

300627



**UNIVERSIDAD LA SALLE**

ESCUELA DE QUIMICA  
INCORPORADA A LA U.N.A.M.

4  
2ej

**“ALTERNATIVA DEL USO DE CAROTENOIDES  
EN LA COLORACION DE BEBIDAS  
CARBONATADAS”.**

**TESIS PROFESIONAL  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
PRESENTA  
BEATRIZ EUGENIA ARNAIZ GONZALEZ**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## INDICE GENERAL.

|                 | PAG. |
|-----------------|------|
| OBJETIVOS ..... | 1    |

### CAPITULO I

|                    |       |
|--------------------|-------|
| INTRODUCCION ..... | 2 - 5 |
|--------------------|-------|

### CAPITULO II

|                                                                                             |         |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| GENERALIDADES .....                                                                         | 6 - 76  |
| 2.1 Colorantes .....                                                                        | 6 - 11  |
| A) Definición .....                                                                         | 6       |
| B) Importancia de los Colorantes en la Industria Alimentaria .....                          | 6       |
| C) Clasificación de los Colorantes Alimenticios - según su Origen .....                     | 7       |
| 2.2 Carotenoides .....                                                                      | 12 - 38 |
| 2.2.1 Estudio de los Carotenoides .....                                                     | 12 - 30 |
| A) Definición .....                                                                         | 12      |
| B) Origen .....                                                                             | 12      |
| C) Estructuras Químicas y Clasificación .....                                               | 14      |
| D) Propiedades Físicas .....                                                                | 17      |
| E) Propiedades Químicas .....                                                               | 20      |
| F) Función en los organismos vivos .....                                                    | 22      |
| a) Vitamina A .....                                                                         | 23      |
| b) Relación entre estructuras de Carotenoides y Actividad de Vitamina A .....               | 24      |
| c) Trayectoria de Carotenoides en el organismo animal, Niveles de ingestión y Trastornos -- |         |

|                                                                                                                             |         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| que causa su deficiencia .....                                                                                              | 26      |
| 2.2.2 Aplicaciones y Estabilidad de Carotenoides en la Industria Alimentaria .....                                          | 31 - 38 |
| A) Carotenoides Naturales .....                                                                                             | 31      |
| B) Carotenoides Sintéticos .....                                                                                            | 33      |
| C) Estabilidad de Carotenoides .....                                                                                        | 35      |
| 2.3 Bebidas Carbonatadas .....                                                                                              | 39 - 76 |
| 2.3.1 Importancia de la Industria de Bebidas Carbonatadas en México .....                                                   | 39      |
| 2.3.1 Principales Componentes Fisicoquímicos de las Bebidas Carbonatadas y su Fundamento .....                              | 42      |
| 2.3.3 Proceso de elaboración de Bebidas Carbonatadas .....                                                                  | 57      |
| 2.3.4 Diferentes Colorantes utilizados en Bebidas Carbonatadas .....                                                        | 60      |
| A) Propiedades de cada Colorante y Tonalidades que ofrecen .....                                                            | 61      |
| B) Ventajas y Desventajas de Carotenoides en comparación con los Colorantes Sintéticos .....                                | 65      |
| 2.3.5 Deterioro de las Bebidas Carbonatadas y Precauciones que se deben observar durante su producción y manipulación ..... | 70      |

### CAPITULO III

|                                                             |         |
|-------------------------------------------------------------|---------|
| MATERIAL Y METODOS .....                                    | 77 - 97 |
| 3.1 Etapas del desarrollo experimental .....                | 77      |
| A) Ensayos de Fórmulas .....                                | 78      |
| A <sub>1</sub> ) Desarrollo de la Bebida Sabor Piña .....   | 81      |
| A <sub>2</sub> ) Desarrollo de la Bebida de Mandarina ..... | 88      |

|                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------|----|
| A <sub>3</sub> ) Desarrollo de la Bebida de Toronja ..... | 94 |
| 3.2 Determinaciones Analíticas efectuadas .....           | 95 |
| Objetivo .....                                            | 95 |
| Tipo de Análisis .....                                    | 95 |
| Material o Equipo empleado .....                          | 95 |

#### CAPITULO IV

|                  |          |
|------------------|----------|
| RESULTADOS ..... | 98 - 107 |
|------------------|----------|

#### CAPITULO V

|                 |           |
|-----------------|-----------|
| DISCUSION ..... | 108 - 114 |
|-----------------|-----------|

#### CAPITULO VI

|                                      |           |
|--------------------------------------|-----------|
| CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES ..... | 115 - 116 |
|--------------------------------------|-----------|

|                                         |     |
|-----------------------------------------|-----|
| Tabla de Abreviaciones y Símbolos ..... | 117 |
|-----------------------------------------|-----|

|                    |           |
|--------------------|-----------|
| BIBLIOGRAFIA ..... | 118 - 121 |
|--------------------|-----------|

## O B J E T I V O S

1.- Recopilar la información disponible referente a los Carotenoides como colorantes naturales ampliamente distribuidos en la naturaleza, así como sus aplicaciones en la Industria Alimentaria.

2.- Estudiar el comportamiento de algunos Carotenoides en las bebidas carbonatadas.

3.- Estudiar la capacidad de los Carotenoides para substituir a los colorantes artificiales en las bebidas carbonatadas, considerando las ventajas y desventajas físicas, químicas y nutricionales, así como toxicológicas de ambos tipos de colorantes.

C A P I T U L O I .

I N T R O D U C C I O N .

## I N T R O D U C C I O N

El color de un alimento es una de sus características más agradables e importantes, ya que constituye la primera impresión que nuestros sentidos captan, y es indispensable para facilitarnos una rápida identificación y aceptación del producto (1,2).

