

## Efecto del tratamiento térmico sobre el color y contenido de antocianinas en jugos de zarzamora y frambuesa

Rodoni L.M.<sup>(1)(2)</sup>, Massolo F.<sup>(1)</sup>, Badin E.<sup>(3)</sup>, Rossi Y.E.<sup>(3)</sup>, Moroni F.<sup>(3)</sup>, Vicente A.R.<sup>(1)(2)</sup>, Lespinard A.R.<sup>(3)</sup>

(1) Grupo de Investigación en Tecnología Poscosecha (GiTeP), CIDCA, CONICET-UNLP. La Plata, Bs.As.

(2) Laboratorio de Investigación en Productos Agroindustriales (LIPA), FCAYF, UNLP. La Plata, Bs.As.

(3) Centro de Investigaciones y Transferencia de Villa María (CIT VM) – (CONICET - UNVM). Villa María, Córdoba.

Dirección de e-mail: [luisrodoni@gmail.com](mailto:luisrodoni@gmail.com)

### Resumen

El cultivo de “berries” se desarrolla en zonas templadas, aunque actualmente existen incipientes producciones en la zona centro de nuestro país. La elaboración de jugos surge como una alternativa de preservación y agregado de valor a dichos productores. Para lograr un producto inocuo y estable es necesario someter a los jugos al proceso de pasteurización, el objetivo de este trabajo fue evaluar los cambios de las propiedades nutritivas y sensoriales durante este proceso. Se utilizaron frutos de zarzamora y frambuesa provistos por la empresa “Yuco Frutos”, de Villa María, los cuales fueron procesados para separar la pulpa del jugo. Al jugo obtenido se lo diluyó al 50% con agua y se le adicionó 70 g kg<sup>-1</sup> de sacarosa. Se colocaron 6 ml de cada jugo en tubos de vidrio de 10 ml y los mismos se sometieron a calentamiento en baño de agua termostatzado a 70, 80, 90 y 100°C a diferentes tiempos (0-180 min.). Las muestras se colocaron en una celda de 5,5 ml en donde fueron analizadas con un colorímetro Minolta-CR-400. Se registraron los parámetros L\*, a\* y b\* y se calcularon el ángulo °Hue y croma (C\*). Las antocianinas se determinaron espectrofotométricamente. El L\* no presentó cambios significativos, mientras que a\* se redujo solo 30% a la mayor temperatura (100°C) para ambos jugos. El b\* resultó ser más afectado que a\*, lo cual desplazó el ° Hue hacia tonalidades más oscuras. El C\* fue seleccionado para modelar el cambio en el color. Este siguió una cinética de primer orden cuya constante de velocidad de degradación ( $k_T$ ) aumentó de 0,0010 a 0,0022 (min<sup>-1</sup>) para zarzamora y de 0,0010 a 0,0025 (min<sup>-1</sup>) para frambuesa, con el incremento de la temperatura. La dependencia de dicha constante con la temperatura fue descrita por la Ley de Arrhenius, obteniéndose una energía de activación ( $E_a$ ) de 27,8 y 33,1 kJ mol<sup>-1</sup> para zarzamoras y frambuesas, respectivamente. La variación de antocianinas con el tiempo siguió una cinética de primer orden, donde  $k_T$  aumentó de 0,0015 a 0,0106 (min<sup>-1</sup>) para zarzamora y de 0,0015 a 0,0092 (min<sup>-1</sup>) para frambuesa, incrementando la temperatura desde 70 a 100 °C. Las  $E_a$  para las antocianinas fueron de 69,9 y 62,3 kJ mol<sup>-1</sup> para zarzamoras y frambuesas, respectivamente. Los resultados obtenidos indican una mayor sensibilidad de las antocianinas tanto para los aumentos de temperatura como así también para el tiempo de exposición en comparación al color. Las cinéticas



obtenidas podrían ser útiles para optimizar las condiciones de pasteurización de jugos de “berries” en vistas a conservar la calidad nutricional y sensorial del producto.

