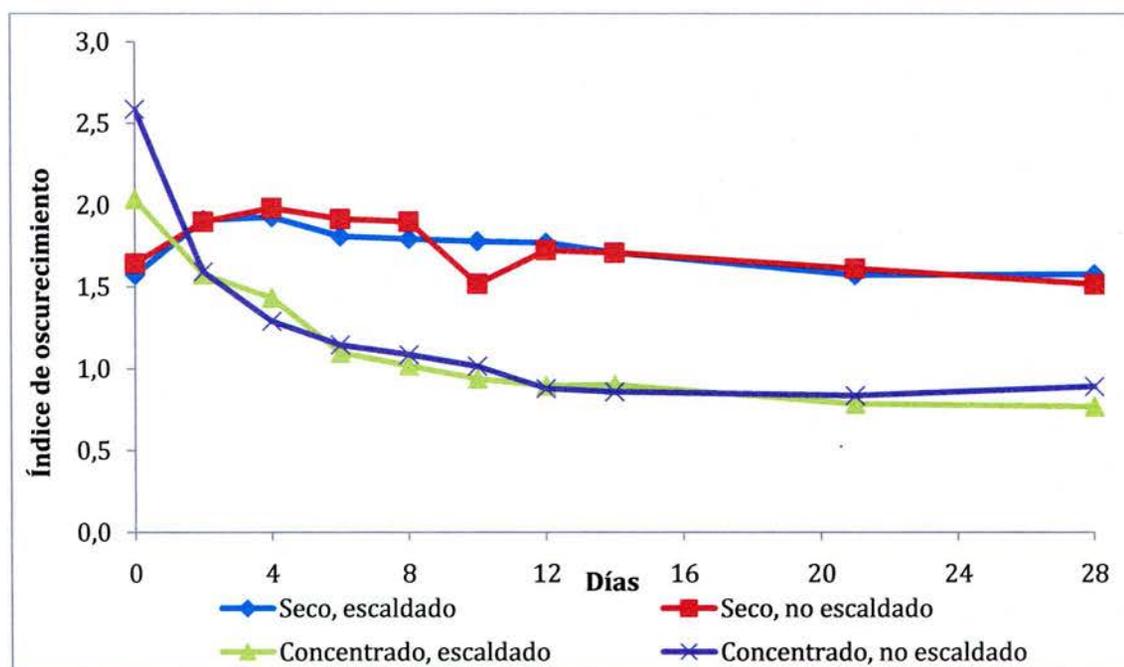


Figura 34. Variación en el índice de oscurecimiento de los productos obtenidos mediante extracción con disolución de 2% de ácido cítrico (escaldados y no escaldados), a lo largo del tiempo de almacenamiento en condiciones ambientales

Como se puede observar el índice de oscurecimiento de las muestras presentaron una tendencia a disminuir, lo cual se debe a la reducción del contenido de antocianinas y/o al aumento en la cantidad de productos pardos. La disminución fue menos pronunciada en los productos secos, por lo que se puede decir que las antocianinas estaban más protegidas que en los productos concentrados, como era de esperarse al ser un producto con maltodextrina, producto que, como se mencionó anteriormente, protege a las antocianinas (Ariza, 2011; Calvacanti *et al.*, 2011; Parize *et al.*, 2008; Phisut, 2012; López *et al.*, 2009)

Esta protección de las antocianinas se observa claramente en la figura 35, donde se presenta la variación del contenido de antocianinas a lo largo del tiempo de estudio.

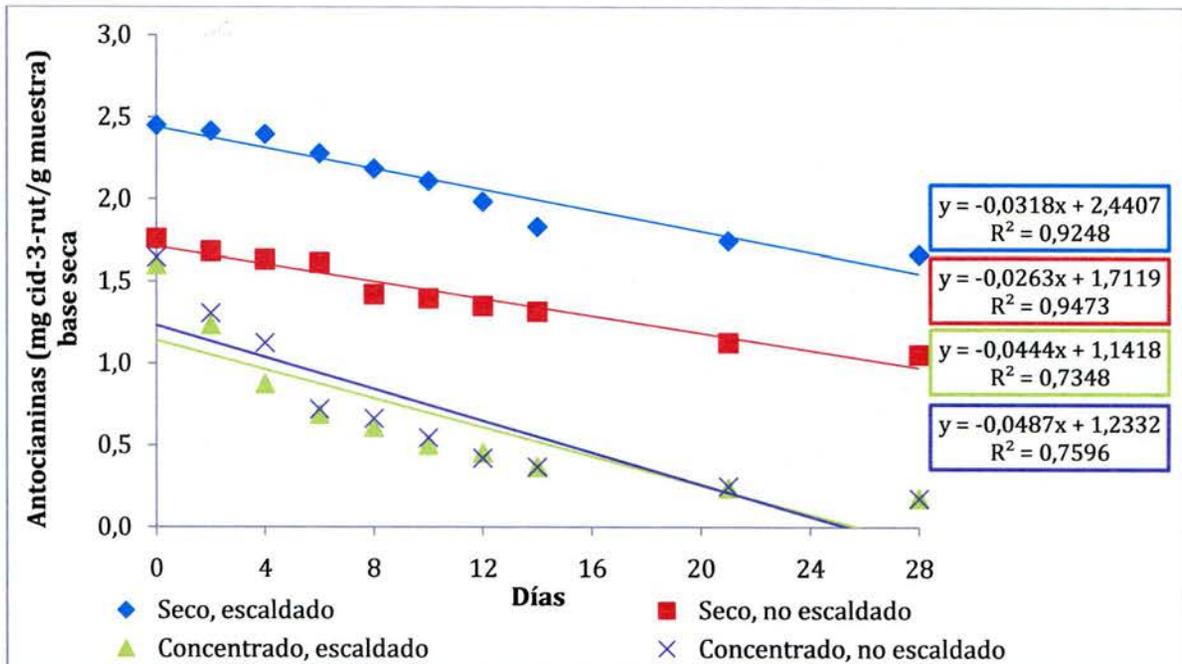


Figura 35. Variación en el contenido de antocianinas de los productos obtenidos mediante extracción con disolución de 2% de ácido cítrico (esaldados y no esaldados), a lo largo del tiempo de almacenamiento en condiciones ambientales

Los cuatro productos en estudio presentaron una disminución del contenido de antocianinas a lo largo del tiempo, sin embargo, dicho contenido en las muestras líquidas disminuyó con mayor velocidad que en los productos en polvo. Este fenómeno observado se pudo deber a dos situaciones, la primera al efecto protector que tiene la maltodextrina sobre

las antocianinas, donde la adición de este producto generó una emulsión más estable y protegió las antocianinas de factores favorecedores de la oxidación como luz, aire y oxígeno; además, protegió de la temperatura durante el secado (Ariza, 2011; Calvacanti *et al.*, 2011; Chegini y Ghobadian, 2007; Parize *et al.*, 2008; Phisut, 2012; López *et al.*, 2009).

La segunda razón se debe a la estabilidad que presentan las antocianinas en productos con a_w bajos, de hasta 0,37 (Amr y Al-Tamimi, 2007), ya que la reacción de hidratación que conduce a especies incoloras de antocianinas está menos favorecida conforme el agua se vuelve limitante (Wrolstad *et al.*, 2005; Calvacanti *et al.*, 2011; Guisti y Wrolstad, 2001; Lopes da Silva, 2004).

Es importante mencionar que las muestras en polvo escaldadas presentaron mayor contenido de antocianinas que las no escaldadas, dicho comportamiento se mantuvo a lo largo del tiempo y fue discutido anteriormente.

Para el análisis de color, se estudió la luminosidad, el croma y la tonalidad. En la figura 36 se presentan los resultados para la luminosidad de los productos estudiados.