El color que ofrecen los alimentos se debe, en unos casos a la presencia natural de pigmentos, y en otros, a sustancias que se añaden intencionalmente para simular frescura o para hacerlos más atractivos a la vista. Estas sustancias reciben el nombre de "Colorantes Alimenticios" (2,3).

La coloración de los alimentos no es una invención de la sociedad -- contemporánea; desde hace probablemente tres mil años, el hombre empezó a agregar colorantes naturales (de origen vegetal, animal y mineral) a sus alimentos (4).

En el año 1856 se descubrieron los colorantes sintéticos, cuando se observó que algunos compuestos en su mayoría pertenecientes a los grupos químicos AZO y TRIFENIL METANO, tenían propiedades colorantes y su producción resultó ser mucho más fácil y barata que la obtención de los pigmentos naturales (5,6).

Así, hacia 1900, éstos colorantes sintéticos ya se empleaban en grandes cantidades en la industria alimentaria, y substituyeron, casi en su totalidad a los colorantes naturales, muy usados en otras épocas.

A raíz del uso indiscriminado que los procesadores de alimentos empezaron a dar a estas substancias, surgieron problemas de salud en los consumidores de alimentos teñidos con ellos, y se comprobó que la estructura de los colorantes fabricados por el hombre no siempre resulta inocua para el organismo, y que los colorantes azoicos, pueden llegar a desprender su grupo nitrogenado durante el metabolismo, y dar origen a substancias cancerígenas como la B-naftil y el 2 amino - 1 - naftol (7).

Fué entoncés cuando las autoridades correspondientes decidieron establecer listas de aditivos legalmente permitidos, en las cuales solamente a parecían las substancias que se aprobaran como no riesgosas para la salud, junto con las dosis máximas permitidas para su aplicación en alimentos.

Para ello, en 1938, la Administración de Drogas y Alimentos (FDA), en Los Estados Unidos, estableció que cada colorante debía poseer un nombre oficial, además de su nombre comercial común (8,9).

A su vez, las substancias empleadas por la industria alimentaria, farmacéutica o de cosmeticos, deben de estar registradas en el "Color Index", que otorga un numero de identificación a cada colorante, a nivel mundial - (10). Así tenemos:

| <u>Nombre Comercial Común</u> | <u>Nombre Oficial (FDA)</u> | <u>Numero (C.I.)</u> |
|-------------------------------|-----------------------------|----------------------|
| Ponceau .....                 | Rojo No. 40 .....           | 16035                |
| Tartracina .....              | Amarillo No. 5 ....         | 19140                |
| Sunset Yellow FCF ....        | Amarillo No. 6 ....         | 15985                |

(Colorantes muy usados en la industria refresquera (11,12) ).

A pesar de los intentos de las autoridades por regular el uso de los colorantes a nivel mundial, hasta la fecha, existen controversias entre los diferentes países, acerca de la inocuidad de algunos de éstos aditivos; tal es el caso del Rojo No. 40 (colorante azoico) permitido por las autoridades de Estados Unidos y de México, para aplicación en alimentos, mientras que en Rusia se han publicado artículos que indican que se trata de una substancia nociva para la salud (12).

Bajo tales circunstancias, en la actualidad surge la inquietud pública acerca de la seguridad del uso y toxicidad de éstos colorantes aplicados en alimentos, que a su vez, origina una legislación cada vez más estricta y abre la posibilidad de que se restrinjan o suspendan sus aplicaciones en la industria alimentaria (13,14).

Como respuesta a ésta acción, los procesadores de alimentos empiezan a reconsiderar el uso de colorantes naturales, ya que son en su mayoría substancias estables e inocuas al organismo humano, pues éste cuenta con un sistema capaz de metabolizar y desechar cualquier materia de origen natural (15,16).

A raíz de la problemática que representaría el suspender uno o varios colorantes para la industria alimentaria, considero de gran trascendencia el estudio a realizar, en el cual se considera la alternativa del uso de carotenoides como substitutos de algunos pigmentos artificiales, actualmente utilizados en la industria de bebidas carbonatadas y alimentos en general.

Los Carotenoides son substancias colorantes naturales ampliamente -- distribuidas en los reinos vegetal y animal, y cubren un espectro de coloración que va del amarillo claro al rojo intenso. El color y la brillantez que ofrecen éstos a los alimentos, depende de la variedad de la fruta, de su estado de madurez, la región en que se cultiva, así como de las variaciones climatológicas (16).

El desarrollo tecnológico de coloraciones ha hecho posible la síntesis de Carotenoides idénticos a los naturales, que resultan apropiados para la coloración de jugos de fruta y bebidas carbonatadas. Los colores -- que se obtienen con éstos colorantes son estables por largos períodos de tiempo, aún cuando son expuestos a la luz directa del sol y a la presencia de grandes cantidades de Vitamina C, la cual se adiciona frecuentemente como un preservador del sabor; condiciones bajo las cuales, la retención de color de los azo-compuestos es muy pobre (12,14).

Una ventaja del empleo de Carotenoides como colorantes en alimentos, es la capacidad que poseen algunos de ellos, en especial el B-caroteno, para degradarse a Vitamina A en las paredes del intestino delgado, lo cual convierte al alimento coloreado en una fuente de vitaminas (17,18).

Debido a las razones expuestas se pretende estudiar el empleo de carotenoides para substituir a los colorantes artificiales: Rojo No.40, Amarillo No. 5 y Amarillo No. 6, que se emplean en la elaboración de bebidas carbonatadas en México.

## C A P I T U L O   I I .

### G E N E R A L I D A D E S .

- 2.1 Colorantes.
- 2.2 Carotenoides.
- 2.3 Bebidas Carbonatadas.