**Palabras clave:** berries, procesamiento, pasteurización, color, antocianinas.

## Introducción

La producción de “berries” en la Argentina se ubica en quinto lugar siguiendo a la de cítricos, uva, frutos de pepita y carozo, y constituye uno de los sectores de mayor dinamismo y crecimiento en las últimas dos décadas. Desde el punto de vista de su conservación en fresco los “berries” son altamente perecederos, por lo que las pérdidas de calidad y cantidad en la cadena de distribución suelen ser elevadas (Kader, 2007). En tal sentido, el procesamiento aparece en estos frutos como una estrategia de interés para reducir estas mermas, agregar valor y aumentar la oferta tanto geográfica como temporal. El color característico de estos frutos está dado por un tipo de polifenoles denominados genéricamente antocianinas, sustancias que a su vez son los principales responsables de su capacidad antioxidante (Goulas et al., 2012). Las antocianinas están formadas por una molécula de antocianidina unida a una molécula de glucosa, galactosa o arabinosa (Howard et al., 2012). La estabilidad de las antocianinas depende de su estructura química, del pH y de la composición de la matriz donde se encuentran. Las antocianinas acetiladas son las que poseen mayor estabilidad (Wrolstad, 2004). Los berries son ricos en antocianinas no acetiladas. La pasteurización por calor es el tratamiento más común para extender el periodo de aptitud de los jugos. Los microorganismos patógenos, gran parte de la flora banal y las enzimas tales como la pectin-metil esterasa, la polifenol oxidasa y peroxidasa (estas dos últimas principales responsables de la degradación de antocianinas) pueden ser inactivados con tratamientos de 90-98 °C por 10-60 seg (Vervoort et al., 2011). Desde el punto de vista de la estabilidad microbiológica, los jugos de berries poseen un pH < 4,5, por lo cual la aplicación de un proceso térmico de pasteurización posibilitaría que el producto fuera estable incluso a temperatura ambiente (Silva y Gibbs, 2004). Durante la pasteurización del jugo de arándano se pierde entre 30-60 % del contenido de antocianinas, sin considerar los demás antioxidantes (Brownmiller et al., 2008). En jugos de mora las pérdidas de antocianinas rondan el 30 %. Sin embargo, otros componentes fenólicos tales como los elagitaninos de la frambuesa, pueden ser más estables al tratamiento térmico (Azoifeifa et al., 2015). En jugo de mango, un tratamiento de 90 °C por 60 segundos redujo el contenido de polifenoles en 38% (Santhirasegaram et al., 2013). Para poder predecir los efectos indeseados durante el tratamiento térmico es necesario conocer los parámetros cinéticos, tales como las constantes de degradación y la energía de activación, correspondientes a estos cambios (Patras et al., 2010). El objetivo de este trabajo fue evaluar y comparar el efecto de los tratamientos térmicos sobre el color y el contenido de antocianinas en jugos de frambuesa y zarzamora y obtener los parámetros cinéticos que gobiernan dichos cambios.



## Materiales y métodos

**Materia prima y preparación de los jugos:** Se utilizaron frutos de zarzamora (*Rubus fruticosus* 'Jumbo') y frambuesa (*Rubus idaeus* 'Autunm Bliss') provistos por la empresa "Yuco Frutos", de Villa María, los cuales fueron procesados para separar la pulpa del jugo. El jugo obtenido se diluyó al 50% con agua y se le adicionó 70 g kg<sup>-1</sup> de sacarosa.

**Tratamientos:** Para las mediciones del color, se colocaron 6 ml de cada jugo, preparado como se indicó en 2.1, en tubos de vidrio de 10 ml y los mismos se sometieron a calentamiento en baño de agua termostatzado a 70, 80, 90 y 100 °C a diferentes tiempos (0-180 min.). Para la determinación de antocianinas los tratamientos se realizaron de la misma forma que para el color, excepto que se utilizaron viales de 3 ml conteniendo 1,5 ml de jugo.

**Color:** Las muestras se colocaron en una celda de 5,5 ml en donde fueron analizadas con un colorímetro Minolta-CR-400. Se registraron los parámetros L\*, a\* y b\* y se calcularon el ángulo °Hue y el croma (C\*):

