



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

DETERMINACIÓN DE ACEITE VEGETAL BROMADO EN
NARANJADAS Y PROPUESTAS DE OTROS ADITIVOS
PARA SUSTITUIRLO O COMPLEMENTARLO

TESIS MANCOMUNADA
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTAN

IVONNE GÓMEZ DEL CAMPO REBOLLAR
GABRIEL SARMIENTO HERNÁNDEZ



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA

MÉXICO, D. F.

MAYO 2005

m 344615



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

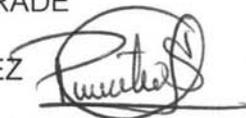


PRESIDENTE MARCOS FRANCISCO BAEZ FERNANDEZ

VOCAL LUIS ORLANDO ABRAJAN VILLASEÑOR

SECRETARIO DULCE MARIA GÓMEZ ANDRADE

1er. SUPLENTE PATRICIA SEVERIANO PEREZ



2do. SUPLENTE JOSÉ MENDOZA BALANZARIO

SITIO EN DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

POSGRADO FACULTAD DE QUÍMICA, LABORATORIO 204 DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA, UNAM.

ASESOR DE TESIS:

Q.F.B. LUIS ORLANDO ABRAJAN VILLASEÑOR



SUPERVISOR TÉCNICO:

M. en C. MARTHA YOLANDA GONZÁLEZ QUEZADA



SUTENTANTES:

GABRIEL SARMIENTO HERNÁNDEZ



IVONNE GÓMEZ DEL CAMPO REBOLLAR



CONTENIDO

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivos	3
1.2 Hipótesis	3
2. ANTECEDENTES	4
2.1 Consumo Nacional de Naranjadas	4
2.2 Emulsiones	9
2.3 Aditivos	14
2.4 Características y Propiedades de Sustitutos de Aceite Vegetal Bromado	20
2.5 Emulsificantes	42
2.6 Estatus legal de los Emulsificantes	48
3. DISEÑO EXPERIMENTAL	50
3.1 Diagrama de Trabajo	53
3.2 Parte Experimental	54
3.2.1 Preparación de Concentrado Patrón de BVO	54
3.2.2 Determinación de Aceite Vegetal Bromado	56
3.2.3 Propuestas de Formulaciones de los Diferentes Aditivos Seleccionados	57

3.2.4 Métodos para Evaluar Emulsiones	59
3.2.5 Métodos para Determinar en Bebidas Finales	61
3.3.5 Evaluación Sensorial	62
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	65
4.1 Determinación de la Densidad en Aditivos	74
4.2 Vida De Anaquel de las Bebidas de Prueba	79
4.3 Evaluación Sensorial	82
5. CONCLUSIONES	91
6. BIBLIOGRAFÍA	93
7. ANEXOS	96

1. INTRODUCCIÓN

En México en la actualidad el mercado de jugos, néctares y naranjadas, representa un consumo de nueve litros percapita al año. Sus ventas en volumen se destacan sobre todo en las tiendas tradicionales con 61.6% en ventas, mientras que para el caso de los autoservicios es de 38.4%.⁽¹⁷⁾ Se consumen en especial las naranjadas (preferidas por los niños), debido a que es una bebida accesible tanto desde el punto de vista económico como de su fácil manejo.

Las naranjadas son consideradas como bebidas refrescantes envasadas, compuestas simplemente por agua y azúcar como la fructosa, glucosa o sacarosa, a las que se ha añadido aditivos tales como colorantes, acidulantes, correctores de la acidez, antioxidantes, conservadores, potenciadores del sabor, emulsionantes y estabilizantes. En el caso de las naranjadas se adiciona el Aceite Vegetal Bromado* (*BVO por sus siglas en inglés) como aditivo que ayuda a corregir la densidad y es considerado como agente espesante y emulsionante.

Durante muchos años se emplearon como emulsionantes los Aceites Vegetales Bromados por sus propiedades funcionales, de hecho el primer agente espesante utilizado en la industria, fue el Aceite Vegetal Bromado (BVO*) en los años 1940's en los Estados Unidos de Norte América. Por su alta gravedad específica, está considerado como un agente espesante muy efectivo para aceites cítricos, al mismo tiempo que es miscible con éstos, no interfiere con el sabor y es relativamente barato, ⁽¹²⁾ sin embargo su uso se abandonó en los años 1940's

debido a las dudas sobre su seguridad, desde entonces se han buscado otros espesantes entre ellos se encuentran: Ésteres de Sacarosa, como el Diacetato Hexa-isobutirato de Sacarosa, Éster de Colofonia, Proteínas Enturbiantes, Ésteres Benzoicos del Glicerol y del Propilenglicol así como Gomas pero ninguno de ellos ha alcanzado una aceptación general, ya que la presencia de notas desagradables es un problema común especialmente en los ésteres de colofonia y en las gomas.

Actualmente en México se sigue utilizando el Aceite Vegetal Bromado (BVO) para la fabricación de naranjadas comerciales por lo que se indagó si por parte del laboratorio Nacional de Salud Pública¹ y laboratorios de la Procuraduría Federal del Consumidor² (PROFECO), existe alguna normatividad para su uso, sin embargo, se descubrió que no existe ni la metodología y tampoco el interés para realizar tanto la detección como la cuantificación del BVO.

Por la falta de un seguimiento e inspección de la regulaciones existentes por parte de los autoridades, se podría suponer que existe abuso de la concentración permitida (15 ppm) por la Norma Oficial Mexicana³, FDA (Food and Drug Administration) y por el *Codex Alimentarius*. El uso incorrecto de este aditivo es un problema actual cuya posible solución es realizar estudios, empleando un método para detectar o identificar y de ser posible, cuantificar este aditivo, por métodos con estándares establecidos.

¹ Laboratorio Nacional de Salud Pública, Dirección: Tlalpan 4478 Esquina con Periférico, Col. San Lorenzo Huipulco, México, D.F.

² Laboratorios Procuraduría Federal del Consumidor (PROFECO), Dirección: Calle Alemania #14 Col. Parque San Andrés, México, D.F.

³ Dirección General de Normas, Dirección Av. Puente de Tecamachalco No.6 sección Fuentes Col. Lomas de Tecamachalco Naucalpan de Juárez, C.P. 53950, México.

1.1 OBJETIVOS

- Establecer una escala colorimétrica experimental para determinar la concentración de BVO en bebidas tipo naranjada y comparar la concentración encontrada con respecto a la Norma Oficial Mexicana.
- Determinar la presencia del Aceite Vegetal Bromado cualitativamente en cinco naranjadas comerciales.
- Proponer 3 formulaciones utilizando mezcla de aditivos para sustituir o complementar las propiedades funcionales del Aceite Vegetal Bromado (BVO) para utilizarlo en una bebida tipo naranjada.
- Determinar el efecto de los aditivos utilizados en los atributos sensoriales de estas bebidas mediante la evaluación sensorial.

1.2 HIPÓTESIS

- Si se establece la escala experimental a través de la prueba cualitativa colorimétrica, entonces se podrá determinar la concentración de Aceite Vegetal Bromado, utilizado en naranjadas comerciales.
- Si se utiliza 15ppm de aceite vegetal bromado junto con una mezcla de aditivos en una formulación de naranjada, entonces se obtendrá una bebida con características semejantes a una naranjada comercial.

2. ANTECEDENTES

2.1 CONSUMO NACIONAL DE NARANJADAS

Se estima que el mercado de jugos, néctares y bebidas de fruta en México tiene un valor total aproximado de más de US \$950 millones por año, muy por debajo del mercado refresquero, lo que refleja una importante oportunidad para este segmento, donde el consumidor evalúa constantemente la posibilidad de un cambio de hábitos buscando bebidas más saludables.

De acuerdo a datos de Nielsen, la participación de las bebidas en el mercado mexicano en términos de volumen a diciembre de 2003 (últimos doce meses), fue de aproximadamente el 21.8% en jugos, néctares, naranjadas y bebidas de fruta.

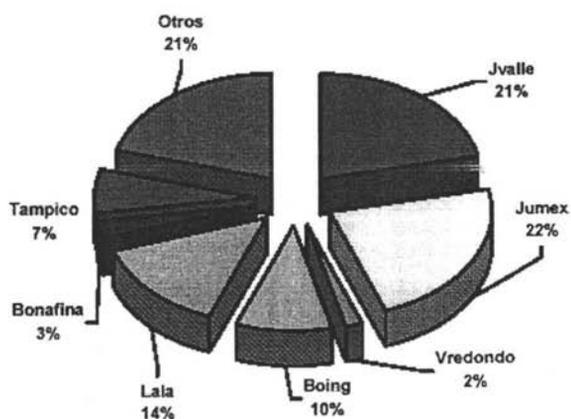


Figura 1. Participación de las Bebidas en el Mercado Mexicano. Fuente: Nielsen

El consumo per cápita de jugos, néctares y bebidas de fruta sigue siendo bajo comparado con el segmento de refrescos. El consumo per cápita en jugos es ligeramente superior a los 9 litros al año mientras que en refrescos asciende a casi 154 litros. Representa apenas el 5.2% de ese mercado, lo que genera un potencial de crecimiento muy significativo. A continuación se presenta un cuadro comparativo de ingresos por línea de negocio al 31 de diciembre de 2003 contra mismo período del 2002 y 2001 en miles de pesos.

Cuadro 1. Comparativo de Ingresos por Línea

Línea de	Ventas en cajas			Variación				Total Cja.	
	2003	2002	2001	2003-2002	2002-2001	%2002-2001	%2003-2002	2002	2003
Jugos y néctares	34,723.3	33,211.0	32,560.0	1,512.3	651.0	2.00%	4.55%	30.5%	32.1%
Bebidas	18,012.7	16,953.0	15,265.0	1,059.7	1,688.0	11.06%	6.25%	15.5%	16.6%
Naranjadas	16,034.9	16,020.0	15,256.0	14.9	764.0	5.01%	0.09%	14.7%	14.8%
Refrescos	19,057.5	20,261.0	16,510.0	(1,203.5)	3,751.0	22.72%	-5.94%	18.8%	17.6%
Val-vita y otros	642.2	522.0	438.0	120.2	84.0	19.18%	23.03%	0.5%	0.6%
Codeméxico	201.5	145.0	119.0	56.5	26.0	21.85%	38.99%	0.1%	0.2%
Otros	190.0	484.0	655.0	(294.0)	(171.0)	-26.11%	-60.74%	0.4%	0.2%
Total Nacional	88,862.1	87,596.0	80,803.0	1,266.1	6,793.0	8.41%	1.45%	80.4%	82.1%
Área Internacional	19,399.5	21,304.0	16,867.0	(1,904.5)	4,437.0	26.31%	-8.94%	15.6%	17.9%
Total Compañía	108,261.6	108,900.0	97,670.0	(638.4)	11,230.0	11.50%	-0.59%	100.0%	100.0%

Línea de producto	Ventas en pesos			Variación				Pesos sobre Total Cja.	
	2003	2002	2001	2003-2002	2002-2001	%2002-2001	%2003-2002	2002	2003
Jugos y néctares	1,883,776	1,822,810	1,770,651	60,966	52,159	3.34%	2.95%	44.0%	45.8%
Bebidas	645,919	649,347	688,908	-42,989	-39,562	-6.62%	-5.74%	15.7%	15.7%
Naranjadas	335,782	354,121	351,507	-15,726	2,613	-4.44%	0.74%	8.5%	8.2%
Refrescos	425,723	452,471	334,170	91,553	118,301	20.23%	35.40%	10.9%	10.4%
Codeméxico	22,241	16,278	12,665	9,576	3,613	58.83%	28.53%	0.4%	0.5%
Val-vita y otros	48,704	129,158	85,605	-36,901	43,553	-28.57%	50.88%	3.1%	1.2%
Total Nacional	3,362,145	3,424,184	3,243,506	118,639	180,678	3.46%	5.57%	82.6%	81.8%
Área Internacional	746,445	723,182	621,473	124,972	101,709	17.28%	16.37%	17.4%	18.2%
Total Compañía	4,108,590	4,147,366	3,864,979	243,611	282,387	5.87%	7.31%	100.0%	100.0%

Fuente: Nielsen

En cuanto al área internacional (Cuadro 1), los ingresos netos prácticamente se mantienen comparados contra el 2002, teniendo un crecimiento en Estados Unidos del 29.40% y la disminución en Brasil del 8.60%. (17)

En los últimos años la industria de bebidas no alcohólicas (Cuadro1) ha tenido un gran repunte en el gusto de los consumidores, los cuales buscan en las bebidas, colores y olores que no den una apariencia artificial; para poder lograr esto es necesario tener concentrados que den al consumidor lo que requiere.

Los concentrados para bebidas, son aquellos que aportan fundamentalmente el sabor, olor, color y turbiedad característicos de cada producto. Para obtener concentrados con las características que a los consumidores les agrada es necesario utilizar materias primas (Aditivos) de alta calidad, sin embargo, las industrias experimentan con materias primas que tienen menores costos, razón por la cual es necesario realizar un buen control de especificaciones de éstas, así como realizar pruebas a niveles piloto o de laboratorio que demuestren que son lo suficientemente adecuadas para sustituir a otras.

Los concentrados para bebidas no alcohólicas carbonatadas y no carbonatadas contienen en su estructura general los siguientes componentes:

- Sabores: Aceites esenciales (simples o concentrados), Bases, Extractos, Destilados

-
- Colores (Del tipo alimenticio y aprobados por FDA)
 - Acidulantes (Ácido Cítrico, Tartárico, Fosfórico, etc.)
 - Conservadores (Benzoato de Sodio, Sorbato de Potasio, etc.)
 - Enturbiante (Goma Arábica, Goma Xantano, etc.)
 - Emulsionantes y estabilizador (Aceite Vegetal Bromado, Acetatoisobutirato de Sacararosa), Goma Ester (Abietato de Etilo)

Todos estos factores deben ser cuidadosamente estudiados y desarrollados para que en conjuntos logren dar un producto de calidad

En la actualidad la industria de los concentrados para bebidas no alcohólicas en general elabora dos tipos de formulaciones:

- a) Por mezcla
- b) Por emulsión

Los concentrados por mezcla son aquellos que no presentan turbiedad en su cuerpo, y se obtienen mediante la percolación de materiales finamente molidos con soluciones alcohólicas o mediante el lavado de aceites que han sido obtenidos por presión o destilación con una mezcla de alcohol-agua, dejando después que se separen los aceites, para posteriormente de ahí realizar la mezcla final. Ejemplos típicos son: Las bebidas de manzana y limón.

Los concentrados por emulsión son aquellos que presentan turbiedad en su cuerpo, los cuales se preparan al emulsionar las fases de aceites esenciales con la fase acuosa que contiene goma arábiga, a esta mezcla se adiciona algún tipo de emulsificante que actúan en la superficie o interfase del sistema formando una membrana protectora la cual previene la separación de fases, esta se mezclan con un jarabe de azúcar o glicerina para posteriormente pasar esta mezcla por un homogeneizador. Ejemplos típicos de estas son: Las bebidas de naranja, mandarina y toronja.

La experimentación de nuevas materias primas (aditivos) en este rubro es muy importante para lograr obtener mejores beneficios, ya que el gusto, la apariencia, el color y el olor son las características organolépticas mediante las cuales los consumidores juzgan la calidad del producto. (7)

Debido a ciertas restricciones por parte de FDA (Food and Drug Administration) se han tenido que eliminar o restringir, por considerarse con riesgo para la salud, algunos componentes de las bebidas y en el caso del Aceite Vegetal Bromado (BVO) se ha reducido 15ppm en bebida terminada, lo que originó la búsqueda de nuevas formas de emulsionar los aceites esenciales, para lograr una turbidez con bastante estabilidad de las bebidas comerciales.

2.2 EMULSIONES

CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS EMULSIONES

Una emulsión es un sistema heterogéneo de dos o más fases inmiscibles entre sí dispersas en partículas (gotas) de 0.1 micras o mayores; consiste en el equilibrio entre dos o más fases en otra fase, generalmente aceite/agua, con uno de los líquidos dispersado como pequeñas esferas en la otra fase. Las emulsiones pueden ser clasificadas de acuerdo a la distribución del aceite en la fase acuosa. El sistema que consiste de gotas de aceite dispersas en fase acuosa es llamado una emulsión aceite/agua o OW (Oil/Water), ejemplo: mayonesa, leche, crema, salsas. El sistema que consiste de gotas dispersadas en una fase oleosa es llamado emulsión agua en aceite o W/O (Water/Oil) ejemplo: margarina, mantequilla. A la fase de mayor volumen se le llama fase continua, y a la de menor volumen discontinua.

Es posible formar una emulsión por una simple homogeneización entre el aceite y el agua, pero ambas fases se separarían rápidamente por la diferencia de densidades. Esto por que las moléculas tienden a atraerse con las de su misma naturaleza. Es posible formar emulsiones que son cinéticamente estables (metaestables) por un periodo razonable de tiempo (unos días, semanas, meses o años) incorporando sustancias conocidas como *EMULSIFICANTES*.

La estabilidad de una emulsión está limitada por la posible separación de fases, este sistema de separación gravitacional está descrito por la llamada LEY DE STOKES. En general las micelas de fase dispersa en una emulsión tienen diferente densidad y por gravedad las fases tienden a separarse. Al aumentar el número de micelas, la energía que se necesita para mantenerlas separadas aumenta y la estabilidad decrece.

La ley de STOKES explica la base física de la separación gravitatoria y está dada a la siguiente ecuación:

$$V = \frac{-2 g r^2 (\rho_2 - \rho_1)}{9 \eta_1}$$

Donde:

V = Velocidad de separación

r = Radio de la fase dispersa

g = Aceleración de la gravedad

ρ_2, ρ_1 = Densidades de las fases continua y dispersa

η = Viscosidad de la fase continúa

Al fenómeno que ocurre cuando las fases se van separando se le conoce como cremación y sedimentación, siendo más común la cremación, manifestada por la formación de anillo blanquizco en las bebidas.

Cabe señalar que con el paso del tiempo ha habido modificaciones de la Ley de Stokes ya que ésta es usada estrictamente para calcular la velocidad de partículas esféricas suspendidas en un líquido ideal. En la práctica, existen varias desviaciones de la velocidad de cremación determinada por Stokes y las medidas experimentales de cremación involucran ciertos sistemas no ideales como: polidispersión, floculación de las gotas, movimientos no newtonianos de la fase continua, cristalización de grasas, etcétera. (2)

Es importante cuidar que la emulsión no se desestabilice ya que un calentamiento, un enfriamiento, una centrifugación o un sacudimiento brusco, pueden provocar una ruptura de la emulsión. Los problemas que pudiesen presentar las emulsiones en bebidas, tanto en los concentrados como en la bebida terminada son los siguientes:

- a) Formación de Anillo
- b) Floculación
- c) Coalescencia

A) Formación de Anillo

Este problema se presenta cuando las partículas de los aceites esenciales y los saborizantes se separan y flotan en la bebida. Esto se ve como un anillo blanco cremoso en el cuello de la botella y está relacionado con la floculación. Es considerado como la separación de la emulsión en dos fases. Una parte es más aceitosa y la otra tiene un contenido mayor de agua.

Las fuerzas que hacen que se formen los agregados, son fuerzas de Van Der Waals y fuerzas electrostáticas alrededor en las gotas. Estos agregados se comportan como largas gotas y el proceso de formación de anillos se ve acelerado en sistemas en los que la diferencia de las densidades entre los agregados y la fase continua es bastante amplia.

Cuando esto sucede, la parte más rica en aceites es la que sube y forma el anillo o capa cremosa en el cuello de la botella, esto ocurre cuando la densidad de la emulsión es mucho menor que la de la bebida terminada.

Una situación similar ocurre en la sedimentación, esto es el agente espesante se separa gradualmente, debido a que la densidad de la fase oleosa es mayor que la bebida terminada.

B) Floculación

Éste fenómeno ocurre cuando las gotas de aceite de la fase dispersa, forman agregados sin coalescencia o unión. En este estado, las gotas mantienen su identidad original, cuando la concentración de gotas es baja, la floculación es a veces reversible, ó sea que los agregados pueden ser dispersados ya que las interacciones de las fuerzas entre las gotas son muy débiles. Este fenómeno puede ser observado si se agita suavemente una botella de refresco, la floculación desaparece.

C) Coalescencia

En este estado, se revientan las coberturas de las gotas de los agregados y las gotas de aceite emergen juntas y forman una gota larga. Esto lleva al decremento en la cantidad de gotas de aceite y eventualmente hay rompimiento de la emulsión.