## GENERALIDADES.

### 2.1 COLORANTES

#### A) Definición de Colorantes.

La legislación mexicana define colorante como la sustancia que se obtiene de vegetales, animales o minerales, o bien por síntesis, empleada para impartir o acentuar el color (19).

#### B) Importancia de los Colorantes en la Industria Alimentaria.

Todos los productos alimenticios tienen un color asociado, aceptable para el consumidor en base a su nivel social, de educación, geográfico, etc. Un cambio de tono en el color esperado, afecta la apreciación de las demás características, y por tanto, de la calidad de un alimento, aún antes de consumirlo (20).

Así, el color del alimento y de la envoltura en que éste se presenta, pueden aumentar o disminuir significativamente el apetito por él, así como conducir a que se consuma con placer o que se evite (8).

Como podemos darnos cuenta el color juega un papel muy importante en nuestro juicio, y debido a esto los procesadores de alimentos comprendieron la necesidad de agregar colorantes a sus productos, con el fin de garantizar un color homogéneo y agradable en sus productos (8).

C) Clasificación de los Colorantes Alimenticios según su origen.

Según la fuente de donde provienen, podemos clasificar a los colorantes en dos grupos: Colorantes Naturales y Colorantes Sintéticos.

a) Colorantes Naturales.— son sustancias de origen vegetal, animal, mineral, o bien derivados sintéticos de ellas (como es el caso de los carotenoides) (3,15).

La legislación mexicana cataloga a éste grupo con el nombre de "Colorantes Orgánicos Naturales", y en él sólo incluyen a las sustancias de origen vegetal o animal; de ésta manera consideran como otro grupo a los colorantes de origen mineral.

En los Estados Unidos, la FDA cataloga a éste grupo como "Colorantes Excentos de Certificación". En la Tabla No. 1 se muestran los colorantes naturales que se permiten para aplicación en alimentos en E.U., y posteriormente las diferencias con la lista de México (8,19).

TABLA No. 1.

**COLORANTES NO CERTIFICADOS PERMITIDOS EN ALIMENTOS. (Abril de 1986).**

| <u>COLORANTE.</u>                                     | <u>RESTRICCIÓN.</u>                                                                 |
|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| Extracto de annato.....                               | -                                                                                   |
| Beta-Caroteno.....                                    | -                                                                                   |
| Polvo de Betabel .....                                | -                                                                                   |
| Caramelo .....                                        | -                                                                                   |
| Aceite de Zanahoria .....                             | -                                                                                   |
| Extracto de cochinilla .....                          | -                                                                                   |
| Harina de semillas de Algodón .....                   | -                                                                                   |
| Jugo de fruta .....                                   | -                                                                                   |
| Paprika y su oleorresina .....                        | -                                                                                   |
| Riboflavina .....                                     | -                                                                                   |
| Saffron .....                                         | -                                                                                   |
| Cúrcuma y su oleorresina .....                        | -                                                                                   |
| Jugo Vegetal .....                                    | -                                                                                   |
| *Extracto coloreado de uva.....                       | Para alimentos, no en bebidas.                                                      |
| Extracto de cáscara de uva.....                       | Para bebidas instantáneas y carbonatadas, bases de refrescos y bebidas alcohólicas. |
| *Gluconato ferroso.....                               | Solamente en aceitunas maduras.                                                     |
| *Dióxido de Titanio.....                              | 1 % máx.                                                                            |
| *Cantaxantina .....                                   | .0066 % máx.                                                                        |
| Beta-apo-8'-carotena).....                            | .0033 % máx.                                                                        |
| *Tagetes (caléndula azteca en harina y extracto)..... | Solo en alimento de pollos.                                                         |
| *Harina de alga seca.....                             | Solamente en alimento de pollos.                                                    |
| *Aceite de endospermo de maíz.....                    | Solamente en alimento de pollos.                                                    |
| *Azul ultramarino.....                                | Para alimento animal (0.5% máx.)                                                    |
| *Óxido de hierro sintético.....                       | Sólo para alimento de gatos y perros (0.25% máx.)                                   |

Fuente: Code of Federal Regulations Food and Drugs, 1986. (21).

- REGULACIONES MEXICANAS. -

La lista de colorantes permitidos en México para aplicación en alimentos, publicada en 1988 se parece mucho a la anterior, pero muestra las siguientes variantes:

- Incluye también a la Clorofila y algunas Xantofilas (flavoxantina, rubixantina, zeaxantina, así como productos aprobados que las contengan).
- Algunos colorantes que aparecen listados en la Tabla No. 1, no se encuentran especificados en la Lista de Colorantes Orgánicos Naturales permitidos en México, tal es el caso de los productos marcados con el símbolo (\*).
- La legislación mexicana cataloga a algunos colorantes naturales como "Colorantes de origen Orgánico Mineral y Mineral", tales son los compuestos marcados con la simbología de (°).

b) Colorantes Sintéticos.- son compuestos de estructura conocida que son producto de una síntesis química; éstas sustancias deben cumplir con especificaciones de pureza rigurosas.

Las legislaciones mexicanas los clasifican bajo el nombre de "Colorantes Orgánicos Sintéticos" o "Artificiales" para alimentos (19).

La FDA los clasifica como "Colorantes Certificados", y a su vez, los subdivide en dos grupos:

- 1.- Colorantes sujetos a Certificación, permanentemente listados.
- 2.- Colorantes Provisionalmente listados (22).

En la Tabla No. 2 se encuentra la Lista de Colorantes Artificiales -- permitidos en Estados Unidos para aplicarse en alimentos, y posteriormente la comparación con la lista de los permitidos en México.

TABLA No. 2.

COLORANTES SUJETOS A CERTIFICACION PARA USO EN ALIMENTOS (FDA Abril de 1987).