$$^{\circ}\text{Hue} = \text{atan} \left( \frac{b^*}{a^*} \right) \quad (1)$$

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

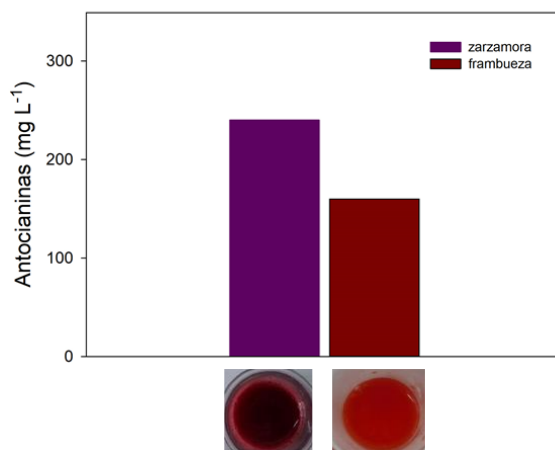
**Antocianinas:** Unos 50 µL de jugo se mezclaron con 950 µL de etanol con HCl al 0,1% p/v. Se homogeneizó en vortex durante 30 segundos y se centrifugó a 13.000 x g por 10 min a 4 °C. Al sobrenadante se le midió la absorbancia a 520 nm utilizando un espectrofotómetro (Shimadzu Corporation, Modelo UV Mini-1240, Japón). Los valores se expresaron en mg L<sup>-1</sup> considerando la absortividad de la cianidina (0,082 L mg<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>).

**Análisis Estadístico:** El experimento se realizó por duplicado. Los análisis de correlación y el cálculo de las respectivas constantes se realizaron utilizando el programa Microsoft Excel® 2013.

## Resultados y Discusión

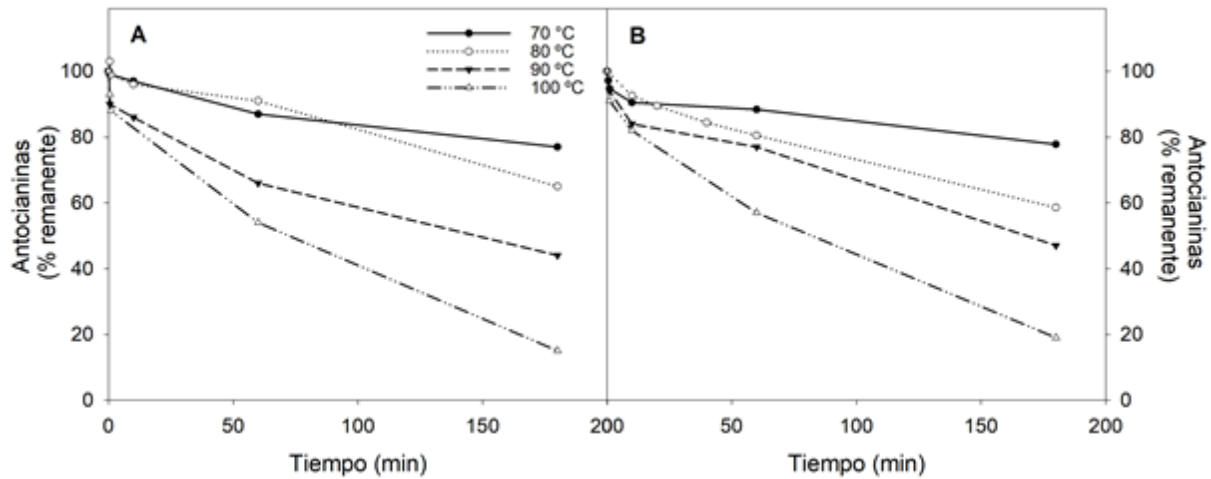
### Antocianinas

El contenido inicial de antocianinas de los jugos de zarzamora y frambuesa fue de 240 y 160 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente (Figura 1). La Figura 2 muestra la variación del contenido de antocianinas, expresado como porcentaje de retención, durante el calentamiento de los jugos a las diferentes temperaturas ensayadas.



**Figura 1:** Contenido de antocianinas y apariencia de los jugos preparados a partir de frutos de frambuesa y zarzamora

Si bien todas las condiciones de temperatura evaluadas mostraron reducir el contenido de antocianinas, se requirieron al menos 60 min a 90 y 100 °C para una degradación superior al 40 %. A 80 °C por 180 min la reducción fue de 35 (zarzamora) y 40 % (frambuesa). En el caso de la temperatura más baja, luego de 180 min, la pérdida de antocianinas fue de alrededor de 23 % para ambos jugos (Figura 2A y 2B). A pesar de que los “berries” son ricos en antocianinas no acetiladas, las antocianinas de frambuesa y zarzamora mostraron una estabilidad a los tratamientos térmicos, superior a otros compuestos termolábiles como lo es el ácido ascórbico (Aghajanzadeh et al., 2016). El bajo pH de los jugos (~3) pudo haber ayudado a estabilizar las moléculas frente a los tratamientos térmicos (Kirca et al., 2006). Por otro lado, también es posible que el tratamiento térmico propiciara la liberación de los compuestos antociánicos retenidos en la pulpa hacia la fase acuosa, (Rickman et al., 2007). De hecho, algunos trabajos han mostrado que los tratamientos térmicos moderados pueden favorecer la extracción de antioxidantes en algunas matrices (Guldiken et al., 2016).