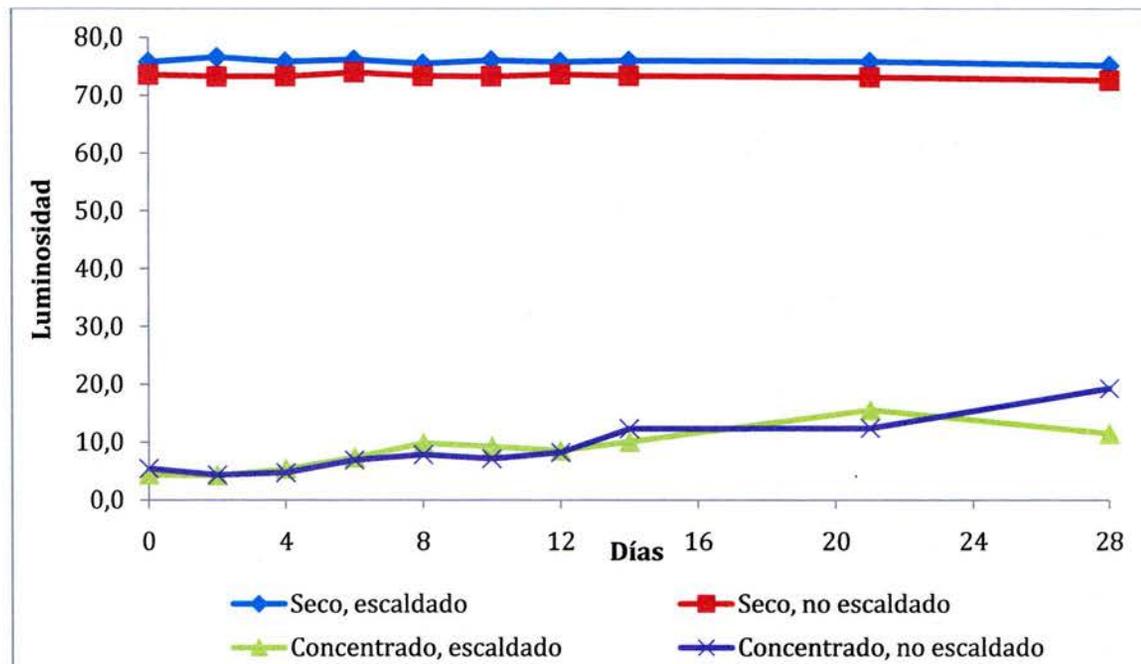


Figura 36. Variación promedio de la luminosidad de los productos obtenidos mediante extracción con disolución de 2% de ácido cítrico (escaldados y no escaldados), a lo largo del tiempo de almacenamiento en condiciones ambientales

Los productos secados por aspersión, tanto escaldados como no escaldados, presentaron una luminosidad relativamente constante, con una leve tendencia a disminuir. Dicha disminución de la luminosidad no fue detectable al ojo humano, esto se puede confirmar, al determinar la diferencia de color (ΔE) entre el día 0 y el día 28, donde para el pigmento en polvo escaldado se obtuvo 0,96 y para el no escaldado 1,00. Dichos valores, según lo que se mencionó anteriormente, fueron menores o iguales a 1, por lo que no fueron detectables al ojo humano (Hunter Lab, 2008).

Cabe destacar que el valor de ΔE toma en cuenta la luminosidad y los factores a^* y b^* , por lo que se puede decir, que la variación general de color a lo largo del tiempo de estudio no era perceptible por el ojo humano. La tendencia a mantenerse constante de la luminosidad se repitió en el croma y en la tonalidad de estos productos como se presenta más adelante.

Para el caso de los concentrados, se puede observar como presentaron la tendencia a aumentar la luminosidad a lo largo del tiempo. Dicho fenómeno se pudo deber a la degradación de antocianinas a la pseudobase carbinol o chalcona, la cual es incolora, aclarando el producto en estudio (Leyva, 2009). No se logra decolorar todo el producto debido a la presencia de antocianinas autoasociadas, las cuales, como se mencionó anteriormente, son más estables (Garzón, 2008).

En la figura 37 se presenta la variación promedio del croma a lo largo del tiempo. Se puede observar como para los productos secados por aspersión, se mantuvo relativamente constante, como era de esperarse según lo mencionado anteriormente.

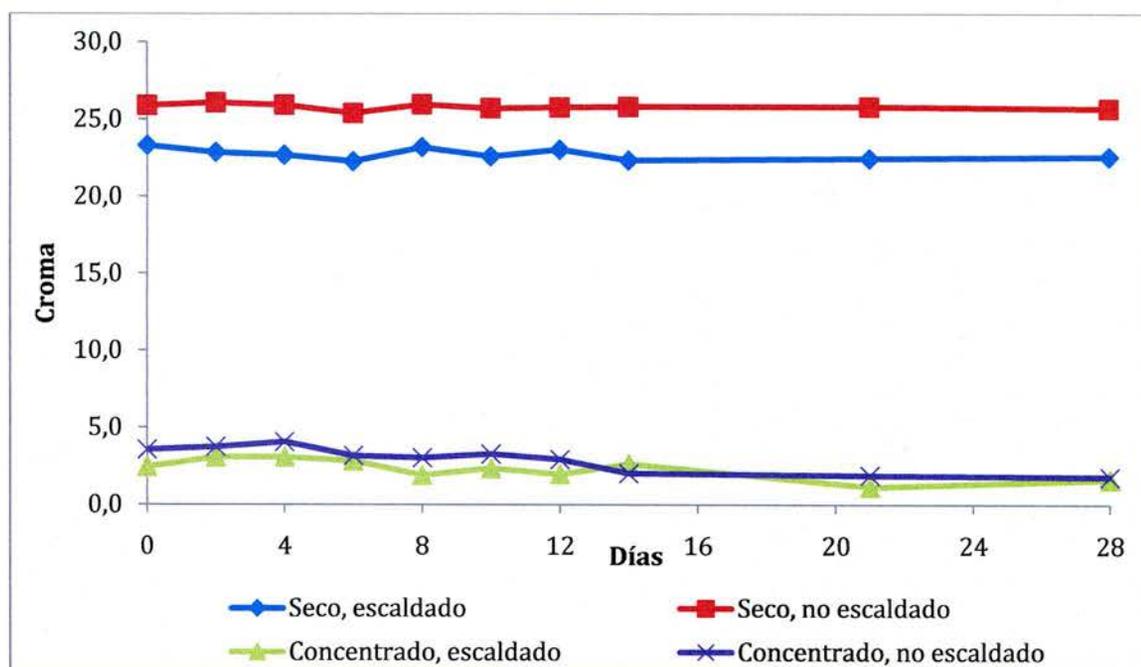


Figura 37. Variación promedio del croma de los productos obtenidos mediante extracción con disolución de 2% de ácido cítrico (escaldados y no escaldados), a lo largo del tiempo de almacenamiento en condiciones ambientales

Para el caso de los productos concentrados, estos presentaron una leve disminución en el croma. Esta disminución indicó que el color del producto, fue cada vez menos vivo. Esto se evidencia más adelante en la figura 38.

La tonalidad hace referencia al color en sí que tiene el producto, donde el color rojo puro se encuentra entre -15 y 15° . Sin embargo, se dice que el rojo en general (incluyendo colores difuminados) presenta valores desde -45 hasta 45° , niveles que se presentan en la figura 38 con líneas negras punteadas.

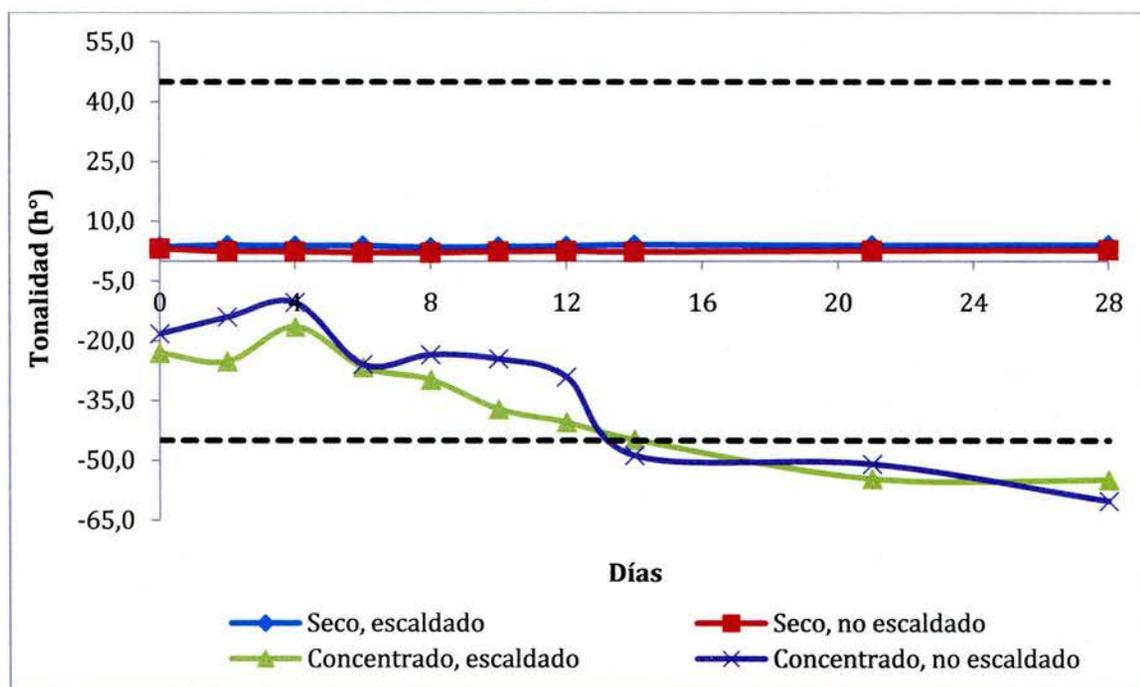


Figura 38. Variación promedio de la tonalidad de los productos obtenidos mediante extracción con disolución de 2% de ácido cítrico (escaldados y no escaldados), a lo largo del tiempo de almacenamiento en condiciones ambientales

Los productos secos, tanto el escaldado como el no escaldado, presentaron una tonalidad constante, en el rango de rojo “puro” durante los 28 días de estudio como se presenta en la figura 39, donde se presenta los productos al primer y al último día del estudio de almacenamiento.