PERMANENTEMENTE LISTADOS

FD&C Azul No. 1  
FD&C Azul No. 2  
FD&C Verde No. 3  
FD&C Rojo No. 3  
FD&C Rojo No. 40  
FD&C Amarillo No. 5  
\*FD&C Amarillo No. 6  
Rojo Cítrico No. 2 .....(máx.2 ppm., sólo para cáscaras de naranjas).  
\*Naranja B.....(máx.150 ppm., sólo para la superficie de salchichas Fráncfort).

PROVISIONALMENTE LISTADOS

FD&C Azul No. 1 (Iaca)  
FD&C Azul No. 2 (Iaca)  
FD&C Verde No. 3 (Iaca)  
FD&C Rojo No. 3 (Iaca)  
FD&C Rojo No. 4 (Iaca)  
FD&C Amarillo No. 5 (Iaca)  
FD&C Amarillo No. 6 (Iaca)

FD&C significa permitido para alimentos, drogas y cosméticos.

Fuente: Codex Regulations 1987. (22).

Los colorantes mencionados con anterioridad como "Permanentemente Listados", corresponden a los que se permiten en México para aplicación en -- alimentos, excepto los marcados con (\*).(19).

Cabe aclarar que aunque el Reglamento de Aditivos para Alimentos pu-- blicado en Enero de 1988 no menciona a los colorantes: Rojo No. 6, Amari-- llo No. 6 y Rojo No. 5, éstos se utilizan en México para alimentos con - la autorización de la Secretaría de Salud.

## 2.2 CAROTENOIDES

### 2.2.1 ESTUDIO DE LOS CAROTENOIDES.

#### A) Definición.

El nombre genérico "Carotenoides" deriva de CAROTENO (Carotina ----  $C_{40}H_{56}$ ), pigmento de la zanahoria, fuente de la que se extrajo por primera vez (23).

Los carotenoides son pigmentos naturales, liposolubles, responsables de los colores amarillos, anaranjados y rojos de frutas, bayas comestibles, vegetales, hongos, flores, microorganismos y de algunos animales que los adquieren por ingestión de productos vegetales (24,25).

#### B) Origen de los Carotenoides.

Existen más de doscientos carotenoides naturales de estructura conocida, así como algunos que se modifican químicamente para emplearlos como colorantes alimenticios; la suma total de ambos grupos es aproximadamente de cuatrocientos (24).

Se estima que anualmente se producen cien millones de toneladas de estos pigmentos, considerando sólo fuentes naturales. La mayor parte de esta producción se presenta en cuatro formas principales:

FUCOXANTINA: sin duda el carotenoides natural más abundante, presente en algas marinas.

TULEINA, VIOLAXANTINA, NEDOXANTINA: presentes en hojas verdes.

El  $\beta$ -caroteno y la Zeaxantina se encuentran ampliamente distribuidos, y los restantes constituyen el pigmento principal de un organismo particular, por lo que en comparación con los anteriores, se considera que se producen en pequeñas cantidades (25).

Generalmente los vegetales contienen una mezcla compleja de carotenoides que les dan el color total. El contenido de estos pigmentos en el fruto verde e inmaduro es pequeño, pero se incrementa alrededor de cien veces durante el proceso de maduración.

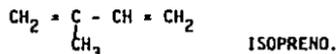
En los vegetales superiores, algas y bacterias, los carotenoides se encuentran junto con la clorofila, en los tejidos fotosintéticos (la clorofila, más abundante e intensa en color, generalmente enmascara a los carotenoides), también están presentes en otros cromoplastos, o, libres en gotitas de agua (26,27)

En los animales, los carotenoides se encuentran como lípidos en células especializadas (como la piel de las truchas), disueltos en la grasa del cuerpo (vacas), o como cromoproteínas (huevos de langosta). Estos compuestos generalmente se almacenan en el hígado, gónadas, piel y alas (28).

### C) Estructuras Químicas y Clasificación de Carotenoides.

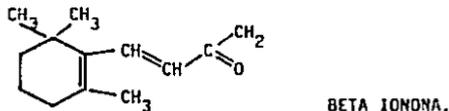
a) ESTRUCTURAS.- Los carotenoides son cadenas de hidrocarburos --- grandemente insaturadas que tienen afinidad hacia grasas y lípidos, y deben su color a una cadena de dobles enlaces conjugados en su molécula (29).

Generalmente contienen cuarenta átomos de carbono, y once o más dobles enlaces conjugados, son tetraterpénicos y se pueden considerar como la unión lineal sucesiva de ocho unidades de isopreno, por medio de dobles enlaces (4,23).



La unión de estas unidades es de la forma "cabeza-cola", pero el centro de la molécula está siempre formado por dos de ellas unidas "cola-cola", así, el esqueleto  $\text{C}_{40}$  visto como un todo es simétrico; los grupos metilo que sobresalen de la cadena, asumen una relación 1:5, y los dos metilos centrales están en relación 1:6 (4,29).

Las cadenas frecuentemente terminan, en uno o en ambos extremos, en un anillo de ionona (anillo de hexametileno, con un doble enlace).



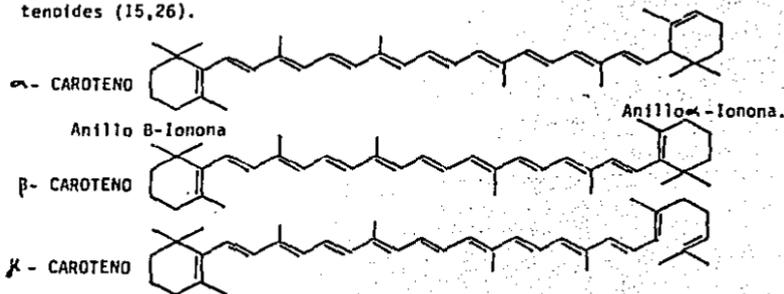
Tanto los grupos terminales de la cadena alifática que varían para los diferentes carotenoides, como el sistema de dobles enlaces conjugados que está sujeto a una isomerización cis-trans, originan cambios en algunas características. como: afinidad de adsorción, color, grados de solubilidad y potencia como provitamina A (30).