**Figura 2:** Variación de la retención porcentual de antocianinas con el tiempo de calentamiento a temperaturas de 70, 80, 90 y 100 °C para jugos de zarzamora (A) y frambuesa (B).

Se calcularon las constantes de degradación térmica de antocianinas ( $k_T$ ), el tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ) a partir de las siguientes ecuaciones correspondientes a una cinética de degradación de primer orden:

$$\ln \left( \frac{C_t}{C_0} \right) = -k_T \times t \quad (3)$$

$$t_{1/2} = -\frac{\ln 0,5}{k_T} \quad (4)$$

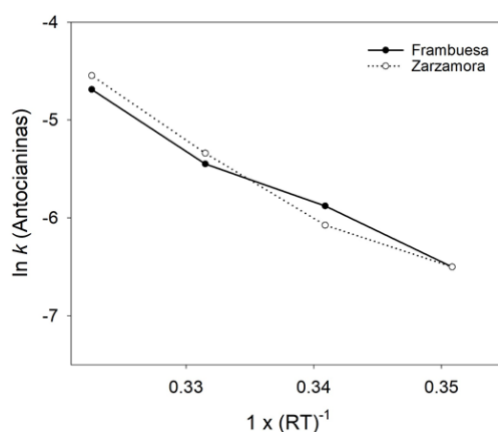
Donde  $C_0$  y  $C_t$  corresponden a las concentraciones de antocianinas iniciales y luego de un tiempo ( $t$ ) de iniciado el tratamiento térmico de las muestras, respectivamente, a una determinada temperatura ( $T$ ).

A partir de las  $k_T$  se graficó el  $\ln k_T$  vs.  $(RT)^{-1}$  (Figura 3) para el cálculo de la energía de activación ( $E_a$ ) y la constante de referencia ( $k_{ref}$ ) que fueron calculadas a partir de la ecuación de Arrhenius:

$$\ln (k_T) = \ln (k_{ref}) - \frac{E_a}{RT} \quad (5)$$

Donde  $R$  corresponde a la constante de los gases ideales ( $8,31 \times 10^{-3} \text{ kJ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ) y  $T$  a la temperatura en grados kelvin.

La Tabla 1 muestra los parámetros cinéticos de degradación térmica para ambos jugos. En el caso de los jugos de frambuesa, la  $k_T$  aumentó de  $15 \times 10^{-3}$  a  $92 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$  con el incremento de temperatura de 70 a 100 °C con una  $E_a$  de  $62,3 \text{ kJ mol}^{-1}$ . El mismo incremento de temperatura derivó en un incremento de  $k_T$  de  $15 \times 10^{-3}$  a  $109 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$  con una  $E_a$  de  $69,4 \text{ kJ mol}^{-1}$  en los jugos de zarzamora (Tabla 1). Las antocianinas de los jugos de frambuesa, a pesar de encontrarse en menor cantidad que en los jugos de zarzamora, demostraron poseer una mayor estabilidad. Esto puede estar relacionado a diferencias en el tipo de antocianinas presente en cada jugo, ya que la estructura de estas moléculas influye marcadamente en la estabilidad de las mismas (Gras et al., 2018).



**Figura 3:** Logaritmo natural de la constante de velocidad  $k_t$  a una determinada temperatura contra  $1/RT$  ( $\text{mol kJ}^{-1}$ ).

**Tabla 1:** Constantes de degradación térmica de antocianinas ( $k_T$ ), tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ), energía de activación ( $E_a$ ) y constante de referencia ( $k_{ref}$ ) para el contenido de antocianinas en jugos de frambuesa y zarzamora tratados a 70, 80, 90 y 100 °C por tiempos entre 0 (jugo fresco) y 180 minutos. Entre paréntesis se encuentra el coeficiente de correlación.