Cuando se utiliza un hidrocoloide apropiado en la fase acuosa, el rompimiento de la emulsión raramente conducirá a este estado. La razón es que el hidrocoloide, por ejemplo la goma arábica, forma una buena película alrededor de las gotas de aceite y proporciona viscosidad a la fase acuosa.

Al tener emulsiones con un pH bajo (cerca de 4), muestran mayor estabilidad contra la coalescencia, probablemente debido a que en pH bajo, las moléculas están contraídas por las fuerzas mínimas de repulsión y bajo carga neutra habiendo una mayor densidad de ellas en la interfase aceite - agua.

Las gotas de la emulsión flocculan formando agregados tridimensionales causando un sobreencadenamiento de interacción de las capas absorbidas. Esto induce al surgimiento de una red polimérica más fuerte debida a la formación de nuevos enlaces cruzados, lo que permite formar una película alrededor de las gotas de aceite más fuerte, lo mismo sucede a pH alto (cerca de 9) debido a una presencia de un exceso de contracciones, retardando así la coalescencia. (19)

2.3 ADITIVOS

La Secretaría de Salud en su artículo 657 menciona que, se entienden por aditivos aquellas sustancias que se añaden a los alimentos y bebidas con el objeto de proporcionar o intensificar aroma, color, o sabor; prevenir cambios indeseables o modificar en general su aspecto físico. Queda prohibido su uso para ocultar defectos de calidad.

FDA (Food and Drug Administration)

Los aditivos alimentarios son definidos como cualquier sustancia natural o artificial adicionada a un alimento generalmente a bajas concentraciones en cualquier etapa de su transformación hasta su empaque para lograr ciertos beneficios, tales como mantener el color original del alimento, reducir o eliminar el desarrollo de hongos, levaduras y bacterias deteriorativas de los alimentos, extender la vida de anaquel, mantener la frescura original del alimento, evitar el deterioro por insectos, mantener o mejorar el valor nutritivo, desarrollar alguna propiedad sensorial o como ayuda en proceso para mantener las propiedades sensoriales originales del alimento.

ACEITES REGULADORES DE LA DENSIDAD

La parte más importante en las emulsiones para bebidas, es la fase oleosa, la cual en las emulsiones proporcionan sabor y está constituida por aceites esenciales cítricos y agentes espesantes, éstos últimos también llamados agentes ajustadores de la densidad o agentes dispersantes. Estos, no deben de interferir

en el color, olor y sabor de la bebida terminada, y deben satisfacer los requerimientos legales del país en donde la bebida es consumida.

Aceite Vegetal Bromado (BVO)

El Aceite Vegetal Bromado ha sido utilizado desde los 40's. Por su alta gravedad específica, está considerado como un agente espesante muy efectivo para aceites cítricos, al mismo tiempo que es miscible con estos, no interfiere con el sabor y es relativamente económico.

El proceso de obtención del BVO es por la adición de moléculas de bromo en las ligaduras olefinicas de los ácidos grasos insaturados de los aceites vegetales. La adición se lleva acabo preferentemente a bajas temperaturas para prevenir la alfabromación. La gravedad específica de un aceite bromado, es función de la cantidad de bromo incorporado a la molécula.

El Aceite Vegetal Bromado comercial, se produce a partir de aceites vegetales con un número de yodo de 80-90, como el aceite de oliva, el cual produce un aceite de éste tipo con una gravedad específica de aproximadamente 1.24. Los aceites vegetales con un número de yodo de 105-125 como el aceite de ajonjolí, aceite de maíz, aceite de soya o aceite de algodón, producen un Aceite Vegetal Bromado con gravedad específica de aproximadamente 1.33, las propiedades fisicoquímicas del Aceite Bromado Vegetal se muestran en la Tabla 2.

El aceite bromado utilizado en México es de maíz, es viscoso, de color café oscuro, con olor y sabor suave. (18)

Funciones: Agente estabilizante, potenciador de sabor, proporciona turbidez, y es corrector de densidad en bebidas.

Aplicaciones: Bebidas carbonatadas, no carbonatadas, isotónicas, concentrados para bebidas aplicación en la fase oleosa de las emulsiones para bebidas.

Modo de empleo: Se aplica en la fase oleosa, se mezcla con los componentes grasos de la formulación para facilitar su aplicación

Tabla 2. Especificaciones Fisicoquímicas del Aceite Vegetal Bromado

Parámetro	Especificación
Aspecto	Líquido viscoso color ámbar cristalino
Olor	Suave
Sabor	Suave
Gravedad Específica	1.3250-1.3350
Bromuro Libre	Negativo
Densidad (20°C)	1.338g/ml
Número de yodo	16mg l/g máx.
Ácidos Grasos libres, como oleico	1% máx.
Arsénico	<3ppm.
Metales pesados	<10ppm
Punto de inflamación	210°C
Punto de ebullición	>232°C

Fuente: H&R,Haarmann y Reimer S.A.

Estado regulatorio: Registro CFR titulo 21180.30, **límite de uso máximo 15ppm en la bebida final.**

Almacenamiento: Lugar fresco, seco y ventilado. Mantener los contenedores completamente cerrados para evitar la contaminación del producto.

Vida útil: 12 meses, posterior a este tiempo, se recomienda evaluar los parámetros fisicoquímicos del producto, para verificar si se encuentra en condiciones adecuadas para su uso.

Empaque: Envase de polietileno de alta densidad, polipropileno, vidrio o metal.

Debido a la restricción en su empleo se han desarrollado diferentes métodos para identificar el Aceite Vegetal Bromado (BVO) en bebidas refrescantes, entre estos trabajos se encuentran:

En julio del 1970 el *Food Chemicals Codex* dio las especificaciones del Aceite Vegetal Bromado, indicando que se puede utilizar como base Interna, mientras que el uso como estabilizador en bebidas refrescantes con sabor a fruta, el aceite adicionado tendrá un nivel máximo de 15 ppm hasta que se finalizaran los resultados de los estudios toxicológicos. (9)

Otro de los estudios, se basó en una selección rápida usando la espectrometría de fluorescencia con rayos X, desarrollados para la detección y la valoración semicuantitativa de Aceites Vegetales Bromados en bebidas refrescantes. Esta determinación y la técnica cualitativa del GLC (Cromatografía Líquido-Gas) se aplicaron para la determinación del contenido de aceite bromado en una amplia gama de bebidas refrescantes. De 46 bebidas examinadas, 23 contuvieron los aceites vegetales bromados en niveles entre 7 y 85 mg / 290 ml (24-293 ppm) de la bebida refrescante. (6)

De otra forma se investigó el efecto de bromo-fluoresceína en la alimentación de ratas, en donde se presentó acumulación considerable del líquido marcado con bromo en el tejido adiposo, también se encontró con un aumento en el peso del hígado y riñón. Estudios realizados con cerdos, en un rango entre 100 y 400mg

de BVO por Kg de peso y alimentándolos durante 42 días, se observó la presencia de bromo en tejido adiposo, hígado, bazo, glándulas suprarrenales, cerebro, riñones y nodos linfáticos. (12)

Por muchos años los aceites bromados han derivado de los aceites de aceituna, ajonjolí, semilla de algodón, y los aceites de soja, se han utilizado en las bebidas a base de frutas; para realzar la nube-estabilidad (no translucido). Algunos estudios indicaron que los altos niveles de aceites bromados en la dieta de ratas pueden producir un número de efectos toxicológicos adversos, tales como: miocitolisis cardíaca, hiperplasia de la tiroides, hígado graso, atrofia testicular y daño renal.

En otro estudio (12) sobre la toxicidad sub-aguda del aceite bromado del ajonjolí fue realizado en el cerdo para determinar si los cambios toxicológicos aparecen en una especie que tiene un sistema cardiovascular similar a la del hombre. Primero el bromo fue determinado en análisis por activación instrumental de neutrón en tejidos finos y en los órganos de cerdos como indicador de los residuos bromados del aceite vegetal. Se determinó el contenido del bromo para hacer una relación con la dosis. Unas de las ventajas de la técnica era que la muestra no fue tratada químicamente y por lo tanto las pérdidas del bromo durante análisis se evitaron, los análisis eran rápidos y confiables detectando a un nivel de partes por millón (ppm) de bromo en grasa intracelular en los nodos linfáticos.

En la literatura se encontró que se realizó un estudio (5) con un método cromatográfico (CGL) para determinar los Aceites Vegetales Bromados en bebidas refrescantes, usando cantidades conocidas de la naranjada comercial con un aceite de sésamo bromado. Los resultados preliminares estaban basados en los cálculos que implicaban una medida total del área máxima lo cual eran considerados erróneamente altos, puesto que los componentes C16 y C18 de éster metílico en la bebida, se encontraban en niveles bajos del aceite de sésamo bromado. Teniendo el cálculo modificado, los valores de la recuperación fueron 94.6, 95.3 y 96.0% para el contenido en bebidas 3, 10, 5, 22, y de 10.66 mg / 290ml del líquido, respectivamente, el cálculo modificado fue incorporado y se adoptó como primera acción oficial para la determinación de Aceites Vegetales Bromados.

El empleo de la cromatografía de gases de tubo capilar para la identificación de Aceites Vegetales Bromados ha sido capaz de identificar BVO individual por medio de la columna cromatografía de gases (GC), después de la trans-esterificación o por el tratamiento con metóxido de sodio. En este trabajo se divulgó el uso de la cromatografía de gases por tubo capilar, para separar y detectar el componente bromado de la grasa con la solución ácido-metilica. Siete BVO diferentes han sido caracterizados y los resultados fueron comparados con los del trabajo previo hecho con la columna cromatográfica de gases. La técnica fue aplicada a la determinación de BVO en una bebida refrescante sabor naranjada. (14)

En el AOAC (Association Official Analytical Chemistry) se encontró un método simple y exacto de detectar el bromo del BVO en bebidas refrescantes; se realiza una extracción de BVO usando el éter dietílico, la solución etérea concentrada fue tratada con una cantidad pequeña de zinc metálico en polvo para convertir el bromuro orgánico a inorgánico; la solución fue tratada posteriormente con dióxido del plomo para liberar el bromo. El bromo desarrollado fue detectado por medio de una tira de papel filtro impregnada con fluoresceína que vira a color de rosa porque se forma la eosina. La prueba puede detectar concentraciones tan bajas como 10 ppm (2mg / 200ml) de BVO bajo condiciones controladas experimentalmente. Posteriormente se realizó el método de cromatografía de gases en los derivados del metóxido de sodio, preparados del extracto de éter para la cuantificación. (11)

2.4 CARACTERÍSTICAS Y PROPIEDADES DE LOS ADITIVOS QUE SE USARAN PARA SUSTITUIR O COMPLEMENTAR EL ACEITE VEGETAL BROMADO

- **Denz-Oil**

Es un agente enturbiante derivado del Acetatoisobutirato de Sacarosa (SAIB), listo para mezclar, que proporciona ventajas de manipulación y estética para la industria de las bebidas

Descripción: Producto formado de la esterificación de sacarosa natural con ácido acético e isobutírico.

Funciones: Agente de balance de densidad, no interviene con las características del proceso, no imparte sabor ni color a la emulsión.

Aplicaciones: Bebidas carbonatadas, no carbonatadas, isotónicas, bajas en calorías, aplicación en la fase oleosa de las emulsiones para bebidas.

Modo de empleo: El nivel de uso será en función al ajuste de densidades de la fase oleosa, la fase oleosa se puede complementar con alguna resina, con el fin de dar más turbidez a la bebida, si no se usa resina se mezcla el Denz-oil con el aceite esencial.

Tabla 3. Especificaciones Fisicoquímicas de Denz-oil

Parámetro	Especificación
Aspecto	Líquido cristalino
Olor	Inoloro
Viscosidad	Medida en Brookfield LVF aguja 3 a 12rpm a 25°C; 6000-7000 cps
Densidad	20°C 1.09-1.11 g -cm ²
pH	4-6

Fuente: Gomas Naturales

Estado regulatorio: Registro CFR título 21175.105, límite de uso máximo 300ppm en la bebida final.

Almacenamiento: Lugar fresco, seco y ventilado. Mantener los contenedores completamente cerrados para evitar la contaminación del producto.

Vida útil: 12 meses, posterior a este tiempo, se recomienda evaluar los parámetros fisicoquímicos del producto, para verificar si se encuentra en condiciones adecuadas para su uso.

Empaque: Envase de polietileno de alta densidad, polipropileno, vidrio o metal.

- **Acetatoisobutirato de Sacarosa (SAIB)**

Descripción: Producto formado de la mezcla de ésteres de sacarosa natural, conteniendo aproximadamente 2 moles de acetato y 6 moles de isobutirato por cada mol de sacarosa.

Funciones: Agente de balance de densidad, no interviene con las características del proceso, no imparte sabor ni color a la emulsión, proporciona estabilidad y turbidez a la emulsión.

Aplicaciones: Bebidas no carbonatadas, aplicación en la fase oleosa de las emulsiones para bebidas.

Modo de empleo: El nivel de uso será en función al ajuste de densidades de la fase oleosa, la fase oleosa se puede complementar con alguna resina, con el fin de dar más turbidez a la bebida, si no se usa resina se mezcla el SAIB con el aceite esencial.

Tabla 4. Especificaciones Fisicoquímicas de SAIB

Parámetro	Especificación
Aspecto	Líquido viscoso
Olor	Inoloro
Viscosidad (decrece con la temperatura)	De 100,000-105cps cuando la temperatura aumenta de 30 a 100°C.
Densidad	1.146 g –cm ²
Color	Incoloro

Fuente: Gomas Naturales

Estado regulatorio: Límite de uso máximo 500ppm en la bebida final.

Consumo anual aprox. en México: 44000Kg; Grado Alimentario.

Almacenamiento: Lugar fresco, seco y ventilado. Mantener los contenedores completamente cerrados para evitar la contaminación del producto.

Vida útil: 12 meses, posterior a este tiempo, se recomienda evaluar los parámetros fisicoquímicos del producto, para verificar si se encuentra en condiciones adecuadas para su uso.

Empaque: Envase de polietileno de alta densidad, polipropileno, vidrio o metal.

Para utilizar SAIB en bebidas refrescantes, se realizaron diferentes estudios para su inocuidad, entre estos trabajos se encuentran:

SAIB, se ha utilizado por más de 30 años en muchos países como "ajustador-densidad" agente en bebidas carbonatadas sin alcohol. Como parte de la demostración de la seguridad de SAIB como aditivo alimentario directo en dietas del ser humano, se realizó un programa de la prueba de la toxicidad en los 50's que culminó en estudios extensos de SAIB en roedores, monos y seres humanos.

Esta revisión (15) resume los datos de toxicidad, desarrollados hasta 1988, que preceden a los estudios de seguridad publicados posteriormente. SAIB ha demostrado tener toxicidades agudas y crónicas muy bajas en ratas, monos, a excepción de efectos sobre el hígado en perros en los niveles de alimentación de hasta el 10% en la dieta.

Los efectos leves considerados en ratas y monos, en los niveles del 10% en la dieta, es poco probable que sean causados directamente por la exposición a SAIB. En perros, sin embargo, los efectos de SAIB disminuyen inmediatamente después de una sola dosis con la eliminación del verde bromosulfofaleina (BSP) y

del indocianina (ICG) del suero, esto corrobora la interferencia con la excreción biliar y sus efectos sobre el hígado.

En la alimentación repetida en perros (16), SAIB causó aumentos en niveles de la fosfatasa alcalina del suero, pero las enzimas indicativas de efectos tóxicos sobre el hígado se vieron afectadas. En los perros la alimentación prolongada con SAIB causó cambios en la morfología del hígado, revelada por microscopía electrónica. Todos estos efectos fueron invertidos cuando SAIB fue retirado de la dieta. El nivel de efecto para perros era cercano 5mg / Kg /día en peso corporal, en los seres humanos que se alimentaron con SAIB hasta 20mg/ kilogramo de peso corporal/día.

El isobutirato del acetato de la sucrosa (SAIB) es una mezcla de ésteres de la sucrosa con una composición que se aproxima al hexaisobutirato del diacetato de la sucrosa y se ha utilizado por más de 30 años en muchos países para ajustar la densidad en bebidas carbonatadas y no carbonatadas.

Como parte de la demostración de la seguridad de SAIB como aditivo alimenticio directo en dietas del ser humano, se han realizado estudios (16) de metabolismo y farmacocinética al igual que sobre el octaisobutirato compuesto constitutivo de la sucrosa (SOIB).

El metabolismo y los estudios de farmacocinética en ratas, perros y seres humanos demuestran que SAIB se metaboliza extensivamente en el aparato

gastrointestinal, produciendo sucrosa y sucrosa parcialmente acetilada. De esta manera se absorbe fácilmente en el intestino, aunque una parte considerable de SAIB ingerido y parcialmente esterificado se elimina en las heces.

Los materiales absorbidos se eliminan fácilmente en la orina y la bilis, después de ser metabolizado como bióxido de carbono y agua. Se metaboliza en forma mínima en las tripas de ratas, perros y monos, sugiriendo que la presencia de los grupos del acetilo facilite el metabolismo de la sucrosa completamente acetilada.

- **Ester Gum**

Descripción: Esterificación de la resina de madera con glicerol denominado Triacetato de Glicerol con Mono, Di y Triglicéridos.

Funciones: Proporciona turbidez en emulsiones, auxiliar en el balance de densidad en la fase oleosa de las emulsiones.

Aplicaciones: Emulsiones para bebidas.

Modo de empleo: Se dosifica del 1 al 1.5 partes de Ester Gum por 1 parte de aceite esencial, debe ser dispersado en la fase oleosa de la emulsión, hasta la completa disolución

Tabla 5. Especificaciones Fisicoquímicas de ESTER GUM

Parámetro	Especificación
Aspecto	Marqueta o trozo deodorizado amarillo
Olor	Inoloro
Punto de fusión capilar	66-74 °C
Densidad	25°C 1.08 g -cm ³
Índice de acidez	3-9

Fuente: Gomas Naturales

Estado regulatorio: Registro CFR titulo 21172.735, Limite de uso máximo 100 ppm en la bebida final.

Almacenamiento: Lugar fresco, seco y ventilado. Mantener los contenedores completamente cerrados para evitar que el producto se humedezca.

Vida útil: 4 meses, posterior a este tiempo, se recomienda evaluar los parámetros fisicoquímicos del producto, para verificar si se encuentra en condiciones adecuadas para su uso.

Empaque: Empaque interno de polietileno, empaque externo bolsa de Kraft blanco.

GOMAS

Una goma puede ser definida en un sentido amplio como cualquier polisacárido soluble en agua, que se extrae a partir de vegetales terrestres, marinos o de microorganismos, que poseen la capacidad en solución de incrementar la viscosidad y/o formar geles, excluyendo a los almidones y a las pectinas.

Las gomas son utilizadas en la fabricación de emulsiones, debido a su propiedad de producir turbidez en el producto terminado, además actúan como emulsificantes o estabilizantes, que engloban las partículas de aceite evitando así que se rompa la emulsión.

- **Goma Arábica**

Es un hidrocoloide natural más extensamente utilizado en el mundo por sus propiedades multifuncionales. La goma arábica es la secreción gomosa desecada de la rama y troncos del árbol Acacia Senegal, una especie de entre cerca de 900 acacias. Es un polisacárido complejo y muy ramificado, el núcleo central consta de D-galactosa y ácido D- glucopiranosidurónico, a los que están enlazados azúcares tales como, L-arabinosapiranososa y L-ramnopiranososa en una relación molar de L-arabinosapiranososa, D-galactopiranososa, ácido D- glucopiranosidurónico y L-ramnopiranososa, de 4:2:1:1 respectivamente.

Las propiedades emulgentes de la goma arábica se deben a que es un compuesto que contienen en su molécula porciones hidrofílicas y lipofílicas que forman una película, que sirve para que se adsorban en la interfase agua-aceite, ayudando a que se disperse el saborizante en la fase acuosa.

Descripción: Exhudado seco y gomoso de troncos y ramas de acacias relacionadas. Es una sal de sodio, calcio, magnesio y potasio de ácido arábico

Funciones: Imparte viscosidad, textura, turbidez y cuerpo a los alimentos, es completamente soluble en agua y no afecta el color, olor o sabor de los alimentos, Produce emulsiones estables con la mayoría de los aceites en un amplio rango de pH.

Aplicaciones: Lácteos, Panificación, Aderezos, Bebidas, Confeitería, Cervecería.

