

**Efecto de las condiciones de almacenamiento
en el contenido de antocianinas del frijol rojo
centroamericano (*Phaseolus vulgaris L.*)**

Kennet Mariano Carabante Ordóñez

Zamorano, Honduras

Diciembre, 2008

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Efecto de las condiciones de almacenamiento en el contenido de antocianinas del frijol rojo centroamericano (*Phaseolus vulgaris L.*)

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el Grado
Académico de Licenciatura.

Presentado por:

Kennet Mariano Carabante Ordóñez

Zamorano, Honduras

Diciembre, 2008

**Efecto de las condiciones de almacenamiento
en el contenido de antocianinas del frijol rojo
centroamericano (*Phaseolus vulgaris L.*)**

Presentado por:

Kennet Mariano Carabante Ordóñez

Aprobado:

Francisco Javier Bueso, Ph.D.
Asesor Principal

Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Director
Carrera Agroindustria Alimentaria

Juan Carlos Rosas, Ph.D.
Asesor

Raúl Espinal, Ph.D.
Decano Académico

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.
Rector

RESUMEN

Carabante, K. 2005. Efecto de las condiciones de almacenamiento en el contenido de antocianinas del fríjol rojo centroamericano (*Phaseolus vulgaris L.*). Proyecto de graduación del Programa de Ingeniería en Agroindustria, Zamorano. 64 p.

Las antocianinas son los flavonoides responsables de la coloración del frijol rojo. Los mercados de El Salvador, Honduras, Nicaragua y sus respectivas poblaciones inmigrantes en Estados Unidos prefieren el frijol rojo al negro. Las antocianinas son susceptibles a las altas temperaturas, la luz, pH neutro y alcalino. La degradación de estos compuestos propicia la pérdida de valor comercial del frijol llegando a castigos de hasta 20% del precio. Se evaluaron cambios en el contenido de antocianinas (utilizando HPLC) en tres variedades comerciales de frijol rojo (Seda, Amadeus-77 y Dorado) en cuatro condiciones de almacenamiento: refrigeración (4°C y 80% HR), bodega (25°C y 75% HR), silo (29°C y 77% HR) e incubación (40°C y 90% HR). Se realizó la cuantificación de las antocianinas (Cy 3,5-digluc, Cy 3-gluc, Pg 3,5-digluc, Pg 3-gluc, Pn 3-gluc, Mv 3-gluc y petunidina) al inicio, al día 30 y al día 60 de almacenamiento. Todas las variedades redujeron su intensidad de color rojo así como su contenido de antocianinas totales durante su almacenamiento en bodega, silo e incubación. La única antocianina sin cambio significativo fue la Pn 3-gluc, el resto de los compuestos estudiados se redujo en el tiempo en todos los ambientes exceptuando refrigeración. La variedad Seda (rojo claro) presentó la mayor cantidad de antocianinas totales y fue la más susceptible a degradación. La variedad dorado (rojo oscuro) mostró el menor contenido de antocianinas totales y fue la más estable en almacenamiento. Se encontró correlación significativa entre el contenido de antocianinas totales y la degradación del color rojo.

Palabras clave: antocianinas, cianidina, pelargonidina, peonidina, almacenamiento.

CONTENIDO

| | |
|---|-----------|
| Portadilla..... | i |
| Página de firmas | ii |
| Resumen | iii |
| Contenido..... | iv |
| Índice de Cuadros Figuras y Anexos..... | v |
| 1 INTRODUCCIÓN | 1 |
| 2 REVISIÓN DE LITERATURA | 2 |
| 3 MATERIALES Y MÉTODOS | 8 |
| 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 13 |
| 5 CONCLUSIONES | 37 |
| 6 RECOMENDACIONES | 38 |
| 7 BIBLIOGRAFÍA | 39 |
| 9 ANEXOS..... | 41 |

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

| Cuadro | Página |
|--|--------|
| 1. Radicales sustituyentes en antocianinas (glucósidos) | 2 |
| 2. Radicales sustituyentes en agliconas | 3 |
| 3. Comparación del perfil de antocianinas de la testa de 16 variedades de frijol grande | 4 |
| 4. Tabla comparativa de perfiles antocianidínicos en frijol negro, propuestos por diversos autores..... | 5 |
| 5. Tabla comparativa de perfiles antocianidínicos en frijol rojo, propuestos por diversos autores..... | 5 |
| 6. Perfil de antocianinas en frijol rojo cultivado en Honduras. | 6 |
| 7. Rangos de color en la escala L*a*b* para frijol rojo..... | 7 |
| 8. Tiempos de elución de la Pelargonidina 3-glucósido..... | 13 |
| 9. Curva de calibración de la Pelargonidina 3-glucósido | 14 |
| 10. Tiempos de elución de la petunidina | 15 |
| 11. Curva de calibración de la petunidina | 15 |
| 12. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo (60 días) sobre la claridad (L*) de tres variedades de frijol rojo . | 16 |
| 13. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T° y %HR) sobre la claridad (L*) del frijol rojo durante 60 días | 17 |
| 14. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo (60 días) sobre el color rojo (a*) de tres variedades de frijol rojo | 18 |
| 15. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T° y %HR) sobre el color rojo (valor a*) del frijol durante 60 días..... | 19 |
| 16. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo (60 días) sobre el color amarillo (b*) de tres variedades de frijol rojo..... | 20 |
| 17. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T° y %HR) sobre el color amarillo (valor b*) del frijol durante 60 días..... | 21 |
| 18. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo (60 días) en el contenido de Cy 3,5-digluc de tres variedades de frijol | 22 |
| 19. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T° y %HR) sobre el contenido de Cy 3,5-gluc (mg/100g) durante 60 días | 22 |
| 20. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo (60 días) en el contenido de Pg 3,5-digluc de tres variedades de frijol | 23 |

| | |
|---|----|
| 21. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T° y %HR) sobre el contenido de Pg 3,5-digluc (mg/100g de frijol) durante 60 días..... | 24 |
| 22. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo (60 días) en el contenido de Pg 3-gluc de tres variedades de frijol | 24 |
| 23. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T° y %HR) sobre el contenido de Pg 3-gluc (mg/100g de frijol) | 26 |
| 24. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo (60 días) en el contenido de Cy 3-gluc de tres variedades de frijol | 26 |
| 25. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T° y %HR) sobre el contenido de Cy 3gluc (mg/100g de frijol) durante 60 días..... | 28 |
| 26. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo (60 días) en el contenido de petunidina de tres variedades de frijol | 28 |
| 27. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T° y %HR) sobre el contenido de petunidina (mg/100g de frijol) durante 60 días..... | 29 |
| 28. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo (60 días) en el contenido de Pn 3-gluc de tres variedades de frijol | 30 |
| 29. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T° y %HR) sobre el contenido de Pn 3gluc (mg/100g de frijol) durante 60 días | 31 |
| 30. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo (60 días) en el contenido de Mv 3-gluc de tres variedades de frijol | 31 |
| 31. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T° y %HR) sobre el contenido de Mv 3gluc (mg/100g de frijol) durante 60 días..... | 33 |
| 32. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo (60 días) en el contenido total de antocianinas de tres variedades de frijol | 33 |
| 33. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T° y %HR) sobre el contenido de antocianinas totales (mg/100g de frijol) durante 60 días..... | 35 |
| 34. Análisis de correlación entre el contenido de antocianinas y el color (L*a*b*) en el frijol rojo | 36 |

| Figura | Página |
|--|--------|
| 1. Calibración en HPLC de la pelargonidina 3-glucósido..... | 14 |
| 2. Calibración en HPLC de la petunidina..... | 15 |
| 3. Efecto de la interacción almacenamiento (T°C) * variedad sobre la claridad (valor L*) de frijol al día 60 de almacenamiento. | 16 |
| 4. Efecto de la interacción almacenamiento (T°C) * variedad sobre el color rojo (valor a*) de frijol al día 60 de almacenamiento. | 18 |
| 5. Efecto de la interacción almacenamiento (T°C) * variedad sobre el color amarillo (valor b*) de frijol al día 60 de almacenamiento | 20 |

| | |
|--|----|
| 6. Efecto de la interacción almacenamiento (T°C) *variedad sobre el contenido de Pg 3-gluc (mg/100g) al día 60 de almacenamiento. | 25 |
| 7. Efecto de la interacción almacenamiento (T°C) *variedad sobre el contenido de Cy 3-gluc (mg/100g) al día 60 de almacenamiento. | 27 |
| 8. Efecto de la interacción almacenamiento (T°C) *variedad sobre el contenido de Pn 3-gluc (mg/100g) al día 60 de almacenamiento. | 30 |
| 9. Efecto de la interacción almacenamiento (T°C) *variedad sobre el contenido de Mv 3-gluc (mg/100g) al día 60 de almacenamiento. | 32 |
| 10. Efecto de la interacción almacenamiento (T°C) *variedad sobre el contenido total de antocianinas (mg/100g) al día 60 de almacenamiento. | 34 |

| Anexo | Página |
|--|--------|
| 1. Temperaturas de almacenamiento en refrigeración durante 60 días | 42 |
| 2. Humedad relativa (%) de almacenamiento en refrigeración durante 60 días..... | 42 |
| 3. Temperaturas de almacenamiento en bodega durante 60 días | 43 |
| 4. Humedad relativa (%) de almacenamiento en bodega durante 60 días..... | 43 |
| 5. Temperaturas de almacenamiento en silo durante 60 días | 44 |
| 6. Humedad relativa (%) de almacenamiento en silo durante 60 días..... | 44 |
| 7. Temperaturas de almacenamiento en incubación durante 60 días | 45 |
| 8. Humedad relativa (%) de almacenamiento en incubación durante 60 días | 45 |
| 9. Método para calcular concentración en mg/100g..... | 46 |
| 10. Espectro de absorbancia de la pelargonidina 3-glucósido..... | 46 |
| 11. Espectro de absorbancia para petunidina | 47 |
| 12. Cambios en la claridad del frijol Seda durante 60 días de almacenamiento | 47 |
| 13. Cambios en la claridad del frijol Amadeus-77 Seda durante 60 días de almacenamiento | 48 |
| 14. Cambios en la claridad del frijol Dorado durante 60 días de almacenamiento | 48 |
| 15. Cambios en el color rojo del frijol Seda durante 60 días de almacenamiento | 49 |
| 16. Cambios en el color rojo del frijol Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento | 49 |
| 17. Cambios en el color rojo del frijol Dorado durante 60 días de almacenamiento | 50 |
| 18. Cambios en el color amarillo del frijol Seda durante 60 días de almacenamiento | 51 |
| 19. Cambios en el color amarillo del frijol Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento | 51 |
| 20. Cambios en el color amarillo del frijol Dorado durante 60 días de almacenamiento | 51 |
| 21. Cromatograma de antocianinas en la variedad Seda | 52 |
| 22. Cromatograma de antocianinas en la Amadeus-77 | 52 |
| 23. Cromatograma de antocianinas en la variedad Seda | 52 |

| | |
|--|----|
| 24. Cambios en la el contenido de Cy 3,5-digluc en la variedad Seda durante 60 días de almacenamiento..... | 53 |
| 25. Cambios en la el contenido de Cy 3,5-digluc en la variedad Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento..... | 53 |
| 26. Cambios en la el contenido de Cy 3,5-digluc en la variedad Dorado durante 60 días de almacenamiento..... | 54 |
| 27. Cambios en la el contenido de Pg 3,5-digluc en la variedad Seda durante 60 días de almacenamiento..... | 54 |
| 28. Cambios en la el contenido de Pg 3,5-digluc en la variedad Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento..... | 55 |
| 29. Cambios en la el contenido de Pg 3,5-digluc en la variedad Dorado durante 60 días de almacenamiento..... | 55 |
| 30. Cambios en la el contenido de Pg 3-gluc en la variedad Seda durante 60 días de almacenamiento..... | 56 |
| 31. Cambios en la el contenido de Pg 3-gluc en la variedad Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento..... | 56 |
| 32. Cambios en la el contenido de Pg 3-gluc en la variedad Dorado durante 60 días de almacenamiento..... | 57 |
| 33. Cambios en la el contenido de Cy 3-gluc en la variedad Seda durante 60 días de almacenamiento..... | 57 |
| 34. Cambios en la el contenido de Cy 3-gluc en la variedad Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento..... | 58 |
| 35. Cambios en la el contenido de Cy 3-gluc en la variedad Dorado durante 60 días de almacenamiento..... | 58 |
| 36. Cambios en la el contenido de Pt en la variedad Seda durante 60 días.... | 59 |
| 37. Cambios en la el contenido de Pt en la variedad Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento..... | 59 |
| 38. Cambios en la el contenido de Pt en la variedad Dorado durante 60 días | 60 |
| 39. Cambios en la el contenido de Pn 3-gluc en la variedad Seda durante 60 días de almacenamiento..... | 60 |
| 40. Cambios en la el contenido de Pn 3-gluc en la variedad Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento..... | 61 |
| 41. Cambios en la el contenido de Pn 3-gluc en la variedad Dorado durante 60 días de almacenamiento..... | 61 |
| 42. Cambios en la el contenido de Mv 3-gluc en la variedad Seda durante 60 días de almacenamiento..... | 62 |
| 43. Cambios en la el contenido de Mv 3-gluc en la variedad Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento..... | 62 |
| 44. Cambios en la el contenido de antocianinas totales en la variedad Dorado durante 60 días de almacenamiento..... | 63 |
| 45. Cambios en la el contenido de antocianinas totales en la variedad Seda durante 60 días de almacenamiento..... | 63 |
| 46. Cambios en la el contenido de antocianinas totales en la variedad Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento | 64 |

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los principales atributos de compra para el frijol es el color, característica generada por la genética de la planta y es susceptible a cambios debido a temperatura, presencia de oxígeno, humedad relativa y luz. El oscurecimiento del grano conlleva pérdidas para el productor por reducción de precio y poca competitividad en mercados selectivos.

Los consumidores hondureños prefieren las variedades de color rojo sobre el frijol negro, comercializado en Guatemala. Esto refuerza la necesidad de entender y prevenir los cambios en el color del frijol rojo.

El Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ) y el Programa de Investigaciones en Frijol (PIF) han realizado estudios conjuntos para generar y proteger variedades de frijol resistentes al oscurecimiento en almacenamientos prolongados. Melgar (2004), generó la caracterización espectrométrica de color para el frijol rojo, distinguiendo las variedades claras de las oscuras. Taleón (2005), evaluó el efecto de la temperatura en el color de cinco variedades de frijol rojo. Finalmente Peguero (2007), estableció el perfil de antocianinas de tres variedades de frijol cultivadas en Honduras.

Con base en los estudios previos, se seleccionaron tres variedades de frijol rojo. Seda (rojo claro), Amadeus-77 (rojo intermedio) y Dorado (rojo oscuro) para realizar un estudio cuyo objetivo fue medir cambios en su perfil de antocianinas debido a la temperatura y humedad relativa de almacenamiento. Para ello se determinó la influencia de cada compuesto en los cambios de color en el grano debido al efecto de dos ambientes típicos de almacenamiento en la región: bodega (25°C, 75% RH) y silo (29°, 77% HR) y condiciones de refrigeración (4°C, 80% HR) e incubación (40°C, 90% HR).

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTOCIANINAS

Las antocianinas o antocianidinas pertenecen al grupo de los flavonoides y son pigmentos rojo azulado solubles en agua que protegen a las plantas, sus flores y sus frutos contra la luz ultravioleta. La propiedad antioxidante de las antocianinas evita la producción de radicales libres (Rivas y Mack, 2003).

De acuerdo a su composición química las antocianidinas son consideradas agliconas (sin grupos glucosídicos) y las antocianinas son los compuestos homólogos glucosidos de las antocianidinas; Las antocianinas cuentan con una estructura básica presente en todas sus compuestos, sobre la cual interaccionan diferentes radicales, por ejemplo grupos hidroxilo e hidrógeno que le confieren propiedades específicas a cada compuesto (Cuadros 1 y 2). Las agliconas también poseen una estructura básica similar denominada grupo flavilio o 2-fenil-benzopirilio) (Wong, 1995).

Cuadro 1. Radicales sustituyentes en antocianinas (glucosidos).

| Antocianina | R1 | R2 | R3 | R4 |
|-------------------------------|------------------|-----------|---------------|---------------|
| Cianidina 3,5- diglucósido | OH | H | O-B-D-glucosa | O-B-D-glucosa |
| Delfinidina 3-glucósido | OH | OH | O-B-D-glucosa | OH |
| Cianidina 3-glucósido | OH | H | O-B-D-glucosa | OH |
| Petunidina 3-glucósido | OCH ₃ | OH | O-B-D-glucosa | OH |
| Pelargonidina 3- glucósido | H | H | O-B-D-glucosa | OH |

Fuente: Choung et al. (2004).

Cuadro 2. Radicales sustituyentes en agliconas.

| Antocianina | R1 | R2 |
|--------------------|-----------|-----------|
| Delfinidina (Df) | OH | H |
| Cianidina (Cy) | OH | OH |
| Petunidina (Pt) | OCH3 | H |
| Pelargonidina (Pg) | H | H |
| Peonidina (Pn) | OCH3 | H |
| Malvidina (Mv) | OCH3 | OCH3 |

Fuente: Wong (1995).

2.2 DEGRADACIÓN DE LAS ANTOCIANINAS

Debido a la inestabilidad electrofílica del catión flavilio (estructura básica de las antocianinas), es común encontrar dichos compuestos glucosilados en la posición 3 y 4 (Cuadro 1), los cuales pueden o no estar acilados (unión glucosa-ácido orgánico). Los compuestos con los cuales se acila el azúcar normalmente son ácidos orgánicos como p-cumárico, caféico, ferúlico, málico y acético. A pesar de que las antocianinas están glucosiladas aún presentan inestabilidad a la temperatura, cambios de pH, oxidación, entre otros. Por tal razón, se condensan en la posición 4 dando como resultado pro-antocianidinas o taninos condensados, a los que se les atribuye alto poder antioxidante (Wong, 1995).

Son diversos los factores que afectan la integridad de las antocianinas: altas temperaturas, pH alcalino o neutro, oxidación e interacción con metales. Estos factores favorecen la polimerización con otros compuestos y entre sí, propiciando la ruptura del enlace entre las moléculas de glucosa y el catión flavilo generado agliconas (Wong, 1995).

Según Harborne, *et al.* (2001), cuando las antocianinas y las agliconas tienen mayor cantidad de grupos hidroxilos, su estabilidad disminuye aumentando su tendencia a la polimerización; esto se ve favorecido por altas temperaturas. Según Zhang *et al.*, (2001), el orden de estabilidad de las antocianidinas es Df<Pg<Cy<Pt<Pn<Mv.

Según Wong (1995), El sonido es una herramienta que favorece la separación de las antocianinas de la matriz que la contiene y de otros compuestos como carbohidratos simples y complejos sin propiciar su interacción o degradación siempre y cuando la temperatura no se eleve más de 20°C durante el proceso.

2.3 COLOR Y ANTOCIANINAS EN FRIJOL

De acuerdo con Choug (2004), la principal antocianina encontrada en frijol rojo (*Phaseolus vulgaris* L.) fue la Pg 3-gluc, encontrando también Cy 3,5-digluc, Cy 3-gluc y Pg 3.gluc (Cuadro 3).

Cuadro 3. Comparación del perfil antocianinas de la testa de 16 variedades de frijol grande.

| Color semilla | Cultivar | Contenido de antocianinas (mg/100g) | | | | | Total |
|------------------|-----------|-------------------------------------|----------|--------|--------|--------|-------|
| | | Pg 3,5-d | Cy 3,5-d | Cy 3-g | Df 3-g | Pg 3-g | |
| Rojo | KG98001 | 4.2 | 3.0 | 8.1 | | 58.8 | 74.1 |
| | IT100952 | 3.2 | 1.7 | 6.5 | | 34.7 | 46.1 |
| | Kangnang1 | 3.7 | 9.7 | 12.5 | | 17.4 | 44.3 |
| | IT100875 | 3.8 | 10.6 | 08. | | 05. | 27.4 |
| | IT110356 | 4.3 | 12.7 | 11.3 | | 11. | 39.3 |
| | KG98010 | | | 2.2 | 12.2 | | 14.4 |
| Negro | KG97287 | | 261.4 | | 16.7 | | 78.1 |
| | IT168080 | 1.6 | 03.8 | 2.9 | | 1.5 | 09.8 |
| Café | Sundoo | | | 2.4 | | 8.0 | 10.4 |
| | IT103412 | 1.5 | | 1.9 | | 3.3 | 06.7 |
| | KG97135 | | | | | | |
| | KG97123 | | | | | | |
| | KG96013 | | | | | | |
| Blanco | KG97128 | | | | | | |

Fuente: Choung (2004).

El contenido antocianidínico natural en cada estructura vegetal depende de la genética y las condiciones ambientales donde se desarrolla cada planta. En frijoles, se ha demostrado amplia variabilidad en el perfil de antocianinas debido al genotipo de la muestra.

Los estudios para determinar el perfil de antocianinas en frijol negro realizados por Takeota (1997), muestran la presencia de Mv 3-gluc, Pt 3-gluc y Df 3-gluc. Francis (2004), contrasta con Takeota (1960), al reportar la presencia de Df 3-gluc, Cy 3-gluc, Cy 3,5-digluc, Pg 3-gluc y Pg 3,5-digluc. Choung (2004) y Moreno (2004), concuerdan con el estudio de Takeota (1960), reportando las mismas antocianinas (Cuadro 4).

Cuadro 4. Tabla comparativa de perfiles antociadínicos en frijol negro, propuestos por diversos autores.

| Nivel* | Autor | | | | |
|--------|---------------|---------------|---------------|-------------|-------------|
| | Fenestra 1960 | Francis 1966 | Okita 1972 | Choung 2004 | Moreno 2004 |
| 1 | Mv 3-gluc | Df 3-gluc | Mv 3,5-digluc | Df 3-gluc | Df 3-gluc |
| 2 | Pt 3-gluc | Cy 3-gluc | Df 3-gluc | Pt 3-gluc | Pt 3-gluc |
| 3 | Df 3-gluc | Cy 3,5-digluc | Pt 3-gluc | Mv 3-gluc | Mv 3-gluc |
| 4 | | Pg 3-gluc | Mv 3-gluc | | |
| 5 | | Pg 3,5-digluc | | | |

*Nivel 1 representa la antocianina en mayor cantidad y el nivel 5 la antocianina en menor cantidad.

Los estudios realizados sobre el perfil de antocianinas del frijol rojo muestran diferencias a los perfiles de antocianinas de frijol negro. Macz-Pop (2004), reporta la presencia de Pg 3-gluc, Cy 3-gluc, Cy 3,5-digluc, Pg 3,5-digluc, Cy, Pn y Pg. Este perfil difiere con el propuesto por Choung (2004), ya que este último no reporta agliconas y sí la presencia de Df 3-gluc (Cuadro 5).

Cuadro 5. Tabla comparativa de perfiles antociadínicos en frijol rojo, propuestos por diversos autores.

| Nivel* | Autor | |
|--------|---------------|---------------|
| | Choung 2004 | Macz-Pop 2004 |
| 1 | Pg 3-gluc | Pg 3-gluc |
| 2 | Cy 3,5-digluc | Cy 3-gluc |
| 3 | Df 3-gluc | Cy 3,5-digluc |
| 4 | Cy 3-gluc | Cy |
| 5 | | Pg 3,5-digluc |
| 6 | | Pn |
| 7 | | Pg |

*Nivel 1 representa la antocianina en mayor cantidad y el nivel 8 la antocianina en menor cantidad.

Estudios realizados por Peguero (2007), reflejan la presencia tanto de glucósidos como de agliconas en las variedades Seda, Amadeus-77 y Dorado; siendo la petunidina el compuesto de mayor relevancia debido a su alto porcentaje tanto en frijol Seda como en Dorado (Cuadro 6).