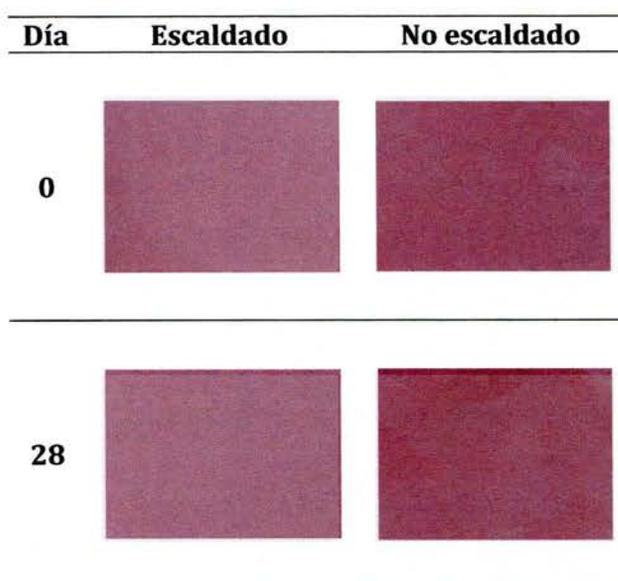


Figura 39. Fotografías de los productos secados por aspersión obtenidos mediante extracción con disolución de 2% de ácido cítrico (escaldados y no escaldados), al inicio y al final del tiempo de almacenamiento

Caso contrario ocurrió con los productos concentrados, donde se presentaron variaciones en los diferentes parámetros del color. Alrededor del día 14, las tonalidades que se presentaron ya no se consideran rojas, sino azules, no puras pero sí difuminadas, presentando una tonalidad distinta. Esto se puede observar en la figura 40, donde se presentan imágenes de los productos a los días 0, 2, 4, 10, 14 y 21.

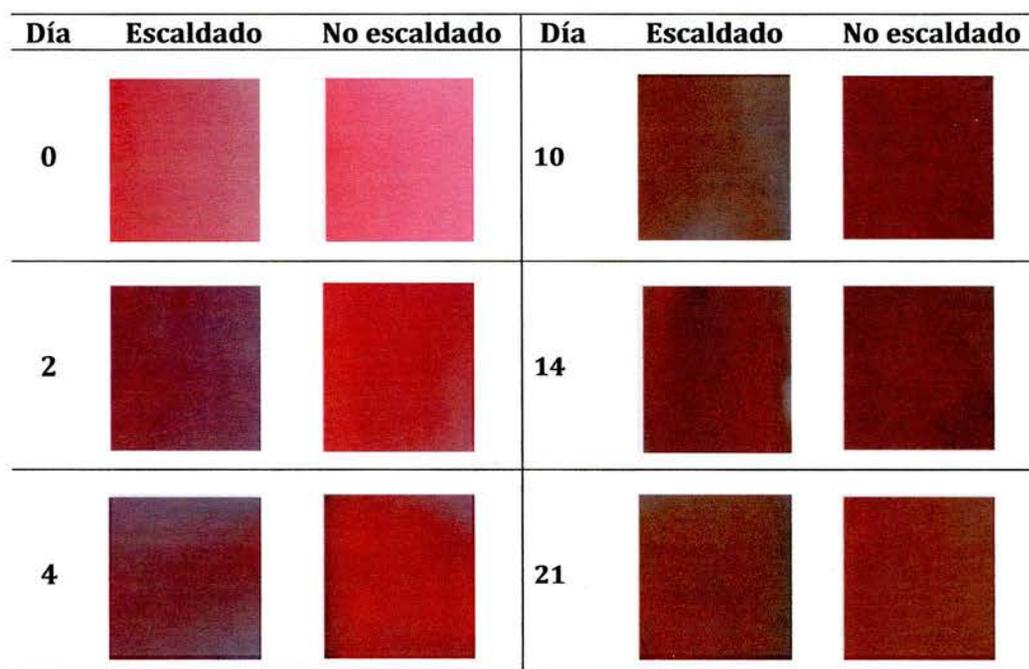


Figura 40. Fotografías de los productos concentrados al vacío obtenidos mediante extracción con disolución de 2% de ácido cítrico (escaldados y no escaldados), a diferentes tiempos del almacenamiento (los concentrados estaban empacados en bolsas transparentes)

Como se corroboró con las imágenes presentadas en la figura anterior, después del día 14 las muestras ya no se presentaban la tonalidad roja; la muestra escaldada se encontró en el límite entre rojo y azul, mientras que la muestra no escaldada estaba en la zona azul, ya no en la roja.

El color de las muestras, después del día 14, se puede considerar café o pardo, esto debido a que una mezcla de tonalidades a baja saturación se considera café (Heidelberg, 2012; X-Rite, 2004). Esta variación que presentaron los productos concentrados se puede deber a la presencia de compuestos con coloraciones pardas, los cuales se generan al degradarse las antocianinas (Rein, 2005; Calvacanti *et al.*, 2011). Dicha degradación se observó en la figura 35.

6. CONCLUSIONES

Todos los productos, tanto secos como concentrados, a excepción de los secados por aspersión obtenidos con la disolución de ácido cítrico al 1%, presentaron tonalidades rojas.

Los productos secos presentaron un contenido mayor de antocianinas que los productos concentrados (55 °Brix).

El tratamiento de escaldado generó diferencias en el contenido de antocianinas de los productos, mas no así en el color de los mismos.

Los productos obtenidos a partir de la extracción realizada con disoluciones de ácido cítrico al 2%, tanto a partir de broza escaldada como no escaldada, así como concentrados y secados por aspersión, presentaron mejores resultados con respecto a color y al contenido de antocianinas.

El tratamiento de escaldado no generó diferencia alguna a lo largo del tiempo en el color y en el contenido de antocianinas de los extractos de broza de café obtenidos con disolución de ácido cítrico al 2%.

Los productos secados por aspersión, a lo largo del tiempo, presentaron una disminución en el índice de oscurecimiento menos pronunciada que la presentada en los productos concentrados, esta misma tendencia se obtuvo para el contenido de antocianinas.

A lo largo del tiempo, los extractos de broza de café, obtenidos mediante la extracción con disoluciones de ácido cítrico al 2% y secados por aspersión, resultaron más estables, tanto en color como en antocianinas, que los extractos obtenidos a partir de la extracción con la misma disolución y luego concentrados.

Los productos secados por aspersión presentaron mejores resultados que los productos concentrados, tanto inicialmente como 28 días después de su almacenamiento a temperatura ambiente.

La tonalidad o hue es el parámetro más importante para el control de calidad de los pigmentos obtenidos.

7. RECOMENDACIONES

Analizar la presencia de las enzimas en la broza de café capaces de degradar antocianinas.

Aplicar los pigmentos concentrados y secos a alimentos para determinar su estabilidad en medios alimenticios con condiciones menos controladas.

Los pigmentos obtenidos son hidrosolubles, por lo que se recomienda utilizarlo en productos donde se solubilizan adecuadamente, además, debido a la inestabilidad debido al pH, se recomienda utilizarlos en productos como yogurt.

Eliminar los azúcares de la broza que se solubilizan durante la extracción para disminuir los colores amarillentos.

8. BIBLIOGRAFÍA

- ADAMS, M. & GHALY, A.E. 2007. Maximizing sustainability of the Costa Rican coffee industry. *Journal of Cleaner Production*. 15:1716-1729.
- ALFARO, M. & RODRÍGUEZ, J. 1994. Impacto ambiental del procesamiento de café en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. 18(2): 217-225.
- ALIGHOURCHI, H. & BARZEGAR, M. 2009. Some physicochemical characteristics and degradation kinetic of anthocyanin of reconstituted pomegranate juice during storage. *Journal of Food Engineering*. 90:179-185
- ALMEIDA, M. & NOGUEIRA, J. 1995. The control of polyphenol oxidase activity in fruits and vegetables .A study of the interactions between the chemical compounds used and heat treatment. *Plant Foods for Human Nutrition*. 47:245-256.
- AMR, A., AL-TAMIMI, E. 2007. Stability of the crude extracts of *Ranunculus asiaticus* anthocyanins and their use as food colourants. *International Journal of Food Science & Technology*. 42(8):985-991
- AOAC. 2002 a. AOAC Official Method 920.151: Solids (total) in Fruits and Fruit Products. Official Methods of Analysis of AOAC International 17ed. Association of Official Analytical Chemists. Maryland.
- AOAC. 2002 b. AOAC Official Method 981.12: pH of Acidified Foods. Official Methods of Analysis of AOAC International 17ed. Association of Official Analytical Chemists. Maryland.
- AOAC. 2002 c. AOAC Official Method 932.12: Solids (Soluble) in Fruits and Fruit Products. Official Methods of Analysis of AOAC International 17ed. Association of Official Analytical Chemists. Maryland
- ARELLANO, M. 2009. Estimación de la capacidad antioxidante de los ácidos hidroxicinámicos obtenidos de la pulpa de café. Tesis. Especialización en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- ARIZA, N. 2011. Extracción de pigmentos con capacidad antioxidante a partir de la broza de café. Tesis. Maestría profesional en Química Industrial. Universidad de Costa Rica.