Tabla 6. Especificaciones Sensoriales de Goma Arábica

Parámetro	Especificación
Aspecto	Polvo fino
Color	blanco a crema
Olor	Característico

Fuente: Gomas Naturales S. A. de C. V.

Tabla 7. Especificaciones Fisicoquímicas de Goma Arábica

Parámetro	Especificación
Tamaño de partícula	A través de malla US 100 min. 90%
Humedad máx. 10%
Cenizas totales máx. 4%
Viscosidad	Solución al 25% en agua dispersada a temperatura ambiente
pH	En solución acuosa al 25% 4.5 –5.5
Almidón	Negativo
Taninos	Negativo

Fuente: Gomas Naturales S.A. de C.V.

Vida útil: 2 años, posterior a este tiempo, se recomienda evaluar los parámetros fisicoquímicos del producto, para verificar si se encuentra en condiciones adecuadas para su uso.

Empaque: Empaque interno: bolsa de polietileno, empaque externo bolsa de Kraft blanco (tres capas).

Indica Gum

GOMAS NATURALES, S.A. DE C.V.⁴. Ha creado especialmente para este tipo de productos, sistemas estabilizantes de alta funcionalidad que reúnen las características que el producto necesita.

⁴ Gomas Naturales S.A. de C.V. Amores No.731 Col. Del Valle C. P. 03100 México D. F.

Indica Gum es un producto derivado de la mezcla de hidrocoloides de alto peso molecular, excelente alternativa para sustituir a la goma Xantano. Es un agente de suspensión en salsas y bebidas proporcionando cuerpo y textura a las mismas. Su viscosidad está entre 3000 y 4500cps. Resistente a pH ácido.

SELECCIÓN DE ADITIVOS PARA SUSTITUIR EL ACEITE VEGETAL BROMADO

Sustitutos Seleccionados: Acetato isobutirato de sacarosa (SAIB), Ester Gum, Denz-oil e Indica Gum fueron seleccionados por sus características funcionales y no presentar riesgos para la salud.

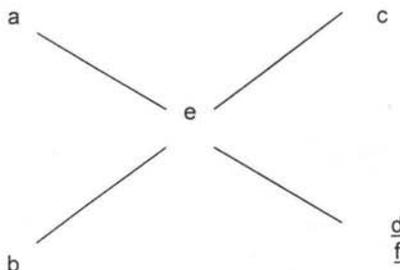
Cuadro 2. Comparativo de los Sustitutos del Aceite Vegetal Bromado

Nombre	Aplicaciones	Nivel de uso	Función
Aceite Vegetal Bromado (BVO)	Bebidas carbonatadas, no carbonatadas, aplicación en la fase oleosa de las emulsiones para bebidas.	15ppm	Agente estabilizante, potenciador de sabor, proporciona turbidez, y es corrector de densidad en bebidas.
Denz-oil	Bebidas carbonatadas, no carbonatadas, aplicación en la fase oleosa de las emulsiones para bebidas.	máximo 300ppm	Agente de balance de densidad, no interviene con las características del proceso, no imparte sabor ni color a la emulsión.
Ester Gum	Emulsiones para bebidas.	máximo 100ppm	Proporciona turbidez en emulsiones, auxiliar en el balance de densidad en la fase oleosa de las emulsiones.
Acetato Isobutirato de Sacarosa (SAIB)	Bebidas no carbonatadas, aplicación en la fase oleosa de las emulsiones para bebidas.	máximo 500ppm	Agente de balance de densidad, no interviene con las características del proceso, no imparte sabor ni color a la emulsión, proporciona estabilidad y turbidez a la emulsión

Indica Gum	En salsas, pastas, bebidas,	0.25 -0.7%	Proporciona cuerpo, textura, viscosidad y resistente a pH bajos
------------	-----------------------------	------------	---

Método para Determinar la Gravedad Específica de los Correctores de Densidad Seleccionados Anteriormente.

Los aditivos actúan como un agente de balance de densidad, éste balance se obtiene a partir del cuadro de Pearson:



Donde:

a = Densidad del aditivo

b = Densidad del sistema. Goma -Aceite (según la proporción de éstos)

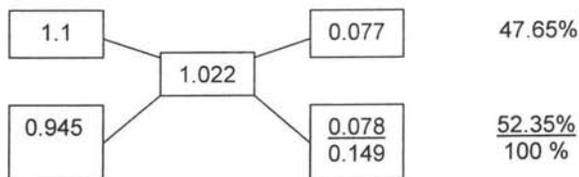
e = Densidad a la que se quiere llegar (Densidad objetiva)

$$c = |e - b|$$

$$d = |a - e|$$

Finalmente obteniendo el porcentaje de c y d en la suma total (f) se calcula el porcentaje (%) del aditivo que va a ser agregado dentro de la fase oleosa.

Un ejemplo Denz-oil ND aplicado al razonamiento se explica de la siguiente manera:



(56) $(47.65\%)/52.35\% = 50.97\text{g}$ de Denz-oil ND (siendo 56g la suma total de los gramos del aceite + goma utilizados en la fase oleosa)

CONSERVADORES

Por su naturaleza general, los alimentos no se pueden resistir a la acción de las enzimas, y la eliminación de este problema es más fácil destruyendo las enzimas o inhibiendo la fuente de estas como son los microorganismos. Existen métodos generalmente aceptados para conservar alimentos, por ejemplo:

- ◆ La esterilización por calor o radiación destruye los microorganismos
- ◆ La refrigeración reduce o detiene la actividad de los microorganismos
- ◆ El secado reduce o detiene la actividad de los microorganismos

Los conservadores químicos reducen o inhiben la acción de los microorganismos, además existen otros métodos de conservación como son: el uso de soluciones acuosas de sal, el uso de vinagre, tratamiento con humo y conservación con soluciones de azúcar, entre otros.

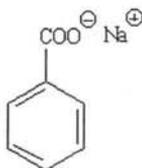
La adición de conservadores químicos a los alimentos no es nueva y ha sido practicada por siglos. El benzoato de sodio es considerado como un conservador seguro usado por años. Desde 1909, la seguridad del benzoato de sodio fue ampliamente verificada en estudios de alimentación humana, dichos estudios fueron realizados por tres organizaciones investigadoras independientes bajo la dirección del departamento de agricultura de los Estados Unidos. Este reporte verificó que cuando se mezclaba benzoato de sodio con alimentos en las cantidades específicas no resultó dañino a la salud en general, ni afectó el valor

del alimento, así que se puede usar sin riesgo en los alimentos a niveles de hasta un 0.1%

Benzoato de Sodio

Descripción:, Polvo blanco, Nombres químicos Benzoato del Sodio, sal del ácido bencenocarboxílico, Fórmula química $C_7H_5NaO_2$, Peso del fórmula 144.11

Fórmula Estructural



Funciones: Es el más efectivo como agente antimicrobiano, es activo contra levaduras, hongos y bacterias, en alimentos y bebidas que naturalmente contienen un pH abajo de 4.5. o que se puede bajar a ese pH con la adición de un acidulante, no se recomienda como conservador en productos con pH más alto que 4.5. Si el pH del alimento esta por debajo de 4.5, puede desarrollarse una nota de sabor picante, este efecto no es deseable y se puede suavizar con la combinación de otro conservador, por ejemplo el sorbato de potasio.

Aplicaciones: Alimentos y bebidas. El porcentaje de uso recomendado para bebidas es máximo el 1%. Las aplicaciones, y porcentaje de uso recomendado del benzoato de sodio en algunos alimentos, se muestran en la siguiente Tabla:

Tabla 8. Aplicaciones y Uso Recomendado de Benzoato de Sodio

ALIMENTO	NIVEL RECOMENDADO (gr/100gr de producto)
Bebidas Carbonatadas	0.03-0.08
Bebidas no Carbonatadas	0.05-0.10
Frutas, jugos de fruta	0.05-0.10

FUENTE: Nutriquim S.A de C.V.

A las bebidas se les adiciona ácido cítrico como acidulante, y benzoato de sodio como conservador, si estos no se disuelven perfectamente individualmente, forman un precipitado blanco de ácido benzoico, el cual no es deseable y es difícil de solubilizar.

Tabla 9. Especificaciones Sensoriales de Benzoato de Sodio

Parámetro	Especificación
Aspecto	Polvo cristalino, escamas o gránulos casi incoloros cristalinos
Color	Blanco
Olor	Sin olor

Fuente: Compendio de Especificaciones para Aditivos Alimentarios

Tabla10. Especificaciones Físicoquímicas de Benzoato de Sodio

Parámetro	Especificación
Pureza, en base seca	99-100% de $C_7H_5NaO_2$
Alcalina (como NaOH)	0.04% máx.
Arsénico (como As)	3ppm
Metales Pesados (como Pb)	10ppm máx.
Humedad	1.5% máx.
Solubilidad	Un gramo en 75ml de alcohol Un gramo en 2ml de agua Un gramo insoluble en éter Un gramo en 50ml de 90% alcohol

Fuente: Nutriquim, S.A. de C.V.

Vida útil: 2 años, posterior a este tiempo, se recomienda evaluar los parámetros fisicoquímicos del producto, para verificar si se encuentra en condiciones adecuadas para su uso.

Empaque: Empaque interno: bolsa de polietileno, empaque externo bolsa de Kraft blanco.

ACIDULANTES

Los ácidos usados en los concentrados para bebidas sirven para impartirles un sabor ácido que neutraliza la dulzura del azúcar y hace resaltar el sabor asociado. Así el sabor característico de una bebida se desarrolla en parte por medio de acidulación apropiada. Los ácidos ayudan a proteger el producto contra el deterioro ya que en bebidas mantiene un pH igual o por de bajo de 4.5. Este pH es efectivo como agente antimicrobiano en presencia de benzoato de sodio.

Todos los ácidos usados en los concentrados y bebidas deben ser de grado comestible o alimenticio, los ácidos más comúnmente usados son: Ácido cítrico, Fosfórico y Tartárico, cada uno de ellos posee propiedades comunes, como ser débiles e inocuos al organismo humano, cuando se usan a las concentraciones recomendadas, asimismo como ser potenciadores de sabor.

El ácido cítrico se ha convertido en el acidulante preferido por la industria de bebidas, y con toda razón, porque como el ácido cítrico no hay otro ácido que en polvo o líquido otorgue propiedades refrescantes y de tan buen sabor y acidez

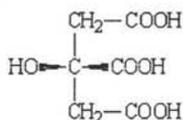
natural a las bebidas. Además de acidular las bebidas y jarabes, puede ser un agente ligeramente reductor y secuestrante, remueve metales extraños que causan turbidez y aceleran la precipitación en bebidas.

Ácido Cítrico

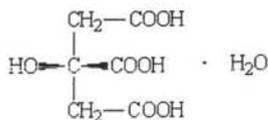
Descripción: Es un componente de las frutas cítricas, se puede producir por la recuperación de fuentes tales como jugo del limón o de piña o fermentación de soluciones de carbohidratos o de otros medios convenientes usando *el candida* spp. o tensiones no-non-toxicogenic *del aspergillus niger*.

Fórmula Química: Anhídrido (C₆H₈O₇), Monohidratada (C₆H₈O₇.H₂O), Nombres Químicos Ácido-2-hidroxi-1,2,3-propanotricarbonxico o Ácido-2-hidroxi-1,2,3-propanotricarbonxico monohidratada

Estructuras Químicas



Anhidro



Monohidratada

Funciones: Acidulante de los alimentos, potencializa los sabores cítricos es completamente soluble en agua y no afecta el color y olor de los alimentos,

Aplicaciones: Bebidas de sabores cítricos, Confitería.

Tabla 11. Especificaciones Sensoriales de Ácido Cítrico

Parámetro	Especificación
Aspecto	Cristales ortorrómbicos
Color	Blanco transparente
Olor	Característico

Fuente: Gomas Naturales S.A de C.V

SABORIZANTE

El sabor es una sensación muy compleja generada cuando un alimento está en la boca y es una de las principales razones para el goce o disfrute de los alimentos.

La definición más reciente describe el sabor desde dos puntos de vista:

1. Como la sensación más compleja, producida por cualquier sustancia en la boca.
2. Como material saborizante que puede ser natural o sintético o una mezcla de ambos, las sustancias naturales incluyen hierbas, aceites esenciales, especias y extractos vegetales, dentro de los aditivos saborizantes sintéticos.

La Food and Drug Administration (FDA) considera a los saborizantes como aditivos alimenticios. Esto significa que los saborizantes para tener la categoría de aditivos deben ser adicionados en pequeñas cantidades y de manera intencional a los alimentos con el propósito de obtener un sabor, mejorarlo, intensificarlo o simplemente de enmascarar un sabor desagradable, además es conveniente señalar que estos no tienen propiedades nutritivas

Existen dos clasificaciones generales de los sabores; la primera se refiere a los sabores atendiendo a su nota y la segunda a las características de sus componentes. Los sabores normalmente usados en la preparación de concentrados para bebidas son:

1. Aceites esenciales los cuales son sustancias aceitosas obtenidas de las plantas por diversos métodos, y tienen la característica de poseer el olor y sabor de las plantas de donde fueron obtenidas.
2. Esencias, que son aquellas diluciones de sabores concentrados en alcohol etílico, propilenglicol u otro diluyente.
3. Bases, bajo esta denominación se agrupan los sabores constituidos por mezclas de aromáticos y que contienen como máximo 10% de diluyente, que puede ser alcohol etílico, propilenglicol, etc., por lo que podemos decir, que las bases son de alta concentración.

Aceite Esencial de Naranja

Sinónimo: *Oleum Aurantii*

Se obtiene por expresión del epicarpio fresco del fruto maduro del *citrus Aurantium* por centrifugación

Descripción: líquido cuya coloración varía del Amarillo al anaranjado intenso

Tabla 12. Especificaciones Sensoriales de Aceite Esencial de Naranja

Parámetro	Especificación
Aspecto	Líquido
Color	Amarillo a Anaranjado
Olor y Sabor	Característico de la corteza fresca de naranja

Fuente: Index Merck

Tabla 13. Especificaciones Fisicoquímicas de Aceite Esencial de Naranja

Parámetro	Especificación
Densidad	0.842 a 0.848
Metales Pesados	40ppm máx.
Índice de refracción	1.472 a 1.476
Solubilidad	Acido acético glacial Miscible en alcohol absoluto Con disulfuro de carbono Con aceites fijos

Fuente: Index Merck

Empaque: En recipientes herméticamente cerrados protegidos de la luz y en un lugar fresco

COLORANTES

Indiscutiblemente el color es un constituyente importante en los alimentos, y este es probablemente una de las características percibidas por los sentidos y muy importante para los consumidores de hoy en día, son quienes identifican rápidamente y deciden la aceptación de un alimento. Casi todos los alimentos son identificados por la fuente de su procedencia y son asociados por el color aceptado por los consumidores por razones sociales geográficas, étnicas y de desarrollo histórico de la humanidad.

Algunos estudios han demostrado que los alimentos no son degustados, cuando éstos no están coloreados adecuadamente, esto es tan marcado que el color influye más que el sabor en la impresión sobre los consumidores.

Los colores empleados en bebidas, contribuyen a que el producto sea atractivo; ya que el color está asociado con el sabor, valor nutricional y calidad del producto terminado. Tanto los colores FD&C (Food, Drug and Cosmetics) como los naturales pueden decolorarse o alterar su tono; la luz los metales, el ácido ascórbico y los microorganismos, pueden afectarlos y para evitar esto, es conveniente utilizar la cantidad y el grado de colorante apropiados. Además deben de mantenerse las bebidas bajo condiciones de almacenamiento y distribución adecuadas para evitar que sufran decoloración o precipitación.

Los principales colores utilizados en bebidas son los sintéticos y generalmente los encontramos como compuestos hidrosolubles, en forma de polvo. Existen características que definen claramente a cada uno de ellos; sus usos y regulaciones varían de acuerdo al país o región, ya que existen colorantes cuyo uso no es permitido en México pero en Europa y en algunos países de Sudamérica si está permitido. En la siguiente tabla se muestran los colorantes permitidos.

Tabla 14. Colorantes Sintéticos Usados en Alimentos

COLOR	MÉXICO S.S.	U.S.A. F.D.A.	CANADÁ F.D.K.	EUROPA C.E.E.
Azul No. 1	Permitido	Permitido	Permitido	Permitido
Rojo No. 2	Permitido	No Permitido	Permitido	Permitido*
Azul No. 2	Permitido	Permitido	Permitido	Permitido
Rojo No. 5	No Permitido	No Permitido	No Permitido	Permitido
Rojo No. 40	Permitido	Permitido	Permitido	No Permitido
Rojo No. 4	No Permitido	No Permitido	Permitido ²	No Permitido
Amarillo No. 5	Permitido	Permitido	Permitido	Permitido
Amarillo No. 6	Permitido	Permitido	Permitido	Permitido
Rojo No. 3	Permitido	Permitido ³	Permitido	Permitido
Rojo No. 6	Permitido	No Permitido ³	No Permitido	Permitido

* Restringido, mencionar en la etiqueta

² Restringido, uso externo

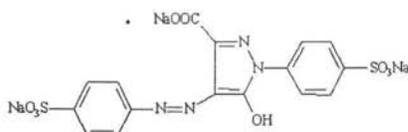
³ Restringido, en estudio

Tabla 15. Algunas Características de los Colores Generalmente Usados en Bebidas

PARÁMETROS	AZUL No1	AZUL No2	ROJO No3	ROJO No40	AMARILLO No 5	AMARILLO No 6
Nombre Común	Azul brillante FCF	Índigotina o indigo Carmín	Eritrosina	Rojo NT o Rojo Altura	Tartazina	Amarillo Ocaso
Nombre color Index	42090	73015	45430	16035	19140	15985
Tono en Solución	Azul brillante	Azul	Rosa Amarilloso	Rojo Amarillo	Amarillo Limón	Naranja
ESTABILIDAD						
Luz	Regular	Muy pobre	Pobre	Buena	Muy buena	Buena
Oxidación	Pobre	Pobre	Regular	Regular a pobre	Regular	Regular
Calor	Muy buena	Muy buena	Muy buena	Muy buena	Muy buena	Muy buena
Álcalis	Buena	Pobre	Regular	Buena	Buena	Regular
Ácidos Orgánicos	Muy buena	Regular	Pobre	Excelente	Excelente	Excelente
Acido Benzoico	Muy buena	Pobre	Pobre	Buena	Excelente	Muy buena
Dióxido de Azufre	Muy buena	Pobre	Buena	Buena	Excelente	Regular

FUENTE: NUTRIQUIM, S.A. DE C.V. SIX PRIMARY FD&C COLORS WITH HILTON DAVIS AVANTAGES

Amarillo No5 ADYC (Tartrazina): Polvo anaranjado que se usa para colores de tipo limón, que mezclado con el Azul Brillante FCF (Brilliant Blue FCF) produce el color de lima.



Amarillo No 6 ADYC Amarillo Ocaso FCF (Subset Yellow FCF): Polvo anaranjado que se usa en bebidas de naranja

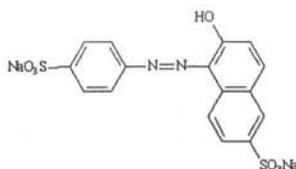


Tabla16. Propiedades Fisicoquímicas de los Colorantes

FD&C COLOR		AMARILLO NO5	AMARILLO NO 6
Nombre Común		Tartrazina	Subset Yellow FCF
Num. de Color Index, Num. CEE		19140, E102	15085, E110
Familia Química		Pyrazolona	Monoazo
Tono		Amarillo Limón	Amarillo Rojizo
Concentración de color		FDA Req. 87% mln Sensient Típico 89% mln	FDA Req. 87% mln Sensient Típico 89% mln
Estabilidad a:	Luz*	5	4
	Oxidación*	3	3
	Calor*	5	5
	pH 3	Estable	Estable
	pH 7	Estable	Estable
Solubilidad a 25° C en gr. por 100ml	pH 9	Estable	Estable
	Agua Destilada	20	19
	Glicerina	18	20
	Propilen Glicol	7	2.2
	Etanol	Escasamente	-
Nombre Químico		Sal disodica del 4,5-dihidro-5-oxo-(1-4-sulfofenil)-4-[(4-sulfofenil) a-zo]- 1H-pirazol-3-carboxílico	Sal disodica del Acico 6-hydroxi-5-[(4-sulfofenil) azo]-2-naftalensulfónico
Formula Química		Na ₃ O ₉ S ₂ de C ₁₆ H ₉ N ₄	Na ₂ O ₇ S ₂ de C ₁₆ H ₁₀ N ₂
Peso de la formula		534.37	452.38

* Estabilidad a la luz, oxidación y color.- Los números proporcionados son solamente una guía y depende en gran proporción de la aplicación. El número 5 representa la más alta estabilidad y el número 1 representa el grado de estabilidad más bajo

2.5 EMULSIFICANTES

Los emulsificantes son aquellos aditivos que se utilizan en los sistemas alimentarios con las diversas funciones de emulsificar, estabilizar, dispersar, mejorar cuerpo, controla viscosidad, mejora solubilidad, antioxidante, estabilizante de sabores y otras más.