Cuadro 6. Perfil de antocianinas en frijol rojo cultivado en Honduras.

| Perfil | Variedad | | |
|---------------------------------|----------|-------------|------------|
| | Seda (%) | Amadeus (%) | Dorado (%) |
| Pg 3,5 digluc* | 0.8 | - | 0.1 |
| Cy 3 gluc* | 3.7 | 1.8 | 2.2 |
| Pg 3 gluc* | 19.2 | 6.2 | 15 |
| Cianidina (Cy) ^o | 17 | 55.1 | 41.4 |
| Petunidina (Pt) ^o | 36.7 | 2.7 | 20.9 |
| Pelargonidina (Pg) ^o | 7.5 | 34.3 | 8.6 |
| Peonidina (Pn) ^o | 0.4 | - | 0.1 |
| Malvidina (Mv) ^o | 14.6 | - | 11.6 |
| Agliconas* | 76 | 9 | 83 |
| Glucósidos ^o | 23.7 | 7.9 | 17.3 |

Promedio de tres repeticiones

*Agliconas

^oGlucósidos

Fuente: Peguero (2007)

Son amplias las variaciones en el perfil de antocianinas dependiendo de la variedad del frijol. Según Choung, (2004). El frijol rojo tiene la mayor diversidad de antocianinas (Pg 3, 5 digluc, Cy 3, 5-digluc, Cy 3 gluc, Pg 3-gluc) en comparación con el frijol negro, café y blanco este último sin pigmentos antocianidínicos (Cuadro 4).

2.4 CLASIFICACIÓN DEL FRIJOL ROJO

Melgar (2004), desarrolló una escala de clasificación del frijol rojo centroamericano (Cuadro 7), con el objetivo de ayudar a los comercializadores del producto a tener una herramienta útil para negociar precios basados en el color. En esta escala el frijol rojo Seda se clasificó como grado 1, Amadeus-77 fue grado 4 y Dorado se clasificó como grado 7. Una clasificación desde 2 hasta 9 implica disminución en el valor comercial del producto.

Cuadro 7. Rangos de color en la escala L*a*b* para frijol rojo.

| Escala propuesta | Rangos | | | | | |
|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | L ₁ * | L ₂ * | a ₁ * | a ₂ * | b ₁ * | b ₂ * |
| 1 | 21.2925 | 20.0563 | 14.4912 | 12.34 | 3.8233 | 3.1745 |
| 2 | 20.0562 | 19.4381 | 12.3399 | 11.2643 | 3.1744 | 2.85 |
| 3 | 19.438 | 18.8199 | 11.2642 | 10.1886 | 2.8499 | 2.5255 |
| 4 | 18.8198 | 18.2017 | 10.1885 | 9.1129 | 2.5254 | 2.201 |
| 5 | 18.2016 | 17.6002 | 9.1128 | 8.0372 | 2.2009 | 1.8765 |
| 6 | 17.6001 | 16.982 | 8.0371 | 6.9615 | 1.8764 | 1.552 |
| 7 | 16.9819 | 16.3638 | 6.9614 | 5.8858 | 1.5519 | 1.2275 |
| 8 | 16.3637 | 15.7456 | 5.8857 | 4.8101 | 1.2274 | 0.903 |
| 9 | 15.7455 | 15.1274 | 4.81 | 3.7344 | 0.0929 | 0.5785 |

Fuente: Melgar (2004).

L*: 0-100 (0 es más oscuro y 100 es más blanco).

a*: (positivo = rojo, negativo = verde).

b*: (positivo = amarillo, negativo = azul).

2.5 ALMACENAMIENTO DE FRIJOL EN CENTROAMÉRICA

La producción de frijol en Centroamérica es estacional lo que causa que en algunas épocas del año exista una sobreoferta del producto reduciendo su precio. Esto implica almacenar el grano para venderlo en épocas en las que aumenta la demanda y obtener mejores precios. En Centro América el frijol en su gran mayoría se almacena en silos metálicos (presentando frecuente mente temperaturas altas y fluctuantes) o bodegas (Martínez y Zamora, 2004). Esto causa un problema de oscurecimiento del grano ya que las antocianinas se degradan bajo estas condiciones.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LOCALIZACIÓN

La investigación se realizó en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ) y la planta de procesamiento de alimentos balanceados (silo y bodega), ambos pertenecientes a la Carrera de Agroindustria Alimentaria de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano ubicada a 32 km al sureste de Tegucigalpa, Honduras.

3.2 MATERIALES Y EQUIPO

3.2.1 Material vegetativo

Se utilizaron muestras de tres variedades comerciales de frijol provistas por el Programa de Investigación en Frijol (PIF): Seda, Amadeus 77 y Dorado. Las muestras fueron cultivadas en Zamorano, cosechadas en enero del 2008 y almacenadas en congelamiento hasta su análisis.

3.2.2 Materiales de laboratorio

- Papel de aluminio, parafina y viales de 4 ml color topacio.
- Cristalería del Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano.
- Jeringa 50 μ L, graduada 0.1 μ L, marca Halmilton.
- Filtros Isodisco 0.2 μ m, marca Supelco.
- Estándares comerciales de antocianinas ChromaDex™ Inc. (petunidina y pelargonidina 3- glucósido).
- Acetonitrilo acidificado con 0.035% de ácido fórmico grado HPLC (Sigma Aldrich St. Louis, MO).
- Metanol grado reactivo (Sigma Aldrich).
- Agua destilada, filtrada a 0.45 μ L y acidificada con 0.1% de ácido Trifluoracético (TFA).

3.2.3 Equipo

- Baño ultrasónico (Fisher Scientific).
- Colorflex HunterLab Reston, VA (modelo número 45/0).
- Centrifugadora (IEC Model K).
- Vortex Genic 2TM.
- Balanza ADVENTURER TM, (OHAUS, modelo AR2140).
- Campana (LABCONCO, Patente 6461233).
- Cromatógrafo líquido de alta eficiencia (AGILENT serie 1100).
 - Inyector Manual G1328B DE11405091.
 - Desgasificador G1379A JP40724067.
 - Bomba cuaternaria G1311A DE43633284.
 - Columna ZORBAX SB-C18 (150 mm x 4.6 mm x 5 μ m) con precolumna C18.
 - (Sigma Aldrich).
 - Detector de arreglo de diodos G1315B DE43626255.
 - Columna ZORBAX SB-C18 (150 mm x 4.6 mm x 5 μ m) con precolumna C18 (Sigma Aldrich).

3.4 METODOLOGÍA

3.4.1 Generación de curvas de calibración de estándares antocianídicos.

Para generar las curvas de calibración de pelargonidina 3-glucósido (Pg 3-gluc) y petunidina (Pt), se inyectaron concentraciones conocidas provenientes de la dilución de cada estándar. Para Pg 3-gluc, se inyectaron tres repeticiones de 500, 250, 125, 50, 10 y 0 ppm de estándar en solvente 60% MeOH y 40% H₂O (v/v).

El estándar de petunidina se inyectó en tres repeticiones de 400, 200, 150, 20 y 0 ppm en un solvente idéntico al usado en la Pg 3-gluc. Luego de la inyección de 20 µL de cada repetición se obtuvo el área bajo la curva correspondiente a la concentración del estándar. Se monitoreó la precisión mediante los estadígrafos de la media, desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (%CV) de los tiempos de elución (min) y el área bajo la curva (mAU) como se refleja en los Cuadros 8 y 9.

Las áreas y sus correspondientes concentraciones fueron ingresadas al programa ChemStation Agilent® para la generación del modelo lineal. Se comprobó que el R² fuera superior a 0.999 (Figuras 1 y 2).

3.4.2 Diseño experimental

Se utilizó un arreglo factorial de parcelas divididas, con tres mediciones repetidas en el tiempo (0, 30 y 60 días de almacenamiento). Las parcelas principales fueron las condiciones de almacenamiento (refrigeración a 4°C y 80% HR, Bodega a 25°C y 75% HR, Silo a 29°C y 77° HR e incubación acelerada a 40°C y 90% HR). Las sub-parcelas fueron tres variedades de frijol rojo (Seda, Amadeus y Dorado). Las variables evaluadas fueron: el contenido de antocianinas individuales, totales y el color (L*a*b) de las tres variedades (tres repeticiones por unidad experimental).

3.4.3 Condiciones de almacenamiento.

Se recibieron 2 kg de muestra de las variedades Seda, Amadeus-77 y Dorado proveídos por el Programa de Investigaciones en Frijol (PIF). Las muestras se dividieron en porciones de 0.5 kg, se envasaron en bolsas de papel y se almacenaron en cuatro ambientes.

El cuarto frío se mantuvo a 4°C y 80% HR, mientras que en el silo y la bodega se identificaron fluctuaciones durante el estudio. La temperatura media del silo fue 29°C y 77% HR, en la bodega fue 25°C y 75% HR, la temperatura en la incubadora fue 39.9°C y 90.1% HR (Anexos 1-8).

3.4.5 Análisis de colorimétrico “colorflex Hunter L*a*b”.

El análisis colorimétrico se realizó el mismo día en que las muestras fueron almacenadas (día 0), así como al día 30 y 60 después de iniciado el estudio.

Para cada muestra se realizó el procedimiento planteado por Taleón (2005):

- Las muestras se limpiaron con papel antes de ser analizadas.
- Se colocaron sub muestras en la copa transparente del Colorflex.
- Se ubicó la copa en la región de lectura y se tapó con el cobertor negro.
- Se hicieron tres lecturas de cada unidad experimental con el software.
- Se transcribieron los datos a “Microsoft Office Excel” para ser posteriormente analizados.

3.4.6 Método para extracción de antocianinas.

Se realizó la extracción de antocianinas a todas las muestras de frijol rojo de las tres variedades (Seda, Amadeus77 y Dorado), antes de ser almacenadas y luego de 30 y 60 días de almacenamiento en: refrigeración (4°C, 80% HR), bodega (25°C, 75% HR), Silo (27°C, 77% HR) e incubación (40°C, 90% HR).

El procedimiento de extracción de antocianinas utilizado en cada una de las muestras se basó en el método propuesto por Long-Ze Lin *et al.* (2007):

- Se realizó la remoción mecánica de la testa con la ayuda de un bisturí.
- Se molió la testa por 10 segundos utilizando un molino “Cyclotec 1093 A”
- Cinco ml de una solución de MeOH y agua (60/40, v/v) fueron añadidos a 0.25 g de testa previamente pesada en una balanza analítica “Ohaus Adventurer”.
- La muestra fue sometida a un sonicador “Fisher Scientific FS14” durante 60 min en ausencia de luz y con una variación de la temperatura desde 25 a 35 °C.
- Luego de la extracción en el sonicador, se centrifugó la muestra completa por 15 min a 3,000 rpm en una centrífuga “IEC MODEL K”.
- Se realizó una purificación del sobrenadante en filtros “Supelco Iso-Disc” de 25 mm x 0.2um.
- Después de la filtración, se almacenó el extracto a -20°C para evitar su degradación y fue analizada en un período menor a 48 horas.

3.4.7 Análisis por cromatografía líquida de alta eficiencia HPLC.

Se realizó basado en el estudio realizado por Long-Ze Lin *et al.* (2007) con las siguientes condiciones:

- Las fases móviles fueron constituidas por: **A** (agua destilada filtrada y acidificada con 0.1% ácido trifluoroacético, **B** (acetonitrilo grado HPLC acidificado con ácido trifluoroacético al 0.1%).
- Se fijó el detector de arreglo de Diodos DAD para medir en absorbancias de 270 nm y 520 nm ambas con referencia de 400 nm donde se dio la menor absorbancia.
- El flujo fue 1 ml/min comenzando con un gradiente lineal de 100% de A, cambiando a 10-26% B (v/v) en el minuto 40 a 65% B en el minuto 65 y finalmente 100% de B al minuto 70.
- Se usó una columna de fase reversa ZORBAX SB-C18 (150 mm x 4.6 mm x 5µm) con pre columna C18.
- Se utilizó el área bajo la curva (unidades de absorbancia) para cuantificar los contenidos de cianidina 3-glucósido (Cy 3-gluc), cianidina 3,5- diglucósido (Cy 3,5- digluc), pelargonidina 3-glucósido (Pg 3- gluc), pelargonidina 3,5-diglucósido (Pg, 3,5-digluc), peonidina 3-glucósido (Pn 3-gluc), malvidina 3-glucósido (Mv 3-gluc), petunidina (Pt), cianidina (Cy), pelargonidina (Pg) y malvidina (Mv).
- Los resultados del reporte cromatográfico (µg/ml) fueron transformados a mg/100g (de frijol entero) como se indica en el Anexo 9.

3.4.8 Análisis estadístico

Se realizó utilizando el programa estadístico SAS[®] (Statistical Analysis System) versión 9.1.

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y análisis de medidas repetidas en el tiempo. Se realizó una separación de medias ajustadas Tukey ($P < 0.05$) para determinar el efecto de las condiciones de almacenamiento (T°C y %HR) sobre el color y el contenido de antocianinas de las tres variedades de frijol rojo.

Se utilizó una prueba de correlación simple para determinar el grado de influencia de la degradación de las antocianinas sobre el color del frijol.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CURVAS DE CALIBRACIÓN DE ESTÁNDARES ANTOCIANÍDICOS

Se generaron dos curvas de calibración para cuantificar el contenido de Pg 3-gluc y petunidina en frijol rojo.

4.1.1 Pelargonidina 3-glucósido

Utilizando el espectro UV-VIS (200-700nm) se determinó que la mayor absorbancia para la Pg 3-gluc fue a 270 nm (Anexo 10), esto es similar a lo reportado por Macz-Pop (2004), donde describe las mayores absorbancias entre 260-280 nm (rango ultravioleta) y entre 500-550 nm (rango visible).

Los tiempos de elución de la Pg 3-gluc correspondientes a las diluciones inyectadas se mantuvieron en un rango menor a 0.71 min y un %CV menor a 4, lo cual indica una aceptable precisión, siempre que se monitoreen todos los cromatogramas (Cuadros 8 y 9).

Cuadro 8. Tiempos de elución de la pelargonidina 3-glucósido.

| Dilución ug/ml | Tiempo de retención (min) | %CV |
|----------------|---------------------------|------|
| 500 | 17.11±0.65 | 3.79 |
| 250 | 16.99±0.16 | 0.94 |
| 125 | 17.02±0.36 | 2.11 |
| 50 | 17.05±0.77 | 4.51 |
| 10 | 16.93±0.71 | 3.56 |
| 0 | 0.00±0.00 | 0 |

El ajuste de esta curva de calibración fue superior a 0.999, indicando que indica es apta para predecir concentraciones provenientes de muestras a evaluar (Figuras 3 y 4).

Los coeficientes de variación del área bajo la curva (unidades de absorbancia) detectados fueron en su mayoría menores a 5%, exceptuando la dilución de 10 ppm sin generar mayores cambios en el ajuste total (Cuadros 10 y 11).

Cuadro 9. Curva de calibración de la pelargonidina 3-glucósido.

| Dilución ug/ml | Área mAU* | %CV |
|----------------|----------------|-------|
| 500 | 4157.39± 17.30 | 0.42 |
| 250 | 2010.19± 41.80 | 2.07 |
| 125 | 1089.92± 48.36 | 4.44 |
| 50 | 345.04± 11.46 | 3.32 |
| 10 | 69.76± 10.08 | 14.45 |
| 0 | 0.00± 0.00 | 0.00 |

El ajuste del modelo fue 0.9991

mAU*: Unidades de absorbancia.

Se logró un ajuste lineal superior a 0.999 (Figura 1) siendo esta cifra el mínimo requerido para calcular las concentraciones de antocianinas de acuerdo con Holden (2004).

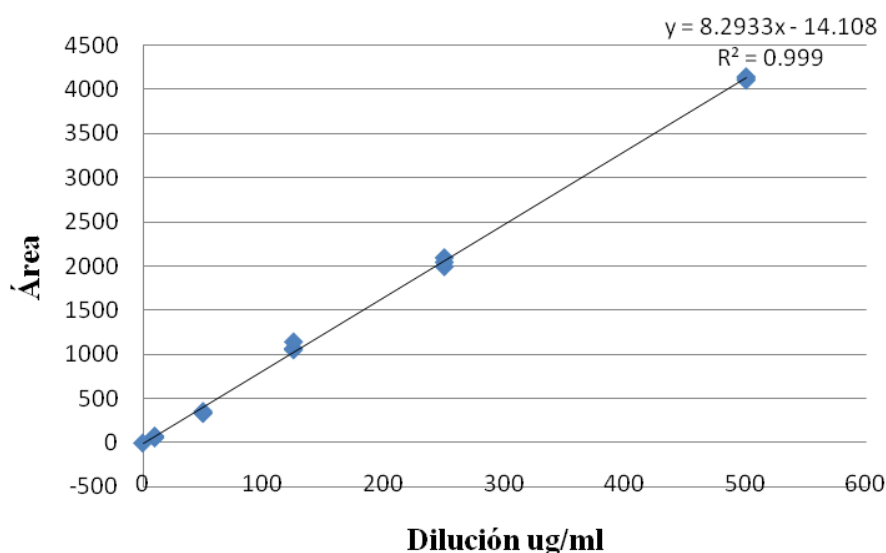


Figura 1. Calibración en HPLC de la pelargonidina 3-glucósido.

4.1.2 Petunidina

De acuerdo al espectro reportado, la mayor absorbancia de la petunidina fue a 520 nm (Anexo 11). Macz-Pop (2004) reporta mediciones de antocianinas con absorbancias entre 500-550 nm (rango visible).

Los tiempos de elución de la petunidina no superaron un rango mayor 0.9 min, ni un %CV mayor a 3.27 (salvo a 20 ppm), lo cual indica una aceptable precisión (Cuadro 10).

Cuadro 10. Tiempos de elución de la petunidina.

| Dilución ug/ml | Tiempo de retención (min) | %CV |
|----------------|---------------------------|------|
| 400 | 26.31±0.15 | 0.57 |
| 200 | 26.23±0.16 | 0.60 |
| 150 | 26.32±0.025 | 0.10 |
| 20 | 26.24±0.86 | 3.27 |
| 10 | 26.28±0.04 | 0.15 |
| 0 | 0.00± 0.00 | 0.17 |

Cuadro 11. Curva de calibración de la petunidina.

| Dilución ug/ml | Área mAU* | %CV |
|----------------|-----------------|------|
| 400 | 6093.30± 143.38 | 2.35 |
| 200 | 3070.63± 12.33 | 0.40 |
| 150 | 2291.53± 39.90 | 1.74 |
| 20 | 298.85± 9.59 | 3.20 |
| 10 | 149.42± 3.03 | 2.03 |
| 0 | 0.00± 0.00 | 0.00 |

El ajuste del modelo fue 0.9992

mAU*: Unidades de absorbancia.

Se logró superar el ajuste mínimo requerido según Holden (2004). El ajuste del modelo lineal fue 0.9991, indicando una capacidad de predicción aceptable (Figura 2).

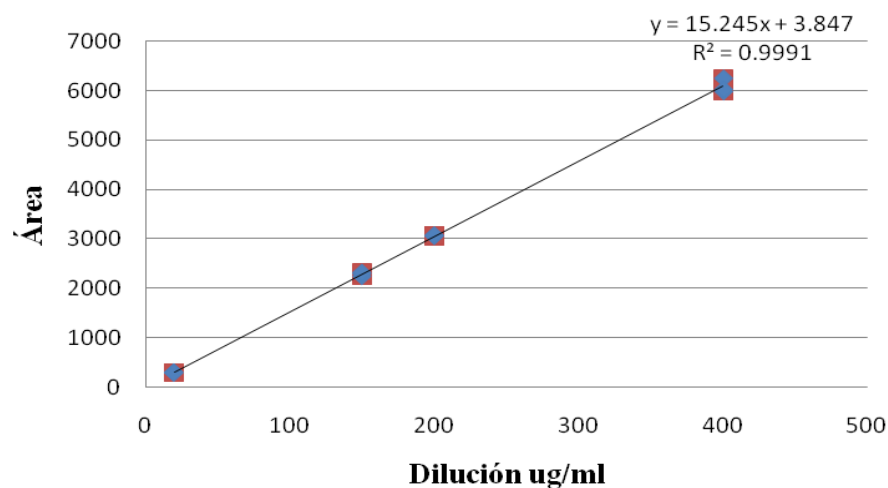


Figura 2. Calibración en HPLC de la petunidina.

4.2 ANÁLISIS DE COLOR.

4.2.1 Valor L* (claridad)

El análisis de varianza muestra que existió interacción ($Pr < 0.05$) entre el ambiente de almacenamiento ($T^{\circ}C$ y % HR) y las variedades de frijol estudiadas (Cuadro 12). Esto muestra que la temperatura influyó de manera diferente sobre las tres variedades, tendiendo a disminuir la claridad en Seda y aumentarla en Dorado y Amadeus-77 (Figura 3).

Existió interacción ($Pr < 0.05$) entre las condiciones de almacenamiento, la variedad y el tiempo (Cuadro 12), indicando que cada fuente de variación afecta a las demás en proporciones diferentes.

Cuadro 12. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento ($T^{\circ}C$ y %HR) y el tiempo (60 días) Sobre la claridad (L^*) de tres variedades de frijol rojo.

| Fuente | GL | CM | F | Pr<0.05 |
|---------------|-----------|-----------|----------|-------------------|
| Variedad (v) | 2 | 158.02 | 88.05 | <0.001 |
| Almacén (a) | 3 | 32.87 | 18.32 | <0.001 |
| Día (d) | 2 | 36.83 | 20.52 | <0.001 |
| a*v | 6 | 7.29 | 4.06 | 0.0011 |
| a*v*d | 28 | 7.25 | 64.17 | <0.0001 |

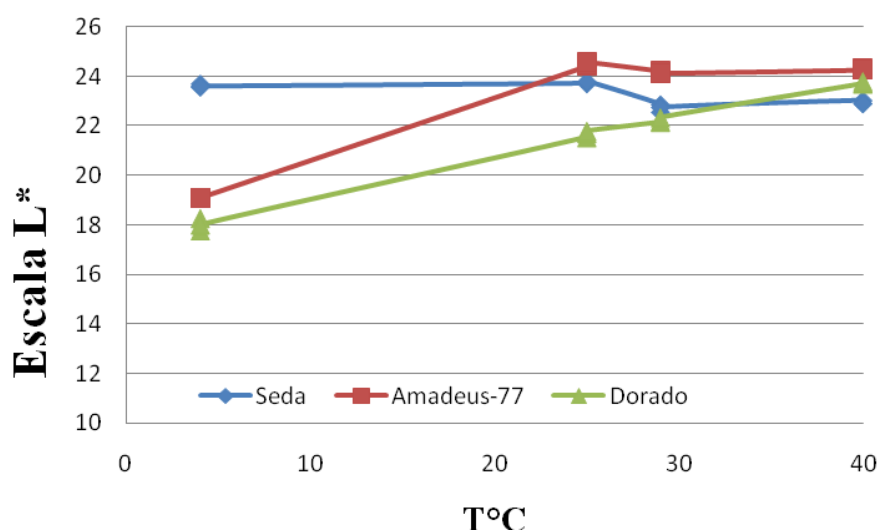


Figura 3. Efecto de la interacción almacenamiento ($T^{\circ}C$) * variedad sobre la claridad (valor L^*) al día 60 de almacenamiento.

El Cuadro 13 muestra que en el día cero el frijol Seda presentó la mayor claridad (24.98 L*), Amadeus-77 presentó un valor menor al Seda (19.01 L*) y superior al frijol Dorado (17.74 L*). Todos estos valores fueron estadísticamente diferentes ($Pr > 0.05$). El valor L* obtenido en el frijol Seda no concuerda con el planteado para la variedad Seda (19.83) en escala colorimétrica de Melgar (2005). La claridad de la variedad Seda y Dorado concordaron con el reporte de Melgar (2005).

El Anexo 12 y el Cuadro 13 muestran que la variedad Seda tendió a oscurecerse a través del tiempo concordando con Taleón (2005). La incubación a 40°C fue el ambiente con más influencia en el oscurecimiento, luego el silo (29°C), la bodega (25°C) y por último la refrigeración (4°C) no mostró cambios en la claridad del frijol Seda, siendo estos datos similares a los propuestos por Taleón (2005).

Las variedades Amadeus-77 y Dorado a diferencia del frijol Seda y los resultados de Taleón, sufrieron aumento en su claridad durante el almacenamiento tanto en el silo, la bodega e incubación, no así en refrigeración (Cuadro 11). Este aumento en la claridad no está de acuerdo con el estudio de Taleón (2005), donde la variedad Amadeus-77 y la variedad Dorado perdieron claridad (Cuadro 13, Anexos 13 y 14).