- BARBOZA, C. A. & RAMIREZ-MARTINEZ, J.R. 1991. Antocianinas en pulpa de café del cultivar Bourbon Rojo. Colloque Scientifique International sur le Café. Paris.
- BAKOWSKA, A., KUCHARSKA, A., OSZMIAŃSKI, J. 2003. The effects of heating, UV irradiation, and storage on stability of the anthocyanin–polyphenol copigment complex. *Food Chemistry*. 81: 349–355.
- BELITZ, H.D. & GROSCH, W. 2005. Food chemistry. Tercera edición. Springer. Alemania.
- BERENDT, A. 2009. Elaboración y evaluación de productos mínimamente procesados de papa a partir de dos variedades, Floresta y Granola. Tesis. Licenciatura en Tecnología de Alimentos. Universidad de Costa Rica.
- BOLAÑOS, C. 2012. Efecto del escaldado y secado sobre la capacidad antioxidante y fibra de la broza de café y su uso potencial para alimentación humana. Tesis. Lic. en Ingeniería de Alimentos. Universidad de Costa Rica.
- BOO, H., HWANG, S., BAE, C., PARK, S., HEO, B. & GORINSTEIN, S. 2012. Extraction and characterization of some natural plant pigments. *Industrial Crops and Products*. 40: 129–135.
- BRAHAM, J. & BRESSANI, R. 1978. Pulpa de Café: composición, tecnología y utilización. Feferbaum, Bogotá.
- BRENNAN, J. 2006. Food Processing Handbook. Alemania, Wiley-VCH.
- BROAS, E. 2012. Evaluación del contenido de antocianinas en maíces de color cultivado en temporal y fertirrigación como una estrategia de desarrollo agrícola para la región oriente de Morelos. Tesis. M.Sc. Estrategias para el desarrollo agrícola regional. Puebla, México.
- BÜCHI LABORTECHNIK. 2007. Manual de instrucciones de bomba de vacío: V-700. Suiza.
- BUGLIONE, M. & LOZANO, J. 2002. Nonenzymatic Browning and Chemical Changes During Grape Juice Storage. *Journal of Food Science*. 67: 1538–1543.
- CALVACANTI, R., SANTOS, D. & MEIRELES, M. 2011. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems—An overview. *Food Research International*. 44: 499–509

- CANO, A. 2011. Extracción y uso de tres pigmentos naturales a partir de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.), mortiño (*Vaccinium mytillus* L.) y mora de castilla (*Rubusglaucus*) como alternativa colorante natural para alimentos. Tesis. Ingeniería en Ciencias. Agropecuarias. Escuela Politécnica del Ejército. Ecuador.
- CARDENAS, S. 2007. Caracterización morfológica y agronómica de la colección núcleo de café (*Coffea arabica* L.) del CATIE. Tesis. M.Sc. Agricultura Ecológica. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica.
- CASTAÑEDA-OVANDO, A., PACHECO-HERNANDEZ, M., PAEZ-HERNANDEZ, M., RODRIGUEZ, J. & GALAN-VIDAL, C. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*.113: 859–871.
- CEVALLOS, B. & CISNEROS, B. 2003. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry*. 86: 69–77.
- CHEGINI, G. & GHOBADIAN, B. 2007. Spray Dryer Parameters for Fruit Juice Drying. *World Journal of Agricultural Sciences*. 3(2): 230-236.
- COLÍN, J., RODRÍGUEZ, G. & PEDROZAS, I. 2009. Nanofibras de gliadina para la estabilización de antioxidantes extraídos de maíz azul. IV Simposio de Tecnología Avanzada. México D.F.
- COMEX. 2013. Principales productos exportados 2012. INTERNET. <http://www.comex.go.cr/estadisticas/exportaciones.aspx>. Recuperado: 6 de agosto de 2013.
- CONDORCHEM. s.f. La concentración al vacío, una nueva solución para la producción de sustancias y principios activos de origen natural. INTERNET. <http://blog.condorchem.com/870/>. Recuperado: 10 de octubre de 2013.
- CYMA, PROGRAMA DE COMPETITIVIDAD Y MEDIO AMBIENTE. 2006. Reporte nacional de manejo de materiales Costa Rica 2006. Editorama
- DE ROSSO, V. & MERCADANTE, A. 2007. The high ascorbic acid content is the main cause of the low stability of anthocyanin extracts from acerola. *Food Chemistry*. 103: 935–943

- DELGADO-VARGAS, F., JIMÉNEZ, A. & PEREDES-LÓPEZ, O. 2000. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains — Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 40(3): 173–289.
- DEL POZO-INSAFRAN, D., DEL FOLLO-MARTINEZ, A., TALCOTT, S. & BRENES, C. 2007. Stability of Copigmented Anthocyanins and Ascorbic Acid in Muscadine Grape Juice Processed by High Hydrostatic Pressure. *Journal of Food Science*. 72(4): S247-S253.
- DENOYA, G., ARDANAZ, M., SANCHO, M., BENITEZ, C., GONZALEZ, C. & GUIDI, S. 2012. Efecto de la aplicación de tratamientos combinados de aditivos sobre la inhibición del pardeamiento enzimático en manzanas cv. Granny Smith mínimamente procesadas. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*. 38(3): 263-267.
- DOWNHAM, A. & COLLINS, P. 2000. Colouring our foods in the last and next millennium. *International Journal of Food Science and Technology*. 35: 5-22.
- DURGE, A., SARKAR, S. & SINGHAL, R. 2013. Stability of anthocyanins as pre-extrusion colouring of rice extrudates. *Food Research International*. 50: 641–646
- ESQUIVEL, P. & JIMENEZ, V. 2012. Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*. 46: 488–495.
- FARAH, A. & MARINO, C. 2006. Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 18(1): 23-36.
- FELLOWS, P. 2000. Food Processing Technology: Principles and practice. 2^a ed. CRC Press. Florida.
- FUENTES, W. 2005. Extracción, cuantificación y estabilidad de colorantes naturales en los frutos *Prunus capulí* Cav. (Cereza), *Rubus urticae folius* Poir (Mora) y *Sambucus canadensis* L. (Saúco) como alternativas naturales de consumo de los colorantes artificiales rojo No.40, rojo No.3 y rojo No.2, en bebidas en el rango de pH: 3, 4 y 5. Tesis. Química. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- GARCÍA, E. 2011. Optimización del secado por aspersion de mucílago de pitahaya (*Hylocereus undatus*) en función de sus propiedades reológicas. Tesis. Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales (Especialidad en Ingeniería). Instituto Politécnico Nacional, Oaxaca, México.

- GARZON, G. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. *Acta biológica Colombiana*. 13(3): 27-36.
- GIL, M., ROJANO, B. & GUERRERO, C. s.f. Inhibición de la polifenoloxidasas extraída del banano (*cavendish*) por medio de algunos derivados del isoespintanol. Universidad Nacional de Colombia.
- GONZALEZ, H., GONZALEZ, S. & ROSALES, T. 2011. Café (*Coffea arabica L.*): Compuestos volátiles relacionados con el aroma y sabor. *UNACAR Tecnociencia* 5(2) 35 - 45.
- GONZALEZ, C. 2007. Producción de café en Honduras: Modelado de las relaciones cafeto-arbusto. Tesis. Ingeniería Rural. Universidad Politécnica de Madrid.
- GOOD, H. 2004. Measure to Ensure the Color Stays Right. *Food Quality*. Feb/Mar 2004:90 - 92.
- GUERRERO, B. 2009. Inhibición de la actividad enzimática de la polifenoloxidasas extraída del banano (*Cavendish valery*) mediante sistemas bifásicos acuosos con isoeipintanol y ácido ascórbico. Tesis. M.Sc. en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia.
- GUISTI, M. & WROLSTAD, R. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. F.1.2.1-F.1.2.13.
- HE, J. & GUISTI, M. 2010. Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. *Annual Review of Food Science and Technology*. 1: 163-187.
- HEIDELBERG. 2012. Expert Guide: Color & Cuality. INTERNET. http://www.us.heidelberg.com/www/html/en/binaries/files/prinect/expert_guide_color_pdf. Recuperado el 5 de mayo de 2014.
- HERNÁNDEZ, C. 2009. Acción y efectos de la polifenoloxidasas en alimentos. Tesis. Química Industrial. Universidad Veracruzana. México.
- HERRERA, C., BOLAÑOS, N. & LUTZ, G. 2003. Química de Alimentos: Manual de laboratorio. Editorial Universidad de Costa Rica.
- HUNTER LAB. 2008. CIE L* a* b* Color Scale. *Applications Note*. 8(7): 1-4.
- HUNTER LAB. 2008. Establishing Instrumental Color Difference Tolerances for Your Products. *Applications Note*. 17(12): 1-17.