La presencia de sustancias conocidas como estabilizantes, agentes emulsionantes o emulsificantes permite la preparación de emulsiones estables con una mayor proporción de fase dispersa. (2)

Los estabilizantes se emplean para mantener la dispersión de los sólidos de frutas, también aumentan la viscosidad y mejoran el cuerpo de la bebida. Facilitan la formación inicial de una dispersión de gotas de aceite en la fase acuosa y para mantenerla una vez formada. El pequeño tamaño de las gotas (1–2 μm) de dispersión hace que el sistema tienda a la inestabilidad ya que la energía potencial aumenta con la energía interfacial total, la cual es la fuerza motora de la coalescencia.

Los emulsionantes se utilizan para reducir la energía interfacial total y actúan al absorberse de una manera orientada en las interfases aceite-agua; para que una molécula actúe como emulsionante debe poseer tanto regiones hidrofóbicas como hidrofílicas. Existen tres mecanismos que estabilizan una emulsión: electrostático, estérico y absorción de partículas. (2)

Los emulsificantes son moléculas que actúan en la superficie o interfase del sistema formando una membrana protectora la cual previene la separación de fases. La mayoría de los emulsificantes son moléculas anfifílicas (tienen regiones polares y no polares).

Puede haber emulsificantes naturales y artificiales. Los emulsificantes naturales son proteínas y fosfolípidos. En un fosfolípido la molécula de fosfato terminal es soluble en agua, y el lípido soluble en grasa. Los emulsionantes artificiales son productos sintetizados químicamente o bien pueden provenir de productos naturales purificados o tratados químicamente para tener una función específica.

Los emulsificantes más comunes usados en la industria de los alimentos son los no iónicos (ejemplo: glicerol, poliglicerol, ácidos grasos de propilenglicol, monogliceroles, ácidos grasos de ésteres de sacarosa, ácidos grasos de sorbitan), los cuales no forman iones en solución acuosa pero la molécula completa es responsable para el efecto de la interfase activa y a su vez se clasifican en:

- A) Dispersables: se dispersan cuando se agitan en agua.
- B) No dispersables: No se pueden dispersar en agua o se dispersan muy poco.
- C) Hidrosolubles: Solubles en agua, la solución formada permanece clara u opalescente.

Los emulsificantes se agregan a la solución para formar una variedad de estructuras termodinámicamente estables conocidas como asociación de coloides

(ejemplo: micelas, vesículas y micelas invertidas). Estas estructuras son adoptadas por que minimizan el contacto desfavorable entre los grupos no polares de las moléculas de los emulsificantes y el agua. El tipo de asociación del coloide formado por un emulsificante depende principalmente de la polaridad y la geometría molecular. Las asociaciones de los coloides se mantienen unidas por interacciones físicas que son relativamente débiles comparadas con su energía térmica y por lo tanto tienen estructuras altamente flexibles y dinámicas. Estas estructuras son sensibles a cambios en condiciones ambientales tales como temperatura, pH, fuerzas iónicas y tipos de iones.

Las emulsiones se emplean para proporcionar turbidez (emulsiones neutras) y o aroma (emulsiones aromatizantes). La fase lipídica suele estar compuesta por un aceite esencial de cítrico que contiene un agente enturbiantes liposoluble mientras que la fase acuosa consiste en una solución de goma o de hidrocoloide de propiedades semejantes. Mediante un homogenizador de dos etapas se forma una emulsión de aceite en agua teniendo en cuenta que la estabilidad y la turbidez óptimas se consiguen obteniendo gotitas de 1 a 3 μm de diámetro (18). El agente de turbidez debe contribuir a la opacidad sin afectar la estabilidad causando un descremado o una separación de fases y no debe tener efectos sobre el color o los sabores. (2)

PROPIEDADES FUNCIONALES DE LOS EMULSIFICANTES

Solubilización: Esta propiedad de los surfactantes se refiere a su capacidad de dispersión de sustancias insolubles en agua, en un medio acuoso sin que presente turbidez. La aplicación más importante se refiere a la solubilización de aceites esenciales en medios acuosos. El proceso de solubilización se lleva a cabo mediante la formación de micelas de tensoactivos o surfactantes, en las cuales quedan englobados el material insoluble.

Actividad de la interfase y estabilización de las micelas. La capacidad de formar emulsiones estables, o sea mantener unidos íntimamente a dos líquidos inmiscibles, es el rasgo distintivo de los emulsificantes, es lo que los define como tales, en un sistema el emulsificante es usado con el propósito de que forme una emulsión, éste dispersará en forma de micelas muy diminutivas a uno de los líquidos en el otro. Las emulsiones pueden ser desde transparentes hasta lechosas o muy turbias, dependiendo del tamaño de partícula de la fase interna.

(18)

Tabla 17. Apariencia de las Emulsiones en Relación a su Tamaño de Partícula

PARTÍCULA (micras)	APARIENCIA	ESTABILIDAD
0.05 -1	Transparente	Extremadamente estable
1- 2	Translúcida	Excelente
3	Blanca-azulosa	Buena

Los emulsionantes mostrados en esta tabla son definidos como aditivos alimentarios aprobados por FDA y algunos clasificados GRAS (GENERALLY RECOGNISE AS SAFE) Tabla 18.

NO. E	NOMBRE DEL ADITIVO ALIMENTARIO	FUNCIÓN (ES) TÉCNICAS
E405	Alginato de propilenglicol	Espesante, emulsionante, antiespumante
E413	Goma de tragacanto	Espesante, estabilizador ,emulsionante
E414	Goma arábica(Goma de acacia)	Espesante, estabilizador, emulsionante
E430	Polioxietilén-(8), estearato de	Emulsionante
E431	Polioxietilén-(40), estearato de	Emulsionante
E432	Polioxietilén-(20)-sorbitán, monolaurato de	Emulsionante, dispersante
E433	Polioxietilén-(20)-sorbitán, monooleato de	Emulsionante, dispersante
E434	Polioxietilén-(20)-sorbitán, monopalmitato de	Emulsionante, dispersante
E435	Polioxietilén-(20)-sorbitán, monoestearato de	Emulsionante, dispersante
E436	Polioxietilén-(20)-sorbitán, tristearato de	Emulsionante, dispersante
E442	Sales amónicas del ácido fosfatídico	Emulsionante
E443	Aceite vegetal bromado	Emulsionante, estabilizador
E444	Acetato isobutirato de sacarosa	Emulsionante, estabilizador
E445	Ester de glicerol de la resina de madera i) Abietato de glicerol ii) Goma éster	Emulsionante, estabilizador
E450	Difosfatos i) Difosfato disódico ii) Difosfato trisódico iii) Difosfato tetrasódico iv) Difosfato dipotásico v) Difosfato tetrapotásico vi) Difosfato dicálcico vii) Difosfato diácido cálcico viii) Difosfato dimagnésico	Emulsionante, estabilizador, regulador de la acidez, secuestrante, agente de retención del agua
E452	Polifosfatos i) Polifosfato de sodio ii) Polifosfato de potasio iii) Polifosfato de sodio y calcio iv) Polifosfatos de calcio	Emulsionante, estabilizador, secuestrante, texturizador agente de retención de la humedad

	v) Polifosfato de amonio	
E460	Celulosa i) Celulosa microcristalina ii) Celulosa en polvo	Emulsionante, antiaglutinante, texturizador, dispersante
E461	Metilcelulosa	Espesante, emulsionante, estabilizador
E463	Hidroxipropilcelulosa	Espesante, emulsionante, estabilizador
E464	Hidroxipropilmetilcelulosa	Espesante, emulsionante, estabilizador
E465	Metil-etil-celulosa	Espesante, emulsionante, estabilizador, espumante
E467	Etilhidroxietilcelulosa	Emulsionante, estabilizador, espumante
E470	Sales de ácidos grasos (con base de al, Ca, Na, Mg, K y NH ₄)	Emulsionante, estabilizador, antiaglutinante
E471	Monoglicéridos y diglicéridos	Emulsionante, estabilizador
E472a	Esteres de ácidos acéticos y grasos de glicerol	Emulsionante, estabilizador, secuestrante
E472b	Esteres de ácidos lácticos y grasos de glicerol	Emulsionante, estabilizador, secuestrante
E472c	Esteres cítricos y de ácidos grasos de glicerol	Emulsionante, estabilizador, secuestrante
E472d	Esteres del ácido tartárico de mono y diglicéridos de ácidos grasos	Emulsionante, estabilizador, secuestrante
E472e	Esteres diacetiltartáricos y de ácidos grasos de glicerol	Emulsionante, estabilizador, secuestrante
E472f	Mezcla de ésteres acetiltartáricos, y de ácidos grasos de glicerol	Emulsionante, estabilizador, secuestrante
E472g	Monoglicéridos succinilados	Emulsionante, estabilizador, secuestrante
E473	Esteres de sacarosa de ácidos grasos	Emulsionante
E474	Sacaroglicéridos	Emulsionante
E475	Esteres de ácidos grasos de poliglicerol	Emulsionante
E476	Esteres de poliglicerol del ácido ricinoléico interesterificado de poliglicerol	Emulsionante
E477	Esteres de propilenglicol de ácidos grasos	Emulsionante
E478	Esteres de ácidos grasos lactilados de glicerol y de propilenglicol	Emulsionante
E479	Aceite de soja oxidado por procedimiento térmico con mono y diglicéridos de ácidos grasos	Emulsionante
E480	Sulfosuccinato dioctilsódico	Emulsionante, humectante
E481	Estearilo de sodio, lactilato de	Emulsionante, estabilizador
E482	Estearilo de calcio, lactilato de	Emulsionante, estabilizador

E484	Citrato de estearilo	Emulsionante, secuestrante
E485	Estearilo de sodio, fumarato de	Emulsionante
E486	Estearilo de calcio, fumarato de	Emulsionante
E487	Laurilsulfato de sodio	Emulsionante
E491	Monoestearato de sorbitán	Emulsionante
E492	Triestearato de sorbitán	Emulsionante
E493	Monolaurato de sorbitán	Emulsionante
E494	Monoleato de sorbitán	Emulsionante
E495	Monopalmitato de sorbitán	Emulsionante
E496	Trioleato de sorbitán	Estabilizante, emulsionante

*CODEX ALIMENTARIO

2.6 ESTATUS LEGAL DE LOS EMULSIFICANTES

La FDA controla los niveles de uso, pero cuando un emulsificante es GRAS entonces no hay límite de uso.

Los emulsificantes interactúan con las grasas, colesterol, vitaminas en el torrente sanguíneo del cuerpo humano, por lo que podrían llegar a tener efectos hemolíticos.

Tabla 19. Estatus Legal de los Emulsificantes

NOMBRE GENERICO	U.S.A (CF.R)	EUROPA (E.C)	FAO/WHO	ADI	MÉXICO
Mono y diglicéridos monoesteratos de glicerilo	184.1505 184.1324	E471	8.400	No especificado	Considerados aditivos alimentarios por reglamento de control sanitario de productos y servicios. D.O.9/Ago/99 Título Vigésimo tercero Artículo 200-208.
Mono y diglicéridos	184.1505				
Monoglicéridos destilados	184.1505				
Monoglicéridos destilados acetilados	172.828	E472a	8.401		
Esteres de propilenglicol destilados de ácidos grasos	172.856	E477	8.431	0-25	
Esteres de poliglicerol de	172.854	E475	8.416		

ácidos grasos					Los límites de uso dependen de la aplicación. Art.202
Esteres de sorbitan de ácidos grasos	S-60: 172.842	S-60: E491 O-80: E494	S-60:8.436 O-80:8.439		
Lecitina	184.1400	E322	8.376	No especificado	

U.S.A: (CFR) = Code of Federal Regulations.

FAO/WHO: Code of FAO/WHO. Organización Mundial de la Alimentación y Agricultura. WHO: World s Health organization. Organización Mundial de la Salud

E.C: EEC Number. Comunidad Europea.

ADI: Consumo de ingesta Aceptable (mg/kg P. c/día)

Los emulsificantes utilizados en la elaboración de bebidas la FDA los considera tanto ingredientes como aditivos alimentarios. La legislación Mexicana los considera Aditivos Alimentarios de acuerdo a la Secretaria de Salud en el Reglamento de Control Sanitario de productos y servicios. Título Vigésimo Tercero. Artículos 200 al 208. Los límites de aplicación BPF (Buenas Prácticas de Manufactura) o de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana del producto que se aplique. La Comunidad Económica Europea los considera aditivos alimentarios. Límites de aplicación de acuerdo a las BPF (Buenas Practicas de Fabricación). (2)

3. DISEÑO EXPERIMENTAL

Este trabajo consta de cuatro partes, en la primera se propuso, determinar la presencia de Aceite Vegetal Bromado en bebidas tipo naranjadas, debido a que es un corrector de densidad barato y accesible en comparación con otros que existen en el mercado. La determinación se realizó mediante un método colorimétrico, y puesto que es cualitativo se decidió establecer una escala experimental para realizar una determinación cuantitativa del BVO. Para ello se elaboraron soluciones patrón en donde se varió la concentración de BVO, con estas soluciones patrón posteriormente se prepararon bebidas tipo naranjadas a las cuales se les extrajo el bromo, el cual se quedaría impregnado en el indicador (fluoresceína) obteniendo un vire de amarillo a rosa, con esto se pretendía establecer una escala de concentración colorimétrica y con esta se podría cuantificar el posible BVO presente en cinco naranjadas, las mas aceptadas comercialmente (SAFARI, AMÍ, BEBERÉ, LALA y BONAFINA), con el fin de verificar si la concentración no excede el límite máximo de 15 ppm establecido en la Norma Oficial Mexicana.

En el método colorimétrico cualitativo descrito en la literatura (11) se encontró que hay factores establecidos que son erróneos y que se tuvieron que estandarizar para realizar correctamente la determinación; los parámetros corregidos fueron: la concentración de fluoresceína que cambió de 0.1% a 0.2%, el pH de la solución de reacción se bajo de 4 a pH 2 ya que es en este pH en donde se lleva acabo la formación del complejo eosina (tetrabromuro de fluoroseina) el cual es el

responsable del vire de color y el tiempo total de la reacción se modificó de 3 minutos a 8 hr. A pesar de haber controlado todos estos factores no fue posible establecer una escala al no encontrar una diferencia notoria en el color; por lo tanto no se cuantificó la cantidad utilizada de BVO en estas bebidas pero sí fue posible demostrar que actualmente se utiliza en las bebidas de SAFARI, BONAFINA y BEBERÉ.

En la segunda parte se buscaron aditivos o mezcla de estos, que no presenten riesgo para la salud y así proponer tres formulaciones que sustituyan o complementen las propiedades funcionales del BVO, entre los cuales se seleccionaron el Acetatoisobutirato de Sacarosa (SAIB), Denz-oil (esterificación de sacarosa natural con ácido acético e isobutírico), Ester Gum e Indica Gum; pero siempre conservando los aspectos organosensoriales requeridos para este tipo de producto para ello se realizaron pruebas de sabor con mezcla de sabores Firmenich con notas de cáscara de naranja y naranja dulce, también se realizaron pruebas color con soluciones de Amarillo No.5 y Amarillo No.6 asemejándose a las características más aceptadas comercialmente de sabor y color.

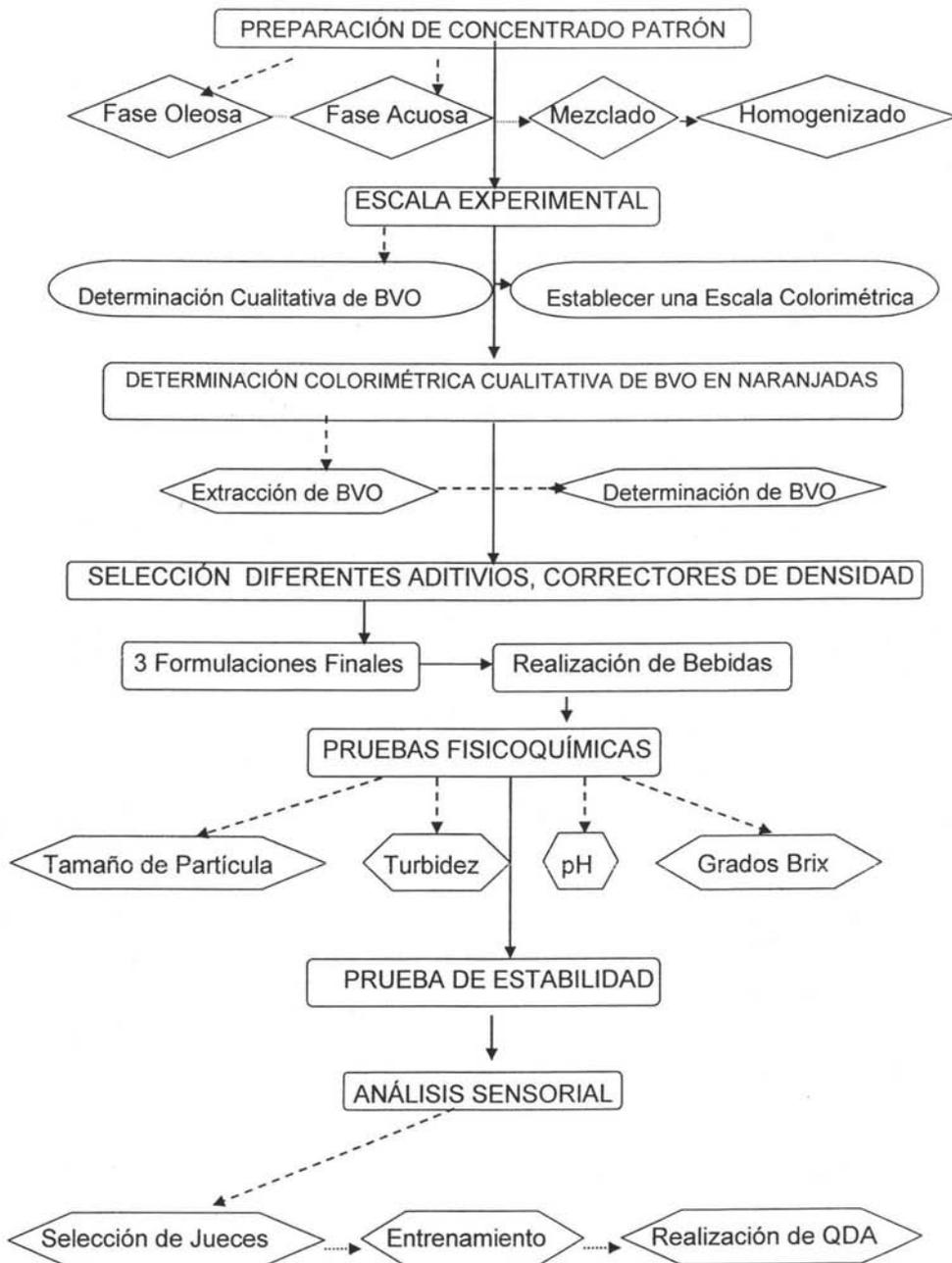
En la tercera parte se realizaron análisis fisicoquímicos como son: Tamaño de Partícula, Acidez, Grados Brix, Turbidez y Prueba de estabilidad esta última para conocer el tiempo medio ($t_{1/2}$) de vida de anaquel de las bebidas.

Una vez establecidos estos parámetros, por último en la cuarta etapa se realizó una evaluación sensorial para determinar el efecto de los aditivos utilizados en los

atributos sensoriales de estas bebidas, para ello se empleó la prueba de Análisis Descriptivo Cuantitativo (Quantitative Descriptive Analysis, QDA), con ella se identifica y cuantifica la diferencia de las características sensoriales en las diferentes muestras a evaluar.