Cuadro 13. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T°C y %HR) sobre la claridad (L*) de frijol rojo durante 60 días de almacenamiento.

| Variedad | Día | Refrigeración | Bodega | Silo | Incubación |
|---------------------|-----|------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Seda a ^Ω | 0 | 24.98±0.21 ^{□a(z)*} | 25.01±0.03 ^{a(z)} | 25.08±0.07 ^{a(z)} | 25.05±0.12 ^{a(z)} |
| | 30 | 24.91±0.15 ^{a(z)} | 24.41±0.26 ^{a(y)} | 23.77±0.05 ^{b(y)} | 24.1±0.02 ^{b(y)} |
| | 60 | 24.83±0.27 ^{a(y)} | 23.75±0.02 ^{b(y)} | 22.71±0.11 ^{c(x)} | 22.06±0.06 ^{c(w)} |
| A- 77 b | 0 | 19.01±0.15 ^{a(z)} | 19.25±0.01 ^{c(z)} | 21.32±0.12 ^{c(z)} | 19.99±0.11 ^{c(z)} |
| | 30 | 19.33±0.17 ^{a(w)} | 23.18±0.18 ^{b(y)} | 23.95±0.03 ^{b(y)} | 23.28±0.04 ^{b(y)} |
| | 60 | 19.09±0.26 ^{a(y)} | 24.3±0.11 ^{a(z)} | 24.17±0.16 ^{a(z)} | 24.29±0.07 ^{a(z)} |
| Dorado c | 0 | 17.74±0.12 ^{a(y)} | 17.52±0.07 ^{c(y)} | 16.73±0.14 ^{c(x)} | 17.93±0.02 ^{c(z)} |
| | 30 | 17.67±0.35 ^{a(x)} | 20.64±0.02 ^{b(y)} | 20.27±0.08 ^{b(y)} | 21.73±0.11 ^{b(z)} |
| | 60 | 17.99±0.22 ^{a(w)} | 21.67±0.06 ^{a(x)} | 22.22±0.09 ^{a(y)} | 23.75±0.13 ^{a(z)} |

□ Medias de a-c con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

*Medias de z-w con letra diferente en una fila son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

Ω Variedades con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

4.2.2 Valor a* (color rojo)

El análisis de varianza muestra efectos significativos ($Pr < 0.05$) de las fuentes de variación individuales (T°C y %HR de almacenamiento, variedad y día de almacenamiento). Existió interacción significativa ($Pr < 0.05$), tanto en el almacenamiento con la variedad e incluyendo el tiempo (Cuadro 14). Para cada variedad el almacenamiento en altas temperaturas redujo el valor a* en proporciones distintas (Figura 4).

Cuadro 14. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento ($T^{\circ}\text{C}$ y %HR) y el tiempo (60 días) sobre el color rojo (a^*) de tres variedades de frijol.

| Fuente | GL | CM | F | Pr<0.05 |
|--------------|----|--------|---------|---------|
| Variedad (v) | 2 | 158.02 | 2371.54 | <0.001 |
| Almacén (a) | 3 | 32.87 | 17.42 | <0.001 |
| Día (d) | 2 | 36.83 | 75.26 | <0.001 |
| a^*v | 6 | 7.29 | 14.25 | <0.001 |
| a^*v*d | 28 | 3.57 | 56.39 | <0.0001 |

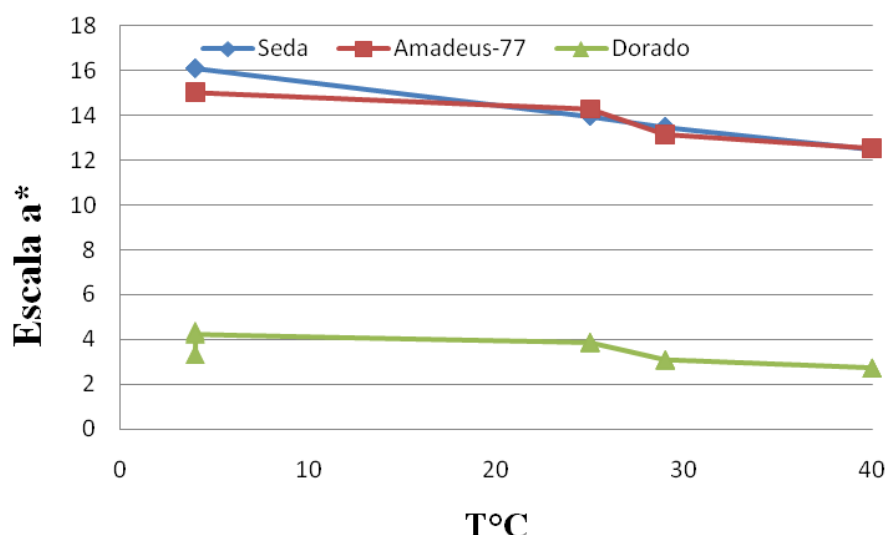


Figura 4. Efecto de la interacción almacenamiento ($T^{\circ}\text{C}$) * variedad sobre el color rojo (valor a^*) de frijol al día 60 de almacenamiento.

Al inicio del estudio el color rojo más acentuado se encontró en la variedad Seda (16.44), luego en Amadeus-77 (16.07) y la variedad con menor valor a^* fue Dorado (4.97). Esto concuerda con los estudio realizados por Melgar (2004) y Taleón (2005).

Concordando con Taleón (2005), después de 60 días en almacenamiento las tres variedades mantuvieron la intensidad de su coloración roja en refrigeración tanto al día 30 como al día 60, mientras que en el silo (29°C) y bodega la redujeron significativamente. En incubación la reducción de color rojo fue más acentuada que en los otros ambientes (Cuadro 15, Anexos 15-17).

La temperatura de almacenamiento, afectó significativamente ($Pr < 0.05$) la intensidad del color rojo en las tres variedades. El valor a^* , se redujo en mayor proporción en los ambientes de mayor temperatura, señalando a este factor como determinante en la calidad del color rojo del frijol.

Cuadro 15. Efecto de las condiciones de almacenamiento ($T^{\circ}C$ y %HR) sobre el color rojo (valor a^*) del frijol durante 60 días.

| Variedad | Día | Refrigeración | Bodega | Silo | Incubación |
|-------------------|-----|-----------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Seda a^{Ω} | 0 | 16.44±0.21 $\square a(z)^*$ | 16.36±0.15 $a(z)$ | 16.47±0.03 $a(z)$ | 16.22±0.13 $a(z)$ |
| | 30 | 16.17±0.13 $a(z)$ | 14.26±0.05 $b(y)$ | 14.21±0.13 $b(y)$ | 13.68±0.16 $b(x)$ |
| | 60 | 16.08±0.3 $a(z)$ | 13.95±0.04 $c(y)$ | 13.58±0.15 $c(y)$ | 12.5±0.21 $c(x)$ |
| A-77 b | 0 | 16.07±0.12 $a(z)$ | 17.34±0.25 $a(z)$ | 17.12±0.09 $a(z)$ | 17.7±0.09 $a(z)$ |
| | 30 | 15.94±0.07 $a(z)$ | 14.68±0.14 $b(y)$ | 14.5±0.11 $b(y)$ | 15.28±0.12 $b(y)$ |
| | 60 | 15.05±0.13 $b(z)$ | 14.29±0.22 $c(x)$ | 13.15±0.04 $c(x)$ | 12.53±0.21 $c(x)$ |
| Dorado c | 0 | 4.97±0.23 $a(z)$ | 4.99±0.12 $a(z)$ | 4.93±0.05 $a(z)$ | 5.41±0.06 $a(z)$ |
| | 30 | 4.83±0.17 $a(z)$ | 4.28±0.11 $b(y)$ | 4.26±0.02 $b(y)$ | 4.39±0.11 $a(y)$ |
| | 60 | 4.33±0.04 $b(z)$ | 3.87±0.06 $c(y)$ | 3.08±0.13 $c(y)$ | 2.71±0.09 $b(x)$ |

\square Medias de a-c con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

*Medias de z-w con letra diferente en una fila son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

Ω Variedades con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

4.2.3 Valor b^* (color amarillo)

De acuerdo con el análisis de varianza (Cuadro 16), existió efecto significativo ($Pr < 0.05$) de la variedad, las condiciones de almacenamiento ($T^{\circ}C$ y %HR) y el tiempo de almacenamiento (60 días) sobre el valor L^* del frijol.

El estudio mostró interacción significativa ($Pr < 0.05$) entre las variedades y las condiciones de almacenamiento ($T^{\circ}C$ y %HR) y ambos factores con el tiempo de almacenamiento (Cuadro 16).

La Figura 5 muestra que a diferentes temperaturas las tres variedades tuvieron comportamientos distintos al día 60, lo que indica influencias distintas del almacenamiento sobre cada variedad.

Cuadro 16. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento ($T^{\circ}\text{C}$ y %HR) y el tiempo (60 días) sobre el color amarillo (b^*) de tres variedades de frijol rojo.

| Fuente | GL | CM | F | Pr<0.05 |
|--------------|----|--------|--------|---------|
| Variedad (v) | 2 | 120.07 | 131.37 | <0.001 |
| Almacén (a) | 3 | 32.87 | 20.21 | <0.001 |
| Día (d) | 2 | 0.38 | 75.26 | <0.001 |
| a*v | 6 | 0.38 | 4.26 | 0.017 |
| a*v*d | 28 | 0.4 | 9.55 | <0.0001 |

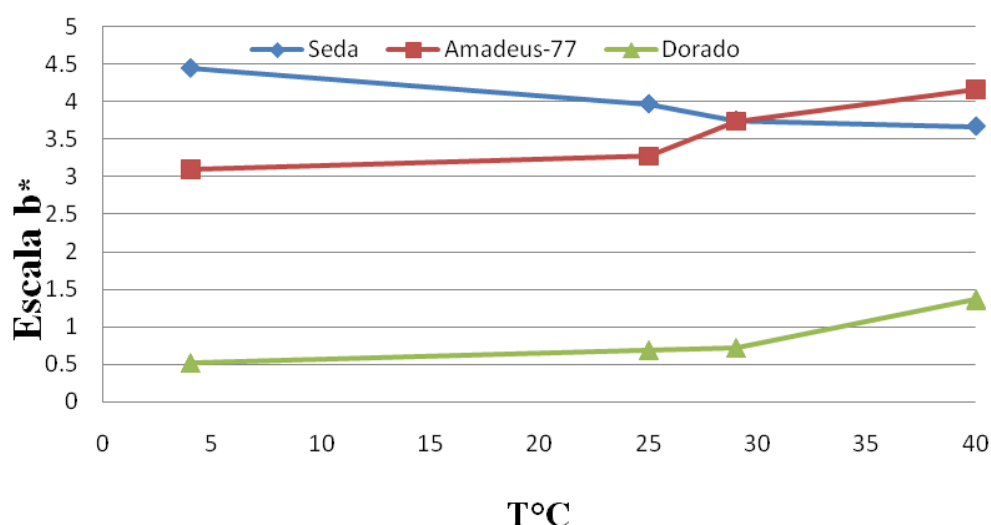


Figura 5: Efecto de la interacción almacenamiento ($T^{\circ}\text{C}$) * variedad sobre el color amarillo (valor b^*) al día 60 de almacenamiento.

Al día cero se encontraron diferencias similares a las reportadas por Taleón (2005) y Melgar (2005) donde la variedad Seda (4.63 b^*) mostró mayor intensidad de color amarillo que la variedad Amadeus-77 (3.31 b^*) y esta más que la variedad Dorado (0.41 b^*).

En la variedad Seda, el valor b^* no se vio afectado en refrigeración, pero sí en el silo y en incubación donde hubieron descensos progresivos en el tiempo. La muestra almacenada en la bodega (25°C) no presentó diferencias significativas ($\text{Pr}>0.05$) a la refrigerada, pero en el silo si se evidenció pérdida en el color, que a su vez fue menor a la muestra en incubación acelerada (Cuadro 17, Anexo 19).

La variedad Amadeus 77 y la variedad Dorado presentaron cambios en color amarillo únicamente aumentando en incubación al día 60 (Cuadro 17, Anexos 19 y 20).

Cuadro 17. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T°C y %HR) sobre el color amarillo (valor b*) del frijol durante 60 días.

| Variedad | Día | Refrigeración | Bodega | Silo | Incubación |
|---------------------|-----|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Seda a ^Ω | 0 | 4.63±0.13 ^{□a(z)*} | 4.64±0.09 ^{a(z)} | 4.64±0.14 ^{a(z)} | 4.46±0.03 ^{a(z)} |
| | 30 | 4.46±0.14 ^{a(z)} | 4.35±0.03 ^{a(z)} | 3.77±0.07 ^{b(y)} | 3.79±0.21 ^{b(y)} |
| | 60 | 4.45±0.07 ^{a(z)} | 3.97±0.1 ^{b(z)} | 3.75±0.04 ^{b(y)} | 3.67±0.14 ^{b(y)} |
| A- 77 b | 0 | 3.31±0.14 ^{a(z)} | 3.43±0.014 ^{a(z)} | 4.26±0.08 ^{a(z)} | 4.21±0.07 ^{a(z)} |
| | 30 | 3.11±0.05 ^{a(x)} | 3.22±0.05 ^{a(x)} | 3.82±0.02 ^{a(y)} | 4.19±0.09 ^{a(z)} |
| | 60 | 3.1±0.06 ^{a(x)} | 3.35±0.07 ^{a(x)} | 3.78±0.06 ^{a(y)} | 4.17±0.05 ^{a(z)} |
| Dorado c | 0 | 0.49±0.16 ^{a(z)} | 0.67±0.06 ^{a(z)} | 0.67±0.10 ^{a(z)} | 0.6±0.1 ^{b(z)} |
| | 30 | 0.78±0.03 ^{a(y)} | 0.58±0.04 ^{a(x)} | 0.75±0.05 ^{a(y)} | 1.37±0.11 ^{a(z)} |
| | 60 | 0.52±0.04 ^{a(y)} | 0.69±0.12 ^{a(y)} | 0.72±0.11 ^{a(y)} | 1.52±0.06 ^{a(z)} |

[□] Medias de a-c con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

*Medias de z-w con letra diferente en una fila son estadísticamente diferentes (P<0.05)

^Ω Variedades con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

4.3 EFECTO DE LAS CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO SOBRE EL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS

En los Anexos 21-23, se ejemplifican los cromatogramas obtenidos en el estudio (con el tiempo de elusión de cada antociana) para cada una de las tres variedades (Seda, Amadeus-77 y Dorado).

4.3.1 Cianidína 3,5-diglucósido.

El contenido cianidina 3,5-diglucósido, se vio afectado significativamente (Pr>0.05) por la variedad de la muestra, las condiciones en las que fue almacenada (T°C y %HR) y los 60 días de almacenamiento (Cuadro 18).

La Cy 3,5-digluc no presentó interacción significativa (Pr>0.05) entre la variedad y el almacenamiento, pero sí en la combinación entre la T°C y %HR de almacenamiento, las variedades y los 60 días de almacenamiento (Cuadro 18). Esta interacción indica que las combinaciones de los factores produjeron efectos diferentes a los de cada factor individual.

La aparición de este compuesto en las tres variedades de frijol es la primera variación con respecto al perfil de antocianinas propuesto por Peguero (2007), donde no reporta su aparición. Esto indica que el método de extracción utilizado en este estudio degradó menos el compuesto evitando su cambio a aglicona.

Cuadro 18: Análisis de varianza del efecto del almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo (60 días) en el contenido de Cy 3,5-digluc de tres variedades de frijol.

| Fuente | GL | CM | F | Pr<0.05 |
|--------------|----|--------|--------|---------|
| Variedad (v) | 2 | 13.87 | 298.43 | <0.001 |
| Almacén (a) | 3 | 1.28 | 27.65 | <0.001 |
| Día (d) | 2 | 3.81 | 82.09 | <0.001 |
| a*v | 6 | 0.5 | 1.09 | 0.3756 |
| a*v*d | 28 | 1.0026 | 3.51 | <0.0001 |

Los contenidos de Cy 3,5-digluc al día cero fueron diferentes en las tres variedades, siendo la variedad Seda la que presentó el mayor contenido inicial (5.02 mg/100g de frijol), seguida por la variedad Dorado (3.93 mg/100g) y el menor contenido se registró en la variedad Amadeus-77 con 3.36 mg/100g (Cuadro 19, Anexos 24-26).

La Cy 3,5-digluc mostró una alta susceptibilidad a la temperatura, ya que en todas las variedades y en todas las condiciones de almacenamiento, excepto refrigeración (4°C) se redujo significativamente (Pr<0.05). El silo (29°C) y la bodega (25°C) no mostraron diferencias significativas (Pr>0.05) entre sí y las condiciones de incubación (40°C) propiciaron el mayor descenso en el contenido (Cuadro 19, Anexos 24-26).

Cuadro 19. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T°C y %HR) sobre el contenido de Cy 3,5-digluc (mg/100g de frijol) durante 60 días.

| Variedad | Día | Refrigeración | Bodega | Silo | Incubación |
|---------------------|-----|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| Seda a ^Ω | 0 | 5.02+0.15 [□] a(z)* | 5.11+0.24 ^a (z) | 5.016+0.11 ^a (z) | 4.84+0.16 ^a (z) |
| | 30 | 4.50+0.26 ^b (z) | 4.43+0.03 ^b (z) | 4.44+0.0.14 ^b (z) | 4.02+0.11 ^b (y) |
| | 60 | 4.51+0.17 ^b (z) | 4.03+0.11 ^c (y) | 3.93+0.07 ^c (y) | 3.23+0.07 ^c (x) |
| A- 77 c | 0 | 3.36+0.15 ^a (z) | 3.50+0.14 ^a (z) | 3.35+0.06 ^a (z) | 3.34+0.06 ^a (z) |
| | 30 | 3.31+0.24 ^a (z) | 3.32+0.1 ^a (bz) | 3.33+0.07 ^a (z) | 2.83+0.12 ^b (z) |
| | 60 | 3.30+0.18 ^a (z) | 3.09+0.15 ^a (bz) | 3.21+0.05 ^a (z) | 2.77+0.04 ^b (y) |
| Dorado b | 0 | 3.93+0.16 ^a (z) | 3.92+0.09 ^a (z) | 4.01+0.16 ^a (z) | 3.94+0.16 ^a (z) |
| | 30 | 3.86+0.27 ^a (z) | 3.45+0.03 ^b (y) | 3.64+0.09 ^b (y) | 3.14+0.13 ^b (x) |
| | 60 | 3.84+0.14 ^a (z) | 3.43+0.06 ^b (y) | 3.31+0.14 ^c (y) | 2.76+0.09 ^c (x) |

[□] Medias de a-c con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

*Medias de z-w con letra diferente en una fila son estadísticamente diferentes (P<0.05)

^Ω Variedades con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

4.3.2 Pelargonidina 3,5-diglucósido

La pelargonidina 3,5-diglucósido se detectó en las tres variedades a diferencia de los resultados mostrados en el estudio realizado por Peguero (2007), donde sólo reporta la presencia del compuesto en las variedades Seda y Dorado.

Se detectó interacción significativa ($Pr < 0.05$) entre las condiciones de almacenamiento ($T^{\circ}C$ y %HR), las variedades y el tiempo (Cuadro 20), por lo que se presenta una separación de medias individuales para explicar el efecto conjunto. Individualmente el efecto de los factores sobre el contenido de Pg 3,5-digluc no es representativo.

Cuadro 20. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento ($T^{\circ}C$ y %HR) y el tiempo (60 días) en el contenido de Pg 3,5-digluc de tres variedades de frijol.

| Fuente | GL | CM | F | Pr<0.05 |
|---------------|-----------|-----------|----------|-------------------|
| Variedad (v) | 2 | 34.09 | 273.59 | <0.001 |
| Almacén (a) | 3 | 4.09 | 21.92 | <0.001 |
| Día (d) | 2 | 9.48 | 76.14 | <0.001 |
| a*v | 6 | 0.81 | 2.17 | 0.0524 |
| a*v*d | 28 | 2.21 | 37.12 | <0.0001 |

La variedad Seda mostró el mayor contenido de Pg 3,5-digluc (5.37 mg/100g de frijol), seguida por la variedad Dorado (4.23 mg/100g) y luego la variedad Amadeus-77 con 3.51 mg/100g (Cuadro 21).

El Cuadro 21 (apoyado por los Anexos 27-29), muestra que efecto del tiempo no se vio reflejado en el contenido de antocianinas de las muestras refrigeradas de las tres variedades. Las tres variedades redujeron su contenido significativamente ($Pr > 0.05$) en el silo y en incubación, siendo este último debido a su alta temperatura ($40^{\circ}C$), el ambiente con más influencia en la degradación de la Pg 3,5-digluc (resultados al día 60).

Cuadro 21. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T°C y %HR) sobre el contenido de PG 3,5-diglu (mg/100g de frijol) durante 60 días.

| Variedad | Día | Refrigeración | Bodega | Silo | Incubación |
|---------------------|-----|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Seda a ^Ω | 0 | 5.32±0.16 ^{□a(z)*} | 5.37±0.01 ^{a(z)} | 5.49±0.09 ^{a(z)} | 5.38±0.21 ^{a(z)} |
| | 30 | 4.80±0.25 ^{a(z)} | 4.73±0.11 ^{b(z)} | 4.48±0.12 ^{b(z)} | 4.32±0.13 ^{b(y)} |
| | 60 | 4.81±0.23 ^{a(z)} | 4.33±0.02 ^{b(y)} | 4.13±0.17 ^{b(y)} | 3.53±0.04 ^{c(x)} |
| A- 77 c | 0 | 3.46±0.09 ^{a(z)} | 3.51±0.15 ^{a(z)} | 3.50±0.13 ^{a(z)} | 3.60±0.16 ^{a(z)} |
| | 30 | 3.47±0.34 ^{a(z)} | 3.52±0.21 ^{a(z)} | 3.51±0.19 ^{a(z)} | 2.98±0.15 ^{a(y)} |
| | 60 | 3.40±0.12 ^{a(z)} | 3.49±0.14 ^{a(z)} | 2.98±0.12 ^{b(y)} | 2.81±0.09 ^{b(x)} |
| Dorado b | 0 | 4.23±0.07 ^{a(z)} | 4.16±0.17 ^{a(z)} | 4.21±0.08 ^{a(z)} | 4.32±0.21 ^{a(z)} |
| | 30 | 4.12±0.16 ^{a(zy)} | 4.24±0.08 ^{a(z)} | 3.73±0.10 ^{b(y)} | 3.24±0.13 ^{b(x)} |
| | 60 | 4.07±0.08 ^{a(y)} | 4.22±0.09 ^{a(z)} | 3.71±0.13 ^{b(y)} | 2.99±0.08 ^{c(x)} |

□ Medias de a-c con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

*Medias de z-w con letra diferente en una fila son estadísticamente diferentes (P<0.05)

Ω Variedades con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

4.3.3 Pelargonidina 3-glucósido.

La pelargonidina 3-glucósido fue afectada significativamente (Pr<0.05) por la variedad de la muestra, las condiciones de almacenamiento a las que fue sometida (T°C y %HR), y los 60 días de almacenamiento (Cuadro 22).

El análisis de varianza muestra que existió interacción significativa (Pr<0.05) entre las condiciones de almacenamiento (T°C y %HR) con las variedades. También existió interacción significativa (Pr<0.05) entre las condiciones de almacenamiento, las variedades y el tiempo (Cuadro 22). Esto indica que las variedades reaccionaron de manera diferente al ser sometidas a las distintas temperaturas de los ambientes durante 60 días (Figura 6).