		T (°C)	$K_T$ ( $\text{s}^{-1}$ ) x $10^3$	$t_{1/2}$ (min.)	$K_{ref}$ (min.)	$E_a$ ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )
<b>Antocianinas</b>	<i>Zarzamora</i>	70	15 (0,955)	7,7	1.006.164	69,9 (0,977)
		80	23 (0,948)	5,0		
		90	48 (0,907)	2,4		
		100	106 (0,998)	1,1		
	<i>Frambuesa</i>	70	15 (0,955)	7,7	76.013	62,3 (0,971)
		80	28 (0,962)	4,1		
		90	43 (0,993)	2,7		
		100	92 (0,998)	1,3		

### Parámetros de color

La luminosidad presentó valores iniciales de entre 19-22 y 17-23 para jugos de frambuesa y zarzamora, respectivamente. Contrariamente a lo observado en otros trabajos, en donde la luminosidad se incrementa luego del tratamiento térmico (Fernández-López et al., 2013), no pudo observarse una tendencia clara respecto a este parámetro (datos no mostrados). La degradación de antocianinas provocó un cambio en los valores de  $a^*$ ,  $b^*$  y  $^{\circ}\text{Hue}$  (Tabla 2).

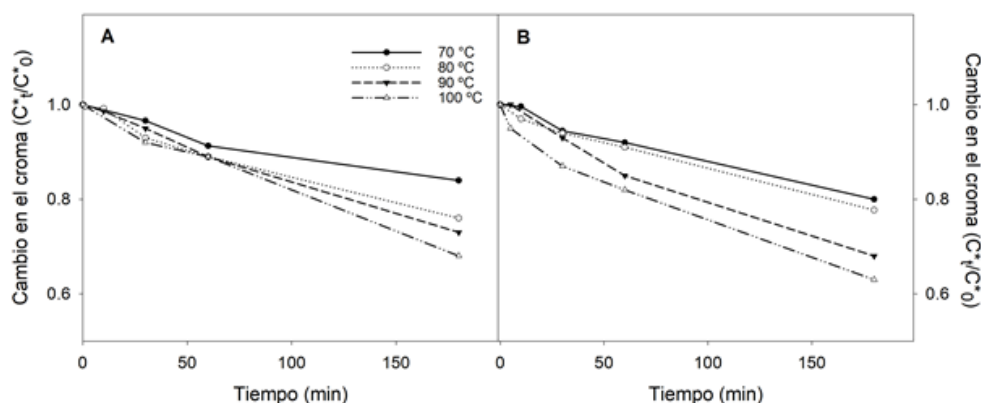


**Tabla 2:** Parámetros de color ( $a^*$ ,  $b^*$  y  $^{\circ}\text{Hue}$ ) para jugos de frambuesa y zarzamora tratados a 70, 80, 90 y 100 °C por 0 (jugo sin tratar térmicamente), 10, 60 y 180 minutos.

		$a^*$				$b^*$				$^{\circ}\text{Hue}$			
		<i>Temperatura (°C)</i>											
		<i>Tiempo (min.)</i>	70	80	90	100	70	80	90	100	70	80	90
Frambuesa	0	21,0	20,2	19,3	18,8	8,5	6,4	6,1	5,8	22,0	17,6	17,5	17,2
	10	21,0	19,5	17,7	17,5	8,3	6,2	4,7	4,2	21,6	17,6	14,9	13,5
	60	20,7	18,5	16,2	15,9	6,8	5,0	3,0	2,5	18,2	15,1	10,5	8,9
	180	18,2	16,0	14,9	12,2	4,7	3,5	2,3	2,1	14,5	12,3	8,8	9,8
	Zarzamora	0	19,7	23,0	21,9	17,8	6,1	8,0	7,7	4,7	17,2	19,2	19,4
	10	19,9	22,8	20,7	16,0	6,0	8,2	6,4	3,1	16,8	19,8	17,2	11,0
	60	17,9	20,7	18,9	15,7	4,4	6,7	4,9	2,6	13,8	17,9	14,5	9,4
	180	17,0	20,2	17,0	12,0	3,3	6,1	3,7	1,2	11,0	16,8	12,3	5,7

En general se observó una tendencia similar en ambos jugos con una reducción mayor del  $b^*$  en comparación al  $a^*$  que derivó en valores del  $^{\circ}\text{Hue}$  inferiores conforme aumentaba el tiempo de exposición a cada temperatura. Sin embargo, el croma ( $C^*$ ) fue el parámetro que mejor ajusto a una cinética de degradación de primer orden y fue elegido para continuar con la obtención de los parámetros cinéticos correspondientes al cambio de color.