Se evaluaron los atributos de apariencia y sabor en las muestras, para determinar qué muestras son diferentes entre sí en cada atributo evaluado, y para ello se llevó a cabo un análisis de diferencias mínimas significativas

3.1 DIAGRAMA DE TRABAJO



3.2 PARTE EXPERIMENTAL (MATERIAL Y METODOLOGÍA)

3.2.1 Preparación de Concentrado Patrón de BVO

Metodología

1. Preparación de concentrados patrón de BVO con respecto a la fase acuosa 10ppm (0.12 partes BVO), 15ppm (0.18 partes BVO), 30ppm (0.37 partes BVO), 80ppm (0.99 partes BVO).

- a) Realizar una premezcla de cada fase por separado, mezclando los siguientes ingredientes por orden de aparición de cada fase, hasta disolver completamente.

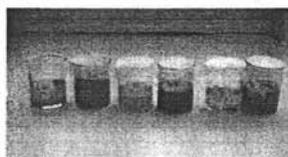
FORMULACIÓN BASE

Fase Oleosa

- ✓ Ester Gum: 0.18 partes con respecto a la fase acuosa
- ✓ Aceite Vegetal Bromado (BVO): 0.18 partes con respecto a la fase acuosa
- ✓ Aceite Esencial: 0.6 partes con respecto a la fase acuosa

Fase Acuosa

- ✓ Benzoato de Sodio: 0.01 partes con respecto a la fase oleosa
- ✓ Ácido Cítrico: 0.02 partes con respecto a la fase oleosa
- ✓ Goma Arábiga: 0.5 partes con respecto a la fase oleosa
- ✓ Agua: 3.45 partes con respecto a la fase oleosa



Fases acuosas – Fases Oleosas

- b) Mezclar manualmente la Fase Oleosa con la Fase Acuosa de cada uno de los concentrados patrón para formar la emulsión
- c) Por duplicado homogenizar la emulsión de cada uno de los concentrados patrones mediante un homogenizador de pistón manual para obtener un tamaño de partícula uniforme en la emulsión.
- d) Realizar una observación al microscopio después de homogenizar para verificar el tamaño de glóbulo que debe de ser entre 1 a 3 micras de no ser así, hay que volver a homogenizar. Se toma una gota de emulsión y se pone en un porta objetos; después se cubre con un porta objetos y se observa al microscopio con el lente 4x.
- e) Preparación de las bebidas finales (250ml) con los concentrados patrones elaborados anteriormente.

3.2.2 Determinación del Aceite Vegetal Bromado (BVO)

Prueba Colorimétrica Cualitativa para detectar el BVO en las Bebidas Patrón y Comerciales (11)

Metodología

- a) Extracción de BVO de bebidas refrescantes. – En un embudo de separación se colocan 200ml de la bebida refrescante (que contiene sobre 2mg BVO) se Extrae con dos porciones de 75 ml de éter dietílico, se Combinan los extractos orgánicos, lavar con 25 ml de agua, se separan las fases y las fases orgánicas se secan con sulfato de sodio anhidro.
- b) Detección de BVO.- colocar 5 ml del concentrado extracto de éter en un Matraz Erlenmeyer, agregar de 25-30mg de polvo de zinc y diluir con 5ml de ácido acético. Calentar durante 5 minutos en Baño María, enfriar y filtrar por gravedad la solución .Lavar el papel filtro con 2-3 ml de ácido acético diluido cuidando que la tira de papel no toque el líquido del matraz, acidular la solución con 0.5ml de ácido nítrico concentrado (pH=2), agregar 25-30mg de PbO₂ e inmediatamente después poner la tira de papel con fluoresceína al 0.2% en el matraz con cuidado de no tocar el líquido en el matraz, observar el vire del color amarillo a rosa en un tiempo de 8 a 10 horas si es así el BVO está presente en la muestra.

NOTA: Método modificado, estableciendo los parámetros encontrados experimentalmente.

Tabla 20. Parámetros Encontrados Experimentalmente

Parámetro	Reportado en Literatura	Establecidos Experimentalmente
Concentración de Fluoresceína	0.1%	0.2%
pH	4	2
Tiempo de Reacción	3 minutos	8-10 horas

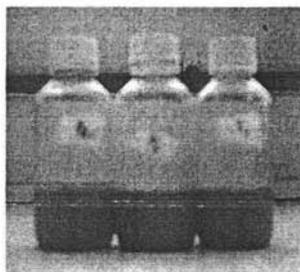
3.2.3 Propuestas de las Formulaciones de los Diferentes Aditivos Seleccionados

Formulación1: Se utilizara la cantidad establecida de Ester Gum (0.18 partes con respecto a la fase acuosa), como en la formula base, el contenido de BVO será de 15ppm como lo indica la norma (0.18 partes con respecto a la fase acuosa), y se complementa con los sustitutos Denz-oil ó SAIB respectivamente.

Formulación2: En esta formulación, se sustituye completamente el Aceite Vegetal Bromado, se aumenta la cantidad de Ester Gum (0.36 partes con respecto a la fase acuosa) y se complementa con SAIB ó Denz-oil respectivamente.

Formulación3. En esta formulación, se sustituye completamente el Aceite Vegetal Bromado y Ester Gum por SAIB ó Denz-oil respectivamente.

Nota: A cada formulación en su bebida terminada se le adicionará Indica Gum.



Formulación 1. Formulación 2. Formulación 3

COLOR

El desarrollo de color para un concentrado esta íntimamente ligado al sabor que se desea obtener, ya que con esto, los consumidores asocian más rápido el sabor de una bebida.

Para el desarrollo de un color que será agregado a un sabor de naranja, se realizaron varias pruebas para obtener colores anaranjados, los cuales le darán al sabor una apariencia mas a naranja, esto se logra con la mezcla de colores amarillos.

Metodología

Se prepara una solución de Amarillo No.5 y Amarillo No.6 al 0.1% y realizar, varias combinaciones entre ambas para seleccionar la coloración anaranjada deseada para la bebida.

Con estos datos experimentales se puede calcular la cantidad de color en el concentrado final. Estos valores fueron aceptados por el panel de jueces y esta cantidad será agregada en el momento en el que se prepara la bebida final.



Solución de Colorantes y Solución de Saborizantes

SABOR

El desarrollo de sabor para un concentrado esta íntimamente ligado al color que se desea obtener, ya que con esto, los consumidores asocian más rápido el sabor de una bebida.

Se realizaron varias pruebas las cuales le darán el sabor a naranja a la bebida, esto se logra con la mezcla de sabores Firmenich con notas de cáscara de naranja y naranja dulce

Metodología

Preparar una solución de sabores con notas de cáscara de naranja y naranja dulce al 1% en Etanol grado alimentario y realizar, varias combinaciones entre ambas para seleccionar el sabor deseado para la bebida.

Con estos datos experimentales se puede calcular la dosificación del sabor en el concentrado final. Los valores fueron aceptados por el panel de jueces y la cantidad será agregada en el momento en el que se prepara la bebida final.

3.2.4 Métodos para Evaluación de Emulsiones

OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO

Una vez preparadas las emulsiones, se observa al microscopio para verificar que sea homogéneas para verificar el tamaño de glóbulo que debe ser entre 1 a 3 micras de no ser así, hay que volver a homogenizar.

Metodología

Se toma una gota de emulsión y se pone en un porta objetos; después se cubre con un cubre objetos y se observa al microscopio con el lente 4X microscopio a usar: Microscopio Zeizz (West Germany) 1.25 X, de Industrias Carl Zeizz de México, S.A. de C.V.

TAMAÑO DE PARTICULA

Esta determinación es muy importante ya que para que una emulsión sea estable y el producto terminado (bebida tipo naranjada) debe de tener un tamaño de partícula menor de 2 micras se realizara esta determinación por triplicado. (18)

Metodología

Esta determinación se realiza por triplicado; el método a seguir, es el de calibración del micrómetro ocular, el cual es un pequeño disco redondo de vidrio grabado con una escala fija que consiste usualmente en 50 líneas paralelas. Cada división del micrómetro ocular representa diferentes medidas, según el poder de resolución del juego de objetivos utilizados en un microscopio compuesto. Por lo tanto, para cada juego de oculares y objetivos utilizados, la escala con divisiones de 0.1 y 0.01mm. Se retira el ocular del microscopio, se desenrosca la lente superior y se inserta la oblea del micrómetro de modo que se apoye el anillo del diafragma dentro del ocular. El grabado se coloca hacia abajo, se inserta el ocular. Después de esto, se coloca el micrómetro de platina bajo el objetivo del microscopio que sea de calibrar. Se enfoca la escala del micrómetro de platina y se ajusta de modo que la línea "0" de la escala del micrómetro de platina coincida con la de el ocular, enseguida se observan las escalas y se localizan el par de líneas que coincidan exactamente. A partir de esto se hacen los cálculos.

3.2.5 Métodos De Evaluación Bebidas Finales

DETERMINACIÓN DE °BRIX

FUNDAMENTO: Los grados Brix se definen como la cantidad de sólidos disueltos en una solución. Y más específicamente son los gramos de sacarosa por cada 100ml de solución.

Metodología

Calibrar con una gota de agua destilada, posteriormente colocar una gota de la bebida en el refractómetro y observar el valor en la escala.

DETERMINACIÓN DE pH

FUNDAMENTO: Es una medida de basicidad o acidez de una solución acuosa. Se define como el logaritmo negativo de la concentración de iones hidrogeno

Metodología

Conectar el potenciómetro y esperar por lo menos 15 min., calibrar a temperatura ambiente, vaciar la muestra en un vaso de precipitado, introducir el electrodo del potenciómetro previamente enjuagado con agua destilada y secado con el papel absorbente.

TURBIDEZ

La medición de turbidez, esta relacionada con el aspecto físico del producto terminado, lo cual es sumamente importante para que sea aceptado por el

consumidor. El producto terminado debe tener un aspecto nebuloso. Los valores adecuados van de 0.5000 a 1.2000, haciendo la determinación a una longitud de onda de 660nm en un espectrofotómetro (UV/VIS). (21)

Metodología

Se pesa una muestra de 0.5g de concentrado en balanza analítica y se afora a 500 ml con agua destilada, luego se filtra parte de esta solución al vacío y con un filtro de 0.5 μ para utilizarlo como blanco. Se lee absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 660nm.

ESTABILIDAD

Esta determinación se realiza una vez elaboradas las bebidas a las cuales se deja sin mover durante 45 días, haciendo observaciones periódicas para la identificación de anillo, formación de sedimentación, pérdida de turbidez y materia extraña en los casos que se pudiera presentar.

3.2.6 EVALUACIÓN SENSORIAL

La evaluación sensorial se realiza para identificar y cuantificar las diferentes características sensoriales de apariencia y sabor de las bebidas, estas características pueden presentar cambios con la modificación de los aditivos dentro de las formulaciones.

El método más adecuado para evaluar los atributos de apariencia y sabor es por medio del Análisis Descriptivo Cuantitativo (Quantitative Descriptive Analysis), QDA

Esta prueba se apoya en análisis estadísticos, por ejemplo en los análisis de varianza y de regresión, para cuantificar variaciones, determinar diferencias significativas, o simplemente se representa de manera gráfica por ejemplo una gráfica de coordenadas polares para cada atributo.

En este caso se utilizará un análisis de varianza para cada atributo, el cual está constituida por varias pruebas (por ejemplo promedio, varianza y desviación estándar), de una gráfica Box and Whisker Plot que demuestra la existencia de valores anómalos u "out liers" de cada atributo para las tres diferentes muestras evaluadas y de la F-prueba. Esta última se apoya en la tabla de ANOVA la cual demostrará si hay algunas diferencias significativas entre los valores medios a través del F-cociente y el valor -P y si este último es mayor que o igual a 0.05, existirá una diferencia estadísticamente significativa en el atributo medio de las muestras con un nivel de confianza de 95.0%. Dado que el análisis de varianza solo determina si existe diferencia significativa en las muestras esta no determina entre cual de ellas existe la diferencia. Para determinar qué muestras son diferentes entre sí en ese atributo evaluado, se llevará a cabo el análisis de diferencias mínimas significativas (LSD), haciendo una comparación múltiple entre pares de muestras, indicando cuál o cuáles muestras son estadísticamente diferentes.

Análisis Descriptivo Cuantitativo (QDA)

- 1) Selección de un panel de jueces de el Departamento de Análisis Sensorial de la Facultad de Química a cargo de la Dra. Patricia Severiano y voluntarios con conocimientos en el área.
- 2) Realizar la prueba de gustos básicos con cuatro soluciones D=sacarosa 0.6%, A=ácido cítrico 0.04%, M=amargo cafeína 0.04%, S=NaCl 0.15%
- 3) Del total de jueces evaluados seleccionar a diez para su entrenamiento en la prueba QDA.
- 4) Primera sesión: generación de descriptores para los atributos apariencia y sabor.
- 5) Segunda sesión: acordar forma de evaluación y realización de cuestionarios
- 6) Tercera y cuarta sesiones: evaluación de bebidas de diferentes marcas comerciales.
- 7) Quinta, sexta y octava sesiones: evaluación de bebidas de prueba de las diferentes formulaciones experimentales.
- 8) Novena sesión: realización del análisis estadístico y modelo multidimensional cuantitativo que perfila los parámetros que describen varios atributos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En nuestro país en la actualidad se cree que se sigue utilizando el Aceite Vegetal Bromado (BVO) para la fabricación de naranjadas comerciales y por la falta de un seguimiento e inspección de la regulaciones existentes por parte de las autoridades, se decidió establecer una escala experimental mediante un método colorimétrico, para realizar una determinación cuantitativa del BVO. Para ello en la primera parte del trabajo se llevó a cabo la elaboración de los concentrados patrón según la formulación de una bebida tipo naranjada comercial, variando la concentración (10, 15, 20, 30, 50 y 80 ppm respectivamente) del aditivo corrector de la densidad (Aceite Vegetal Bromado) en la fase oleosa.

Se procedió a realizar una premezcla, con el fin de mezclar las fases oleosa y acuosa; el primer paso es romper la fase oleosa en pequeñas gotitas o glóbulos para su posterior homogenización la cual se llevó a cabo en un homogenizador manual de un pistón, en este proceso la emulsión cruda es bombeada a través de la válvula de homogenización a alta presión, ésta obliga al líquido a pasar a través de la válvula rápidamente, lo cual crea una turbulencia y fuerzas que rompen a los glóbulos en unos más finos, esto con el objeto de obtener glóbulos más uniformes en la emulsión, para después ser observados al microscopio.

El tamaño de los glóbulos encontrado (Tabla 21) fue de diversos tamaños entre 1 y 5 micras por lo que se decidió realizar una segunda homogenización para tener una mayor uniformidad en la emulsión, obteniéndose un tamaño de glóbulo de 1 a

3 micras (ideal para el tipo de bebida) puesto que de ello depende en gran medida la estabilidad de la emulsión. (18)

Tabla 21. Tamaño de Partícula

Concentración (ppm)	10	15	20	30	50	80
Homogenización 1	3-5	1-4	2-4	1-5	1-4	4-5
Homogenización 2	1-3	1-3	1-2	1-2	1-2	1-3

Una vez teniendo los concentrados patrón se procedió a realizar las bebidas patrón a un volumen de 500 ml para bebida final, a 12° Brix (grados Brix) ajustado con azúcar refinada, lo cual se determinó para una naranjada comercial.

En la siguiente etapa, se implementó la metodología para determinar el BVO en estas bebidas por medio del Método Cualitativo Colorimétrico, el cual es un método sencillo y exacto para detectar el vehículo bromado (BVO) en estas bebidas; en donde se realiza una extracción de BVO usando el éter dietílico, a la solución etérea concentrada se le agrega una cantidad pequeña de polvo de zinc metálico (25mg) que actúa como catalizador para convertir el Bromuro orgánico a inorgánico además de adicionarle una pequeña cantidad (30mg) de dióxido del plomo que libera el bromo (en forma de gas).

El bromo desarrollado es detectado por medio de una tira de papel filtro impregnada de fluoresceína que vira de color amarillo a color rosa porque se forma la eosina que es un complejo de Tetrabromuro de Fluoresceína, esta prueba puede detectar concentraciones tan bajas como 10 ppm (2mg/ 200ml) de BVO.

Se extrajo el aceite presente en un par de bebidas como prueba, la extracción se realizó utilizando éter.

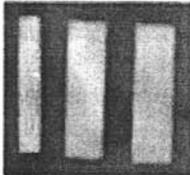


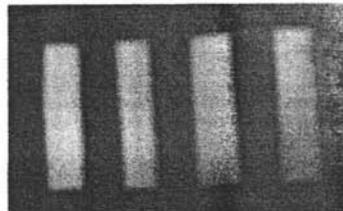
Figura 1. Tiras de fluoresceína al 0.1%
La Tira 1 sin tratamiento alguno. La Tira 2 y 3 presentaron decoloración indicando que no hay presencia del complejo eosina (tetrabromuro de fluoresceína)

En la literatura (11) se describe esperar un tiempo de 1 a 3 minutos, pero al no observar un cambio en la coloración durante este tiempo se hicieron observaciones en distintos tiempos hasta un máximo de 10 horas posteriores, al no observar cambios se evaluó la fluoresceína por dudar del grado de pureza para ello se re-cristalizó.

Se realizaron soluciones a diferentes concentraciones (0.2%, 0.5%, 1%) para elegir la que presente mejor uniformidad en el color en las tiras.

Figura 2.

De izquierda a derecha, las tiras impregnadas de fluoresceína se presentan de la concentración menor a mayor (0.1, 0.2, 0.5, 1%)



En esta figura se muestra la variación de intensidad del color rosado debido a la formación del complejo eosina; con base a esto se eligió la concentración 0.2% al dar una tonalidad mas adecuada para la determinación.

Una vez más se determinó el Aceite Vegetal Bromado en las bebidas patrón, usando las tiras de fluoresceína al 0.2%, en las cuales se observara un vire de color amarillo a rosa (positivo), debido a la formación del Tetrabromuro de Fluoresceína

Figura 3. Determinación de Aceite Vegetal Bromado en las Bebidas Patrón

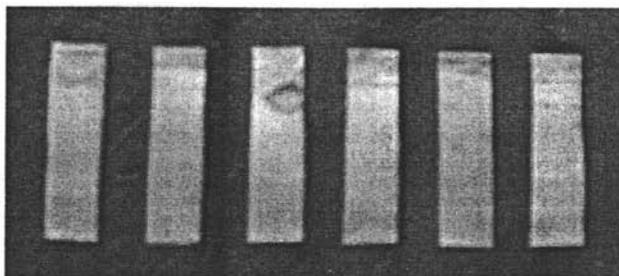


Figura3. De Izquierda a Derecha

Tira 1 con una concentración de 10ppm, dio negativo, la Tira 2 con una concentración de 15ppm, dio positivo en 2 zonas de la tira en la parte inferior y superior, la Tira 3 con una concentración de 20ppm, dio positivo en 2 zonas, en la parte inferior y superior, la Tira 4 con una concentración de 30ppm que dio positivo en la parte inferior, la Tira 5 con una concentración de 50ppm que dio positivo en la parte inferior, la Tira 6 con una concentración de 80ppm dio negativo.

Como se puede ver en la figura 3, los resultados nos llevan a pensar que la extracción de la fase oleosa presenta impurezas, pues al realizar la Determinación Colorimétrica se observan manchas y decoloraciones en la tiras, así mismo, el vire del color (amarillo a rosa), no dio en forma creciente como se esperaba, puesto

que en la concentración más alta de 80 ppm (Tira6), dio negativo, dando por hecho, que el éter recuperado utilizado es el causante del problema en los resultados. Cabe aclarar que el tiempo de la reacción que indica la metodología del AOAC es 3 min. y experimentalmente se encontró que es de 8 hrs.

Nuevamente se decidió llevar a cabo la extracción y la determinación para comparar resultados, y para detectar otros parámetros que influyan; además de realizar un blanco como referencia.

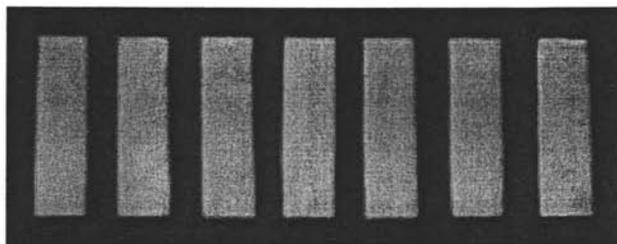
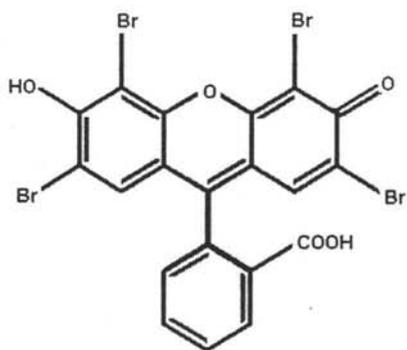


Figura 4.