Cuadro 22: Análisis de varianza del efecto del almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo (60 días) en el contenido de Pg 3-glu de tres variedades de frijol.

| Fuente | GL | CM | F | Pr<0.05 |
|--------------|----|--------|--------|---------|
| Variedad (v) | 2 | 1193.6 | 158.66 | <0.001 |
| Almacen (a) | 3 | 162.28 | 21.31 | <0.001 |
| Día (d) | 2 | 9.48 | 47.68 | <0.001 |
| a*v | 6 | 0.81 | 8.04 | <0.0001 |
| a*v*d | 28 | 2.21 | 17.12 | <0.0001 |

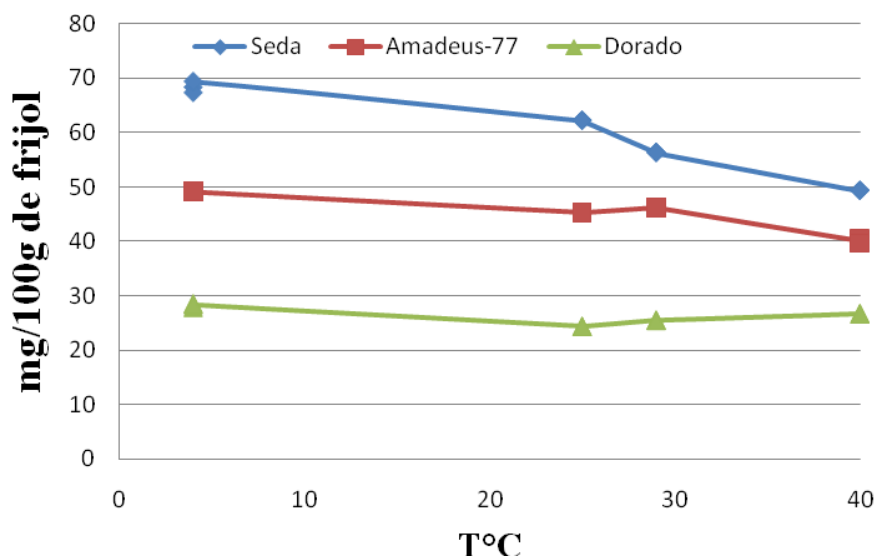


Figura 6: Efecto de la interacción almacenamiento (T°C) *variedad sobre el contenido de Pg 3-gluc (mg/100g) al día 60 de almacenamiento.

Los altos contenidos de Pg 3-gluc, concuerdan con los resultados obtenidos por Peguero, (2007), donde este compuesto es el segundo en mayor cantidad detrás de la petunidina en las tres variedades.

Al día cero, se detectaron diferencias significativas ($Pr < 0.05$) entre las variedades, siendo la variedad Seda de mayor contenido de Pg 3-gluc, con 69.72 mg/100g. La segunda variedad con mayor contenido fue Amadeus-77 con 50.56 mg/100g y la variedad con menor contenido fue dorado mostrando únicamente 29.1 mg/100g (Cuadro 23).

El tiempo mostró un efecto significativo ($Pr < 0.05$) marcado en la reducción del compuesto en las tres variedades siendo Dorado la variedad que presentó la mayor estabilidad en la Pg 3 gluc, ya que no presentó diferencias al día 60 en los tres ambientes no refrigerados.

La Pg 3 gluc, se degradó progresivamente en la variedad Seda mostrando mayor sensibilidad en los ambientes de mayor temperatura (silo a 29°C e incubación a 40°C). Amadeus-77 mostró un comportamiento similar a la variedad Seda, difiriendo en que el grado de degradación fue menor (Cuadro 23, Anexos 30-32).

Cuadro 23. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T°C y %HR) sobre el contenido de PG 3-gluc (mg/100g de frijol) durante 60 días.

| Variedad | Día | Refrigeración | Bodega | Silo | Incubación |
|----------|-----|------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Seda a | 0 | 69.72±0.35 ^{□a(z)*} | 69.96±0.17 ^{a(z)} | 69.93±0.24 ^{a(z)} | 70.05±0.39 ^{a(z)} |
| | 30 | 69.02±0.19 ^{a(z)} | 68.76±0.21 ^{b(z)} | 60.24±0.16 ^{b(y)} | 52.89±0.47 ^{b(x)} |
| | 60 | 68.28±0.26 ^{a(z)} | 62.16±0.18 ^{c(y)} | 56.25±0.25 ^{c(x)} | 49.27±0.42 ^{c(w)} |
| A- 77 b | 0 | 50.56±0.38 ^{a(z)} | 50.38±0.15 ^{a(z)} | 50.01±0.21 ^{a(z)} | 50.01±0.12 ^{a(z)} |
| | 30 | 50.39±0.17 ^{a(z)} | 48.78±0.26 ^{b(y)} | 47.99±0.17 ^{b(y)} | 46.04±0.26 ^{b(x)} |
| | 60 | 49.21±0.25 ^{b(z)} | 45.32±0.29 ^{b(x)} | 46.23±0.23 ^{c(y)} | 40.01±0.51 ^{c(w)} |
| Dorado c | 0 | 29.1±0.29 ^{a(z)} | 29.09±0.21 ^{a(z)} | 29.26±0.32 ^{a(z)} | 29.38±0.38 ^{a(z)} |
| | 30 | 28.01±0.21 ^{b(z)} | 27.03±0.34 ^{b(y)} | 27.37±0.16 ^{b(y)} | 26.67±0.42 ^{b(y)} |
| | 60 | 28.24±0.13 ^{b(z)} | 26.33±0.22 ^{c(y)} | 25.47±0.19 ^{c(x)} | 25.69±0.52 ^{c(x)} |

□ Medias de a-c con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

*Medias de z-w con letra diferente en una fila son estadísticamente diferentes (P<0.05)

Ω Variedades con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

4.3.4 Cianidina 3-glucósido

La cianidina 3-glucósido se vio afectada significativamente (Pr<0.05) por todos los factores individuales. El análisis de varianza muestra también la interacción significativa (Pr<0.05) entre las variedades, el almacenamiento y el tiempo, por lo que es necesaria la descripción individual del efecto ejercido por el almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo sobre las variedades (Cuadro 24).

Cuadro 24. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo (60 días) en el contenido de Cy 3-gluc de tres variedades de frijol.

| Fuente | GL | CM | F | Pr<0.05 |
|--------------|----|--------|--------|---------|
| Variedad (v) | 2 | 245.16 | 580.79 | <0.001 |
| Almacén (a) | 3 | 5.814 | 13.77 | 0.0467 |
| Día (d) | 2 | 16.35 | 38.74 | <0.001 |
| a*v | 6 | 1.49 | 3.53 | 0.0034 |
| a*v*d | 28 | 1.002 | 3.51 | <0.0001 |

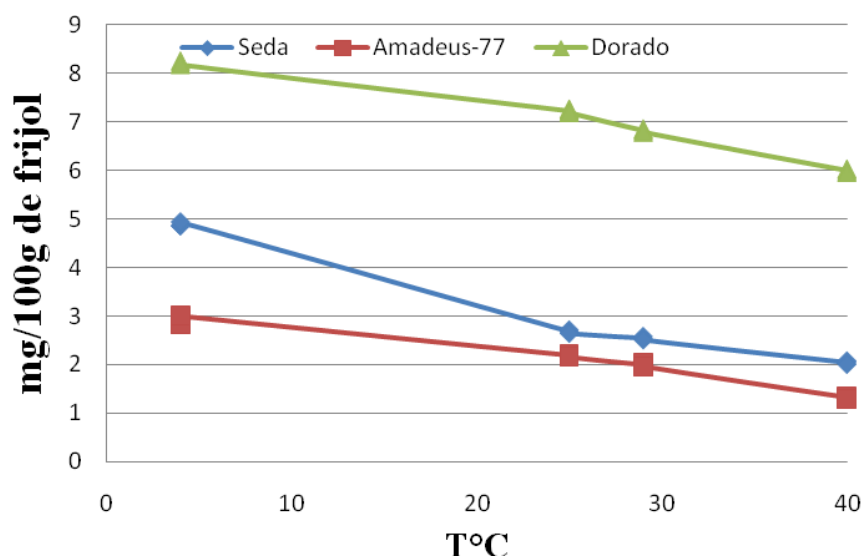


Figura 7: Efecto de la interacción almacenamiento (T°C) *variedad sobre el contenido de Cy 3-gluc (mg/100g) al día 60 de almacenamiento.

En el día cero la variedad con mayor contenido de Cy 3 gluc fue Dorado (8.17 mg/100g de frijol) seguida por Seda (4.86 mg/100g) y el menor contenido se encontró en Amadeus-77 con 3.01 mg/100g. La presencia de Cy 3-gluc concuerda con Peguero, (2007) quien la identificó en las tres variedades estudiadas (Cuadro 25, Anexos 33-35).

La Cy 3-gluc mostró susceptibilidad a la temperatura, pues a los 60 días los ambientes con temperaturas de 25, 29 y 40°C redujeron el contenido del compuesto significativamente ($P < 0.05$) en las tres variedades. Presentándose la mayor reducción a 40°C en la variedad Seda y la menor reducción en la variedad Amadeus-77 (Figura 7).

Cuadro 25. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T°C y %HR) sobre el contenido de Cy 3-gluc (mg/100g de frijol) durante 60 días.

| Variedad | Día | Refrigeración | Bodega | Silo | Incubación |
|---------------------|-----|------------------|------------------------------|----------------|-----------------|
| Seda b ^Ω | 0 | 4.86±0.09 □a(z)* | 4.82±0.17 a(z) | 4.74±0.21 a(z) | 4.76±0.21 a(z) |
| | 30 | 4.88±0.11 a(z) | 2.98±0.05 b(y) | 2.94±0.16 b(y) | 2.14±0.15 b(x) |
| | 60 | 4.88±0.07 a(z) | 2.68±0.03 b(y) | 2.55±0.16 c(y) | 2.04±0.13 c(x) |
| A- 77 c | 0 | 3.01±0.13 a(z) | 3.01±0.08 a(z) | 3.09±0.15 a(z) | 2.89±0.19 a(z) |
| | 30 | 3.04±0.01 a(z) | 2.19±0.11 b(y) | 2.08±0.06 b(y) | 1.98±0.21 b(y) |
| | 60 | 2.95±0.04 a(z) | 2.18±0.12 b(y) | 2.01±0.07 b(y) | 1.323±0.17 c(x) |
| Dorado a | 0 | 8.17±0.05 a(z) | 8.10±0.08 a(z) | 8.05±0.14 a(z) | 8.074±0.08 a(z) |
| | 30 | 7.99±0.09 a(z) | 7.63±0.09 b(z ^y) | 7.52±0.09 b(y) | 6.88±0.12 b(x) |
| | 60 | 7.86±0.11 a(z) | 7.23±0.12 c(y) | 6.48±0.11 c(x) | 5.99±0.13 c(w) |

□ Medias de a-c con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

*Medias de z-w con letra diferente en una fila son estadísticamente diferentes (P<0.05)

Ω Variedades con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

4.3.5 Petunidina

La petunidina fue la única aglicona encontrada en el estudio, fue afectada significativamente (Pr<0.05) por el almacenamiento (T°C y %HR), la variedad y el tiempo. No se encontró interacción significativa (Pr>0.05) entre las variedades y el almacenamiento (T°C). Pero sí la interacción significativa (Pr<0.05) general de las variedades y el almacenamiento con el tiempo (Cuadro 26).

Cuadro 26: Análisis de varianza del efecto del almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo (60 días) en el contenido de Petunidina de tres variedades de frijol.

| Fuente | GL | CM | F | Pr<0.05 |
|--------------|----|--------|---------|-------------------|
| Variedad (v) | 2 | 245.16 | 8963.83 | <0.001 |
| Almacén (a) | 3 | 5.814 | 27.64 | <0.001 |
| Día (d) | 2 | 16.35 | 190.08 | <0.001 |
| a*v | 6 | 1.49 | 0.97 | 0.4489 |
| a*v*d | 28 | 2.12 | 4.38 | <0.0001 |

Los altos contenidos detectados de petunidina (mayor a 50 mg/100g de grano) en todas las variedades coinciden con el perfil de antocianinas propuesto por Peguero (2007). El frijol Seda mostró el mayor contenido de petunidina (85.43 mg/100g de grano), luego el frijol Amadeus-77 (70.17 mg/100g) y el menor contenido se encontró en el frijol Dorado con 54.76 mg/100g (Cuadro 27, Anexos 36-38).

Resultados de Choung (2004), reportan contenidos de petunidina en variedades de frijol negro y en menor cantidad en frijol rojo. El menor contenido del compuesto en la variedad Dorado (rojo oscuro) comparado con las otras dos variedades, puede entenderse debido a una posible degradación causada por el tiempo transcurrido desde la cosecha hasta el inicio del estudio (5 meses).

La degradación del compuesto a través del tiempo se evidenció progresivamente en todas las variedades. Principalmente en incubación (40°C y 90% HR), seguida del silo (29°C y 77% HR) y bodega (25°C y 75% HR). En refrigeración (4°C y 80% HR) solo la variedad Seda presentó estabilidad, el resto de las variedades también presentaron degradación progresiva (Cuadro 27, Anexos 36-38).

Cuadro 27. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T°C y %HR) sobre el contenido de petunidina (mg/100g de frijol) durante 60 días.

| Variedad | Día | Refrigeración | Bodega | Silo | Incubación |
|---------------------|-----|------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Seda a ^Ω | 0 | 85.43±0.36 ^{□a(z)*} | 86.24±0.26 ^{a(z)} | 85.64±0.28 ^{a(z)} | 85.51±0.37 ^{a(z)} |
| | 30 | 84.13±0.43 ^{a(z)} | 82.86±0.29 ^{b(y)} | 83.38±0.17 ^{b(y)} | 80.82±0.31 ^{b(w)} |
| | 60 | 83.46±0.31 ^{a(z)} | 81.21±0.29 ^{c(y)} | 79.85±0.29 ^{c(x)} | 79.32±0.34 ^{c(x)} |
| A- 77 b | 0 | 70.17±0.25 ^{a(z)} | 70.21±0.19 ^{a(z)} | 70.1±0.40 ^{a(z)} | 69.74±0.27 ^{a(z)} |
| | 30 | 68.92±0.21 ^{b(z)} | 67.62±0.28 ^{b(y)} | 67.22±0.37 ^{b(y)} | 66.29±0.29 ^{b(x)} |
| | 60 | 67.22±0.35 ^{c(z)} | 65.84±0.41 ^{c(y)} | 65.44±0.35 ^{c(y)} | 64.33±0.32 ^{c(x)} |
| Dorado c | 0 | 54.76±0.23 ^{a(z)} | 54.6±0.25 ^{a(z)} | 54.76±0.24 ^{a(z)} | 55.18±0.36 ^{a(z)} |
| | 30 | 53.69±0.19 ^{a(bz)} | 52.28±0.32 ^{b(y)} | 51.98±0.26 ^{b(y)} | 50.5±0.40 ^{b(x)} |
| | 60 | 53.32±0.29 ^{b(z)} | 50.39±0.37 ^{c(y)} | 49.49±0.22 ^{c(y)} | 47.79±0.42 ^{c(x)} |

[□] Medias de a-c con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

*Medias de z-w con letra diferente en una fila son estadísticamente diferentes (P<0.05)

^Ω Variedades con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

4.3.6 Peonidina 3-glucósido.

La presencia de este compuesto contradice los resultados de Peguero (2007), quien no reporta su existencia en las muestras estudiadas.

La peonidina 3-glucósido presentó interacción significativa (Pr<0.05) entre las variedades y almacenamiento. La Figura 10 muestra los distintos efectos de la temperatura sobre el contenido de Pn 3-gluc al día 60 (reducción en la variedad Seda).

Existió interacción significativa (Pr<0.05) entre el almacenamiento (T°C y %HR), las variedades y el tiempo (60 días), indicando efectos conjuntos entre las fuentes de variación (Cuadro 28, Figura 8).

Cuadro 28. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento ($T^{\circ}\text{C}$ y %HR) y el tiempo (60 días) en el contenido de Pn 3-gluc de tres variedades de frijol.

| Fuente | GL | CM | F | Pr<0.05 |
|--------------|----|--------|--------|---------|
| Variedad (v) | 2 | 325.08 | 158.66 | <0.001 |
| Almacén (a) | 3 | 0.03 | 2.6 | 0.0567 |
| Día (d) | 2 | 0.14 | 47.68 | <0.001 |
| a*v | 6 | 0.06 | 8.04 | <0.0011 |
| a*v*d | 28 | 2.21 | 17.12 | <0.0001 |

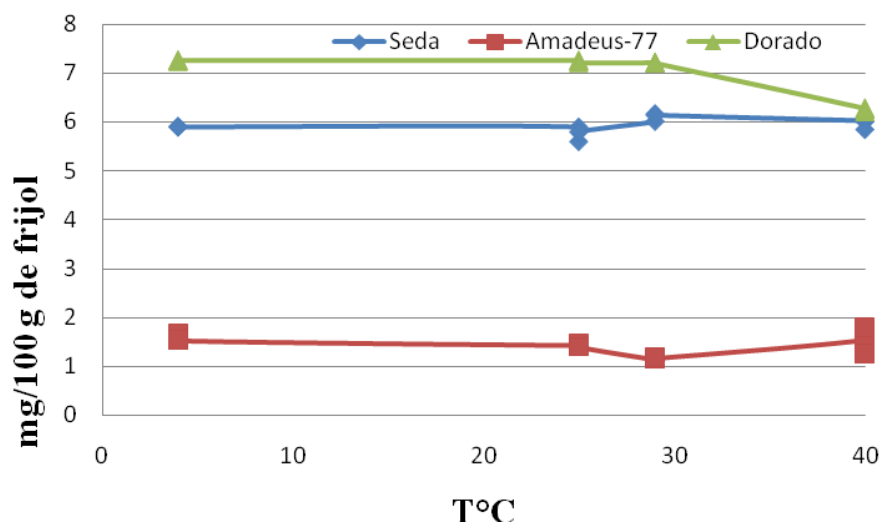


Figura 8: Efecto de la interacción almacenamiento ($T^{\circ}\text{C}$) *variedad sobre el contenido de Pn 3-gluc (mg/100g) al día 60 de almacenamiento.

En el día cero, la variedad Dorado presentó el mayor contenido de Pn 3 gluc (7.26 mg/100g de grano), seguida por Seda (6.07 mg/100g) y Amadeus-77 (1.6 mg/100g).

En general existió estabilidad del compuesto a la temperatura de almacenamiento durante tiempo del estudio. Ya que las únicas reducciones se evidenciaron en Seda y Dorado al día 60 de incubación (Cuadro 29, Anexos 39-41).

Cuadro 29. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T°C y %HR) sobre el contenido de Pn 3-gluc (mg/100g de frijol) durante 60 días.

| Variedad | Día | Refrigeración | Bodega | Silo | Incubación | |
|----------|----------------|---------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Seda | b ^Ω | 0 | 6.07+0.09 ^{□a(z)*} | 6.04+0.12 ^{a(z)} | 6.13+0.06 ^{a(z)} | 6.14+0.18 ^{a(z)} |
| | | 30 | 5.90+0.11 ^{a(z)} | 5.81+0.13 ^{a(z)} | 6.12+0.09 ^{a(z)} | 5.92+0.17 ^{a(z)} |
| | | 60 | 5.87+0.21 ^{a(z)} | 5.76+0.11 ^{a(z)} | 6.09+0.08 ^{a(z)} | 5.45+0.25 ^{b(y)} |
| A- 77 | c | 0 | 1.60+0.07 ^{a(z)} | 1.53+0.07 ^{a(z)} | 1.60+0.12 ^{a(z)} | 1.55+0.26 ^{a(z)} |
| | | 30 | 1.59+0.12 ^{a(z)} | 1.43+0.08 ^{a(z)} | 1.57+0.14 ^{a(z)} | 1.53+0.19 ^{a(z)} |
| | | 60 | 1.57+0.08 ^{a(z)} | 1.42+0.11 ^{a(z)} | 1.55+0.21 ^{a(z)} | 1.02+0.22 ^{b(y)} |
| Dorado | a | 0 | 7.26+0.12 ^{a(z)} | 7.24+0.21 ^{a(z)} | 7.24+0.3 ^{a(z)} | 7.23+0. ^{24 a(z)} |
| | | 30 | 7.16+0.13 ^{a(z)} | 7.13+0.17 ^{a(z)} | 7.20+0.23 ^{a(z)} | 7.17+0. ^{27 a(z)} |
| | | 60 | 7.21+0.11 ^{a(z)} | 7.23+0.13 ^{a(z)} | 6.61+0.19 ^{b(z)} | 6.55+0.29 ^{b(y)} |

□ Medias de a-c con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

*Medias de z-w con letra diferente en una fila son estadísticamente diferentes (P<0.05)

Ω Variedades con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

4.3.7 Malvidina 3-glucósido

La presencia de malvidina 3-glucósido en las tres variedades de frijol estudiadas (Seda, Amadeus-77 y Dorado) contrasta con el estudio de Peguero, (2007). Donde se reporta como aglicona (probable degradación durante la extracción).

El análisis de varianza, además del efecto significativo (Pr<0.05) de los factores individuales mostró interacción significativa (Pr<0.05) entre las variedades y el almacenamiento y ambos factores con el tiempo (Cuadro 30).

Cuadro 30. Análisis de varianza del efecto del almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo (60 días) en el contenido de Mv 3-gluc de tres variedades de frijol.

| Fuente | GL | CM | F | Pr<0.05 |
|--------------|----|--------|---------|---------|
| Variedad (v) | 2 | 515.77 | 4439.33 | <0.001 |
| Almacén (a) | 3 | 2.45 | 21.07 | 0.0567 |
| Día (d) | 2 | 7.04 | 60.81 | <0.001 |
| a*v | 6 | 0.43 | 3.73 | 0.0022 |
| a*v*d | 28 | 2.21 | 17.12 | <0.0001 |

La Figura 9, muestra la tendencia de la variedad Seda a reducir su contenido de Mv 3-gluc luego de 60 días. Las variedades Amadeus-77 y Dorado mostraron reducciones menos acentuadas que la variedad Seda.

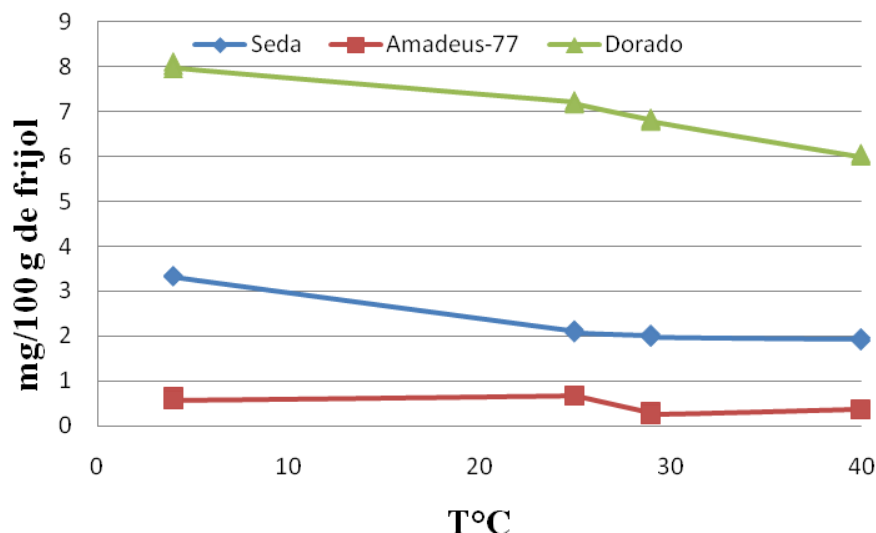


Figura 9: Efecto de la Interacción almacenamiento (T°C) *variedad sobre el contenido de Mv 3-gluc (mg/100g) al día 60 de almacenamiento.

Se encontraron diferencias iniciales significativas ($Pr < 0.05$) entre las variedades, siendo Dorado la de mayor contenido (8.7 mg/100g de frijol), seguida por Seda (3.33 mg/100g de frijol) y contrario a lo esperado (siendo Seda una variedad más clara), Amadeus-77 mostró el menor contenido de Mv 3 gluc (0.71 mg/100g de frijol). Esto muestra que las diferencias en color rojo no solo se deben a la presencia de antocianinas individuales, pero sí al efecto combinado de los compuestos (Cuadro 31).

El frijol Seda en refrigeración, no presentó cambios en el contenido. Si mostró reducciones significativamente iguales ($Pr < 0.05$) en el almacenamiento en bodega y silo al día 30 y la incubación redujo el contenido de Mv 3-gluc al día 30 y 60 (Cuadro 31, Anexo 42).

La variedad Amadeus-77 no se vio afectada en el tiempo cuando fue almacenada en refrigeración y en bodega, si sufrió reducciones al día 30 en el silo y en el día 30 y 60 en la incubación (Cuadro 31, Anexo 43).

En el frijol Dorado se detectaron diferencias significativas ($Pr < 0.05$) en todos los almacenamientos con el siguiente orden ascendente en degradación: refrigeración < bodega < silo < incubación (Cuadro 31, Anexo 44).