La mayoría de los carotenoides que encontramos en la naturaleza tienen configuración **TRANS**, aunque algunos sufren isomerización espontánea a la forma **CIS** ante la presencia de luz y/o calor (31).

La abertura de los anillos, o el aumento de conjugación de los enlaces, produce un cambio de color hacia rojo, mientras que la epoxidación o pérdida de conjugación, producen colores amarillos (15).

b) CLASIFICACION DE CAROTENOIDES. - Los carotenoides se dividen en dos grupos: Carotenos y Xantófilas.

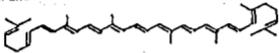
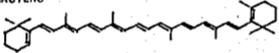
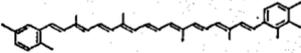
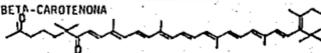
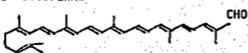
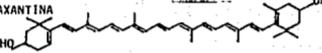
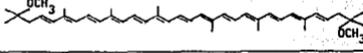
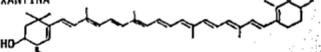
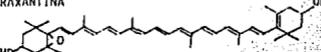
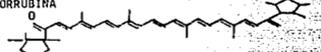
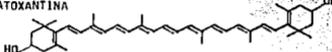
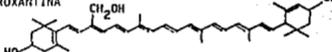
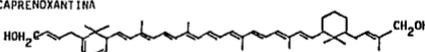
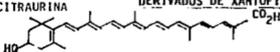
Los CAROTENOS, que incluyen a todos los carotenoides hidrocarbonados, se presentan como tres isómeros fundamentales:  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . El más común de estos isómeros es el  $\beta$ -caroteno ( $C_{40}H_{56}$ ), que presenta dos anillos de ionona unidos a través de una cadena isoprenoide intermedia, con diez dobles ligaduras conjugadas que contribuyen a la estabilidad y color de los carotenoides (15,26).



La diferencia química entre los isómeros  $\alpha$  y  $\beta$  estriba en la posición de una doble ligadura en el segundo anillo, mientras que el isómero  $\gamma$  tiene solamente un grupo cíclico cerrado (15).

Las XANTOFILAS son estructuras muy parecidas a la del  $\beta$ -caroteno, pero tienen un hidroxilo en el segundo anillo el cual puede esterificarse con varios ácidos grasos, por tal motivo se les considera derivados oxigenados de los carotenos, y pueden presentarse como alcoholes, cetonas o ésteres de ellos (32).

ESTRUCTURAS DE ALGUNOS CAROTENOIDEOS, SU CLASIFICACION QUIMICA Y SU ORIGEN.

| NOMBRE Y FORMULA.                                                                                                                                                           | CLASIFICACION QUIMICA Y ORIGEN.                                                                                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>LICOPENO</p> <p style="text-align: center;"><u>CAROTENOS.</u></p>                        | <p>Caroteno cíclico.</p> <p>Zanahorias, tomates.</p>                                                                              |
| <p>β-CAROTENO</p>                                                                           | <p>Caroteno alicíclico.</p> <p>Plantas superiores, bacterias, hongos y algas.</p>                                                 |
| <p>RENTERATENO</p>                                                                          | <p>Caroteno aromático.</p> <p>Esponjas. especies de micobacterium.</p>                                                            |
| <p style="text-align: center;"><u>CAROTENOS DEGRADADOS.</u></p> <p>SEMIBETA-CAROTENONA</p>  | <p>Secocarotenoido.</p> <p>Oxidación del β-Caroteno.</p>                                                                          |
| <p>APO-β'-LICOPENAL</p>                                                                     | <p>Apocarotenoide.</p> <p>Derivado del Licopeno.</p>                                                                              |
| <p>RETINAL</p>                                                                              | <p>Terpeno que proviene de la degradación del β-caroteno.</p> <p>En el aceite de hígado de ballena.</p>                           |
| <p style="text-align: center;"><u>XANTOFILAS.</u></p> <p>ZEAXANTINA</p>                     | <p>Bacterias, algas, invertebrados marinos.</p>                                                                                   |
| <p>ESPIRILOXANTINA</p>                                                                     | <p>Carotenoide alicíclico.</p> <p>Bacterias <i>athiorhodaceae</i> y algunas <i>thiorhodaceae</i>.</p>                             |
| <p>ASTAXANTINA</p>                                                                          | <p>Carotenoide alicíclico.</p> <p>Algas no fotosintéticas, bacterias y crustáceos.</p>                                            |
| <p>ANTERAXANTINA</p>                                                                        | <p>Carotenoide epóxido.</p> <p>Plantas superiores y algas.</p>                                                                    |
| <p>CAPSORRUBINA</p>                                                                         | <p>Carotenoide cetona ciclopentilo.</p> <p>En pimientos.</p>                                                                      |
| <p>DIATOXANTINA</p>                                                                        | <p>Carotenoide acetilénico.</p> <p>Algas verdes y animales marinos.</p>                                                           |
| <p>LOROXANTINA</p>                                                                        | <p>Carotenoide metiloxidado.</p> <p>Algas verdes.</p>                                                                             |
| <p>DECAPRENOXANTINA</p>                                                                   | <p>Carotenoides Superiores. (C<sub>45</sub>H<sub>50</sub>).</p> <p>Bacterias fotosintéticas Gram (+) y <i>Flavobacterias</i>.</p> |
| <p style="text-align: center;"><u>DERIVADOS DE XANTOFILAS</u></p> <p>β-CITRAURINA</p>     | <p>Apocarotenoide derivado de Zeaxantina.</p>                                                                                     |