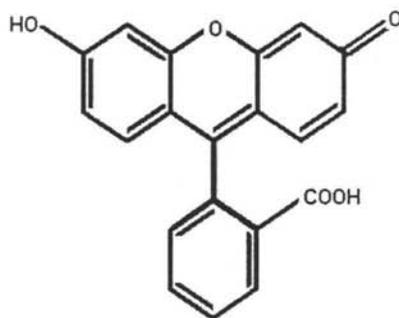
Las tiras presentan el color rosado ligero indicando la presencia del complejo eosina. En la parte izquierda de la foto la Tira1 (Blanco) dio un falso positivo y permanecen las impurezas al observar manchas y decoloraciones en todas las tiras

Al notar que el blanco dio un falso positivo se reevaluó las condiciones en las que se lleva a cabo la formación del complejo eosina, puesto que el blanco solo contiene aceite esencial de naranja y este en su estructura química no contiene bromo, lo que nos indica que hay otros parámetros no controlados en la reacción.

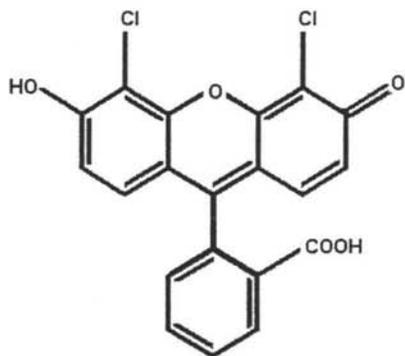
Tetrabromofluoresceína (EOSINA)



Fluoresceína



Diclorofluoresceína



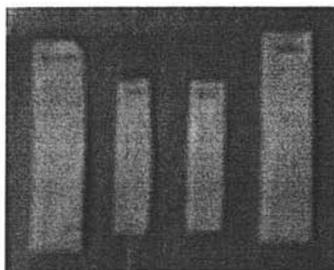
Control del pH de la solución

Fluoresceína	$pK_a \cong 7$ pH óptimo > 7
Diclorofluoresceína	$pK_a \cong 4$ pH óptimo > 4
Eosina	$pK_a \cong 2$ pH óptimo > 2

La información acerca de las condiciones en las que se lleva a cabo la formación del complejo eosina, muestran que este complejo sólo se forma en condiciones controladas de $\text{pH} > 2$, y al determinar el pH en el medio de reacción de las anteriores determinaciones, se encontró que estas presentaban un pH entre 4 y 5; por lo que se determinó de nuevo el Aceite Vegetal Bromado en el blanco acidificando el medio de reacción con dos ácidos, Ácido Sulfúrico y Ácido Nítrico.

Figura 5.

Tira 1 con $\text{pH}=4$ acidificada con Ácido Acético, Tira 2 con $\text{pH}=2$ acidificada con 2 gotas Ácido Sulfúrico, Tira 3 con $\text{pH}=1$ acidificada con 0.5ml Ácido Sulfúrico, Tira 4 con $\text{pH}=2$ acidificada 0.5ml Ácido Nítrico.



Después de variar el pH con los diferentes ácidos, como se muestra en la figura anterior; el ácido acético por ser un ácido débil comparado con el ácido sulfúrico o nítrico no disminuye el pH a 2 necesario para que se lleve a cabo la formación del complejo eosina, el ácido Sulfúrico disminuye el pH a 2 pero no se puede utilizar al presentar interferencia con el tetrabromuro de fluoresceína al dar positivo, no así con el Ácido Nítrico, por lo que se decidió acidificar el medio de reacción con este ácido.

Una vez que se han evaluado y controlado las condiciones de la determinación en forma experimental como es la concentración de fluoresceína al 0.2%, el tiempo de reacción de 8 hrs. y el $\text{pH}=2$ de reacción, se procede a realizar una vez más la

extracción del Aceite Vegetal Bromado en la fase oleosa presente en las bebidas patrón utilizando Éter Etílico grado analítico, para su determinación Cualitativa para así poder establecer la escala experimental.

Figura 6. Escala Experimental Colorimétrica

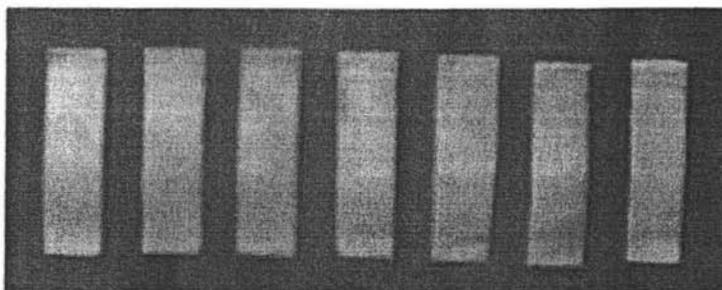


Figura 6. De izquierda a derecha

Variación de la concentración (menor a mayor) de Aceite Vegetal Bromado 10ppm, 15ppm, 20ppm, 30ppm, 50ppm, 80ppm, respectivamente, se observa la presencia del complejo eosina a través del color rosa.

En la figura 6 se observa la propuesta de la escala experimental, en la que se varía la concentración de Aceite Vegetal Bromado, siendo insuficiente la variación del color entre una concentración y otra, por lo cual no es posible utilizarla para determinar la concentración en bebidas comerciales pero sí para verificar su presencia. Es decir este tipo de determinación sólo se puede usar como método cualitativo mas no cuantitativo. Dentro de esta etapa se realizó un estudio de mercado para conocer las naranjadas de mayor consumo y disponibilidad en el mercado resultando Amí, Bebere, Bonafina, Safari y Lala. A estas naranjadas se

les extrajo la fase oleosa con Éter etílico y se determinó en forma cualitativa el uso del Aceite Vegetal Bromado.

Figura 7. Determinación de Aceite Vegetal Bromado en Bebidas Comerciales

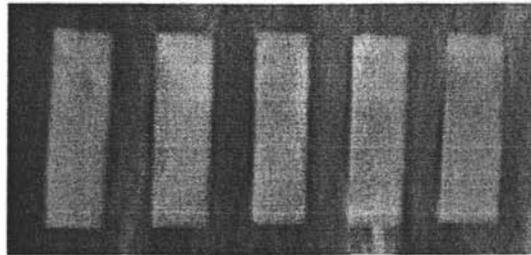


Figura 7. De derecha a izquierda

Se presentan las tiras de fluoresceína con las que se determinaron la existencia de Aceite Vegetal Bromado en naranjadas comerciales, observando la presencia del complejo eosina en las tres últimas a través del color rosa y negativa en las dos primeras.

La existencia del Aceite Vegetal Bromado en bebidas comerciales se determinó por medio del bromo que reacciona con la fluoresceína para formar el complejo tetrabromuro de fluoresceína (Eosina), los resultados obtenidos indican que todavía se utiliza de este aditivo en naranjadas, de las cuales dio positivo en BONAFINA, SAFARI, BEBEREE, y negativo AMI y LALA, cabe reiterar que esta prueba puede detectar concentraciones tan bajas como 10 ppm (2mg/ 200ml) de BVO bajo condiciones controladas experimentalmente, por lo cual se recomienda como un método confiable, rápido y fácil de detección de BVO, pero no para cuantificarlo.

En la tercera etapa se realizaron concentrados a partir de las formulaciones propuestas con estos aditivos: Acetato Isobutirato de Sacarosa (SAIB), Denz-oil, Ester Gum, e Indica Gum, para sustituir y complementar el Aceite Vegetal Bromado.

4.1 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD EN ADITIVOS

Para la realización de los concentrados se calcularon las densidades de los ingredientes por medio de picnómetro, los resultados se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 22. Densidad del Sistema

Mezcla de Aditivos	Densidad (g/ml)
Aceite Esencial de Naranja (AEN)	0.8460
AEN + Aceite Vegetal Bromado (BVO)	0.9309
AEN + BVO + Ester Gum (EG)	0.9738
AEN + BVO + EG + Sabor (S)	0.9602
AEN + EG + S	0.8983
AEN + BVO + S	0.9214
AEN + S	0.8442

Utilizando los resultados anteriores, se calculó el balance de densidad para conocer la cantidad a agregar en la fase oleosa del aditivo correspondiente según la formulación, utilizando el cuadro de Pearson.

Tabla 23. Balance de Densidad

Formulación Prueba	Mezcla de Aditivos	Cantidad (g)
Formulación 1	AEN + BVO + EG + S	15.949
Formulación 2	AEN + EG + S	25.977

Formulación 3	AEN + S	57.579
Formulación Final	Mezcla de Aditivos	- -
Formulación 1	AEN + BVO + EG + S	8.376
Formulación 2	AEN + EG + S	21.900
Formulación 3	AEN + S	30.500

Aceite Esencial de Naranja (AEN), Aceite Vegetal Bromado (BVO), Ester Gum (EG), Sabor (S)

En la primera parte de la tabla 23, se muestran la cantidad que se agregó del aditivo de prueba (Denzil-oil), para cada una de las formulaciones, después se prepararon los concentrados. Posteriormente se modificó la densidad objetiva a 1.0365 en el Cuadro de Person al variar las cantidades que se agregaron del aditivo de prueba (SAIB) en cada formulación.

En una emulsión aceite/agua las fases se separarían rápidamente por la diferencia de densidades esto se debe a que las moléculas tienden a atraerse con las de su misma naturaleza por ello se incorporan aditivos llamados emulsificante (Denzil-oil, SAIB) para formar emulsiones cinéticamente estables por un tiempo razonable.

Para formar las emulsiones en los concentrados se homogeniza la fase oleosa con la acuosa (Homogenizador de pistón) y se evalúa el tamaño de partícula (microscopio) para ver la distribución de aceite en la fase acuosa el cual debe de ser entre 1-3 micras (μ).

Tabla 24. Resultado de Homogenizaciones

Bebidas	Homogenización 1 (μ)	Homogenización 2 (μ)
F1 a	2-6	1-3
F2 b	2-5	1-2
F3 c	1-4	1-2
F2 b'	2-5	1-2
F3 c'	1-4	1-2

F2 b''	1-5	1-3
F3 c''	1-5	1-2
F1	3-6	1-3
F2	2-5	1-3
F3	2-4	1-3

F1 a = Formula1 a, Prueba, F2 a = Formula2 b, b', b'' Prueba, F3 a = Formula3 c, c', c'' Prueba.
F1 = Fórmula1, Final, F2= Formula2, Final, F3= Formula3, Final

Los resultados obtenidos para la primera homogenización son valores altos con respecto a lo establecido (18), por lo que se homogenizó una segunda vez para lograr uniformidad del tamaño de partícula (glóbulo) puesto que es muy importante formar un sistema heterogéneo en equilibrio.

Una vez hechos los concentrados se realizaron su respectiva bebidas, para ello se buscó asemejarse a las características sensoriales de las bebidas comerciales, dentro de estas características en los grados Brix se manejó un rango de 9-10 cercano a Bonafina y el pH entre 2.95 a 3.1 cercano a Safari y Lala.

Tabla 25. Resultados de la Determinación de Grados Brix y Acidez

Bebidas	Bx	Bx	Bx	Promedio	pH	pH	pH	Promedio
Ami	12.8	12.4	12	12.4	2.93	2.93	2.93	2.93
Safari	7.4	8	8	7.8	2.94	2.94	2.95	2.94
Bonafina	10	10.6	11	10.53	3.24	3.21	3.23	3.22
Lala	10.6	11.2	11.6	11.3	3.13	3.11	3.11	3.11
F1 a	10	10	10	10	4.45	4.47	4.48	4.46
F2 b	10	10	10	10	4.52	4.52	4.50	4.51
F3 c	10	10	10	10	4.36	4.28	4.30	4.31
F2 b'	10	10	10	10	3.08	3.05	3.02	3.05
F3 c'	10	10	10	10	3.07	3.01	2.96	3.01
F2 b''	9	9	9	9	3.22	3.17	2.98	3.12
F3 c''	9	9	9	9	2.97	3.16	3.03	3.05
F1	9	9	9	9	3.10	3.04	3.06	3.06
F2	9	9	9	9	2.97	3.00	3.05	3.01
F3	9	9	9	9	3.04	2.99	2.95	2.99

F1 a = Formula1 a, Prueba, F2 a = Formula2 b, b', b'' Prueba, F3 a = Formula3 c, c', c'' Prueba.
F1 = Fórmula1, Final, F2= Formula2, Final, F3= Formula3, Final

La tabla 25 muestra los valores obtenidos de los grados Brix, determinados en las bebidas comerciales, las bebidas de prueba y las finales realizadas, se ajustaron estos grados conforme a la formulación base y a los resultados de las pruebas sensoriales que se realizaron con el panel de jueces entrenados.

Siendo la acidez esencial para la aceptación de la bebida por parte del consumidor ya que el sabor característico se desarrolla en parte por medio de acidulación apropiada se propuso igualarla a la que es más aceptada en el mercado: Safari con pH de 2.94 - 2.95. El ácido cítrico usado en los concentrados para estas bebidas sirve para impartirles un sabor ácido que neutraliza la dulzura del azúcar y hace resaltar el sabor asociado.

Durante la realización de las bebidas se encontró que la formulación 1 y 2 que contienen Ester Gum, se intensificaba la nota ácida por el resabio que deja en la boca debido a que es un aditivo proveniente de la esterificación de resina de madera por lo que, se estandarizó a un pH de 2.95 -3.1 con ácido cítrico el cual promueve la función de conservador por ser un agente ligeramente reductor.

Dentro de las determinaciones realizadas, la de **TURBIDEZ** es de gran importancia por ser un parámetro de apariencia que se modifica con la sustitución y complementación del BVO. Con los emulsificantes incorporados en las

formulaciones estos mejoran el cuerpo, controlan la viscosidad, favorecen la solubilidad y sirven de estabilizantes de sabores.

El aspecto nebuloso en las bebidas es determinante para la aceptación del consumidor por lo que es importante que el agente de turbidez deba contribuir a la opacidad sin afectar la estabilidad causando un descremado o una separación de fases y no debe tener efectos sobre el color o los sabores. Una forma directa para determinar la turbidez es por medio de un espectrofotómetro de (UV /VIS) a una longitud de onda de 660 nm. (21) Al modificar el aspecto físico de las bebidas preparadas estas se comparan con las bebidas comerciales porque estas ya tienen aceptación en el mercado.

Tabla 26. Resultados de la Determinación de Turbidez

Bebidas	Absorbancia 1 (660nm)	Absorbancia 2 (660nm)	Absorbancia 3 (660nm)	Promedio
Ami	0.6704	0.6753	0.6779	0.6719
Safari	1.8931	1.8963	1.9029	1.8974
Bonafina	1.2230	1.3470	1.3280	1.2993
Lala	0.3194	0.3316	0.3424	0.3311
F1 a	1.2882	1.3029	1.3125	1.3012
F2 b	1.2317	1.2374	1.2585	1.2425
F3 c	0.8790	0.8838	0.8771	0.8799
F2 b'	1.5260	1.5283	1.5274	1.5272
F3 c'	0.8409	0.8510	0.8425	0.8448
F2 b''	0.0489	0.0562	0.0482	0.0511
F3 c''	0.0009	0.0208	0.0149	0.0122
F1	1.2850	1.2725	1.2933	1.2836
F2	0.8566	0.8821	0.8945	0.8777
F3	0.5321	0.5049	0.5102	0.5157

F1 a = Formula1 a, Prueba, F2 a = Formula2 b, b', b'' Prueba, F3 a = Formula3 c, c', c'' Prueba.

F1 = Fórmula1, Final, F2= Formula2, Final, F3= Formula3, Final

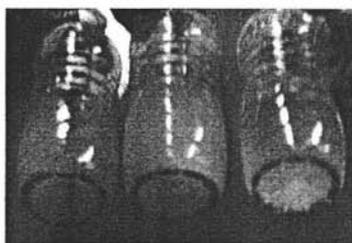
De acuerdo con lo reportado en la literatura (21), los valores adecuados en una bebida de este tipo van de 0.5000 a 1.2000 nm.. Como se observa, las bebidas comerciales con menor turbidez son Lala (0.3311) y Amí (0.6719) encontrando que se tiene una relación directamente proporcional entre el uso de BVO y su turbidez, cabe recordar que en estas bebidas no se detectó el BVO. En comparación las que mostraron mayor turbidez fueron Bonafina (1.2993) y Safari (1.8974) demostrando así el empleo de BVO.

Durante todo el proceso de prueba se observa una amplia variación entre los valores, debido a las modificaciones realizadas en cada una de las formulaciones, finalmente las últimas bebidas quedaron dentro del rango de referencia. Demostrando que la combinación adecuada entre diferentes aditivos tales como el SAIB, Ester Gum e Indica Gum, que en conjunto logran mantener la dispersión de los sólidos, aumentan la viscosidad y mejoran el cuerpo de la bebida.

4.2 VIDA DE ANAQUEL DE LAS BEBIDAS DE PRUEBA

Es importante cuidar que la emulsión no se desestabilice ya que un calentamiento, un enfriamiento, una centrifugación o un sacudimiento brusco, pueden provocar una ruptura de la emulsión. Los problemas que pudiesen presentar las emulsiones en bebidas, tanto en los concentrados como en la bebida terminada son los siguientes: Formación de Anillo, Floculación, Coalescencia.

Se realizaron pruebas de estabilidad, para conocer el tiempo promedio ($t_{1/2}$) de vida de anaquel, para ello se tomaron 2 muestras de cada bebida patrón preparada de cada formulación y se colocaron en un almacén a $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Al fenómeno que ocurre cuando las fases se van separando se le conoce como cremación y sedimentación, siendo más común la cremación, manifestada por la formación de anillo blanquizco en las bebidas como se observa en las siguientes fotografías.



SEDIMENTOS EN BEBIDAS



EJEMPLO DE FORMACION DE ANILLO EN BEBIDAS

En las pruebas de vida de anaquel realizadas a las bebidas, preparadas con los tres emulsificantes probados se muestran en la tabla, en la que se presenta el tiempo al cual se formaba un precipitado blanco, que indica la ruptura de la emulsión.

Tabla 27. Resultados de Vida de Anaquel

Bebidas	Tipo de Emulsificante	$t_{1/2}$ Días
F1 a	BVO + EG + SAIB	6
F2 b	EG + SAIB	3
F3 c	SAIB	3
F2 b'	EG + SAIB	2
F3 c'	SAIB	1
F2 b''	EG + SAIB	4
F3 c''	SAIB	1

F1	BVO + EG + SAIB	10
F2	EG + SAIB	9
F3	SAIB	7

F1 a = Formula1 a, Prueba, F2 a = Formula2 b, b', b" Prueba, F3 a = Formula3 c, c', c" Prueba.
 F1 = Fórmula1, Final, F2= Formula2, Final, F3= Formula3, Final

La excesiva inestabilidad presentada en las bebidas de prueba sugirió revisar la densidad objetiva (1.022) establecida por el Cuadro de Pearson con la que realizaron los concentrados de cada una de las formulaciones. En la literatura se encontró que la densidad objetiva ideal es de 1.0365 para tener una bebida con condiciones estables por lo que finalmente se corrigió y se realizaron las bebidas finales exitosamente, como se muestra en la parte inferior de la tabla 27.

La formulación 1 en el proceso de prueba presentó formación de anillo y floculación esta bebida se realizó solo una vez en la etapa de prueba ya que se pretendía sustituir del todo al BVO, pero dado los resultados obtenidos de estabilidad en las otras 2 formulaciones se retomó esta formulación para realizar las bebida finales, la cual presentó mayor estabilidad en la vida de anaquel, de 10 días indicado por la formación de anillo.

En el caso de la formulación 2 se presentó rápidamente la formación de anillo, floculación y sedimentación, ésta debido al fenómeno de coalescencia. Durante todo el proceso de prueba y finalmente en las bebidas finales se formo anillo a los 9 días cuando se determino su vida media.

En el caso de la formulación 3 se presentó la formación de anillo y coalescencia al día siguiente de su realización de la bebida, sin embargo la bebida final formó anillo a los 7 días su vida media.

La floculación es a veces reversible cuando la concentración de gotas de aceite es baja o sea que los agregados que se forman sin coalescencia o unión pueden ser dispersados si se agita suavemente, en cambio la coalescencia no es reversible ya que los agregados formados se rompen y las gotas de aceite emergen eventualmente produciendo rompimiento de la emulsión.