Cuadro 31. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T°C y %HR) sobre el contenido de Mv 3-gluc (mg/100g de frijol) durante 60 días.

| Variedad | Día | Refrigeración | Bodega | Silo | Incubación |
|---------------------|-----|------------------|----------------|----------------|-----------------|
| Seda b ^Ω | 0 | 3.33+0.15 □a(z)* | 3.22+0.11 a(z) | 3.25+0.21 a(z) | 3.21+0.09 a(z) |
| | 30 | 3.31+0.12 a(z) | 2.49+0.09 b(y) | 2.22+0.13 b(y) | 2.1+0.04 b(x) |
| | 60 | 3.32+0.13 a(z) | 2.1+0.06 b(y) | 2.01+0.17 b(y) | 1.92+0.06 c(x) |
| A- 77 c | 0 | 0.71+0.06 a(z) | 0.74+0.03 a(z) | 0.72+0.04 a(z) | 0.73+0.03 a(z) |
| | 30 | 0.72+0.01 a(z) | 0.7+0.03 a(z) | 0.44+0.03 b(y) | 0.51+0.02 b(y) |
| | 60 | 0.61+0.03 b(z) | 0.68+0.03 a(z) | 0.29+0.02 b(y) | 0.37+0.03 c(y) |
| Dorado a | 0 | 8.7+0.01 a(z) | 8.76+0.11 a(z) | 8.8+0.13 a(z) | 8.75+0.11 a(z) |
| | 30 | 8.57+0.08 a(bz) | 7.62+0.07 b(y) | 7.22+0.16 b(x) | 7.06+0.19 b(x) |
| | 60 | 8.34+0.11 b(z) | 7.21+0.13 c(y) | 6.82+0.15 c(x) | 7.04+0.14 c(yx) |

□ Medias de a-c con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

*Medias de z-w con letra diferente en una fila son estadísticamente diferentes (P<0.05)

Ω Variedades con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

4.3.8 Antocianinas Totales

El contenido total de antocianinas fue afectado significativamente (Pr<0.05) por el almacenamiento (T°C y %HR), las variedades y el tiempo en almacén (60 días). Existió interacción significativa (Pr<0.05) entre las variedades y el almacenamiento y ambos factores con el tiempo (Cuadro 32).

Cuadro 32. Análisis de varianza del efecto de del almacenamiento (T°C y %HR) y el tiempo (60 días) en el contenido total de antocianinas de tres variedades de frijol.

| Fuente | GL | CM | F | Pr<0.05 |
|--------------|----|---------|---------|---------|
| Variedad (v) | 2 | 3240.5 | 1918.84 | <0.001 |
| Almacén (a) | 3 | 547.32 | 32.4 | <0.001 |
| Día (d) | 2 | 1906.24 | 112.84 | <0.001 |
| a*v | 6 | 68.87 | 4.08 | <0.001 |
| a*v*d | 28 | 69.17 | 77.59 | 0.0011 |

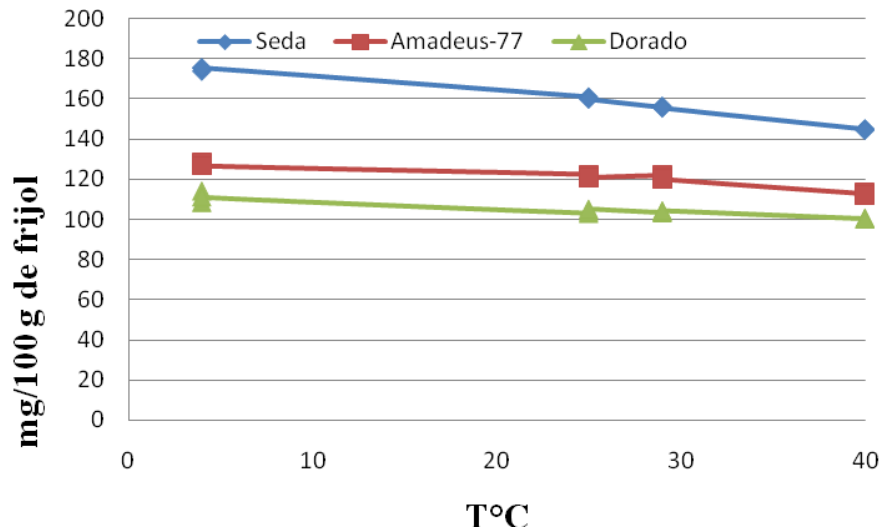


Figura 10. Efecto de la interacción almacenamiento (T°C) *variedad sobre el contenido de antocianinas totales al día 60 de almacenamiento.

Al inicio del estudio se detectaron diferencias significativas ($Pr < 0.05$) entre las variedades. La variedad con mayor cantidad de antocianinas en total fue Seda (179.5 mg/100g de frijol) seguida por Amadeus 77 (132.8 mg/100g de frijol). El menor contenido se detectó en Amadeus-77 (115.19 mg/100g de frijol),

En todas las variedades se evidenció un efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la degradación de las antocianinas totales reduciéndose a 4, 25, 29 y 40°C (en orden ascendente de degradación), mostrando que la temperatura tuvo un mayor efecto que la humedad relativa en los distintos ambientes de almacenamiento (Cuadro 33, Anexos 45-47).

Se puede apreciar efecto del contenido total de antocianinas en los cambios en color rojo del frijol, todas las variedades redujeron significativamente ($Pr < 0.05$) su color rojo así como su contenido de antocianinas totales.

Cuadro 33. Efecto de las condiciones de almacenamiento (T°C y HR) sobre el contenido de antocianinas totales (mg/100g de frijol) durante 60 días.

| Variedad | Día | Refrigeración | Bodega | Silo | Incubación |
|---------------------|-----|------------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Seda a ^Ω | 0 | 179.5+1.16 ^{□a(z)*} | 178.6+0.56 ^{a(z)} | 180.9+1.31 ^{a(z)} | 179.7+0.89 ^{a(z)} |
| | 30 | 176.6+0.55 ^{b(z)} | 171.6+0.89 ^{b(y)} | 163.6+1.19 ^{b(x)} | 151.9+1.43 ^{b(w)} |
| | 60 | 174.8+0.40 ^{c(z)} | 160.5+1.3 ^{c(y)} | 156.2+1.47 ^{c(x)} | 144.9+1.36 ^{c(w)} |
| A- 77 b | 0 | 132.8+0.36 ^{a(z)} | 132.4+0.54 ^{a(z)} | 132.2+1.41 ^{a(z)} | 131.6+1.77 ^{a(z)} |
| | 30 | 131.7+1.15 ^{a(z)} | 127.5+0.69 ^{b(y)} | 125.6+0.97 ^{b(x)} | 122.0+1.83 ^{b(z)} |
| | 60 | 127.9+0.10 ^{b(z)} | 121.6+1.1 ^{c(y)} | 121.1+1.75 ^{c(y)} | 112.8+2.12 ^{c(w)} |
| Dorado c | 0 | 115.9+0.33 ^{a(z)} | 115.9+1.2 ^{a(y)} | 116.1+1.43 ^{a(y)} | 116.6+1.53 ^{a(w)} |
| | 30 | 113.0+0.59 ^{b(z)} | 109.0+0.89 ^{b(y)} | 108.6+1.94 ^{b(y)} | 105.3+0.67 ^{b(w)} |
| | 60 | 111.2+0.12 ^{c(z)} | 103.9+0.73 ^{c(y)} | 104.17+1.07 ^{c(y)} | 100.2+1.29 ^{c(w)} |

□ Medias de a-c con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

*Medias de z-w con letra diferente en una fila son estadísticamente diferentes (P<0.05)

Ω Variedades con letra diferente en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

4.3.9 Correlación entre el contenido de antocianinas y el color (L*a*B) en el frijol rojo

No se encontró correlación significativa (Pr>0.05) entre el contenido de cada antocianina y los valores de claridad (debido al inesperado aumento en la claridad de Amadeus-77 y Dorado) y color amarillo del grano, pero sí entre los compuestos y el color rojo (a*) del frijol (Cuadro 13).

Las correlaciones significativas (Pr<0.05) más altas se encontraron en los compuestos con mayor contenido de antocianinas totales (0.74), Pg 3-gluc y Pt. Esto indica que las reducciones reportadas en estos compuestos influyeron de manera directa en la reducción del color rojo (Cuadro 34).

En menor grado se presentó correlación del color rojo con Cy 3,5-digluc (0.61) Pg 3,5-digluc (0.56) y Cy 3-gluc (0.37). Esto debido a la menor concentración de los compuestos y que fueron más estables que las otras antocianinas antes mencionadas.

La Mv 3-gluc y Pn 3-gluc no mostraron correlación significativa (Pr>0.05) con el color rojo del frijol. La Pn 3-gluc no sufrió descensos significativos (Pr>0.05), pero sí el color. La Mv 3-gluc se presentó en muy pocas cantidades (0.7-2 mg/100g de frijol) comparado con altos valores de color rojo (Cuadro 29).

Cuadro 34. Análisis de correlación entre el contenido de antocianinas y el color (L*a*b*) en el frijol rojo.

| Compuesto | L* | a* | b* |
|----------------------|-----------------------------|----------------|----------------|
| Cy 3,5-digluc | 0.07* (P=0.82) ^Ω | 0.61 (P=0.002) | 0.14 (P=0.55) |
| Pg 3,5-digluc | 0 (P=0.87) | 0.56 (P=0.024) | 0.25 (P=0.064) |
| Cy 3-gluc | 0 (P=0.03) | 0.37 (P=0.008) | 0.37 (P=0.097) |
| Pg 3- gluc | 0.13 (P=0.37) | 0.71 (P<0.001) | 0.30 (P=0.21) |
| Pn- 3-gluc | 0.09 (P=0.21) | 0.11 (P=0.043) | 0.10 (P=0.13) |
| Pt | 0.25 (P=0.31) | 0.73 (P<0.001) | 0.42 (P=0.19) |
| Mv 3-gluc | 0.10 (P=0.12) | 0.08 (P=0.092) | 0.21 (P=0.27) |
| Antocianinas totales | 0.17 (P=0.22) | 0.74 (P<0.001) | 0.25 (P=0.018) |

*Coeficiente de correlación entre el contenido del compuesto y el estímulo de color.

^Ω Probabilidad del modelo.

5. CONCLUSIONES

- La mayor cantidad de antocianinas se encontró en Seda, Amadeus-77 fue intermedia y Dorado la variedad con menor contenido. Este también fue el orden de intensidad de color rojo.
- Durante los 60 días de almacenamiento se detectó la pérdida de antocianinas totales en las tres variedades de frijol, siendo 4°C y 80% HR, la combinación con menos cambio y 40°C a 90% HR el ambiente que propició la mayor degradación.
- Las principales antocianinas responsables de la intensidad de color rojo del frijol fueron la Pg 3-gluc, Pt y el contenido total de antocianinas.
- Una mayor temperatura de almacenamiento degradó más el contenido de antocianinas y la intensidad de color rojo en el frijol rojo centroamericano, principalmente en el frijol Seda.

6. RECOMENDACIONES

- Evaluar los cambios en el perfil de antocianinas por efecto de atmósfera la concentración de oxígeno en la atmosfera.
- Identificar el contenido total y perfil de antocianinas en que el frijol rojo tipo Seda pierde valor comercial por efecto del tiempo y condiciones de almacenamiento.
- Realizar un estudio similar utilizando condiciones de almacenamiento con medias de temperatura más distantes entre sí (4, 20, 30 Y 40°C).
- Evaluar el efecto individual de la temperatura y humedad relativa sobre el perfil de antocianinas en frijol rojo durante su almacenamiento.

7. BIBLIOGRAFÍA.

Awika, M., 2004. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chemistry* 90 293-30.

Choung, C. 2003. Anthocyanins profiles of Korean kidneys beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal Agriculture of Food Chemistry* 24:740-743

Francis, G. 2004. Techniques of pigment identification. *Annual Plant Reviews—Plant Pigments and Their Manipulation*, 14, 293–341.

Fossen, T., R. Slimestad, and O. M. Anderson. 2001. Anthocyanins from maize (*Zea mays*) and reed canarygrass (*Phalaris arundinacea*). *J. Agric. Food Chem.* 49: 2318-2321

Harborne, J.; Williams, C. 2001. Anthocyanins and other flavonoids. *Nat. Prod. Rept.* 18, 310–333

Holden, J 2004. Development of a database od critically evaluated flavonoids data: application of USDA´s data quality evaluation system, *J. Food Comp. Anal.* 15 (4), 339-348.

Long-Ze, Lin, James M. Harnly, Marcial S. Pastor-Corrales. 2007. The polyphenolic profiles of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food Chemistry.* 20705-3000

Macz-Pop, G. 2005. Natural occurrence of free anthocyanin aglycones in beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food Chemistry* 94:448-456

Melgar, H. 2004. Desarrollo de una escala colorimétrica digital de triple estímulo para grano de frijol rojo centroamericano. Proyecto Especial de Graduación del Programa de Ingeniería en Agroindustria. Zamorano, Honduras. 23 p.

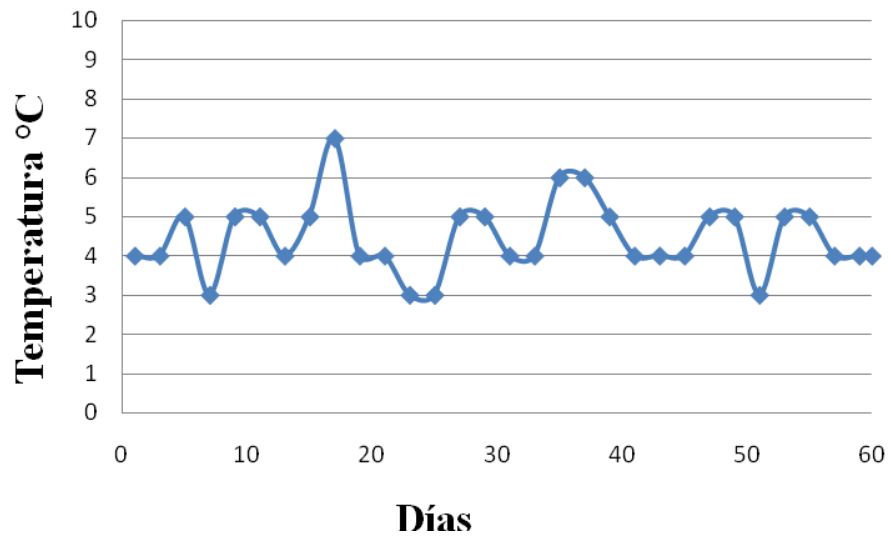
Kirka, A. 2003. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. *Journal of Food Chemistry* 81: 583.

Martinez, L, R. y Zamora, M. 2004. Mercadeo del frijol centroamericano. *Agronomía Mesoamericana* 15(2):121-130.

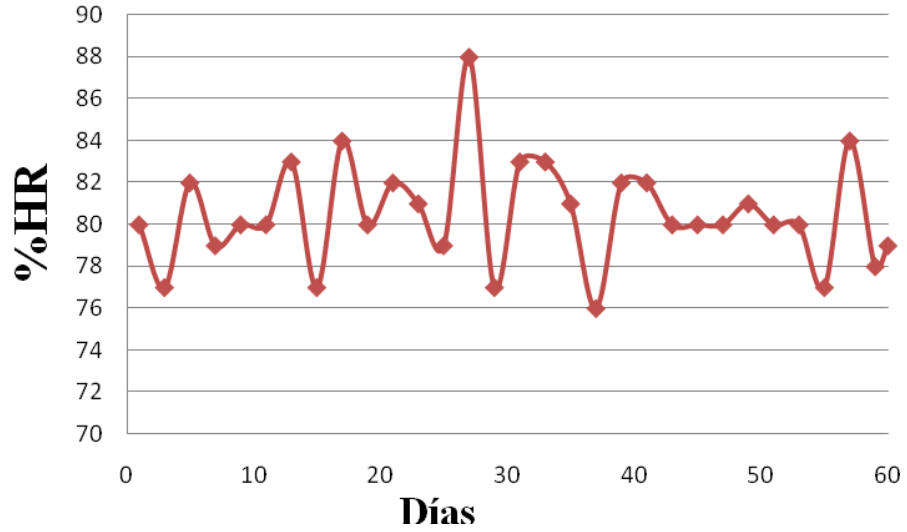
- Moreno, S. 2004. Composición de antocianinas en variedades de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas en México . AGROCIENCIA. 39: 385-394.
- Peguero, F. 2007 Perfil de antocianinas de tres variedades de frijol rojo (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas en Honduras. Proyecto de graduación del Programa de Ingeniería en Agroindustria, Zamorano. 51 p.
- Rivas, G; Mack, P. 2004. Natural occurrence of free anthocyanin aglycones in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) Journal of Food Chemistry Salamanca. 448-456
- Taleón, V. 2005. Efecto de la temperatura de almacenamiento en la estabilidad del color del grano de frijol rojo. Proyecto de Graduación para optar al título de licenciado con el grado Ingeniero en Agroindustria. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano. Honduras. 46
- Takeoka, G. R.1997. Characterization of black bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) anthocyanins. J. Agric. Food Chem., 45, 3395-3400.
- Wong. D. (1995). Química de los alimentos, Mecanismos y Teorías. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 160-173 p.
- Zhang, Z.Q.; Pang, X.Q.; Ji; Jiang, Y.M. 2001. Role of anthocyanin degradation in litchi pericarp browning. Food Chem. 2001, 75, 217-221

8. ANEXOS

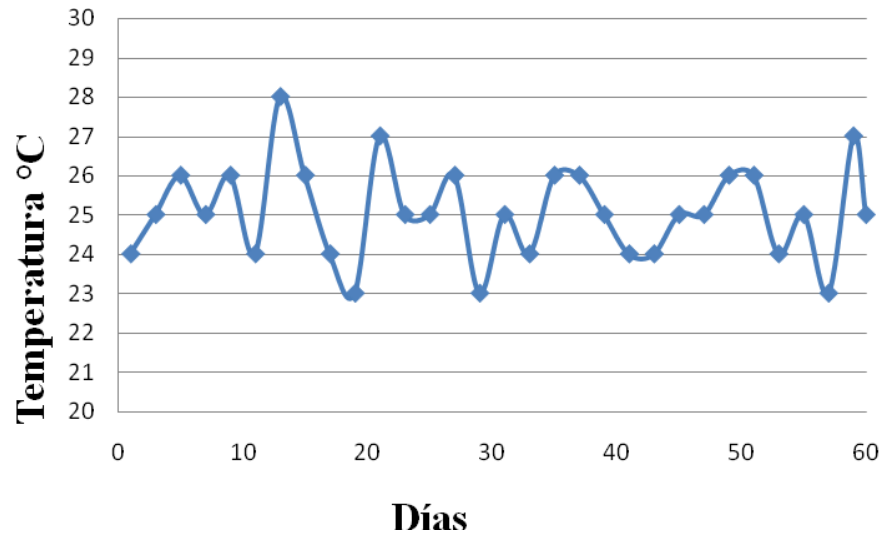
Anexo 1. Temperatura de almacenamiento en refrigeración durante 60 días.



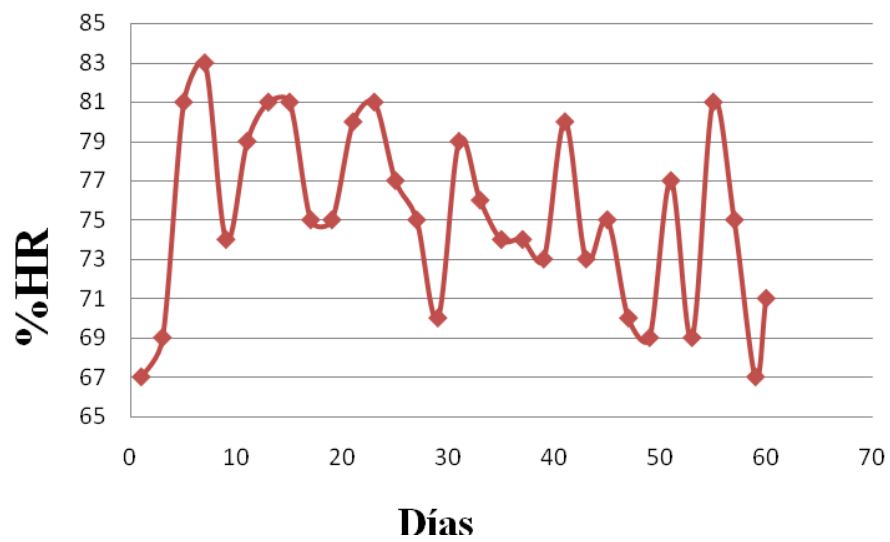
Anexo 2. Humedad relativa (%) de almacenamiento en refrigeración durante 60 días.



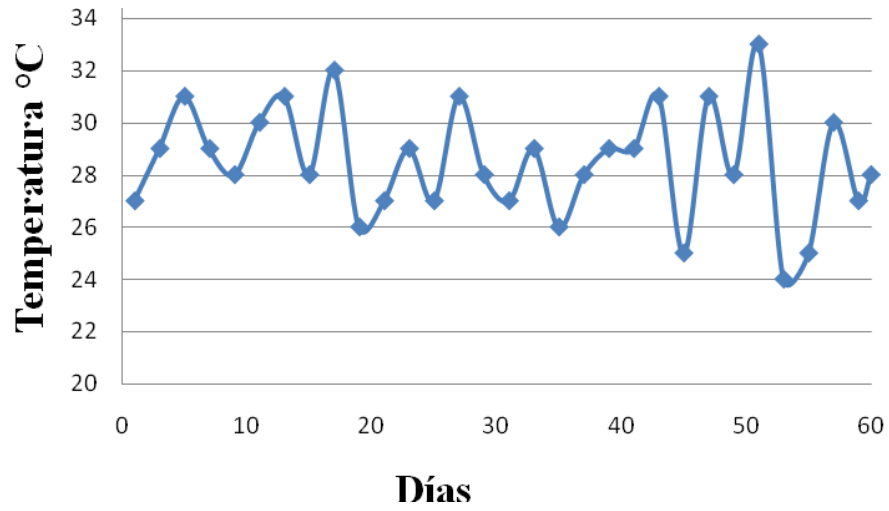
Anexo 3: Temperatura de almacenamiento en bodega durante 60 días.



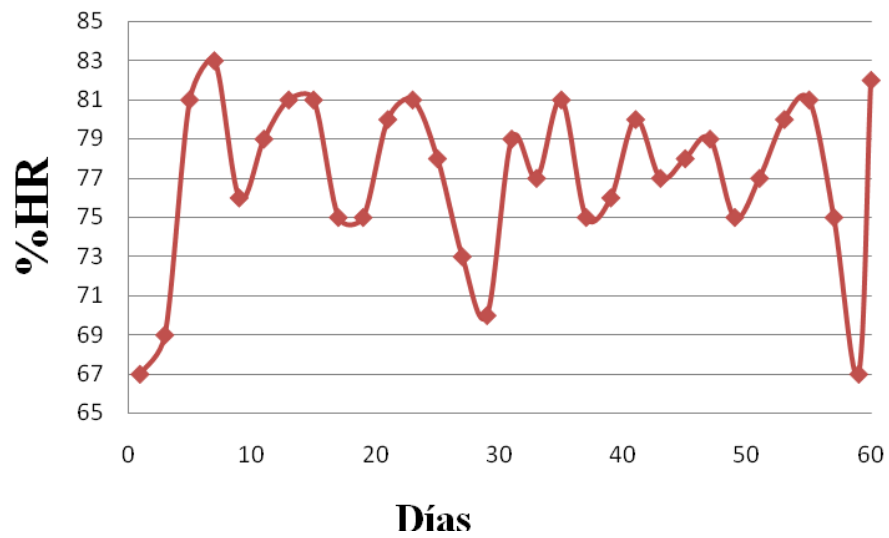
Anexo 4: Humedad relativa (%) de almacenamiento en bodega durante 60 días.



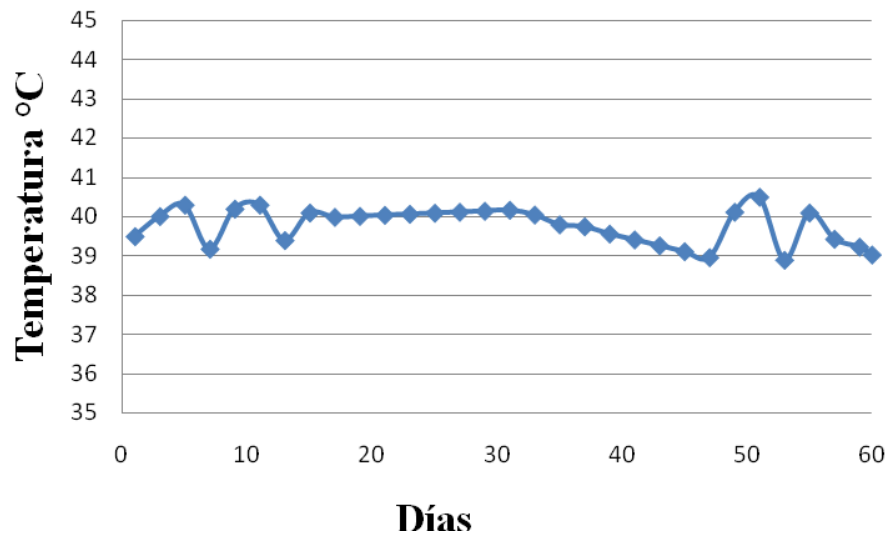
Anexo 5: Temperatura de almacenamiento en silo durante 60 días.