#### D) Propiedades Físicas de los Carotenoides.

- Los Carotenoides son pigmentos que presentan coloraciones que van - del amarillo al rojo.
- Poseen altos puntos de fusión.
- En atmósfera inerte, son estables al calentamiento.
- Se disuelven rápidamente en grasas y los disolventes de éstas; y dí . ficilmente en el éter de petróleo y alcohol.(33).  
(En la Tabla No. 4 se dan los datos de solubilidad de carotenoides).
- Presentan espectros de absorción típicos en la región azul-verde.
- Al microscopio, el caroteno se presenta como cristales en forma de agujas, prismas y husos amarillos, según el solvente que se utilice. En la Tabla No. 5 se encuentran los principales datos físicoquímicos de los carotenoides más utilizados en la industria alimentaria (34,35).

TABLA No. 4.

CUADRO DE SOLUBILIDADES DE ALGUNOS CAROTENOIDES EN LOS PRINCIPALES SOLVENTES .

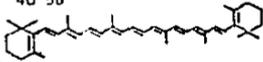
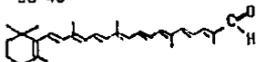
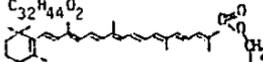
Solubilidad en gramos/100 ml. de solución a 20°C.

| SOLVENTE                         | $\beta$ -CAROTENO | B-AP0-8'-CAROTENAL | ESTER ETILICO DEL ACIDO B-AP0-8'-CAROTENOICO. | CANTAXANTINA                       |
|----------------------------------|-------------------|--------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------|
| Cloroformo                       | Aprox. 3          | Aprox. 20          | Aprox. 30                                     | Aprox. 10                          |
| Benceno                          | Aprox. 2          | Aprox. 12          | Aprox. 16                                     | Aprox. 0.2                         |
| Aceite de naranja                | 0.2 - 1.0         | 3.1                | 3.4 - 4.4                                     | Aprox. 0.04                        |
| Cloruro de metileno              | Aprox. 0.5        | Aprox. 25          | Aprox. 25                                     | Aprox. 3                           |
| Disulfuro de carbono             | Aprox. 0.5        | Aprox. 1.8         | Aprox. 15                                     | Aprox. 0.4                         |
| Acetona                          | Aprox. 0.1        | Aprox. 1.8         | Aprox. 1.2                                    | Aprox. 0.03                        |
| Eter                             | Aprox. 0.1        | Aprox. 1.5         | Aprox. 2.5                                    | Aprox. 0.03                        |
| Ciclohexano                      | Aprox. 0.1        | Aprox. 0.8         | Aprox. 2                                      | Debajo 0.01                        |
| Eter de petróleo<br>(80 - 105°C) | Aprox. 0.1        | Aprox. 0.4         | Aprox. 0.7                                    | Debajo 0.01                        |
| Grasas y aceites                 | 0.05 - 0.08       | 0.7 - 1.5          | (aceite cacahuete)<br>Aprox. 0.7              | (aceite cacahuete)<br>Aprox. 0.005 |
| Etanol                           | Debajo 0.01       | Aprox. 0.1         | Debajo 0.1                                    | Debajo 0.01                        |
| Metanol                          | Debajo 0.01       | Debajo 0.1         | Aprox. 0.5                                    | Debajo 0.01                        |
| Agua                             | Insoluble         | Insoluble          | Insoluble                                     | Insoluble                          |
| Glicerol                         | Insoluble         | Insoluble          | Insoluble                                     | Insoluble                          |

Fuente: Kläui (18).

TABLA No. 5.

CUADRO DE DATOS FISICOS Y QUIMICOS DE LOS PRINCIPALES CAROTENOIDES UTILIZADOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA.

| DENOMINACION QUIMICA                             | FORMULAS EMPIRICA Y DESARROLLADA, Y PESO MOLECULAR.                                                                   | PUNTO DE FUSION. | MAXIMOS DE ESPECTROS DE ABSORCION.* | ACTIVIDAD DE VITAMINA A (UI/g.). | COLOR DE PRODUCTO PURO CRISTALINO | MATICES QUE SE OBTIENEN *     |
|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|-------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| β-CAROTENO (trans)                               | $C_{40}H_{56}$<br><br>P.M. 536.89    | 176 - 182°C      | 456 y 485 nm.<br>(aprox.)           | 1.6 millones<br>(aprox.)         | Marrón - Rojizo.                  | Amarillo a Naranja            |
| β-APO-β'-CAROTENAL (trans)                       | $C_{30}H_{40}O$<br><br>P.M. 416.65   | 136 - 140°C      | 461 y 488 nm.<br>(aprox.)           | 1.2 millones<br>(aprox.)         | Gris - Violeta                    | Naranja a Rojo                |
| ESTER ETILICO DEL ACIDO β-APOCAROTENOICO (trans) | $C_{32}H_{44}O_2$<br><br>P.M. 460.72 | 134 - 138°C      | 449 y 475 nm.<br>(aprox.)           | 0.4 millones<br>(aprox.)         | Rojo herrumbre                    | Amarillo a Amarillo - naranja |
| CANTAXANTINA (trans)                             | $C_{40}H_{52}O_2$<br><br>P.M. 556.75 | 210°C            | 470 nm.<br>(aprox.)                 | ----                             | Marrón Violeta                    | Rojo                          |

(\*) En ciclohexano y en productos comerciales, respectivamente.

(\*) Depende de la concentración de colorante.

Fuente: Kläui (18).