Estos son los mayores problemas que se presentan en el mercado, la forma más común es un precipitado a los 8 días, en condiciones normales, que le da un aspecto no deseable para el consumidor y su posible rechazo, sin embargo esto es solo un aspecto visual ya que la bebida es desde el punto de vista de sabor y aroma son adecuados para su consumo.

4.3 EVALUACIÓN SENSORIAL

Parte importante en la evaluación del desarrollo de un nuevo producto es la evaluación sensorial la cual, en nuestro caso, se realizó por medio de la prueba de Análisis Descriptivo Cuantitativo (QDA) que se describe en la parte experimental, esta prueba nos ayudo a identificar y cuantificar las características sensoriales de las diferentes bebidas y determinar si existe diferencia significativa entre las muestras, teniendo en cuenta que el emulsificante es la única variable entre ellas.

Para la realización del Análisis Descriptivo Cuantitativo se escogieron a los jueces de un panel previamente entrenado por el Departamento de Análisis Sensorial de la Facultad de Química a cargo de la Dra. Patricia Severiano y voluntarios con conocimientos en el área. A este panel se le realizó la prueba de gustos básicos para tener datos confiables (VER ANEXO 1) y demostrar que pueden cumplir con las mínimas expectativas de detectar cada uno de los gustos (Dulce, Ácido, Amargo y Salado) los resultados se muestran en el Anexo 1; del total de jueces evaluados se seleccionaron diez para su entrenamiento en la prueba QDA.

En la primera parte de la realización del QDA, se generaron todos los posibles descriptores de apariencia y sabor para este tipo de bebidas generándose 19 atributos para *apariciencia* (color naranja, translucido, opacidad, viscoso, densidad, color diluido, colorante, color amarillo, brillantes, líquido, turbio, fluido, color de cáscara de mandarina, no viscoso, con sólidos suspendido, transparente, espeso, homogéneo, poco brillo) y 20 para *sabor* (dulce, naranja, resabio amargo, ácido, pasteurizado, cáscara de naranja, concentrado, resabio metálico, resabio ácido, notas acidas, notas dulces, sin aroma, sabor desagradable, textura arenosa al tragar, poco dulce, resabio a medicina, sabor amargo, sensación ligera seca, resabio a edulcorante) Estos quedaron englobados en tres descriptores para apariencia: color, cuerpo (este incluye turbidez y opacidad) y viscosidad y cuatro atributos de sabor: dulce, ácido, amargo y naranja. Después de que se generaron los descriptores para los mismos y de acordar la forma de evaluarlos se prosiguió a realizar el cuestionario para cada descriptor utilizando una escala de intensidad

no estructurada de 5 puntos para cada uno (VER ANEXO 2), siendo 1 el valor mínimo y 5 el valor máximo.

Durante el entrenamiento de los jueces se observó que era difícil para ellos anclar los puntos de la escala por ello se cambió la escala de intensidad no estructurada a una escala de intensidad estructurada. Por otro lado, el atributo de viscosidad se añadió al atributo de cuerpo para facilitar la evaluación de las muestra quedando así seis atributos evaluados (VER ANEXO 3). Finalmente después de anclar los puntos de la escala y alcanzar un coeficiente de variación máximo del 31% en la evaluación de los jueces, se prosiguió a realizar la evaluación de las muestras (bebidas realizadas) por triplicado para tener reproducibilidad y confiabilidad en los resultados (Ver ANEXO 4).

El análisis estadístico de los resultados para cada uno de los atributos se presenta a continuación:

El análisis estadístico para el atributo COLOR para cada una de las muestras se presentan en las tablas 28 y 29.

Tabla 28. Estadístico de los Datos del Atributo de Color

MUESTRAS	MÍNIMO	MÁXIMO	PROMEDIO	VARIANZA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
1	3.0	4.0	2.50000	0.751034	0.866622
2	3.0	4.0	2.08333	0.491782	0.701271
3	3.0	3.5	2.27333	0.399264	0.631874
Total	9.0	4.0	2.31889	0.55301	0.743646

Para detectar si existe diferencia estadísticamente significativa entre el atributo de color de las distintas muestras, se realizó un análisis de varianza (ANOVA).

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL ATRIBUTO DE COLOR

Variable dependiente: **COLOR**

Factor: Muestras

Número de observaciones: 9

Número de niveles: 3

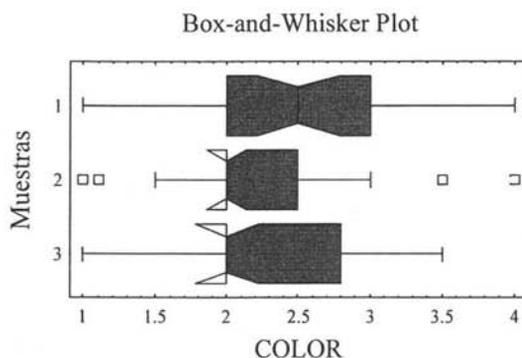
Tabla 29. Anova Para el Atributo de Color de las Muestras

Fuente	Suma De Cuadrados	Df	Cuadrado Medio	F-Cociente	P-Valor
Entre los grupos	1.59756	2	0.798778	1.46	0.2380
Dentro de grupos	47.6203	87	0.54736		
Total (Corr.)	49.2179	89			

El F-cociente, que en este caso es igual a 1.45933, es el cociente de la estimación del componente entre los grupos y la estimación del componente dentro de grupos. Puesto que el valor -P de la F-prueba es mayor que o igual a 0.05, entonces se concluye que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre el COLOR de las muestras, con un nivel de confianza 95.0%. Debido a que las muestras no presentan diferencia en el atributo color, no se llevo acabo el análisis de diferencias mínimas significativas (LSD)

La representación gráfica de los valores dados para cada muestra se pueden observar en la figura 2.

Figura2.



En la representación gráfica Box and Whisker Plot se observa que en ninguna de las muestras presenta valores anómalos u "out liers".

El análisis estadístico para el atributo CUERPO para cada una de las muestras se presentan en la tabla 30 y 31.

Tabla 30. Estadístico de los Datos del Atributo de Cuerpo

Muestras	Mínimo	Máximo	Promedio	Varianza	Desviación Estándar
1	3	4.5	3.05667	0.800471	0.894691
2	3	5.0	2.98667	0.937057	0.968017
3	3	4.8	2.45333	1.24947	1.1178
Total	9	5	2.83222	1.0467	1.02308

Para detectar si existe diferencia estadísticamente significativa entre el atributo de cuerpo de las distintas muestras, se realizó un análisis de varianza (ANOVA).

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL ATRIBUTO DE CUERPO

Variable dependiente: CUERPO

Factor: Muestras

Número de observaciones: 9

Número de niveles: 3

Tabla 31. Anova para el Atributo de Cuerpo de las Muestras

Fuente	Suma De Cuadrados	Df	Cuadrado Medio	F-Cociente	P-Valor
Entre los grupos	6.53356	2	3.26678	3.28	0.0423
Dentro de grupos	86.623	87	0.995667		
Total (Corr.)	93.1566	89			

Puesto que el valor -P de la F-prueba es menor a 0.05, entonces se concluye que sí hay diferencia estadísticamente significativa en el atributo de CUERPO, a partir del nivel de muestras con un nivel de confianza 95.0%.

Para determinar entre que muestras existe diferencia en el atributo cuerpo se llevó a cabo el análisis de diferencias mínimas significativas (LSD) los resultados se muestran en la siguiente tabla 32.

Tabla 32. Pruebas Múltiples para el Atributo de Cuerpo

Método: 95.0 %LSD

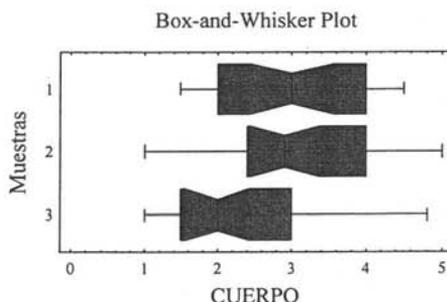
Muestras	Cuenta	Mean	Grupo Homogéneo	Contraste	Diferencia	+/- Límites
3	30	2.45333	X	1-2	0.07	0.512086
2	30	2.98667	X	1-3	*0.603333	0.512086
1	30	3.05667	X	2-3	*0.503333	0.512086

* Denota una diferencia estadísticamente significativa.

La tabla 32 muestra el procedimiento múltiple de comparación para determinar qué muestras son perceptiblemente diferentes entre si. En la tabla, se identifican

dos grupos homogéneo esto se ve reflejado por la forma en que se alinean las X en la misma columna indicando que entre esos grupos no hay diferencias estadísticamente significativas. La diferencia estimada entre cada par de muestras; se indica con un asterisco al lado de los pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza de 95.0%, es decir entre ellos

La representación gráfica de los valores dados para cada muestra se pueden observar en la figura 3.



En la representación gráfica Box and Whisker Plot se observa el desplazamiento grafico en la muestra 3 demostrando que existe una diferencia significativa entre esta muestra con las dos restantes, observándose también que no existen valores anómalos.

Los análisis de varianza de los atributos de ácido, amargo, dulce y naranja se muestran en el anexo 6 debido a que no se encontró diferencia estadísticamente significativa; un ejemplo de estos resultados se observa en el atributo de color.

Finalmente después de anclar los puntos de la escala se realizó la evaluación de las muestras (bebidas realizadas) por triplicado para tener reproducibilidad y confiabilidad en los resultados (Ver ANEXO 5). En la tabla 33 solo se muestran los promedios generales de cada atributo en cada una de las muestras evaluadas.

Tabla 33. Promedios de las Evaluaciones de Cada Atributo para cada una de las Muestras Evaluadas.

Atributos	PROMEDIOS DE EVALUACIONES					
	Color	Cuerpo	Dulce	Acido	Amargo	Naranja
F1	2.50	3.06	3.22	1.68	2.60	3.15
F2	2.18	2.99	3.35	1.58	2.69	3.38
F3	2.27	2.45	3.60	1.43	2.63	3.59
Safari	1.23	4.21	2.00	3.33	2.06	2.88

Los datos estadísticos de desviación estándar y coeficiente de variación de cada muestra se encuentran en el anexo 4, los datos son promedio de tres replicas.

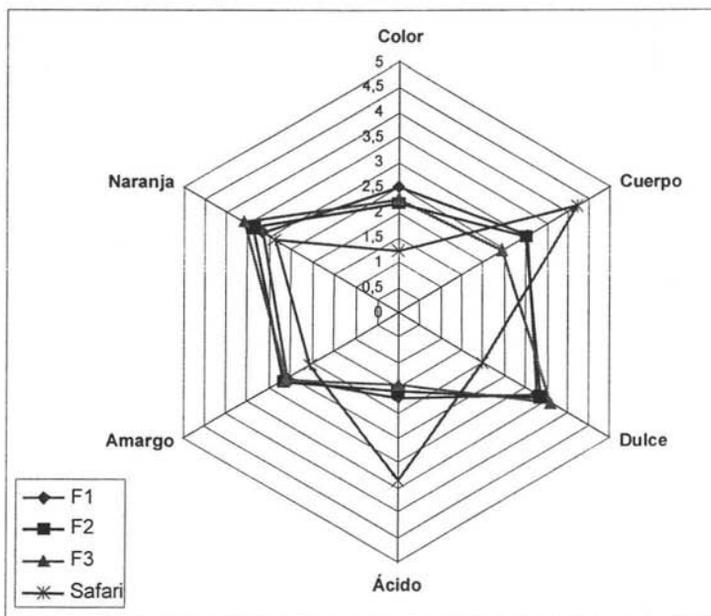


Figura 4. Perfil Sensorial de las Bebidas Sabor Naranja

El método más adecuado para evaluar los atributos de apariencia y sabor es por medio del QDA .La información generada es útil para producir un modelo multidimensional cuantitativo que perfila los parámetros que describen varios atributos, como se observa en la figura cuatro, a pesar de haber diferencias visuales (por asignación de valores diferentes) en varios atributos, solamente el **atributo de cuerpo** (que engloba los atributos de Turbidez, Opacidad, Viscosidad.) en la formulación 3 que contiene SAIB y sustituye por completo al BVO es estadísticamente diferente con respecto a las otras dos formulaciones evaluadas, como muestra el análisis de diferencias mínimas significativas (LSD), Con ello se demuestra que la variación del aditivo en la formulación de las naranjadas solo varia en el cuerpo de la bebida sin modificar los demás atributos sensoriales.

De acuerdo a los resultados, la sola adición del SAIB a las formulaciones de las bebidas estudiadas modifica el cuerpo de las mismas disminuyéndolo, sin embargo cuando este se usa con Ester Gum e Indica Gum da mejores resultados e incluso el uso de una mezcla SAIB, Ester Gum e Indica Gum y 15ppm de BVO permite obtener una bebida con un perfil sensorial igual a una muestra comercial, es decir se puede utilizar el BVO a la concentración permitida por la Norma siempre y cuando no se exceda su límite y con muy buenos resultados.

CONCLUSIONES

- Se determinó la presencia de forma cualitativa y se corroboró que actualmente se usa el Aceite Vegetal Bromado en 3 de las 5 naranjadas comerciales analizadas las cuales son: SAFARI, BEBERE, BONAFINA y las que no lo ocupan BVO en su formulación son: AMI y LALA.
- No se estableció experimentalmente la escala colorimétrica propuesta para cuantificar la concentración de Aceite Vegetal Bromado en bebidas patrón tipo naranjada, al no encontrar diferencia en el color en cada una de las concentraciones realizadas por lo tanto no se logró cuantificar la concentración de Aceite Vegetal Bromado en las bebidas comerciales.
- Dentro de la metodología establecida por el AOAC se determinaron experimentalmente las mejores condiciones para llevar a cabo la detección de BVO en bebidas tipo naranjadas, las modificaciones fueron en el pH de la reacción, tiempo de reacción y concentración de fluoresceína.
- De las tres formulaciones utilizadas solo dos presentaron los mejores resultados fisicoquímicos para sustituir o complementar el Aceite Vegetal Bromado; la formulación 1 que contiene 15 ppm BVO, Ester Gum y SAIB y la formulación 2 que contiene Ester Gum y SAIB.

-
-
- La evaluación sensorial demostró que existe diferencia estadísticamente significativa en el atributo de **CUERPO** (Turbidez, Opacidad, Viscosidad) en la formulación 3 con respecto a las otras dos, no así en los demás atributos evaluados.

 - La sola adición del SAIB a las formulaciones de las bebidas modifica el cuerpo de las mismas disminuyéndolo, sin embargo cuando este se usa con Ester Gum e Indica Gum da mejores resultados

 - La utilización de 15ppm de BVO y una mezcla SAIB, Ester Gum e Indica Gum permite obtener una bebida con un perfil sensorial igual a una muestra comercial.

BIBLIOGRAFÍA

1. Analytica-Chimica-Acta⁵; 67 (2) 277-282, 8 ref. 1973.
2. Barron Arteaga, Carlos, *Criterios para la Selección de Emulsificantes Utilizados en la Elaboración de Saborizantes*, Tesis Licenciatura UNAM, FQ, México, pp. 4-32, 2001.
3. *Brominated Vegetable Oils in Nonalcoholic Beverages*, AOAC Official Methods of Analysis, Met. 973.27, pp 1166-116, 1999.
4. Compendio de Especificaciones para Aditivos Alimentarios:
http://apps3.fao.org/jecfa/additive_specs/foodad-q.jsp?language=es
5. Conacher, H.B.S., *Gas Chromatographic Determination of Brominated Sesame Oil in Orange Drinks: Collaborative Study*, Journal of the AOAC, 56(3): 602-606, 1973.
6. Conacher, H.B.S., Meranger, J. C. y Leroux, J., *Levels of Brominated Vegetable Oils in Soft Drinks by X-Ray Fluorencence Spectrometry and Gas-Liquid Chromatography*, Journal of the AOAC, 53(3): 571-575, 1970.
7. Cruz López, Rubén, Fco., *Desarrollo de Algunos Concentrados en la Industria de Bebidas Gaseosas*, Tesis Licenciatura UNAM, FQ, México, pp. 1-40, 1994.
8. El portal de la Industria Latinoamericana: www.quiminet.com.mx.
9. Federal-Register⁵, 35 (145, July 28) 120: 62-63, 1970.
10. Gangolli, S.D., Sharatt, M. and Gaunt, I.F., *Food Toxicology*⁵ 9(5): 663, 1971.
11. Krishna Murthy ET AL.: *A Qualitative Colorimetric Test for of Brominated Vegetable Oils in Soft Drinks*, Journal of the Association of Official Analytical Chemistry⁵; 74 (4): 698-699, 1991.

-
-
12. Martínez Dubois Gutiérrez, Laura C. *Identificación de Sustitutos para Aceite Vegetal Bromado en Bebidas Carbonatadas* Tesis Licenciatura, UNAM, México, pp. 1-35, 1992.
 13. Pedrero F., Daniel L., Pangborn R. M., *Evaluación Sensorial de los Alimentos*, Edit. Alambra, México, pp. 97-99, 1997.
 14. Rajinder K. Chadha, James F. Lawrence y Henry B.S. Conacher, *Use of Capillary Gas Chromatography for the Identification Brominated Vegetable Oils*, *Journal Chromatography*, 356 18 :505 pp. 441-444. 1986.
 15. Reynolds, R.C, Chappel, C.I., *Sucrose Acetate Isobutyrate (SAIB): Historical Aspects of Its use in Beverages and a Review of Toxicity Studies Prior to 1988*, *Food and Chemical Toxicology* 36, pp 81-93, 1998.
 16. Reynolds, R.C., *Metabolism and Pharmacokinetics of Sucrose Acetate Isobutyrate (SAIB) and Sucrose Octaisobutyrate (SOIB) in Rats, Dogs, Monkeys or Humans: a Review*, *Food and Chemical Toxicology* 36, pp 95-99, 1998.
 17. Sistema Electrónico de Comunicación con Emisoras de Valores
http://emisnet.bmv.com.mx/informes/infoanual_5741_2004.pdf
 18. Sting E. Friberg, Kare Larsson. *Food Emulsions*, revised and expanded, Marcel Dekker, Inc. New York, 2da. Edition pp 445-474, 1998.
 19. Torres Sánchez, Fabiola M. T., *Utilización de la Goma de Mezquite en Emulsiones para Bebidas Carbonatadas*, Tesis Licenciatura UNAM, FQ, México, pp. 3-98, 1997.
 20. Varnam, Alan H., Jaen P. *Bebidas Tecnología Química y Microbiológica*, Edit. ACRIBIA S.A. pp. 94-95, 120-121.

21. Vered R. Kaufman and Nissim Garti, Effect of cloudy agents on the stability and opacity of cloudy emulsions for soft drinks, *Journal of food technology*, 19. Pp. 225-261, 1984.

⁵CD- ROOM FSTA: Food Science and technology Abstracts 1972-1998

ANEXO 1. Resultados de la Evaluación de Gustos Básico para la Selección de Jueces

Prueba de Gustos Básicos										
Claves	977	406	561	188	399	479	419	653	787	569
Juez	A	M	D	S	H2O	A	S	A	M	D
1	S	N	N	N	N	N	S	N	S	S
2	S	N	S	S	S	N	S	N	S	S
3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
5	S	N	S	N	S	S	N	S	S	S
6	S	S	S	S	S	S	S	N	S	S
7	S	S	S	S	N	S	S	S	S	S
8	S	S	S	S	S	S	S	N	S	S
9	S	S	S	S	N	S	N	N	S	S
10	S	N	N	S	S	S	S	N	S	S
11	S	N	N	S	N	S	S	S	S	N
12	N	N	S	S	N	N	S	S	S	S
13	S	S	S	S	N	N	S	S	S	S
14	N	N	S	S	N	N	N	N	S	N
15	S	N	N	S	S	S	S	S	N	S
16	S	S	S	S	S	S	S	N	S	S

A = ACIDO M = AMARGO D = DULCE S = SALADO H2O = AGUA

S = AFIRMATIVO N = NEGATIVO

ANEXO 2. Ejemplo de Cuestionario con una Escala de Intensidad No Estructurada



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

Prueba de Análisis Descriptivo Cuantitativo (QDA)
Primera Parte
HOJA 1

Facultad de
Química



Nombre: _____ Fecha: _____

INSTRUCCIONES: Frente a usted en la charola, tiene las muestras de referencia de mínimos (1) y máximos (5) de intensidad de cada descriptor de apariencia y de sabor, observe y pruebe cada atributo. En la parte de debajo de la charola tiene 2 muestras diferentes, empiece probando de izquierda a derecha. Marque con una X sobre la escala la intensidad del atributo. No se trague las muestras y enjuáguese entre muestra y muestra. GRACIAS.