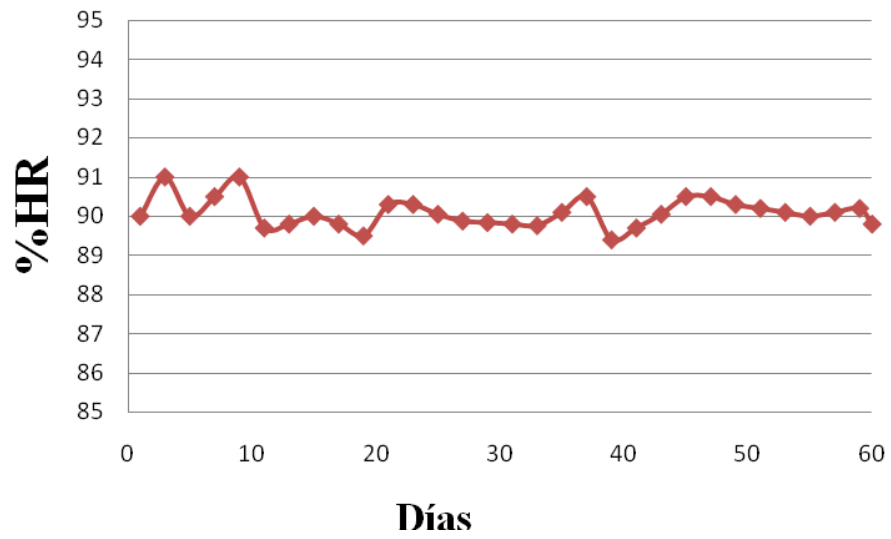
Anexo 6: Humedad relativa (%) de almacenamiento en silo durante 60 días.



Anexo 7: Temperatura de almacenamiento en incubación durante 60 días.



Anexo 8. Humedad relativa (%) de almacenamiento en incubación durante 60 días.



Anexo 9. Método para calcular concentración en mg/100g.

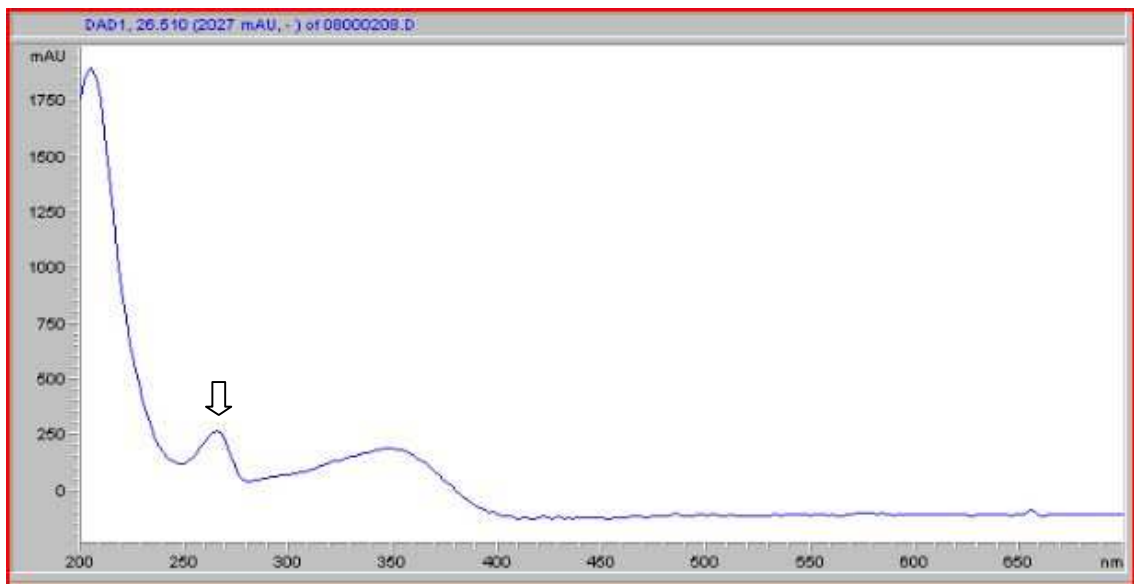
(Cantidad reportada (ug /ml) * volumen de extracción (5 ml)) /1000 = cantidad antocianinas en testa molida (mg /0.25g testa)

(Cantidad de testa entera *contenido de antocianinas en testa molida) /0.25 = contenido de antocianinas / masa de testa entera.

Contenido de compuesto en testa total entera= Contenido de antocianinas en frijol total antes de remoción de la testa.

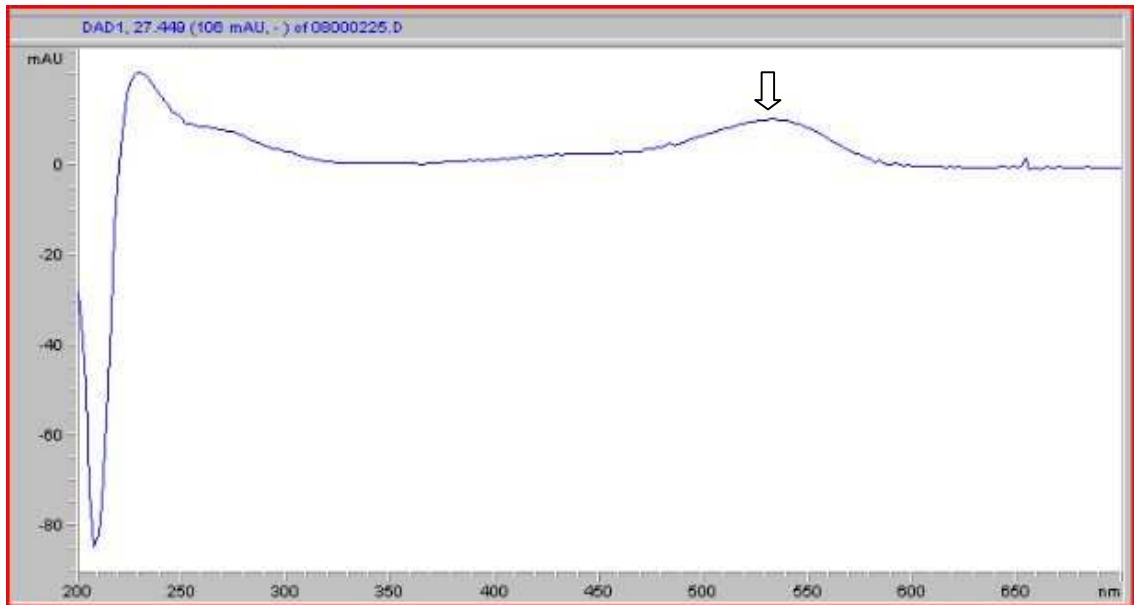
Contenido de antocianinas en frijol total / masa de frijol = contenido de compuesto /g grano (mg/g)

Anexo 10. Espectro de absorbancia de la pelargonidina 3-glucósido.



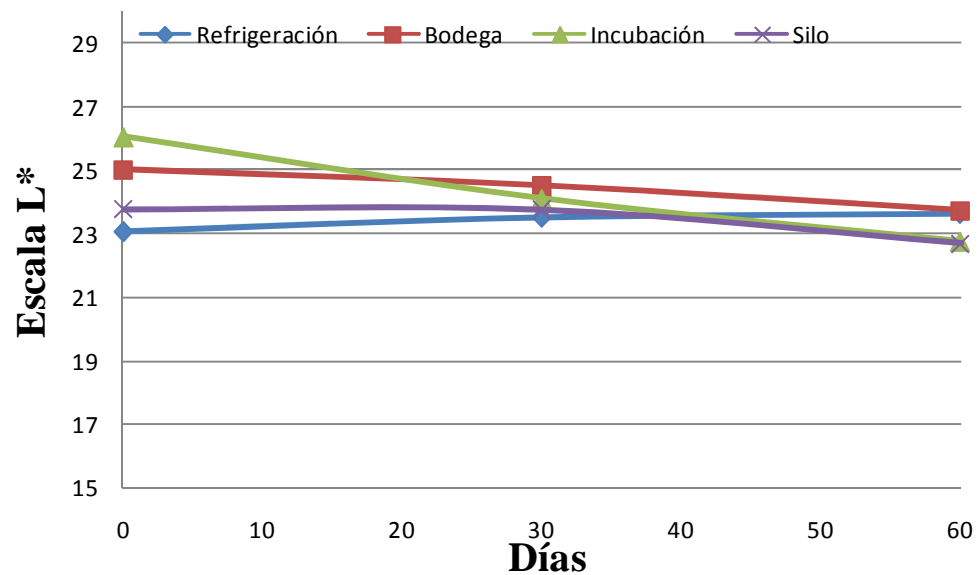
↓: Pico de máxima absorbancia de la pelargonidina 3-glucósido

Anexo 11. Espectro de absorbancia de la petunidina.

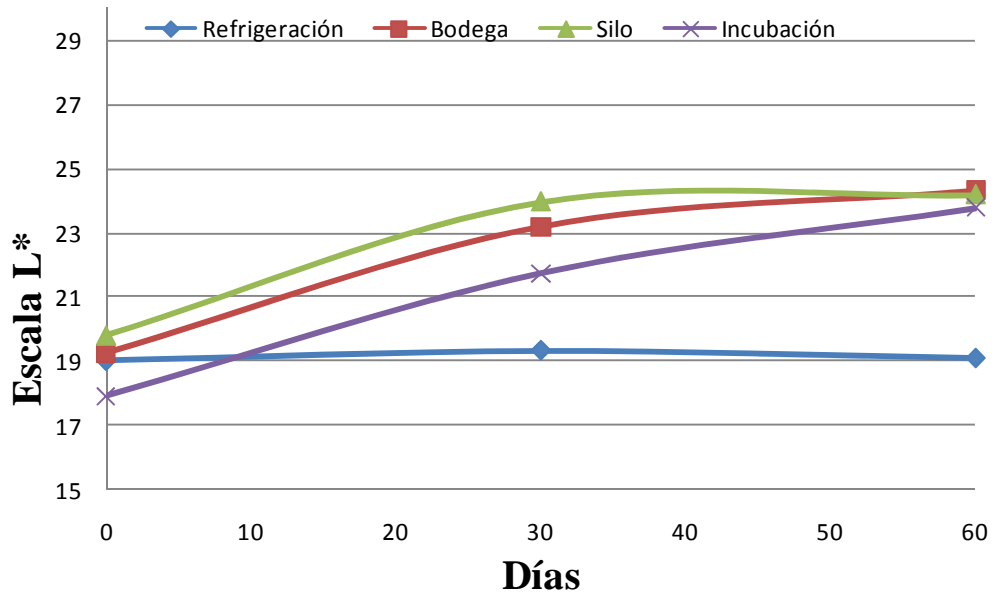


↴ : Pico de máxima absorbancia de la petunidina.

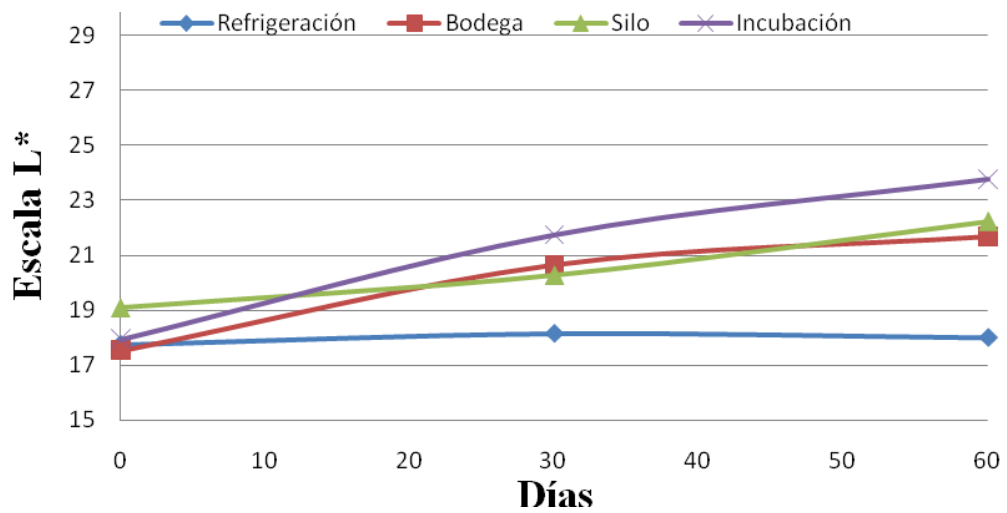
Anexo 12. Cambios en la claridad del frijol Seda durante 60 días de almacenamiento.



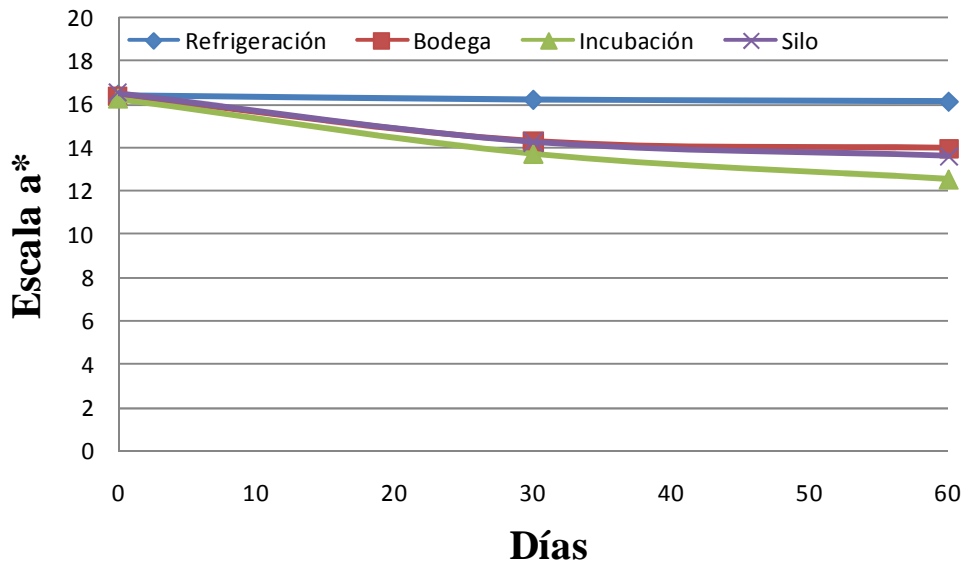
Anexo 13. Cambios en la claridad del frijol Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento.



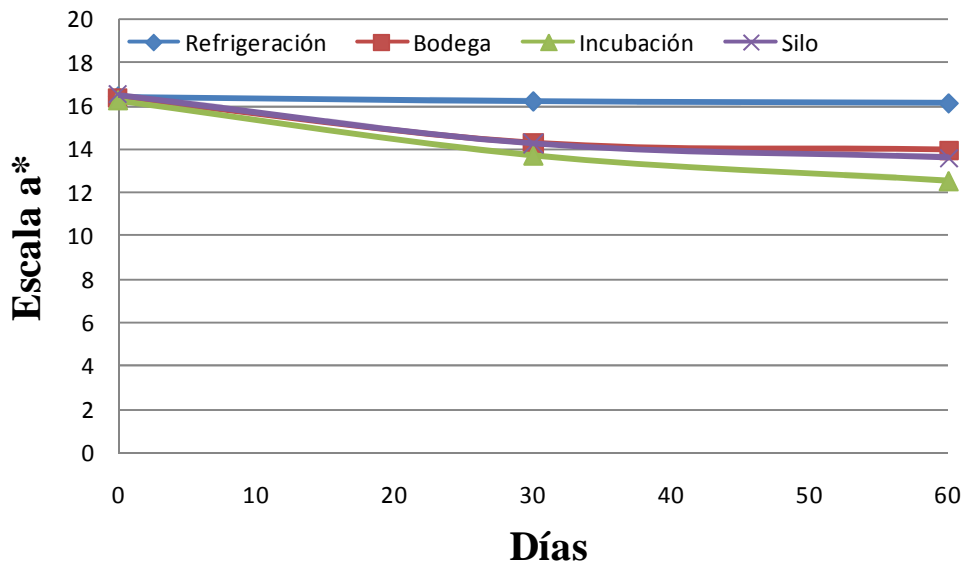
Anexo 14. Cambios en la claridad del frijol Dorado durante 60 días de almacenamiento.



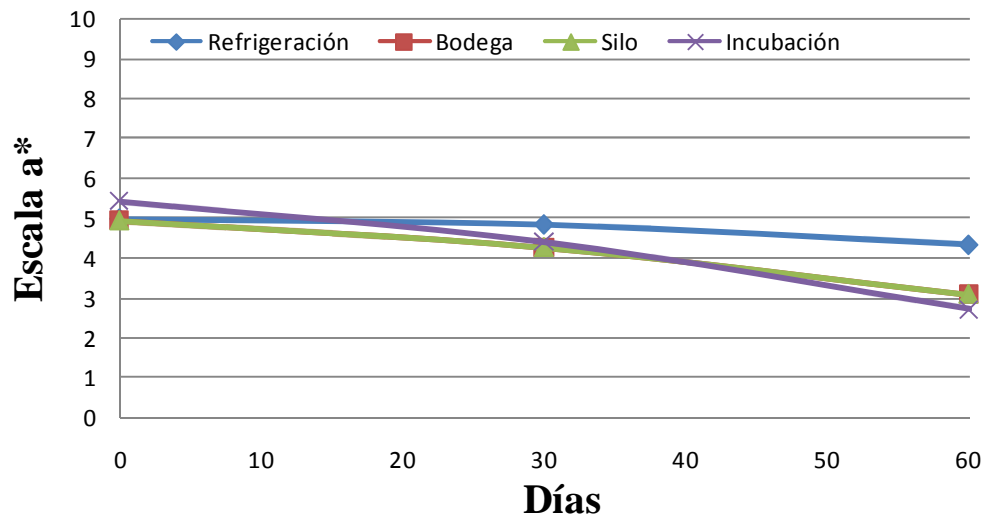
Anexo 15. Cambios en el color rojo del frijol Seda durante 60 días de almacenamiento.



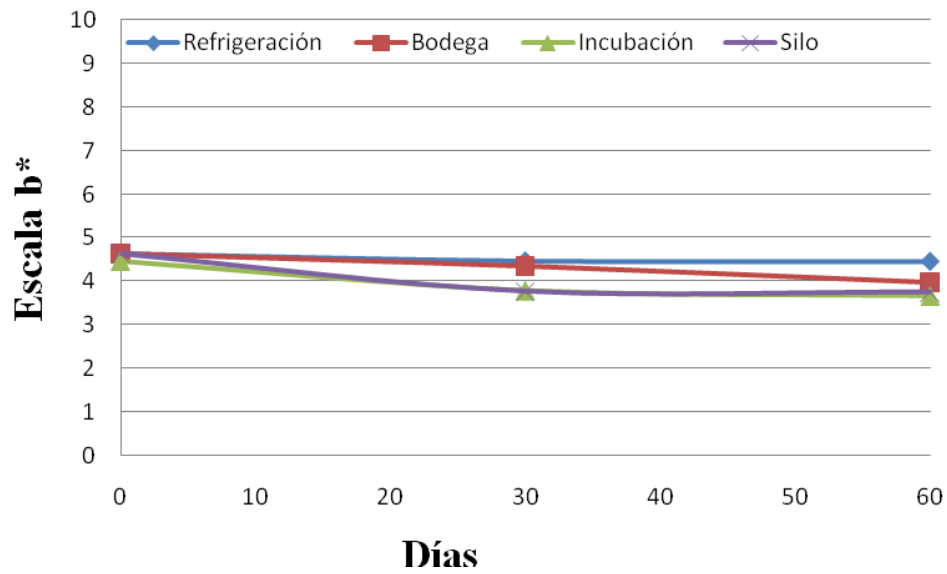
Anexo 16. Cambios en el color rojo del frijol Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento.



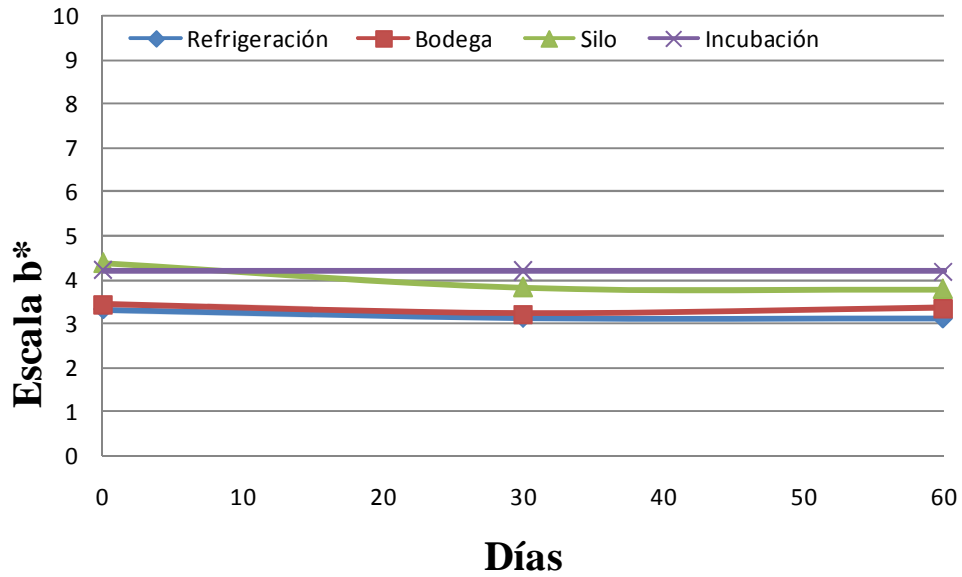
Anexo 17. Cambios en el color rojo del Dorado durante 60 días de almacenamiento.



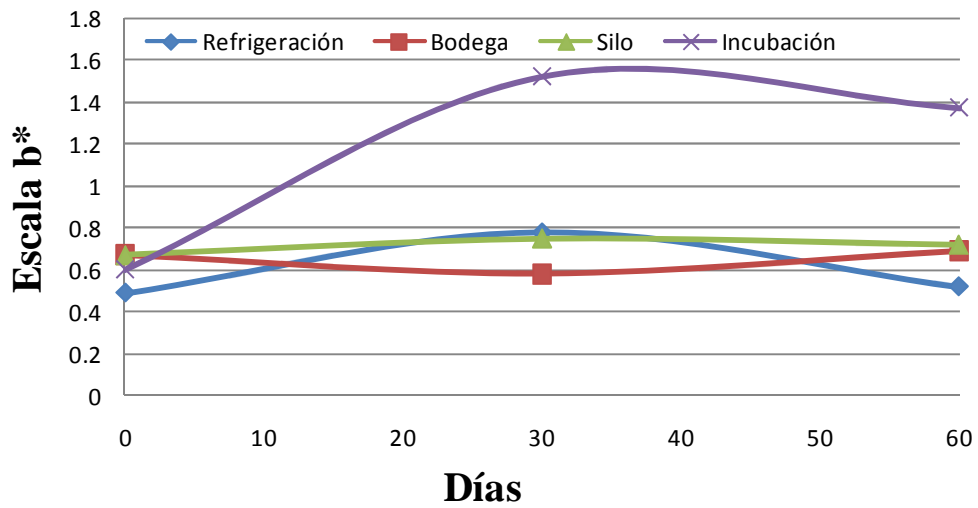
Anexo 18. Cambios en el color amarillo del frijol Seda durante 60 días de almacenamiento.