- ICAFE. 2012. Informe sobre la actividad cafetalera de Costa Rica. INTERNET. http://www.icafe.go.cr/sector_cafetalero/estadsticas/infor_activ_cafetal/actual/Informe%20Actividad%20Cafetalera%202012.pdf. Recuperado: 6 de agosto de 2013.
- JIMENEZ, N., BOHUON, P., LIMA, J., DORNIER, M., VAILLANT, F. & PEREZ, A. 2010. Kinetics of Anthocyanin Degradation and Browning in Reconstituted Blackberry Juice Treated at High Temperatures (100-180 °C). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58: 2314-2322.
- JING, P. & GIUSTI, M. 2008. Analysis of Anthocyanins. In *Food Colorants: Chemical and Functional Properties*. CRC Press.
- KASSU, Y. 2010. Chemical composition and *In vitro* digestibility of coffee pulp and coffee husk ensiles with grass (*Hyperchennia hirta*) hay and effective microorganism (EM). Tesis. Maestría en Ciencia en agricultura (Producción animal). Jimma Univesity. Etiopía.
- LEE, J., DURST, R. & WROLSTAD, R. 2005. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*. 88: 1269-1278.
- LEYVA, D. 2009. Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora. Tesis. Ingeniería de Alimentos. Universidad Tecnológica de la Mixteca. México.
- LOCK, O. 1997. Colorantes naturales. Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. Perú.
- LOPES DA SILVA, M. 2004. Caracterización de fracciones polifenólicas de la fresa y sus implicaciones tecnológicas. Tesis. Doctorado. Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Universidad de Salamanca. España.
- LOPEZ, B., CARVAJAL, L. & MILLAN, L. 2009. Establecimiento de condiciones de la mezcla de pulpa de banano (*Musa paradisiaca* L.) para someter a secado por aspersion. *VITAE*. 16(3): 287-296.
- LOPEZ, W. 2010. Obtención de colorantes naturales a partir de cáscara *Allium cepa* (cebolla blanca y morada) y raíz de *Beta vulgaris* (remolacha) para su aplicación en la industria textil. Tesis. Lic. en química y farmacia. El Salvador.

- LOZANO, M. 2009. Obtención de microencapsulados funcionales de zumo de *Opuntia stricta* mediante secado por atomización. Tesis. Ingeniería Técnica Industrial, especialidad en Química Industrial. Universidad politécnica de Cartagena.
- MANZANARES, P., ROJAS, V., GENOVES, S. & VALLES, S. 2000. A preliminary search for anthocyanin- β -D-glucosidase activity in non-*Saccharomyces* wine yeasts. *International Journal of Food Science & Technology*. 35: 95–103.
- MARTÍNEZ, C. 2011. Determinación del aporte de los sistemas agroforestales con cacao a las familias productoras, en cinco municipios en los departamentos de cortés y yoro, honduras. Tesis. Ingeniería en Ciencias Forestales. Escuela Nacional de Ciencias Forestales. Honduras.
- MAZZAFERA, P. & ROBINSON, S. 2000. Characterization of polyphenol oxidase in coffee. *Phytochemistry* 55: 285-296.
- MENENDEZ, W. 2008. Obtención de colorante para su uso en yogurt a partir de la flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y del Mortiño (*Vaccinium myrtillus* L.). Tesis. Ingeniería de Alimentos. Escuela Superior Politécnica Litoral. Ecuador.
- MONTESINOS, R. 2003. Especificación cromática de gamas usadas en la industria del calzado. Trabajo de investigación. Departamento Interuniversitario de óptica. Universidad de Alicante. España.
- MOZETIC, B., TREBSE, P., SIMCIC, M. & HTIBAR, J. 2004. Changes of anthocyanins and hydroxycinnamic acids affecting the skin colour during maturation of sweet cherries (*Prunus avium* L.). *LWT - Food Science and Technology*. 37(1): 123-128.
- MUÑOZ, C. & SOTO, G. 2003. Diagnostico técnico y financiero de la producción de abono orgánico a partir de pulpa de café en cinco cooperativas de COOCAFE. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseña. Turrialba.
- MURTHY, P. & NAIDU, M. 2012. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review. *Resources, Conservation and Recycling*. 66: 45– 58
- NORIEGA, A., SILVA, R. & GARCIA, M. 2009. Composición química de la pulpa de café a diferentes tiempos de ensilaje para su uso potencial en la alimentación animal. *Zootecnia Tropical*. 27(2): 135-141.

- PARIZE, A., ROZONES, T., COSTA, I., FAVERE, V., LARANJEIRA, M., SPINELLI, A. & LONGO, E. 2008. Microencapsulation of the natural urucum pigment with chitosan by spray drying in different solvents. *African Journal of Biotechnology*. 7 (17): 3107-3114.
- PATRAS, A., BRUNTON, N., O'DONNELL, C. & TIWARI, B. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trend in Food Science & Technology*. 21: 3-11.
- PHISUT, N. 2012. Spray drying technique of fruit juice powder: some factors influencing the properties of product. *International Food Research Journal*. 19(4): 1297-1306.
- PINO, F. & PEREZ, D. 1983. Análisis de elementos-traza por Espectrofotometría de absorción molecular UV-Visible. Universidad de Sevilla. Córdoba.
- POLYPHENOLS LABORATORIES. s.f. Cyanidin Products: Cyanidin 3-rutinoside. INTERNET. <http://www.polyphenols.com/cyanidin-products/cyanidin-3-rutinoside-article141-186.html>. Recuperado el 15 de octubre de 2013.
- PRATA, E. & OLIVEIRA, L. 2006. Fresh coffee husks as potential sources of anthocyanins. *Food Science and Technology*. 40(9): 1555-1560.
- REIN, M. 2005. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Disertación académica. Departamento de Química Aplicada y Microbiología. División de Química de Alimentos. Universidad de Helsinki.
- ROJANO, B. 2009. Inhibición de la actividad enzimática de la polifenol oxidasa extraída del banano (*Cavendish valery*) mediante de sistemas bifásicos acuosos con isoespintanol y ácido ascórbico. Tesis. M.Sc. Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia.
- ROQUESA, V. & HIGUERA, B. 2007. Aislamiento y caracterización de una polifenoloxidasa relacionada con la tolerancia del clavel (*Dianthus caryophyllus*) a *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* raza 2. *Acta biológica Colombiana*. 12(2): 81-94.
- SADEGHIAN-KHALAJABADI, S., MEJÍA, B. & ARCILA, J. 2006. Composición elemental de frutos de café y extracción de nutrientes por la cosecha en la zona cafetera de Colombia. *Cenicafé*. 57(4): 251-261

- SARNI-MANCHADO, P., FULCRAND, H., SOUQUET, J., CHEYNIER, M. & MOUTOUNET, M. 2006. Stability and Color of Unreported Wine Anthocyanin-derived Pigments. *Journal of Food Science*. 61(5): 938-941.
- SELIM, K., KHALIL, K., ABDEL-BARY, M., ABDEL-AZEIM, N. 2008. Extraction, Encapsulation and Utilization of Red Pigments from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) as Natural Food Colourants. *Journal of Food Process Engineering*. 35(4):522-542.
- TIMBERLAKE, C. & HENRY, B. 1986. Plant pigments as natural food colours. *Endeavour. New Series*. 10(1): 31-36.
- TORSKANGERPOLL, K. & ANDERSEN, O. 2005. Colour stability of anthocyanins in aqueous solutions at various pH values. *Food Chemistry*. 89: 427-440.
- TORSKANGERPOLL, K.; NORBAEK, R.; NODLAND, E.; OVSTEDAL, D. & ANDERSEN, O. 2005. Anthocyanin content of *Tulipa* species and cultivars and its impact on tepal colours. *Biochemical Systematics and Ecology*. 33(5): 499-510.
- VARGAS, S. 2009. Obtención de un extracto de broza de café con propiedades nutraceuticas. Tesis. Lic. en Tecnología de Alimentos. Universidad de Costa Rica.
- WEE, L. 2002. Color Spaces and Color-Difference Equation. Department of Computer Science. National University of Singapore.
- WROLSTAD, R., DURST, R. & LEE, J. 2005. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science & Technology*. 16: 423-428.
- X-RITE. 2004. The Color Guide and Glossary. INTERNET. https://xritephoto.com/documents/literature/en/L11-029_color_guide_EN.pdf. Recuperado el 5 de mayo de 2014.
- YANG, Z., HAN, Y., GU, Z., FAN, G. & CHEN, Z. 2008. Thermal degradation kinetics of aqueous anthocyanins and visual color of purple corn (*Zea mays* L.) cob. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 9(3): 341-347.
- ZHANG, Z., PANG, X., XUEWU, D., JI, Z. & JIANG, Y. 2005. Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. *Food Chemistry*. 90: 47-52.