Muestra _____

COLOR		_____		
	1		5	
CUERPO		_____		
	1		5	
VISCOSIDAD		_____		
	1		5	
DULCE		_____		
ACIDO		_____		
	1		5	
AMARGO		_____		
	1		5	
NARANJA		_____		CASCARA
	1		5	

Muestra _____

COLOR		_____		
	1		5	
CUERPO		_____		
	1		5	
VISCOSIDAD		_____		
	1		5	
DULCE		_____		
ACIDO		_____		
	1		5	
AMARGO		_____		
	1		5	
NARANJA		_____		CASCARA
	1		5	

ANEXO 3. Ejemplo de Cuestionario con una Escala de Intensidad Estructurada



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

Prueba de Análisis Descriptivo Cuantitativo (QDA)
Segunda parte
Hoja 1

Facultad de
Química



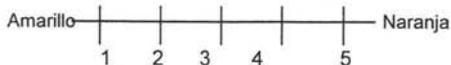
Nombre: _____ Fecha: _____

INSTRUCCIONES: Observe y pruebe las muestras de referencia de los atributos de intensidad (aparición y sabor), tomando como **mínimo = 1**, **intermedio = 3** y **máximo = 5**.

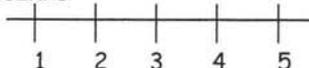
Posteriormente en la parte de abajo de la charola tiene 4 muestras diferentes, empiece de izquierda a derecha observando y probando las mismas, marque con una X la intensidad para cada atributo. No se trague las muestras y enjuáguese entre muestra y muestra. GRACIAS.

Muestra _____

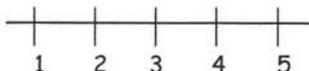
COLOR



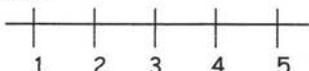
CUERPO



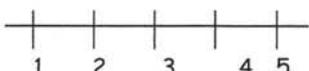
VISCOSIDAD



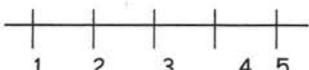
DULCE



ACIDO

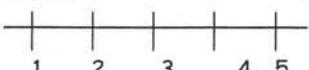


AMARGO



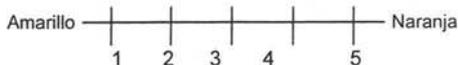
NARANJA

CASCARA

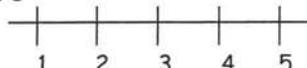


Muestra _____

COLOR



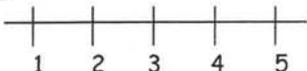
CUERPO



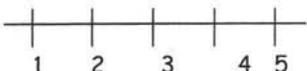
VISCOSIDAD



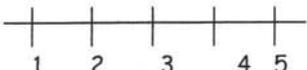
DULCE



ACIDO

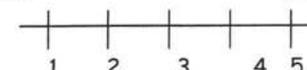


AMARGO



NARANJA

CASCARA



HOJA 2 Prueba de Análisis Descriptivo Cuantitativo (QDA)

Continué de izquierda a derecha observando y probando muestras restantes marcando con una X la intensidad del atributo. No se trague las muestras y enjuáguese entre muestra y muestra. MUCHAS GRACIAS.

Nombre: _____

Muestra _____

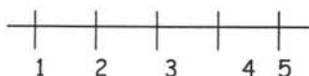
COLOR



CUERPO



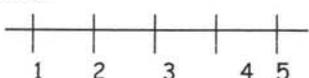
VISCOSIDAD



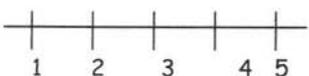
DULCE



ACIDO



AMARGO



NARANJA

CASCARA

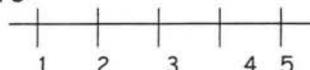


Muestra _____

COLOR



CUERPO



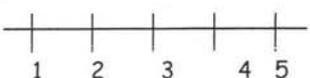
VISCOSIDAD



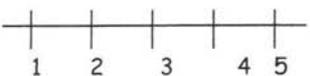
DULCE



ACIDO

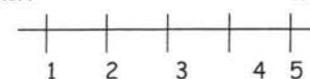


AMARGO



NARANJA

CASCARA



ANEXO 4. Resultados de las Evaluaciones de las Muestras

F1	Jueces	Color	Cuerpo	Dulce	Ácido	Amargo	Naranja
Sesión 1	1	2,0	4,0	3,0	1,4	2,6	2,6
	2	2,0	2,0	4,0	3,0	3,0	4,0
	3	2,0	4,0	3,0	2,5	1,0	4,0
	4	2,0	3,9	2,0	1,2	1,8	3,9
	5	2,0	4,0	4,0	2,0	3,0	4,0
	6	3,0	3,0	2,0	3,0	1,3	4,0
	7	2,4	2,0	2,0	1,5	1,5	1,5
	8	1,5	3,5	4,0	2,5	3,0	3,0
	9	1,0	4,0	3,5	1,7	2,5	5,0
	10	1,0	1,5	2,5	1,5	1,5	2,0
Sesión 2	1	1,8	4,1	2,5	1,2	1,9	2,2
	2	2,0	3,0	3,0	1,0	3,0	2,0
	3	3,1	3,0	2,0	3,0	4,0	4,0
	4	1,2	4,5	2,6	1,0	2,0	3,0
	5	1,2	3,2	2,1	1,2	2,5	3,0
	6	2,5	3,5	4,0	3,0	3,0	4,0
	7	2,2	2,0	2,5	1,5	1,2	2,0
	8	3,5	2,0	4,0	2,0	3,0	4,0
	9	3,2	2,5	4,5	1,2	3,2	4,0
	10	3,0	2,0	3,0	2,0	2,0	2,5
Sesión 3	1	3,0	3,0	2,0	1,0	4,0	3,0
	2	3,0	3,0	4,0	2,0	3,5	2,0
	3	3,0	4,0	3,0	1,5	2,0	4,0
	4	3,9	4,5	4,0	1,4	2,3	3,3
	5	3,0	2,0	4,0	1,5	3,0	2,0
	6	2,5	3,5	4,0	1,5	2,0	3,5
	7	2,5	2,0	5,0	1,0	4,0	4,0
	8	4,0	2,5	3,5	1,0	3,5	2,0
	9	4,0	2,0	5,0	1,0	4,0	4,0
	10	3,5	3,5	2,0	1,0	2,8	2,1
F2 Sesión 1	1	1,6	4,3	4,2	1,5	2,0	3,6
	2	2,0	3,0	4,0	1,0	3,0	4,0
	3	1,5	4,0	2,5	1,5	3,0	3,0
	4	1,1	5,0	1,9	1,5	1,7	1,3
	5	1,5	3,0	3,0	2,0	3,0	3,0
	6	2,0	2,0	4,0	1,8	1,9	3,8
	7	2,0	3,0	4,0	2,0	2,5	2,6
	8	2,2	2,4	3,2	3,0	2,5	2,5
	9	2,0	4,0	5,0	3,0	3,0	4,0
	10	2,0	2,5	2,5	2,0	1,0	2,5
Sesión 2	1	2,1	4,1	2,9	1,2	2,1	4,0
	2	2,0	4,0	3,0	1,0	4,0	4,0
	3	2,0	4,0	2,5	1,0	3,0	5,0
	4	1,5	4,5	3,5	1,5	1,5	3,5
	5	2,0	4,2	1,8	1,9	2,8	4,1

	6	2,5	3,5	4,5	2,0	3,5	4,0
	7	3,5	2,5	3,5	1,2	2,0	4,0
	8	2,0	2,8	2,5	2,0	3,0	4,0
	9	1,5	3,0	4,1	1,5	4,0	2,5
	10	1,0	2,5	2,0	1,0	4,0	4,0
Sesión 3	1	3,5	2,0	4,0	1,0	4,0	2,0
	2	2,0	2,0	2,5	1,0	3,0	4,0
	3	2,0	3,0	3,0	1,0	2,0	3,0
	4	2,5	1,8	3,0	1,3	3,3	3,5
	5	2,5	2,5	3,0	2,0	3,5	3,0
	6	3,0	2,0	4,0	1,5	2,0	4,0
	7	2,0	2,5	4,0	2,0	2,5	2,6
	8	3,0	2,0	3,0	1,5	2,0	4,5
	9	3,0	1,0	5,0	1,0	3,0	2,0
	10	4,0	2,5	4,5	1,5	2,0	3,5
F3 Sesión 1	1	2,0	4,1	3,5	1,2	2,0	3,2
	2	2,0	1,5	4,0	1,0	4,0	5,0
	3	2,0	4,0	3,0	1,4	2,5	3,0
	4	1,2	4,8	2,8	1,0	1,0	2,9
	5	2,0	3,0	3,0	2,0	3,0	3,0
	6	2,5	3,0	4,5	1,3	2,5	4,5
	7	2,5	1,8	5,0	1,0	4,0	5,0
	8	3,0	3,0	4,0	1,6	2,5	4,0
	9	1,5	4,3	5,0	1,5	4,0	4,0
	10	1,5	3,0	4,5	2,5	2,5	2,9
Sesión 2	1	1,0	4,0	2,5	1,2	1,2	2,0
	2	2,0	2,0	3,0	1,0	3,0	4,0
	3	3,0	2,0	2,5	1,0	1,0	3,0
	4	2,0	4,0	2,5	1,0	1,5	4,0
	5	2,8	2,0	3,1	1,0	1,8	3,0
	6	2,0	4,0	3,0	3,0	3,0	2,0
	7	1,5	2,0	4,0	1,2	1,2	3,0
	8	2,2	2,0	3,0	2,2	2,0	3,0
	9	2,5	2,2	3,5	1,8	1,2	4,8
	10	2,0	2,0	5,0	1,0	3,0	3,0
Sesión 3	1	2,0	1,0	4,0	1,5	4,0	3,0
	2	3,5	2,0	4,0	1,0	4,0	4,0
	3	3,0	2,5	3,0	1,0	2,0	4,0
	4	3,0	1,2	2,0	1,5	2,0	2,8
	5	2,0	1,5	4,0	1,5	4,0	3,5
	6	3,5	1,5	4,0	2,0	2,5	3,5
	7	2,5	1,2	5,0	1,0	4,0	5,0
	8	3,0	1,5	4,5	2,0	2,5	3,2
	9	2,5	1,0	3,0	1,0	4,0	5,0
	10	2,0	1,5	3,0	1,5	2,0	4,5

ANEXO 5. Resultados Promedios de las Evaluaciones de las Muestras por

Sesión

F 1	Evaluaciones					
Atributos	Color	Cuerpo	Dulce	Acido	Amargo	Naranja
Sesión 1	1.89	3.19	3.00	2.03	2.12	3.40
Sesión 2	2.37	2.98	3.02	1.71	2.58	3.07
Sesión 3	3.24	3.00	3.65	1.29	3.11	2.99
Promedio	2.50	3.06	3.22	1.68	2.60	3.15
Desviación	0.68	0.12	0.37	0.37	0.50	0.22
Coefficiente Variación	27.37	3.79	11.47	22.13	19.03	6.89

F1= formulación 1

F 2	Evaluaciones					
Atributos	Color	Cuerpo	Dulce	Acido	Amargo	Naranja
Sesión 1	1.79	3.32	3.43	1.93	2.36	3.03
Sesión 2	2.01	3.51	3.03	1.43	2.99	3.91
Sesión 3	2.75	2.13	3.60	1.38	2.73	3.21
Promedio	2.18	2.99	3.35	1.58	2.69	3.38
Desviación	0.50	0.75	0.29	0.30	0.32	0.46
Coefficiente Variación	23.03	25.04	8.73	19.25	11.75	13.74

F2= formulación 2

F 3	Evaluaciones					
Atributos	Color	Cuerpo	Dulce	Acido	Amargo	Naranja
Sesión 1	2.02	3.25	3.93	1.45	2.80	3.75
Sesión 2	2.10	2.62	3.21	1.44	1.98	3.18
Sesión 3	2.70	1.49	3.65	1.40	3.10	3.85
Promedio	2.27	2.45	3.60	1.43	2.63	3.59
Desviación	0.37	0.89	0.36	0.03	0.58	0.36
Coefficiente Variación	16.35	36.35	10.09	1.85	22.07	10.06

F3= formulación 3

Muestra de referencia (Safari)	Evaluaciones					
Atributos	Color	Cuerpo	Dulce	Acido	Amargo	Naranja
Sesión 1	1.3	4.5	2.1	2.7	2.6	3.6
Sesión 2	1.20	4.17	1.62	3.69	1.98	3.4
Sesión 3	1.20	4.00	2.25	3.59	1.61	1.71
Promedio	1.23	4.21	2.00	3.33	2.06	2.88
Desviación	0.05	0.24	0.33	0.54	0.49	1.02
Coefficiente Variación	4.03	5.67	16.65	16.15	23.97	35.37

ANEXO 6 Análisis de Varianza Restantes para cada Atributo.

Análisis de Varianza para el Atributo de ÁCIDO

Tabla 32. Estadístico de los Datos para el Atributo Ácido

Muestras	Mínimo	Máximo	Promedio	Varianza	Desviación Estándar
1	30	3.0	1.67667	0.456333	0.675524
2	30	3.0	1.58	0.294069	0.542281
3	30	3.0	1.43	0.26769	0.517387
Total	90	3.0	1.56222	0.342152	0.584938

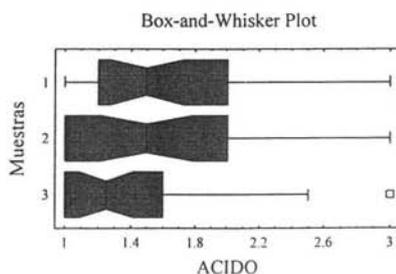
Tabla 33. Anova para el Ácido de las Muestras

Fuente	Suma de cuadrados	Df	Cuadrado Medio	F-Cociente	P-Valor
Entre los grupos	0.926889	2	0.463444	1.37	0.2606
Dentro de grupos	29.5247	87	0.339364		
Total (Corr.)	30.4516	89			

El F-cociente, que en este caso es igual a 1.36563, es el cociente de la estimación del componente entre los grupos y la estimación del componente dentro de los grupos. Puesto que el valor -P de la F-prueba es mayor que o igual a 0.05, entonces se concluye que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre el ÁCIDO de las muestras, con un nivel de confianza 95.0%. Debido a que las muestras no presentan diferencia en el atributo Ácido, no se llevo acabo el análisis de diferencias mínimas significativas (LSD)

La representación gráfica de los valores dados para cada muestra se pueden observar en la figura 5.

Figura 5.



En la representación gráfica Box and Whisker Plot se observa que en ninguna de las muestras presenta valores anómalos u "out liers".

Análisis de Varianza para el atributo de AMARGO

Tabla 34. Estadístico De Los Datos Para El Atributo Amargo

Muestras	Mínimo	Máximo	Promedio	Varianza	Desviación Estándar
1	30	4.0	2.60333	0.768609	0.876704
2	30	4.0	2.69333	0.63575	0.799109
3	30	4.0	2.59667	1.06999	1.0344
Total	90	4.0	2.63111	0.899134	0.899519

Tabla 35. Anova para el Atributo Amargo de las Muestras

Fuente	Suma de cuadrados	Df	Cuadrado Medio	F-Cociente	P-Valor
Entre los grupos	0.174889	2	0.0874444	0.11	0.8996
Dentro de grupos	71.838	87	0.825724		
Total (Corr.)	72.0129	89			

El F-cociente, que en este caso es igual a 0.1059, es el cociente de la estimación del componente entre los grupos y la estimación del componente dentro de grupos. Puesto que el valor -P de la F-prueba es mayor que o igual a 0.05, entonces se concluye que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre amargo de las muestras, con un nivel de confianza 95.0%. Debido a que las muestras no presentan diferencia en el atributo Amargo, no se llevo acabo el análisis de diferencias mínimas significativas (LSD)

La representación gráfica de los valores dados para cada muestra se pueden observar en la figura 6.

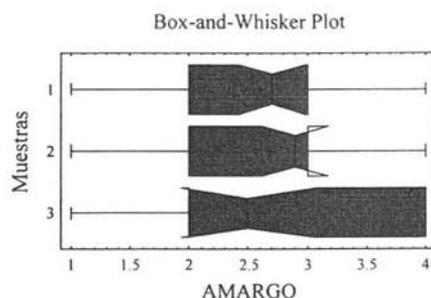


Figura 6. En la representación gráfica Box and Whisker Plot se observa que en ninguna de las muestras presenta valores anómalos u "out liers".

Análisis de Varianza para el atributo de DULCE

Tabla 36. Estadístico de los Datos para el Atributo Dulce

Muestras	Mínimo	Máximo	Promedio	Varianza	Desviación Estándar
1	30	5.0	3.22333	0.895644	0.946385
2	30	5.0	3.35333	0.788092	0.887745
3	30	5.0	3.59667	0.736885	0.85842
Total	90	5.0	3.39111	0.812954	0.90164

Tabla 37. Anova para el Atributo Dulce de las Muestras

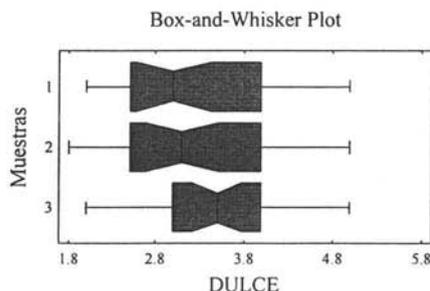
Fuente	Suma de cuadrados	Df	Cuadrado Medio	F-Cociente	P-Valor
Entre los grupos	2.15489	2	1.07744	1.34	0.2684
Dentro de grupos	70.1988	87	0.806874		
Total (Corr.)	72.3529	89			

El F-cociente, que en este caso es igual a 1.8553, es el cociente de la estimación del componente entre los grupos y la estimación del componente dentro de grupos. Puesto que el valor - P de la F-prueba es mayor que o igual a 0.05, entonces se concluye que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre el DULCE de las muestras, con un nivel de confianza 95.0%. Debido a que

las muestras no presentan diferencia en el atributo Dulce, no se llevo acabo el análisis de diferencias mínimas significativas (LSD)

La representación gráfica de los valores dados para cada muestra se pueden observar en la figura 7.

Figura 7.



En la representación gráfica Box and Whisker Plot se observa que en ninguna de las muestras presenta valores anómalos u "out liers".

Análisis de Varianza para el atributo de NARANJA

Tabla 38. Estadístico de los Datos para el Atributo Naranja

Muestras	Mínimo	Máximo	Promedio	Varianza	Desviación Estándar
1	30	5.0	3.15333	0.881195	0.93872
2	30	5.0	3.38333	0.71592	0.84612
3	30	5.0	3.59333	0.752368	0.867391
Total	90	5.0	3.37667	0.798213	0.893428

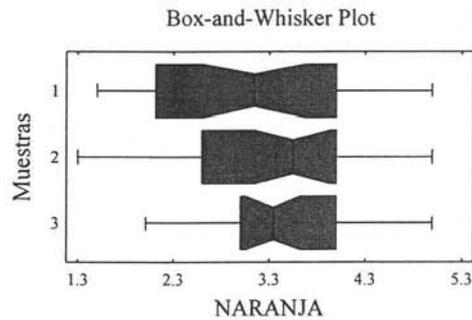
Tabla 39. Anova para el Atributo Naranja de las Muestras

Fuente	Suma de cuadrados	Df	Cuadrado Medio	F-Cociente	P-Valor
Entre los grupos	2.906	2	1.453	1.86	0.1625
Dentro de grupos	68.135	87	0.783161		
Total (Corr.)	71.041	89			

El F-cociente, que en este caso igual a 1.33533, es el cociente de la estimación del componente entre los grupos y la estimación del componente dentro de grupos. Puesto que el valor -P de la F-prueba es mayor que o igual a 0.05, entonces se concluye que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre el atributo de NARANJA en las muestras, con un nivel de confianza 95.0%. Debido a que las muestras no presentan diferencia en el atributo Naranja, no se llevo acabo el análisis de diferencias mínimas significativas (LSD)

La representación gráfica de los valores dados para cada muestra se pueden observar en la figura 8.

Figura 8.



En la representación gráfica Box and Whisker Plot se observa que en ninguna de las muestras presenta valores anómalos u "out liers".