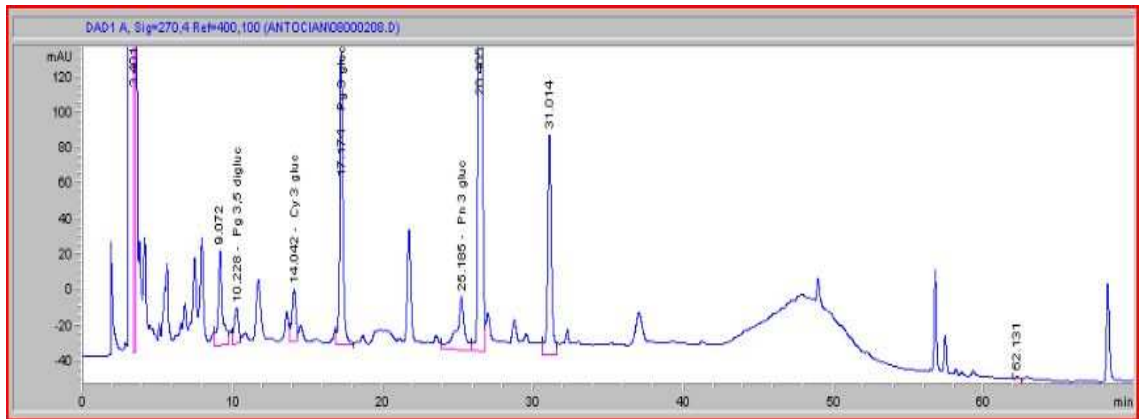
Anexo 19. Cambios en el color amarillo del frijol Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento.



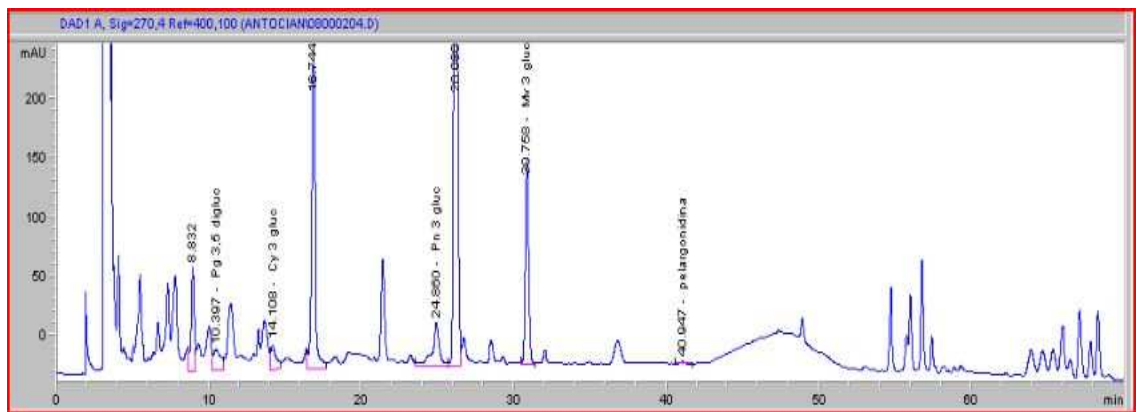
Anexo 20. Cambios en el color amarillo del frijol Dorado durante 60 días de almacenamiento.



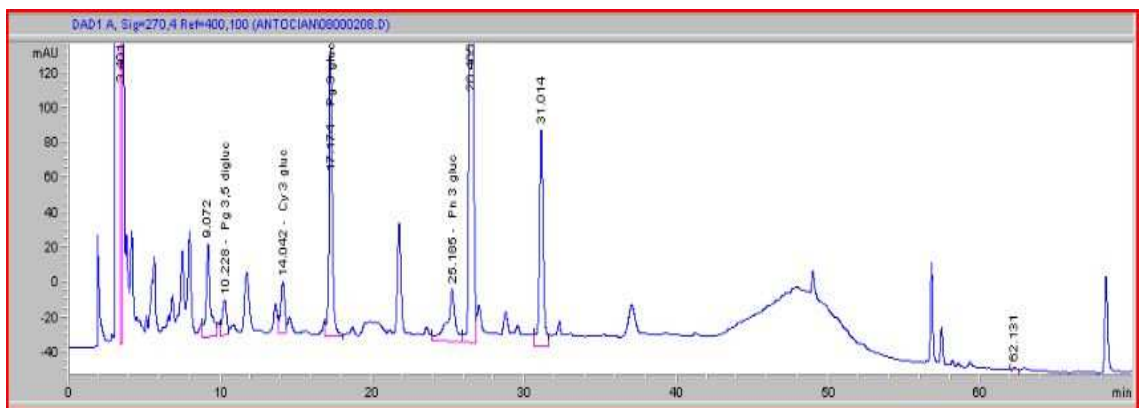
Anexo 21: Cromatograma de antocianinas en la variedad Seda.



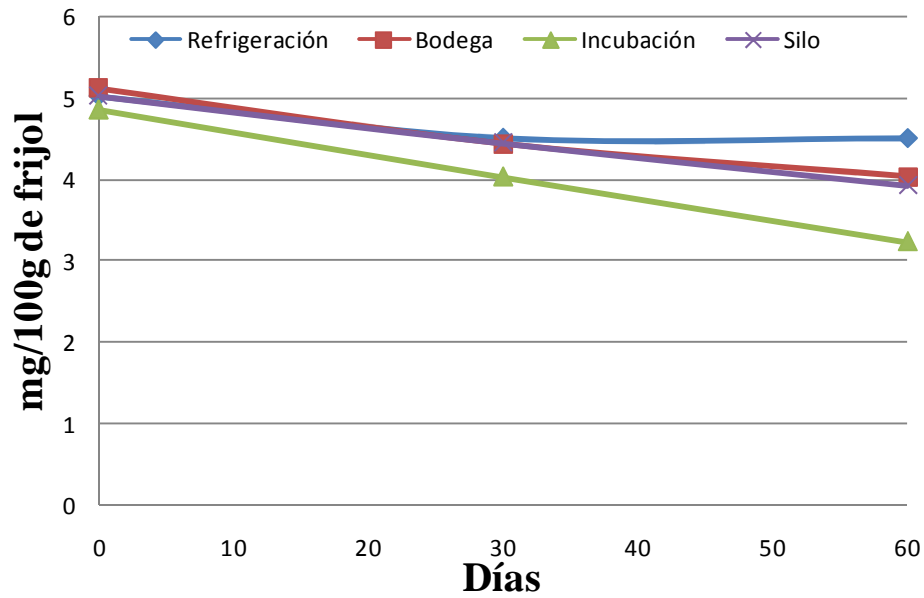
Anexo 22: Cromatograma de antocianinas en la variedad Amadeus-77.



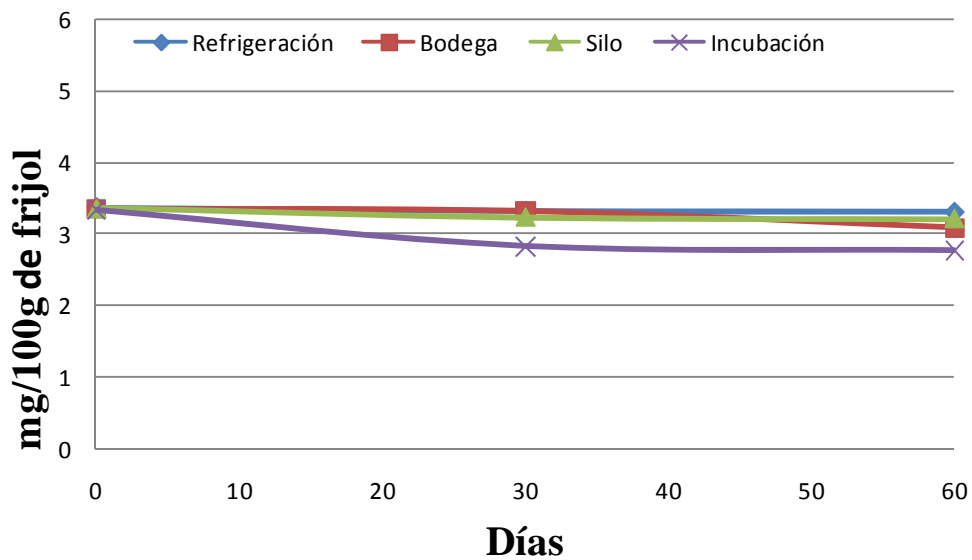
Anexo 23: Cromatograma de antocianinas en la variedad Dorado.



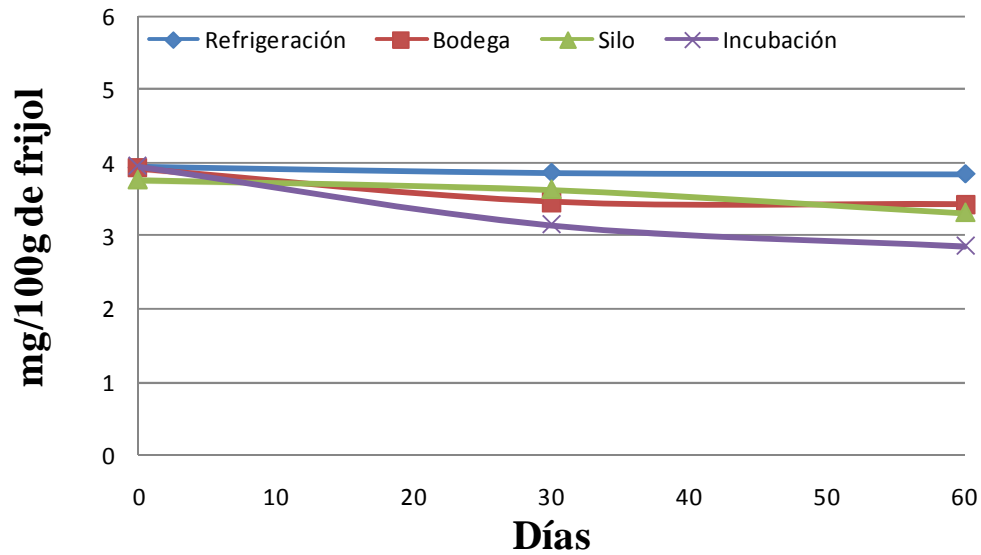
Anexo 24. Cambios en el contenido de Cy 3,5-digluc en la variedad Seda durante 60 días de almacenamiento.



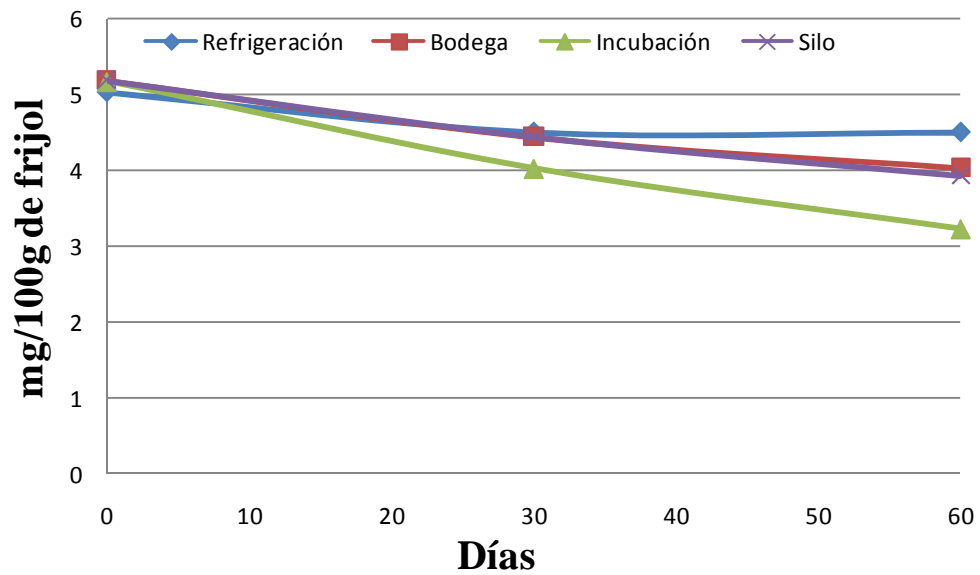
Anexo 25. Cambios en el contenido de Cy 3,5-digluc en para la variedad Amadeus- 77 durante 60 días de almacenamiento.



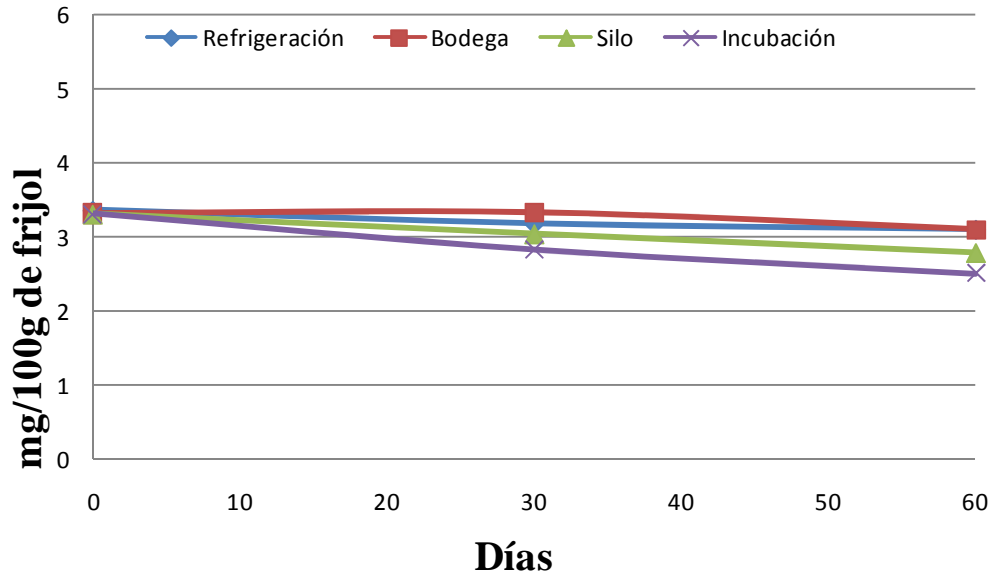
Anexo 26. Cambios en el contenido de Cy 3,5-digluc en la variedad Dorado durante 60 días de almacenamiento.



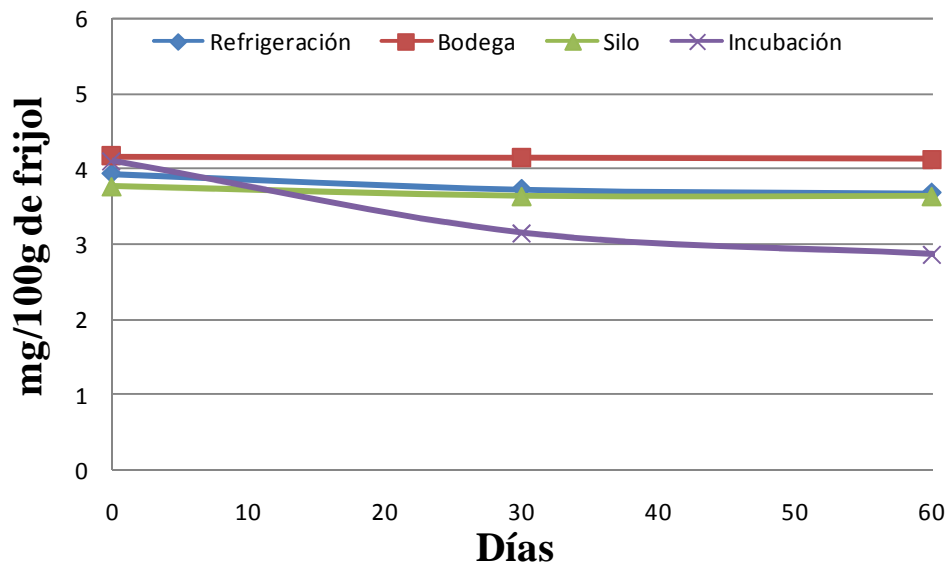
Anexo 27. Cambios en el contenido de Pg 3,5-digluc en la variedad Seda durante 60 días de almacenamiento.



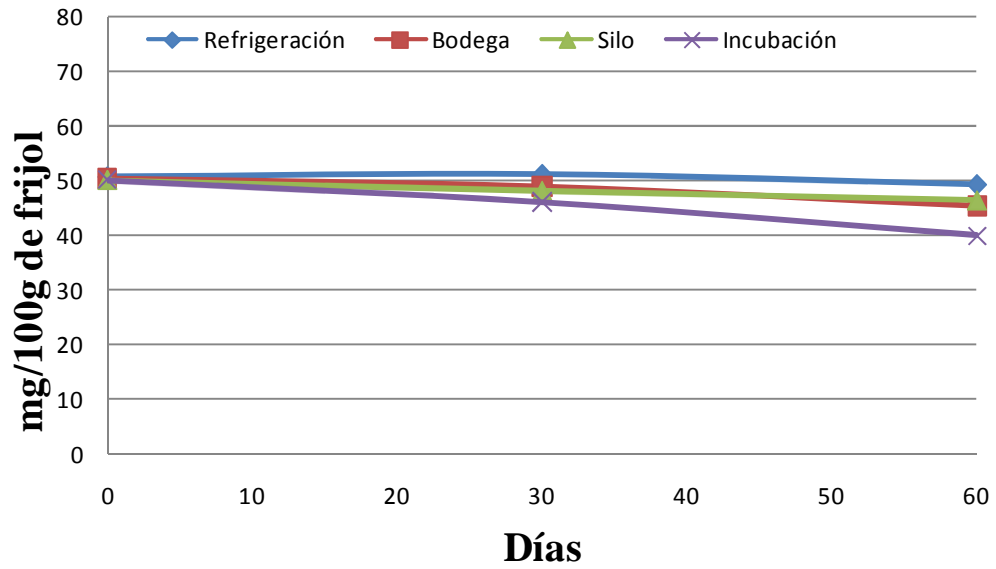
Anexo 28. Cambios en el contenido de Pg 3,5-digluc en la variedad Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento.



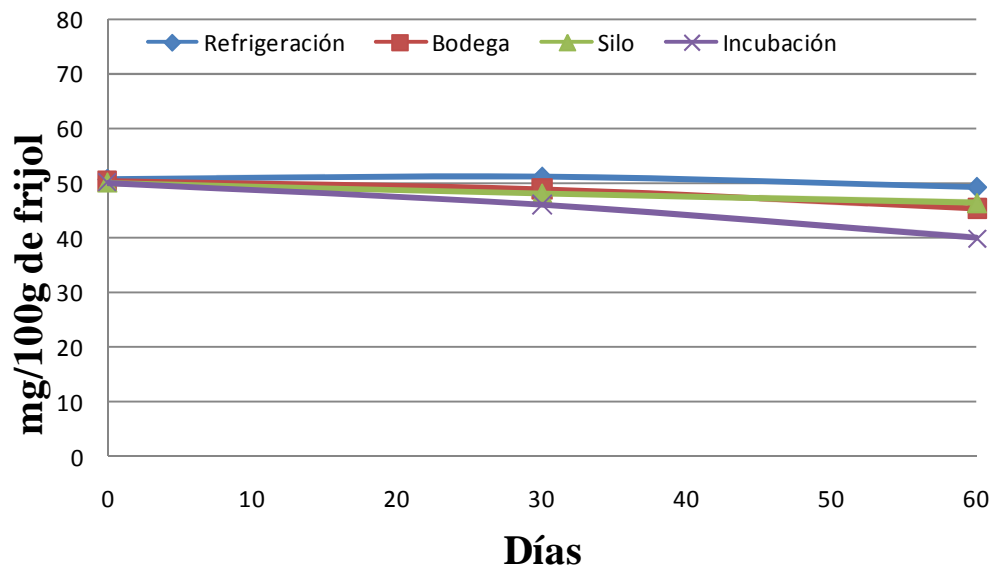
Anexo 29. Cambios en el contenido de Pg 3,5-digluc en para la variedad Dorado durante 60 días de almacenamiento.



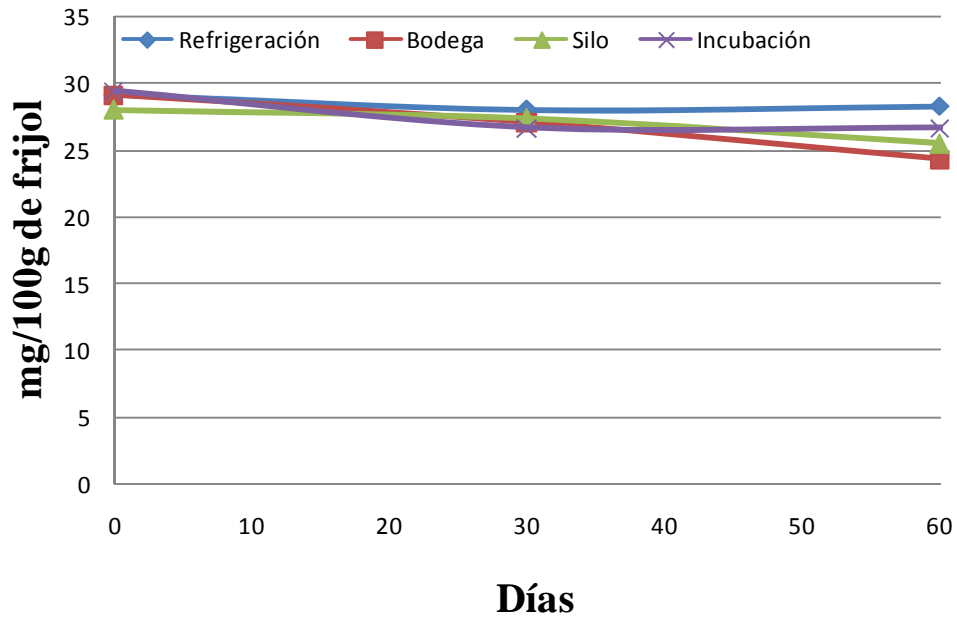
Anexo 30. Cambios en el contenido de Pg 3-gluc en la variedad Seda durante 60 días de almacenamiento.



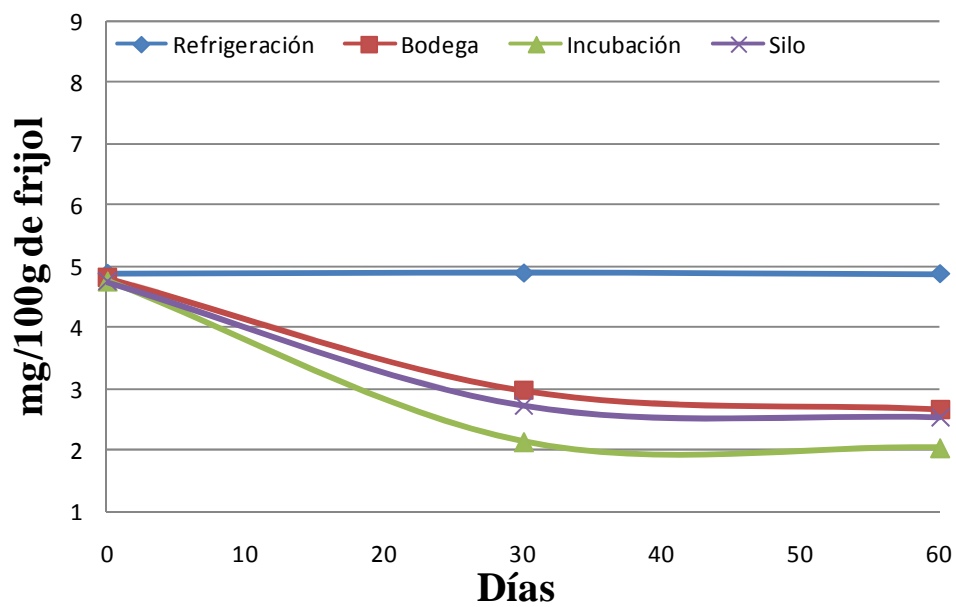
Anexo 31. Cambios en el contenido de Pg 3-gluc en la variedad Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento.