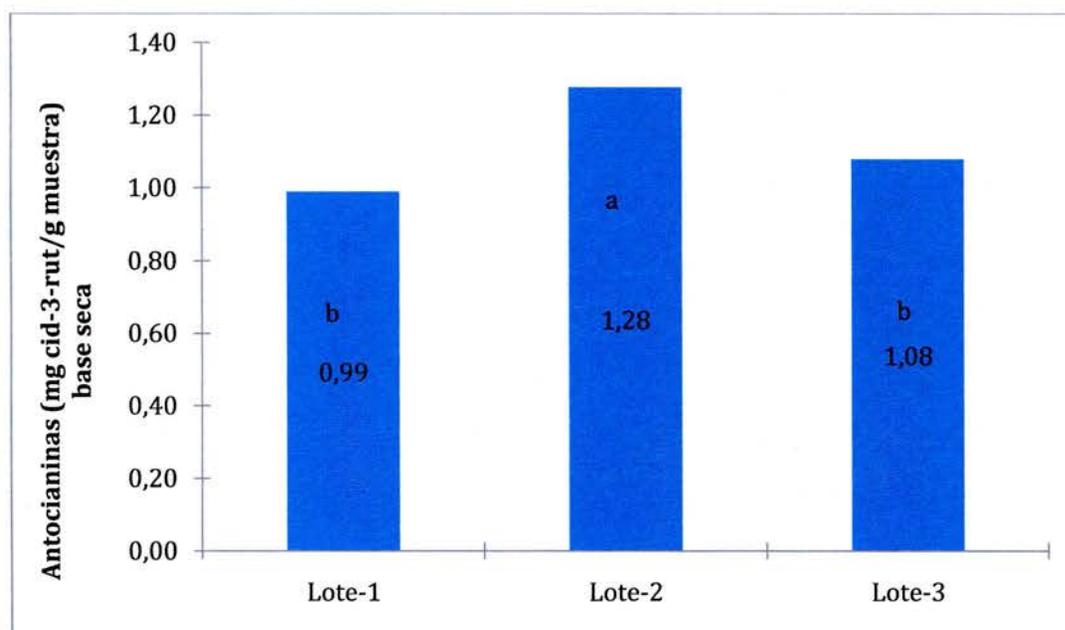
ZUBER, T. 2010. Change colors, change saturation, lighten or darken a color: Colorize an image. INTERNET. <http://www.zuberphotographics.com/content/photoshop/hue-saturation.htm>. Recuperado el 28 de setiembre de 2013.

9. ANEXOS

9.1. Análisis de la variabilidad de la toma de muestras

Se decidió muestrear tres lotes distintos con el fin de incluir en los análisis la variabilidad propia del fruto, el cual se puede deber a distintos factores como zona de la finca de donde se recolectó, variaciones en la temperatura, exposición al sol, cantidad de lluvia, grado de madurez del fruto, entre otros factores que pueden afectar la composición de la muestra.

A continuación se presentan los casos donde se presentó dicha diferencia, tanto en color como en el contenido de antocianinas.

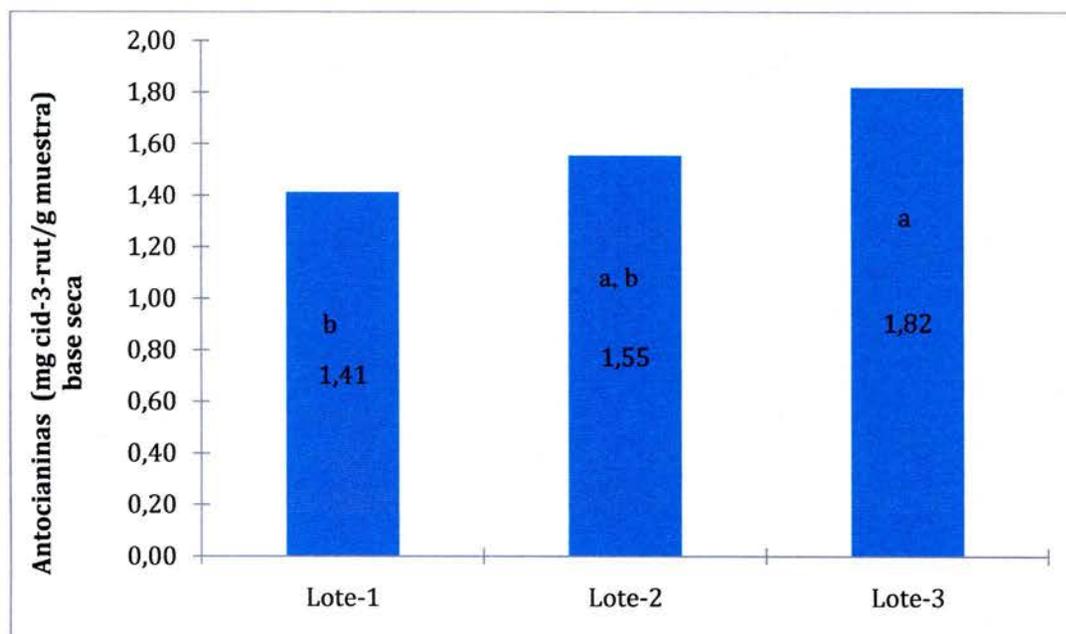


Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 41. Contenido de antocianinas resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldados y no escaldados, tratados con diferentes ácidos a dos concentraciones y concentrados al vacío

A pesar que los lotes 2 y 3 se recolectaron el mismo día y con las mismas disoluciones se debe tomar en cuenta la variabilidad propia de la materia prima, donde el fruto puede verse afectado por la zona de la finca de donde se recolectó, por variaciones en la

temperatura, en la exposición al sol, cantidad de lluvia o agua, entre otros; factores que pueden variar la composición del fruto (Sadeghian-Khalajabadi *et al.*, 2006; Martínez, 2011).

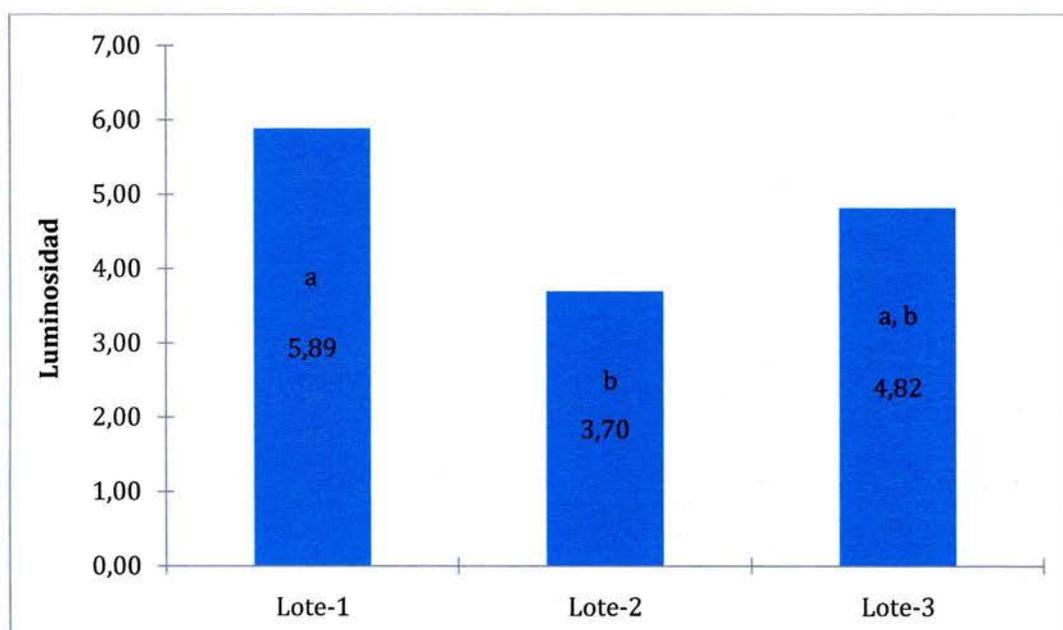


Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 42. Contenido de antocianinas resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldados y no escaldados, tratados con diferentes ácidos a dos concentraciones y secados por aspersión

Las diferencias obtenidas se pueden deber a desviaciones propias del procedimiento de secado por aspersión, por ejemplo alguna oscilación en la temperatura durante el proceso.

La diferencia obtenida en algunos casos a pesar de ser significativa estadísticamente, no fue perceptible como se muestra a continuación.



Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

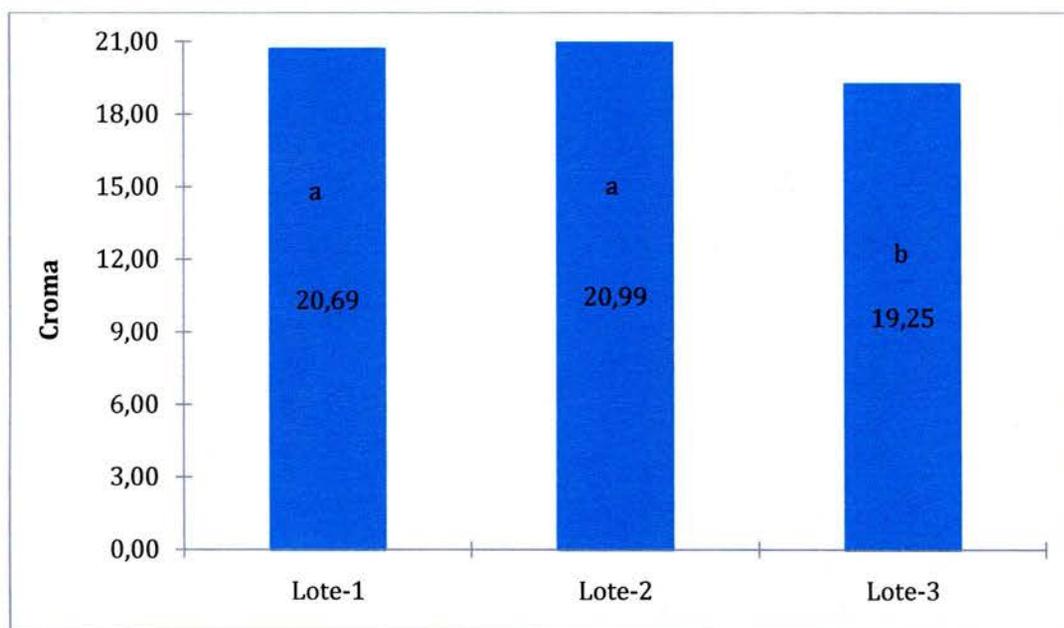
Figura 43. Luminosidad resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldados y no escaldados, tratados con diferentes ácidos a dos concentraciones y concentrados al vacío

Al determinar el ΔE (diferencia total de color) comparando los lotes, se obtuvieron los resultados que se presentan en el cuadro A1.

Cuadro A1. Diferencias total de color promedio de los lotes de cada uno de los tratamientos aplicados para la obtención de los pigmentos concentrados al vacío

Comparación	ΔE_{prom}
Lote 1 vs Lote 2	3,3
Lote 2 vs Lote 3	2,0
Lote 3 vs Lote 1	3,0

Un valor de ΔE menor a 5 y mayor a 1 se considera, industrialmente, una diferencia perceptible aceptable (Montesinos, 2003), por lo tanto, según los resultados obtenidos, se cumple con este parámetro, y en general, se presentó una diferencia perceptible aceptable entre los lotes, por ende, la diferencia de luminosidad obtenida entre lotes se consideró aceptable.



Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

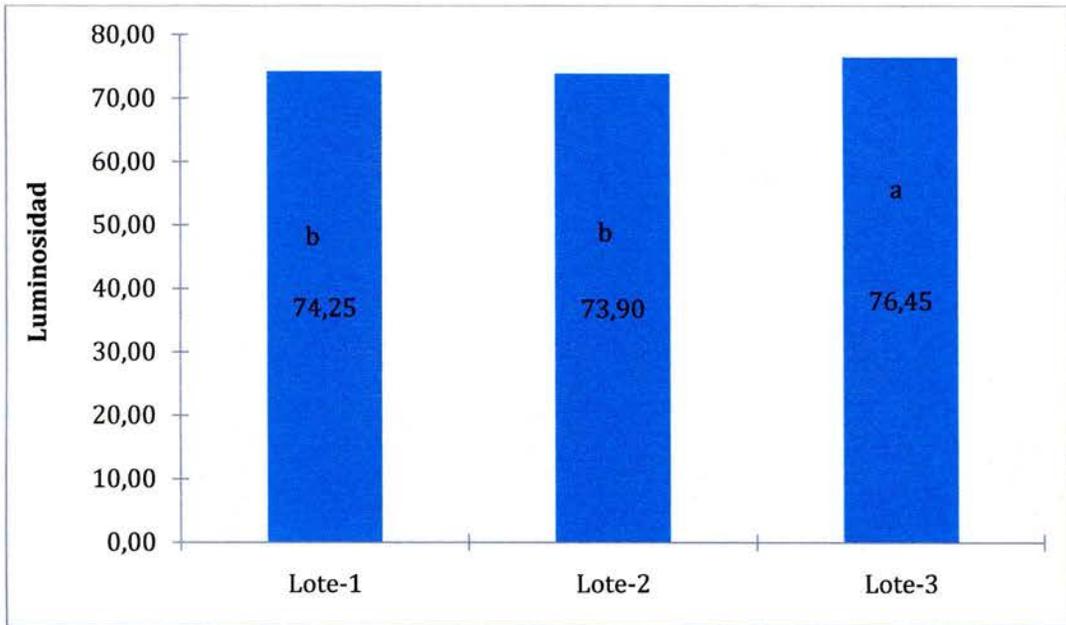
Figura 44. Croma resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldados y no escaldados, tratados con diferentes ácidos a dos concentraciones y secados por aspersión

Al determinar el ΔE , comparando los lotes, se obtuvieron los resultados que se presentan en el cuadro A2.

Cuadro A2. Diferencias total de color promedio de los lotes de cada uno de los tratamientos aplicados para la obtención de los pigmentos secados por aspersión

Comparación	ΔE_{prom}
Lote 1 vs Lote 2	3,0
Lote 2 vs Lote 3	4,0
Lote 3 vs Lote 1	3,5

Los valores obtenidos fueron menores a 5 y mayores a 1, por lo que la diferencia entre lotes fue perceptible pero aceptable (Montesinos, 2003), por lo que la diferencia de croma obtenida entre lotes se considera pequeña.



Letras diferentes entre las columnas indican diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0,05$).

Figura 45. Luminosidad resultante del promedio de las muestras de extractos de broza de café, escaldados y no escaldados, tratados con diferentes ácidos a dos concentraciones y secados por aspersión

En el cuadro A2 se presentó la diferencia total de color, y se determinó que dicha diferencia fue aceptable industrialmente, por lo que la diferencia en la luminosidad, al igual que en el croma, entre lotes de los pigmentos secados por aspersión fue tolerable o pequeña.

9.2. Resultados de la medición de color de producto en bolsa la minada y fuera de ella

En el cuadro A3 se presentan los promedios obtenidos para los valores L*, a* y b*.

Cuadro A3. Promedios de las mediciones de color realizadas a un objeto en bolsa y fuera de ella (n=6)

Parámetro	Sin bolsa	Con bolsa
L*	53,50	52,86
a*	40,41	37,69
b*	15,51	13,85

Se realizó un análisis de varianza, dichos resultados aparecen en el cuadro A4.

Cuadro A4. Resultados del análisis de varianza para la comparación de medida de color con bolsa y sin bolsa ($p \leq 0,05$)

Variable	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
L	1	1,235	1,235	6,838	0,026
a*	1	22,114	22,114	107,392	< 0,0001
b*	1	8,217	8,217	99,987	< 0,0001

9.3. Resultados de los análisis de varianza realizados para determinar el efecto del escaldado y del medio de extracción sobre las antocianinas totales y el color instrumental del pigmento de la broza de café secado por aspersión y concentrado al vacío.

9.3.1. Análisis de varianza para el contenido de antocianinas en el extracto de broza de café concentrado al vacío.

Cuadro A5. Resultados del análisis de varianza para el contenido de antocianinas en el extracto de broza de café concentrado al vacío ($p \leq 0,05$)

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Tratamiento	1	0,010	0,010	0,417	0,525
Muestra	2	0,922	0,461	19,144	< 0,0001
Concentración	1	0,196	0,196	8,136	0,009
Lote	2	0,521	0,260	10,820	0,000
Tratamiento*Muestra	2	0,034	0,017	0,698	0,508
Tratamiento*Concentración	1	0,027	0,027	1,111	0,302
Muestra*Concentración	2	0,906	0,453	18,818	< 0,0001

9.3.2. Análisis de varianza para color en el extracto de broza de café concentrado al vacío.

9.3.2.1. Variable saturación (C*)

Cuadro A6. Resultados del análisis de varianza para la variable C* del extracto de broza de café concentrado al vacío ($p \leq 0,05$)

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Tratamiento	1	16,435	16,435	11,167	0,003
Muestra	2	148,953	74,477	50,604	< 0,0001
Concentración	1	4,386	4,386	2,980	0,097
Lote	2	0,558	0,279	0,190	0,828
Tratamiento*Muestra	2	3,429	1,714	1,165	0,329
Tratamiento*Concentración	1	1,054	1,054	0,716	0,406
Muestra*Concentración	2	16,976	8,488	5,767	0,009

9.3.2.2. Variable tonalidad (h°)

Cuadro A7. Resultados del análisis de varianza para la variable h° del extracto de broza de café concentrado al vacío ($p \leq 0,05$)

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Tratamiento	1	0,712	0,712	0,030	0,865
Muestra	2	1105,193	552,597	23,035	< 0,0001
Concentración	1	141,256	141,256	5,888	0,023
Lote	2	1,496	0,748	0,031	0,969
Tratamiento*Muestra	2	59,320	29,660	1,236	0,308
Tratamiento*Concentración	1	19,724	19,724	0,822	0,374
Muestra*Concentración	2	51,771	25,886	1,079	0,356