### E) Propiedades Químicas de Carotenoides.

Como los carotenoides son compuestos altamente insaturados, muestran un comportamiento muy inestable, son sensibles a la oxidación, autooxidación, luz, calor, presencia de peróxidos, ácidos, y en algunos casos a los álcalis (26, 27).

OXIDACION. Los factores que favorecen la oxidación son:

- Presencia de luz.
- Presencia de oxígeno o reactivos fuertemente oxidantes.
- Altas temperaturas ( en ausencia de aire, los carotenoides no se oxidan, pero sufren cambios estereoisoméricos ) (30).
- Presencia de catalizadores metálicos (cobre, fierro, manganeso).
- La autooxidación de las grasas en los alimentos, debido a dos factores: la presencia de radicales hidroperóxido que se desprenden; y - la presencia de enzimas, tales como la LIPOXIGENASA, que cataliza la oxidación de grasas y carotenoides (24).

Los carotenoides son mucho más estables frente a la oxidación, en su forma natural que en los sistemas puros; sin embargo, existen factores que los afectan, tales como ciertas condiciones climatológicas y de almacenaje.

La oxidación, seguida de una desintegración, se inicia siempre en un extremo abierto de la molécula, antes que en el anillo terminal de ionona. Las dobles ligaduras se saturan, se rompen, y el color y la potencia de -- provitamina, van desapareciendo; esto ocurre más rápidamente en ausencia - de agua (30,33).

AUTOOXIDACION. Como los carotenoides absorben oxígeno, catalizan su propia oxidación.

LUZ. En especial la luz solar y la ultravioleta, causan fotoisomerización cis-trans, que a su vez conduce a la fotodestrucción de los carotenoides.

CALOR. Altas temperaturas fragmentan la molécula de caroteno en los puntos de unión de los anillos de ionona. Temperaturas superiores a los 60°C, originan isomerización cis-trans. A temperatura ambiente, también se presenta la isomerización, pero muy lentamente.

PEROXIDOS. Originan que el carotenoide se epoxide.

ACIDOS. Producen cambios hipsocrómicos: la longitud de onda del carotenoide cambia, debido a las reacciones de isomerización que transforman los dobles enlaces, los cuales, absorben a diferente longitud de onda que los enlaces originales.

ALCALIS. Algunos de ellos oxidan la molécula carotenoide.

Otros factores que atacan a los carotenoides son los rayos gamma, los cuales causan su destrucción por reacciones secundarias.

En gran variedad de organismos, los carotenoides se encuentran asociados con proteínas en forma de COMPLEJOS caroteno-proteína naturales, que ofrecen las siguientes ventajas:

- Son solubles en agua.
- Presentan una mayor estabilidad a la luz.
- Extienden el rango de color hasta verde, púrpura, azul y negro.

También se les puede encontrar asociados con la fracción lipídica de las lipoproteínas, con colores que van del rojo al púrpura.

Estos complejos naturales se destruyen por calentamiento o tratamiento con solventes solubles en agua, con lo cual, disminuye la estabilidad del carotenoide (29,35).

#### F) Función de los Carotenoides en los Organismos Vivos.

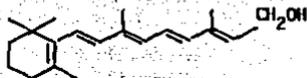
Además de proporcionar color, los carotenoides participan en diversos procesos metabólicos de interés:

- En plantas: - contribuyen a la fotosíntesis.- absorben la luz y transmiten a la clorofila, la energía luminosa acumulada.
- Fotoprotección.- protegen a las células de los efectos dañinos de la luz (24,28).
- En animales: - algunos carotenoides, en especial el  $\beta$ -caroteno, se transforman en vitamina A, por lo que se les conoce como PROVITAMINAS A (27).

Las plantas y microorganismos sintetizan sus propios carotenoides; -- los animales superiores, necesitan adquirirlos de fuentes alimentarias. -- Así, el caroteno del pasto es el que se encuentra disuelto en la grasa del cuerpo de la vaca, mismo que se transforma a Vitamina A y se almacena en el hígado del ganado. La vitamina pasa después a los productos lácteos (28).

## VITAMINA A.

a) GENERALIDADES. La Vitamina A, Retinol o Vitamina A<sub>1</sub>, es un alcohol insaturado que se considera producto de oxidación de media molécula de caroteno (27). Fórmula empírica: C<sub>20</sub>H<sub>29</sub>OH.  
Peso Molecular: 294.



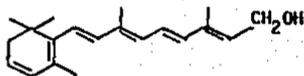
RETINOL.

FUNCION. El retinol es un nutriente esencial para el hombre y todas las especies de mamíferos. Fisiológicamente se caracteriza por su capacidad de producir crecimiento en ratas y curar la Xeroftalmia; pero, su verdadero papel fisiológico es mucho más amplio y complejo.

Su función biológica más conocida es la formación del pigmento visual llamado RODOPSINA, complejo de una proteína con esta vitamina, esencial para que la visión en la penumbra pueda efectuarse (26).

ORIGEN. En la naturaleza el retinol sólo ocurre en el organismo animal acompañado en menor cantidad de un isómero mono cis: Neovitamina A. Esta tiene aproximadamente 75% de la potencia biológica de la Vitamina A (según la prueba de crecimiento de la rata) (4).

En los peces de agua dulce se encuentra un derivado de la Vitamina A que presenta un doble enlace más conjugado en el anillo, y con propiedades fisiológicas comparables a la primera; a éste derivado se le denomina Vitamina A<sub>2</sub>, y presenta un 40% de la actividad biológica de la A<sub>1</sub> (36).



VITAMINA A<sub>2</sub>.

El hombre y los animales de granja adquieren la Vitamina A como tal, de fuentes alimentarias animales, como producto sintético, o como uno de los diez carotenoides provitamínicos presentes en vegetales, de los cuales, la mayor parte se encuentra como  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  caroteno y Criptoxantina (37).