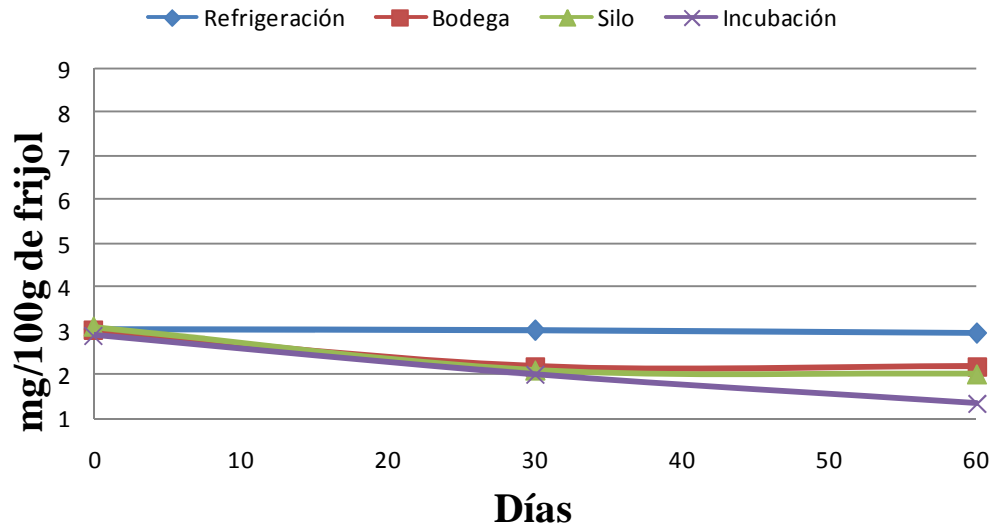
Anexo 32. Cambios en el contenido de Pg 3-gluc en la variedad Dorado durante 60 días de almacenamiento.



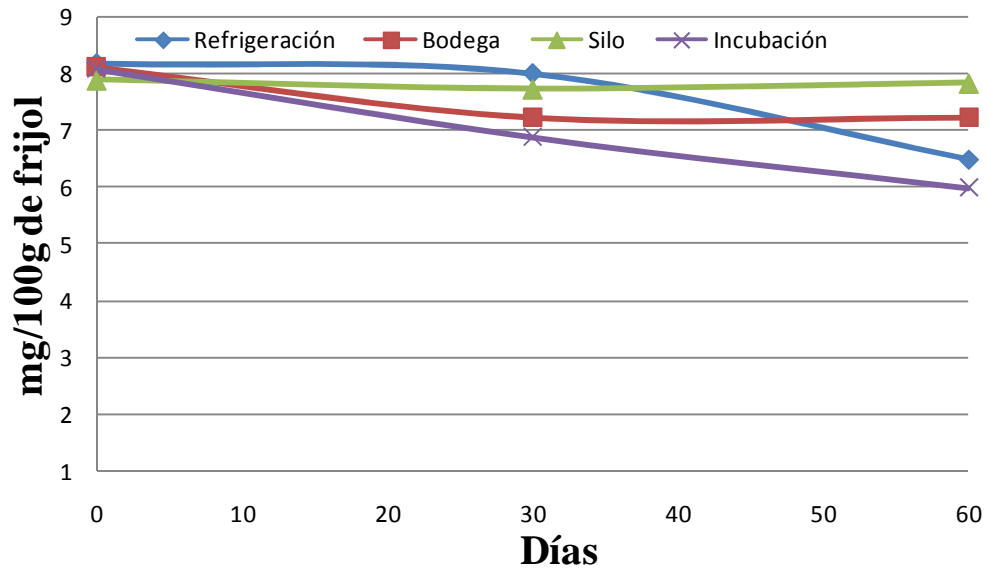
Anexo 33. Cambios en el contenido de Cy 3-gluc en la variedad Seda durante 60 días de almacenamiento.



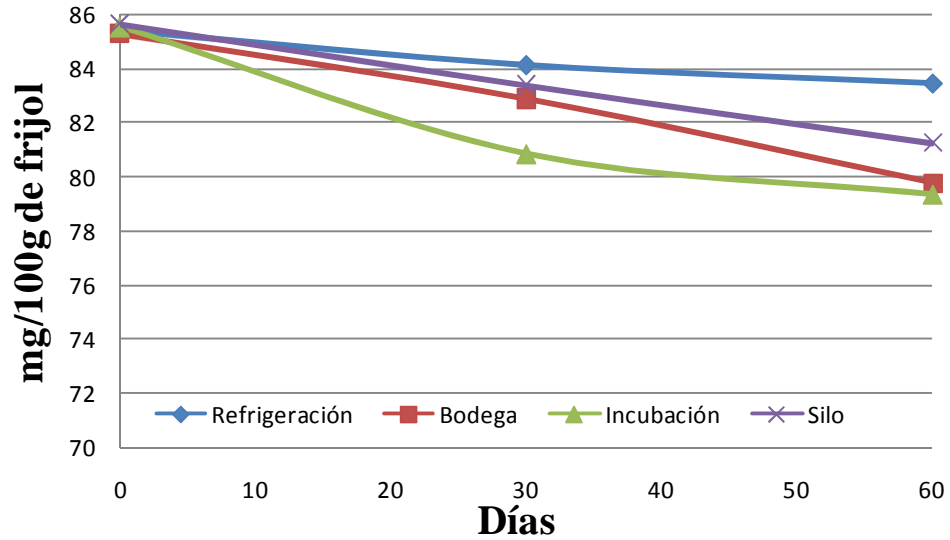
Anexo 34. Cambios en el contenido de Cy 3-gluc en la variedad Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento.



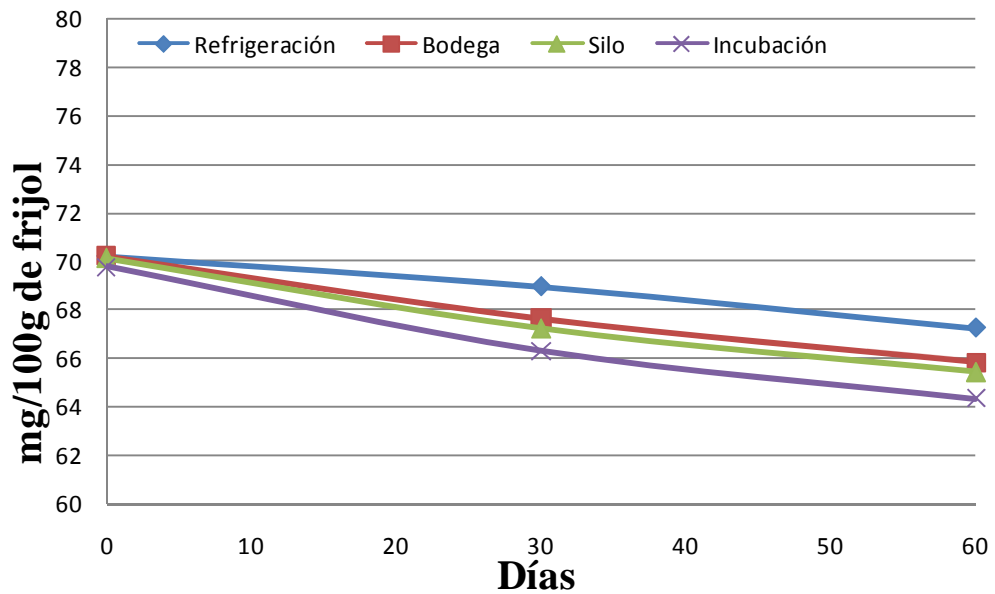
Anexo 35. Cambios en el contenido de Cy 3-gluc en la variedad Dorado durante 60 días de almacenamiento.



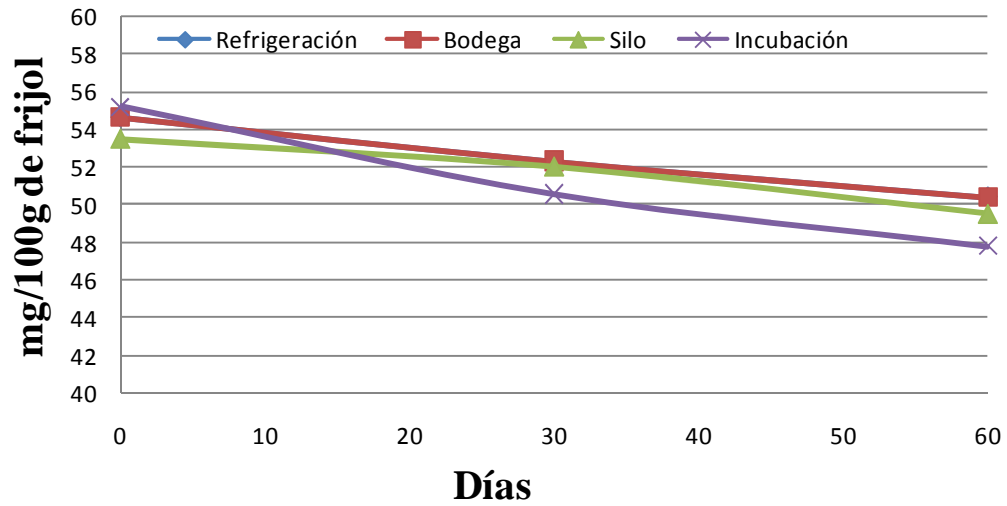
Anexo 36. Cambios en el contenido de Pt en la variedad Seda durante 60 días de almacenamiento.



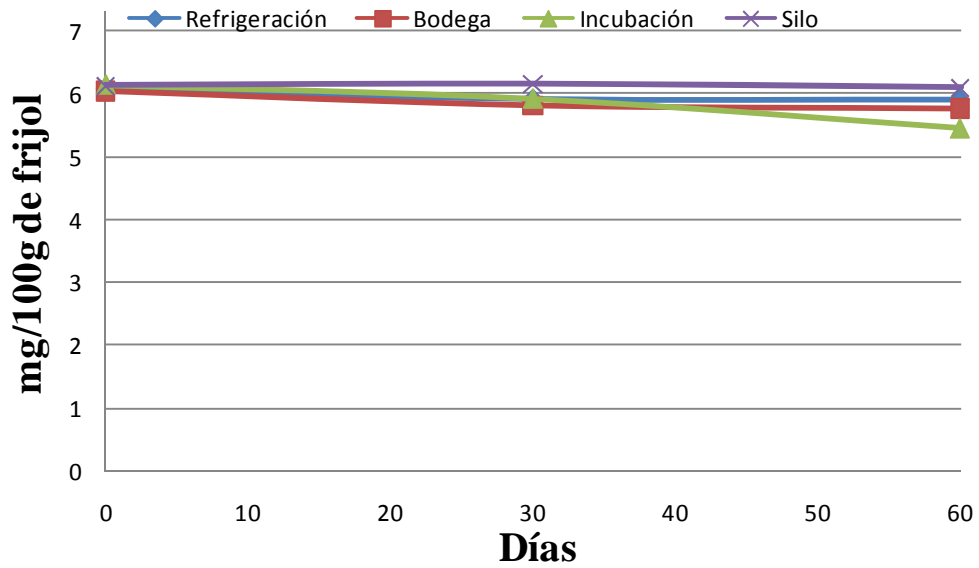
Anexo 37. Cambios en el contenido de Pt en la variedad Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento.



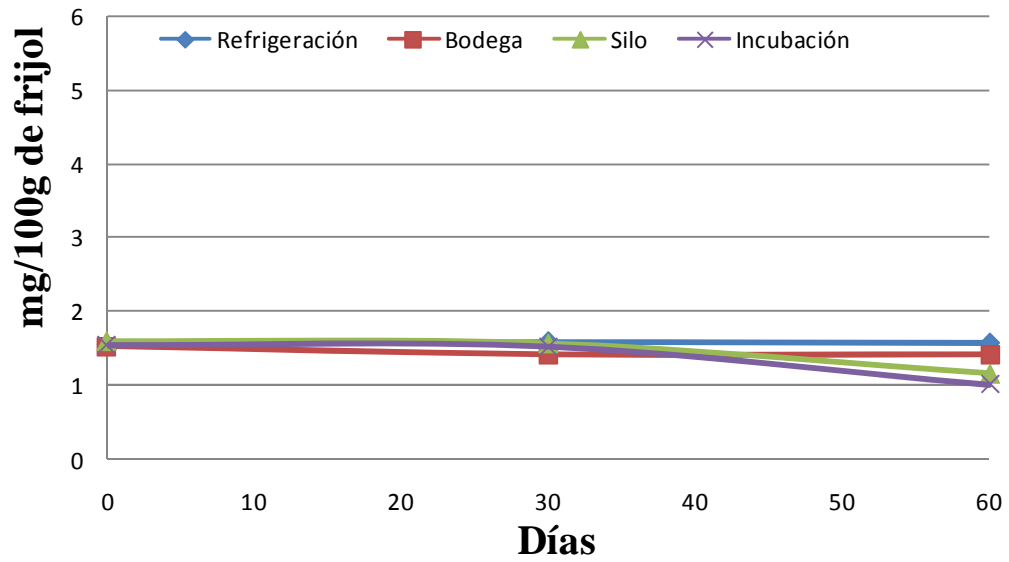
Anexo 38. Cambios en el contenido de de Pt en la variedad Dorado durante 60 días de almacenamiento.



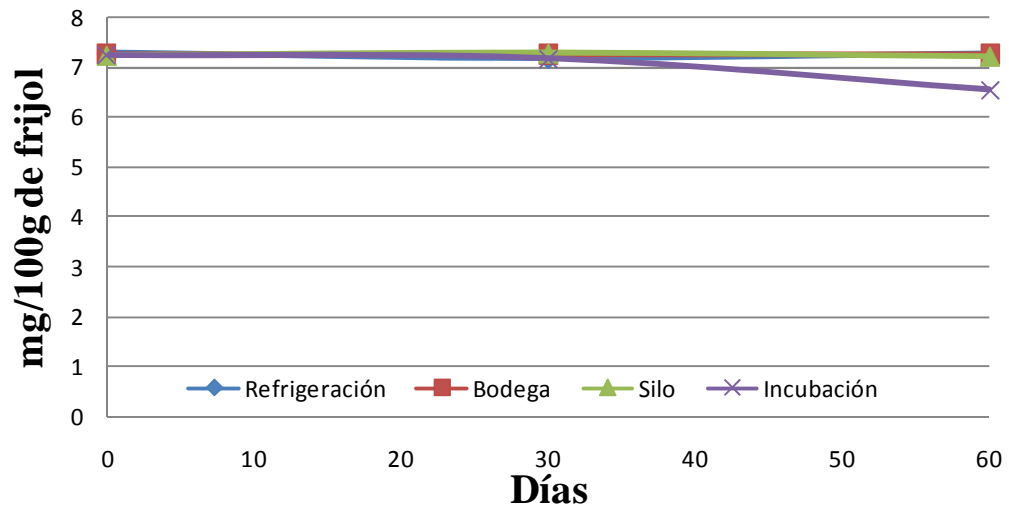
Anexo 39. Cambios en el contenido de Pn 3-gluc en la variedad Seda durante 60 días de almacenamiento.



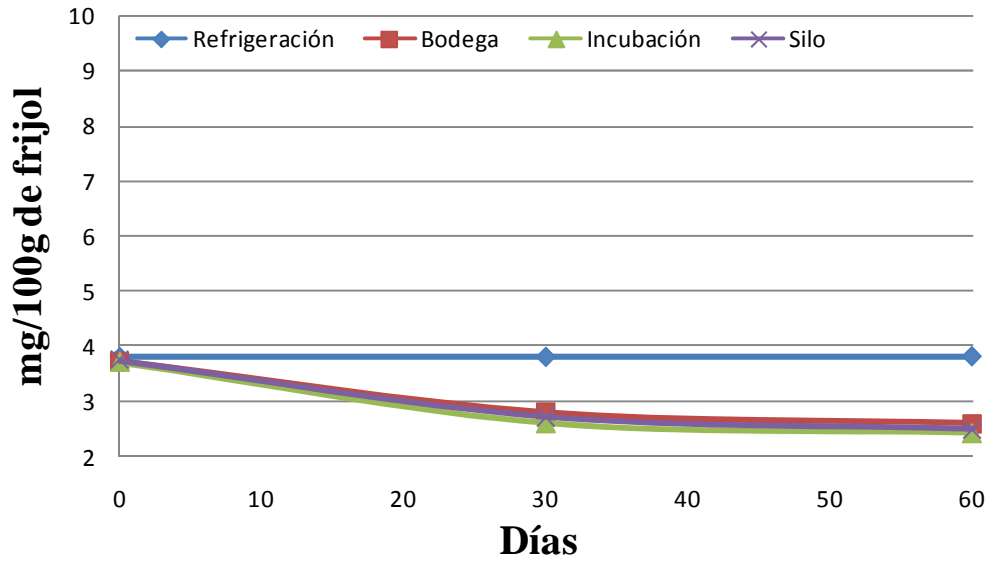
Anexo 40. Cambios en el contenido de Pn 3-gluc en la variedad Amadeus.77 durante 60 días de almacenamiento.



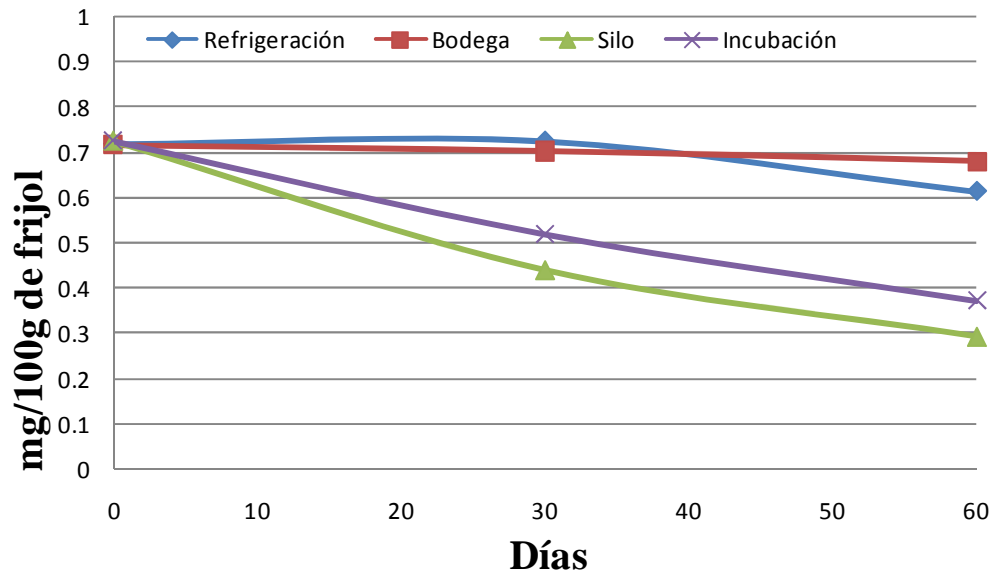
Anexo 41. Cambios en el contenido de Pn 3-gluc en la variedad Dorado durante 60 días de almacenamiento.



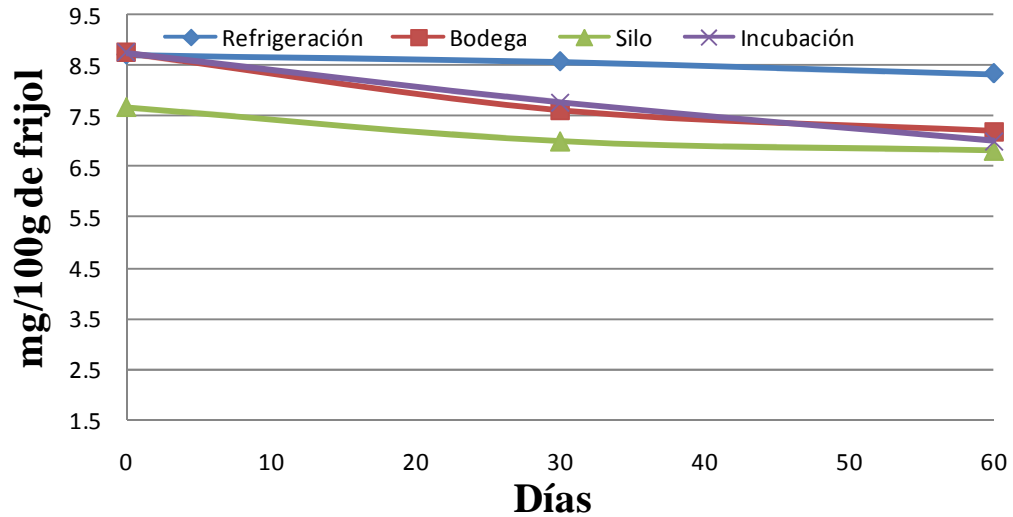
Anexo 42. Cambios en el contenido de Mv 3-gluc en la variedad Seda durante 60 días de almacenamiento.



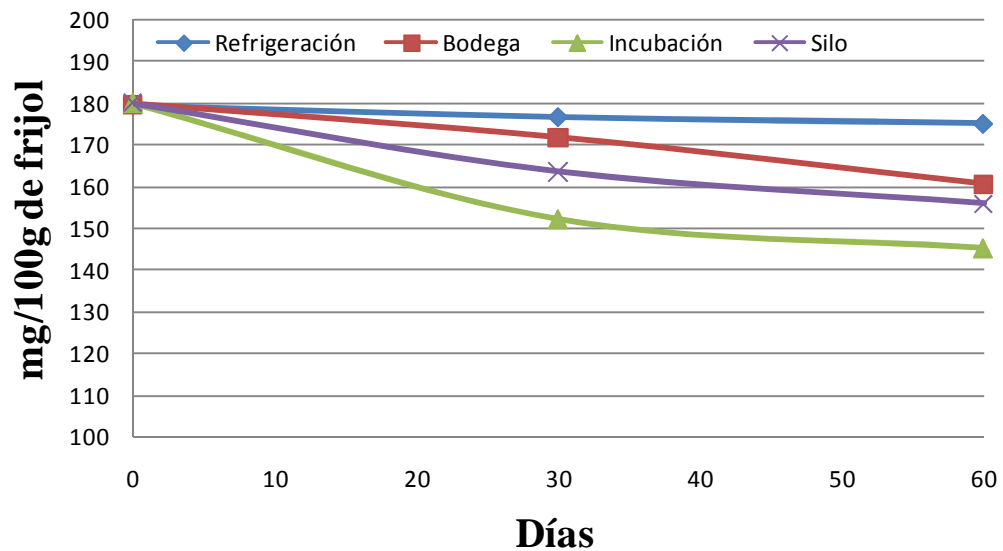
Anexo 43. Cambios en el contenido de Mv 3-gluc en la variedad Amadeus-77 durante 60 días de almacenamiento.



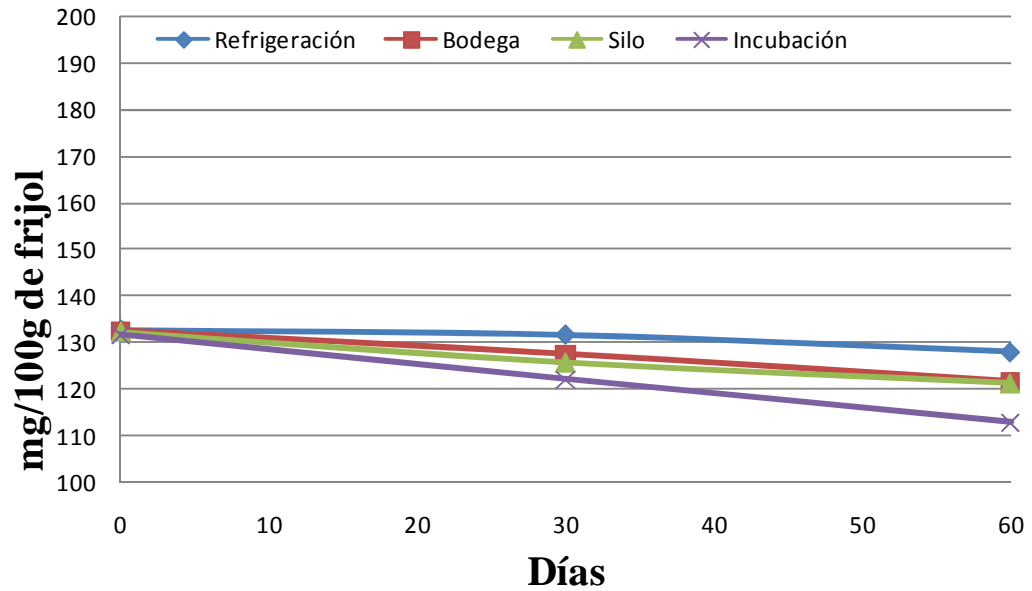
Anexo 44. Cambios en el contenido de Mv 3-gluc en la variedad Dorado durante 60 días de almacenamiento.



Anexo 45. Cambios en el contenido de antocianinas totales en la variedad Seda durante 60 días de almacenamiento.



Anexo 46. Cambios en el contenido de antocianinas totales en la variedad Amadeus.77 durante 60 días de almacenamiento.



Anexo 47. Cambios en el contenido de antocianinas totales en la variedad Dorado durante 60 días de almacenamiento.