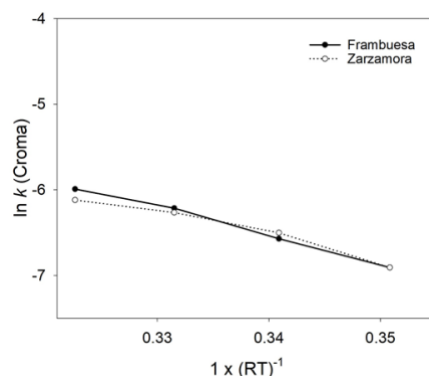
La Figura 4 muestra las curvas de reducción relativa del  $C^*$  con forme aumenta el tiempo de exposición a las diferentes temperaturas. Puede observarse que inclusive luego de tiempos prolongados a altas temperaturas la reducción del croma no superó el 40 % del valor inicial. En comparación con las antocianinas (Figura 2), la degradación del  $C^*$  parece transcurrir a menor velocidad.



**Figura 4:** Retención del  $C^*$  a diferentes tiempos de tratamiento a 70, 80, 90 y 100 °C para jugos de zarzamora (A) y frambuesa (B).



La Tabla 3 muestra los parámetros cinéticos de degradación térmica del C\*, calculados de igual forma que para las antocianinas. En el caso de los jugos de frambuesa, la  $k_T$  aumentó de  $10 \times 10^{-3}$  a  $25 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$  con el incremento de temperatura de 70 a 100 °C con una  $E_a$  de 33,1 kJ mol<sup>-1</sup>. El mismo incremento de temperatura derivó en un incremento de  $k_T$  desde  $10 \times 10^{-3}$  a  $22 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$  con una  $E_a$  de 27,8 kJ mol<sup>-1</sup> en los jugos de zarzamora. Comparando estos valores con los de la Tabla 1, el C\* resultó ser menos afectado por el incremento de la temperatura y el tiempo de tratamiento térmico en comparación a las antocianinas. Una de las rutas de degradación de las antocianinas es su condensación en compuestos pardos (Danişman et al., 2015). Estos polímeros podrían llegar a reducir el descenso del croma.



**Figura 5:** Logaritmo natural de la constante de velocidad  $k_t$  a una determinada temperatura contra  $1/RT$  (mol kJ<sup>-1</sup>).

**Tabla 3:** Constantes de degradación térmica de antocianinas ( $k_T$ ), tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ), energía de activación ( $E_a$ ) y constante de referencia ( $k_{ref}$ ) para el croma (C\*) de los jugos de frambuesa y zarzamora tratados a 70, 80, 90 y 100 °C por tiempos entre 0 (jugo fresco) y 180 minutos. Entre paréntesis se encuentra el coeficiente de correlación.

		T (°C)	$K_T$ (s <sup>-1</sup> ) x 10 <sup>3</sup>	$t_{1/2}$ (min.)	$K_{ref}$ (min.)	$E_a$ (kJ mol <sup>-1</sup> )
<b>Croma (C*)</b>	<i>Zarzamora</i>	70	10 (0,866)	11,6	0,3	27,8 (0,962)
		80	15 (0,984)	7,7		
		90	19 (0,976)	6,1		
		100	22 (0,984)	5,3		
	<i>Frambuesa</i>	70	10 (0,998)	11,6	1,8	33,1 (0,994)
		80	14 (0,992)	8,3		
		90	20 (0,963)	5,8		
		100	25 (0,976)	4,6		





## Conclusiones

Se estudiaron la degradación térmica de antocianinas y los cambios en los parámetros del color para jugos de frambuesa y zarzamora. A pesar de encontrarse en menor concentración, las antocianinas de los jugos de frambuesa mostraron una mayor estabilidad que las de zarzamora. En relación a los parámetros de color, si bien el  $a^*$ ,  $b^*$  y el  $^{\circ}$ Hue fueron afectados por los tratamientos, el croma fue el que mejor se ajustó a una cinética de degradación de primer orden. La determinación espectrofotométrica de las antocianinas resultó un mejor indicador que el croma para monitorear el daño térmico provocado en los jugos, principalmente por tener una mayor sensibilidad al incremento de la temperatura y al tiempo de tratamiento térmico. Estos datos pueden ser de utilidad para la industria de jugos.