9.3.2.3. Variable luminosidad (L^*)

Cuadro A8. Resultados del análisis de varianza para la variable L^* del extracto de broza de café concentrado al vacío ($p \leq 0,05$)

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Tratamiento	1	0,777	0,777	0,338	0,566
Muestra	2	2,971	1,485	0,646	0,533
Concentración	1	0,077	0,077	0,034	0,856
Lote	2	28,825	14,413	6,269	0,006
Tratamiento*Muestra	2	12,198	6,099	2,653	0,091
Tratamiento*Concentración	1	0,156	0,156	0,068	0,797
Muestra*Concentración	2	26,820	13,410	5,833	0,009

9.3.3. Análisis de varianza para el contenido de antocianinas en el extracto de broza de café secado por aspersión.

Cuadro A9. Resultados del análisis de varianza para el contenido de antocianinas en el extracto de broza de café secado por aspersión ($p \leq 0,05$)

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Tratamiento	1	0,724	0,724	6,159	0,020
Muestra	2	0,636	0,318	2,704	0,087
Concentración	1	0,497	0,497	4,225	0,051
Lote	2	1,021	0,511	4,342	0,025
Tratamiento*Muestra	2	0,234	0,117	0,995	0,384
Tratamiento*Concentración	1	0,000	0,000	0,002	0,965
Muestra*Concentración	2	3,449	1,725	14,664	< 0,0001

9.3.4. Análisis de varianza para color en el extracto de broza de café secado por aspersión.

9.3.4.1. Variable saturación (C*)

Cuadro A10. Resultados del análisis de varianza para la variable C* del extracto de broza de café secado por aspersión ($p \leq 0,05$)

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Tratamiento	1	9,100	9,100	7,813	0,010
Muestra	2	381,508	190,754	163,777	< 0,0001
Concentración	1	294,395	294,395	252,761	< 0,0001
Lote	2	20,802	10,401	8,930	0,001
Tratamiento*Muestra	2	5,216	2,608	2,239	0,128
Tratamiento*Concentración	1	3,160	3,160	2,713	0,113
Muestra*Concentración	2	33,390	16,695	14,334	< 0,0001

9.3.4.2. Variable tonalidad (h°)

Cuadro A11. Resultados del análisis de varianza para la variable h° del extracto de broza de café secado por aspersión ($p \leq 0,05$)

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Tratamiento	1	53,039	53,039	2,223	0,149
Muestra	2	970,269	485,135	20,337	< 0,0001
Concentración	1	1299,908	1299,908	54,491	< 0,0001
Lote	2	84,329	42,165	1,768	0,192
Tratamiento*Muestra	2	187,621	93,811	3,932	0,033
Tratamiento*Concentración	1	79,881	79,881	3,349	0,080
Muestra*Concentración	2	1187,490	593,745	24,889	< 0,0001

9.3.4.3. Variable luminosidad (L^*)

Cuadro A12. Resultados del análisis de varianza para la variable L^* del extracto de broza de café secado por aspersión ($p \leq 0,05$)

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Tratamiento	1	2,064	2,064	1,700	0,205
Muestra	2	74,217	37,108	30,558	< 0,0001
Concentración	1	49,891	49,891	41,085	< 0,0001
Lote	2	45,718	22,859	18,824	< 0,0001
Tratamiento*Muestra	2	7,459	3,730	3,071	0,065
Tratamiento*Concentración	1	0,306	0,306	0,252	0,620
Muestra*Concentración	2	29,276	14,638	12,054	0,000

9.4. Resultados de los análisis de varianza realizados para comparar el efecto de secado por aspersión y concentrado al vacío de los pigmentos obtenidos sobre la conservación de antocianinas totales y el color.

9.4.1. Análisis de varianza para el contenido de antocianinas en el extracto de broza de café concentrado al vacío y secado por aspersión

Cuadro A13. Resultados del análisis de varianza para la variable contenido de antocianinas ($p \leq 0,05$)

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Producto	1	4,154	4,154	49,292	<,0001
Tratamiento	1	0,453	0,453	5,370	0,025
Muestra	2	1,092	0,546	6,479	0,003
Concentración	1	0,658	0,658	7,810	0,007
Lote	2	0,873	0,436	5,177	0,009
Producto*Tratamiento	1	0,282	0,282	3,346	0,074
Producto*Muestra	2	0,466	0,233	2,762	0,073
Producto*Concentración	1	0,034	0,034	0,409	0,526
Tratamiento*Muestra	2	0,149	0,075	0,887	0,419
Tratamiento*Concentración	1	0,016	0,016	0,190	0,665
Muestra*Concentración	2	3,821	1,911	22,672	<,0001
Producto*Tratamiento*Muestra	2	0,1182125	0,059106	0,7014	0,501
Producto*Tratamiento*Concentración	1	0,010989	0,010989	0,1304	0,7196
Producto*Muestra*Concentración	2	0,5343792	0,26719	3,1705	0,051
Tratamiento*Muestra*Concentración	2	0,0249197	0,01246	0,1479	0,863

9.4.2. Análisis de varianza para color en el extracto de broza de café concentrado al vacío y secado por aspersión

9.4.2.1. Variable saturación (C*)

Cuadro A14. Resultados del análisis de varianza para la variable C* ($p \leq 0,05$)

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Producto	1	3705,361	3705,361	2493,492	<,0001
Tratamiento	1	24,998	24,998	16,822	0,000
Muestra	2	97,619	48,810	32,846	<,0001
Concentración	1	185,322	185,322	124,711	<,0001
Lote	2	9,519	4,759	3,203	0,051
Producto*Tratamiento	1	0,538	0,538	0,362	0,550
Producto*Muestra	2	432,845	216,422	145,640	<,0001
Producto*Concentración	1	113,459	113,459	76,351	<,0001
Tratamiento*Muestra	2	1,178	0,589	0,397	0,675
Tratamiento*Concentración	1	0,282	0,282	0,190	0,665
Muestra*Concentración	2	8,556	4,278	2,879	0,066
Producto*Tratamiento*Muestra	2	7,4663	3,733	2,5122	0,0917
Producto*Tratamiento*Concentración	1	3,9318	3,932	2,6459	0,1104
Producto*Muestra*Concentración	2	41,8092	20,905	14,0676	<,0001
Tratamiento*Muestra*Concentración	2	3,7885	1,894	1,2747	0,2888

9.4.2.2. Variable tonalidad (h°)

Cuadro A15. Resultados del análisis de varianza para la variable h° ($p \leq 0,05$)

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Producto	1	736,184	736,184	30,692	<,0001
Tratamiento	1	20,730	20,730	0,864	0,357
Muestra	2	810,398	405,199	16,893	<,0001
Concentración	1	1149,089	1149,089	47,907	<,0001
Lote	2	54,083	27,041	1,127	0,332
Producto*Tratamiento	1	33,022	33,022	1,377	0,247
Producto*Muestra	2	1265,066	632,533	26,371	<,0001
Producto*Concentración	1	292,074	292,074	12,177	0,001
Tratamiento*Muestra	2	176,204	88,102	3,673	0,068
Tratamiento*Concentración	1	10,110	10,109	0,422	0,519
Muestra*Concentración	2	864,701	432,351	18,025	<,0001
Producto*Tratamiento*Muestra	2	70,7383	35,369	1,4746	0,2391
Producto*Tratamiento*Concentración	1	89,495	89,495	3,7311	0,0593
Producto*Muestra*Concentración	2	374,5583	187,279	7,8078	0,0012
Tratamiento*Muestra*Concentración	2	28,6814	14,341	0,5979	0,554

9.4.2.3. Variable luminosidad (L*)

Cuadro A16. Resultados del análisis de varianza para la variable L* ($p \leq 0,05$)

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Producto	1	88365,978	88365,980	36608,992	<,0001
Tratamiento	1	0,154	0,150	0,064	0,802
Muestra	2	52,133	26,070	10,799	0,000
Concentración	1	23,018	23,020	9,536	0,003
Lote	2	42,431	21,220	8,789	0,001
Producto*Tratamiento	1	2,687	2,690	1,113	0,297
Producto*Muestra	2	25,054	12,530	5,190	0,009
Producto*Concentración	1	26,950	26,950	11,165	0,002
Tratamiento*Muestra	2	18,632	9,320	3,860	0,028
Tratamiento*Concentración	1	0,013	0,010	0,005	0,943
Muestra*Concentración	2	54,973	27,490	11,387	<,0001
Producto*Tratamiento*Muestra	2	1,026	0,51	0,2125	0,8093
Producto*Tratamiento*Concentración	1	0,45	0,45	0,1863	0,668
Producto*Muestra*Concentración	2	1,123	0,56	0,2326	0,7934
Tratamiento*Muestra*Concentración	2	0,574	0,29	0,1189	0,8882