## Agradecimientos

A “Yuco Frutos” quien proveyó los frutos. Al Proyecto PIO Pablo Yaryura PIO 20320150100008CO RD 4800. Agregado de valor en origen a la producción frutihortícola de la región de Villa María. Evaluación y desarrollo de estrategias de manejo pre y poscosecha.

## Referencias

- AGHAJANZADEH S, KASHANINEJAD M, ZIAIIFAR AM. 2016. Effect of infrared heating on degradation kinetics of key lime juice physicochemical properties. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 38, 139-148.
- AZOFEIFA G, QUESADA S, PÉREZ AM, VAILLANT F, MICHEL A. 2015. Pasteurization of blackberry juice preserves polyphenol-dependent inhibition for lipid peroxidation and intracellular radicals. *Journal of Food Composition and Analysis*, 42, 56-62
- BROWNMILLER C, HOWARD LR, PRIOR RL. 2008. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blueberry products. *Journal of Food Science*, 73, H72-H79
- DANIŞMAN G, ARSLAN E, TOKLUCU AK. 2015. Kinetic analysis of anthocyanin degradation and polymeric colour formation in grape juice during heating *Czech Journal of Food Sciences*, 33, 103-108.
- FERNÁNDEZ-LÓPEZ JA, ANGOSTO JM, GIMÉNEZ PJ, LEÓN G. 2013. Thermal Stability of Selected Natural Red Extracts Used as Food Colorants. *Plant Foods for Human Nutrition*, 68, 11-17.
- GOULAS V, VICENTE AR, MANGANARIS GA. 2012. Structural Diversity of Anthocyanins in Fruits. In: Motohashi N. (Ed.), *Anthocyanins: Structure, Biosynthesis and Health Benefits*. Nova Science Publishers, 10, 225-250.
- GRAS CC, BAUSE K, LEPTIHN S, CARLE R, SCHWEIGGERT RM. 2018. Effect of chlorogenic acid on spectral properties and stability of acylated and non-acylated cyanidin-3-O-glycosides. *Food Chemistry* 240, 940-950.



GULDIKEN B, BOYACIOGLU D, CAPANOGLU E. 2016. Optimization of extraction of bioactive compounds from black carrot using Response Surface Methodology (RSM). *Food Analytical Methods*. 9, 1876–1886.

HOWARD LR, PRIOR RL, LIYANAGE R, LAY JO. 2012. Processing and storage effect on berry polyphenols: challenges and implications for bioactive properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 6678-6693.

KADER AA. 2007. Cap. 29, Sistemas de manejo poscosecha: Frutas pequeñas. En: Kader AA. (Ed). *Postharvest technology of horticultural crops* (401-420). California: Center for Information and Research on Postharvest Technology, Technology Division of Agriculture and Natural Resources. University of California Davis.

KIRCA A, ÖZKAN M, CEMEROĞLU B. 2006. Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. *Food Chemistry*, 101, 212-218.

PATRAS A, BRUNTON NP, O'DONNELL C, TIWARI BK. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends Food Science and Technology* 21, 3-11.

RICKMAN JC, BARRETT DM, BRUHN CM. 2007. Nutritional comparison of fresh, frozen and canned fruits and vegetables. Part 1. Vitamins C and B and phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 930-944.

SANTHIRASEGARAM V, RAZALI Z, SOMASUNDRAM C. 2013. Effects of thermal treatment and sonication on quality attributes of Chokanan mango (*Mangifera indica* L.) juice. *Ultrasonic Sonochemistry* 20, 1276-1282

SILVA FVM & GIBBS P. 2004. Target selection in designing pasteurization processes for shelf-stable high-acid fruit products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 353-360.

VERVOORT L, VAN DER PLANCKEN I, GRAUWET T, TIMMERMANS RAH, MASTWIJK HC, MATSER AM, ET AL. 2011. Comparing equivalent thermal, high pressure and pulsed electric field processes for mild pasteurization of orange juice. Part II: Impact on specific chemical and biochemical quality parameters. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12, 466-477.

WROLSTAD RE. 2004. Symposium 12: Interaction of natural colors with other ingredients. Anthocyanin pigments - Bioactivity and coloring properties. *Journal of Food Science*, 69, C419-C421.