#### b) RELACION ENTRE ESTRUCTURA DE CAROTENOIDES Y ACTIVIDAD DE VITAMINA.

El isómero todo trans de la Vitamina A y de las provitaminas es el más potente en cuanto a su actividad estimulante del crecimiento, y las formas químicas que puede adquirir son de: alcohol, aldehído, ácido y, esterificado con ácido palmítico (15).

Las premisas esenciales para la actividad provitamínica A son:

- un anillo de  $\beta$ -ionona no sustituido (ópticamente inactivo).
- una cadena lateral no saturada, equivalente por lo menos, a la de la Vitamina A.

Generalmente cualquier cambio en la molécula (excepto en el  $C_{15}$  terminal, o la dehidrogenación, es decir, introducir otro doble enlace conjugado en el anillo de  $\beta$ -ionona (Vitamina  $A_2$ )) reduce considerablemente la potencia para promover el crecimiento en ratas (29).

La actividad de la Vitamina A es completamente eliminada por:

- saturación de una cadena lateral de doble enlace,
- cambio de grupo metilo en el  $C_{13}$ ,
- acortamiento de la cadena lateral.

Aunque el  $\beta$ -caroteno, estructuralmente esté formado por dos mitades de Vitamina A. simétricamente enlazadas en sus carbonos de cadena lateral

terminal, la fisión cuantitativa del  $\beta$ -caroteno en dos moléculas de retinol, solo puede ocurrir cuando está presente la debida cantidad de  $\alpha$ -tocopherol; por tanto, las normas de actividad internacional señalan una relación de 1:2 entre Vitamina A y  $\beta$ -caroteno, en base a peso; y, 1:1, en base molar (30).

Así tenemos que la potencia de transformación de carotenoides a Vitamina A, según pruebas realizadas en pollos y ratas es como sigue:

TABLA No. 6

**POTENCIA DE TRANSFORMACION DE CAROTENOIDES A VITAMINA A.**

| <u>CAROTENOIDE</u>                | <u>POTENCIA BIOLÓGICA</u> |
|-----------------------------------|---------------------------|
| $\beta$ -CAROTENO .....           | 100%                      |
| NEOVITAMINA A .....               | 75%                       |
| CRIPTOXANTINA .....               | 57%                       |
| EQUINEONA .....                   | 54%                       |
| $\alpha$ -CAROTENO .....          | 53%                       |
| $\beta$ -CAROTENO .....           | 43%                       |
| VITAMINA A 9,10 CIS .....         | 25%                       |
| VITAMINA A 9,10-13,14 DICIS ..... | 25%                       |
| VITAMINA A 7,8 CIS .....          | 25%                       |
| VITAMINA A 11,12 CIS .....        | menos de 3%               |
| CANTAXANTINA .....                | NO PRESENTA               |

Fuente: Kirk-Otmer (4).

UNIDADES INTERNACIONALES. La concentración de provitamina A en los materiales que contienen carotenoides se expresa en UNIDADES DE VITAMINA A. Esta unidad considera la actividad del  $\beta$ -caroteno, sus estereoisómeros, y los demás carotenoides que pueden transformarse en Vitamina A (29).

La UNIDAD INTERNACIONAL DE ACTIVIDAD DE PROVITAMINA A, se define como la actividad biológica de 0.600 microgramos de trans-beta caroteno puro. - Así, un gramo de  $\beta$ -caroteno. contiene  $1.67 \times 10^6$  U.I. de provitamina A, ó, 0.167 g. de retinol (29).

TABLA No. 7

**CUADRO DE ACTIVIDADES DE VITAMINA A DE CAROTENOIDES.**  
(en solución oleosa).

| <u>CAROTENOIDE</u>                    | <u>ACTIVIDAD DE VITAMINA A (U.I. por g.)</u> |
|---------------------------------------|----------------------------------------------|
| $\beta$ -APO-12'-CAROTENAL .....      | 2 000 000                                    |
| $\beta$ -CAROTENO .....               | 1 667 000                                    |
| $\beta$ -APO-8'-CAROTENAL .....       | 1 100 000                                    |
| CRIPTOXANTINA .....                   | 950 000                                      |
| EQUINEONA .....                       | 890 000                                      |
| $\gamma$ -CAROTENO .....              | 750 000                                      |
| ESTER ETILICO DEL ACIDO B-APO-8'----- |                                              |
| CAROTENOICO .....                     | 420 000                                      |
| $\beta$ -ZEA-CAROTENO .....           | 420 000                                      |
| $\alpha$ -CAROTENO .....              | 380 000                                      |
| CITRANAXANTINA .....                  | ACTIVO                                       |
| TORULARODINA .....                    | ACTIVO                                       |

Fuente: Enríquez (29).

Solamente un número relativamente pequeño de los carotenoides presentes en alimentos, aproximadamente una docena, tienen actividad significativa de provitamina A.

c) TRAYECTORIA DE CAROTENOIDES EN EL ORGANISMO ANIMAL, NIVELES DE INGESTION Y TRASTORNOS QUE CAUSA SU DEFICIENCIA.

Las provitaminas llegan al organismo animal, atraviesan la pared intestinal y pasan al torrente sanguíneo, que los transporta a través de to-

do el cuerpo. El sistema Retículo Endotelial separa estas sustancias de los demás componentes de la sangre, y es en el hígado, donde se transforman y almacenan en forma de ésteres de ácidos grasos superiores (37).

El rango usual de carotenoides en el plasma humano es de 80 a 120 mg/100 ml., y podemos encontrar a la Vitamina ya formada, distribuida en muchos órganos, sin embargo, el hígado contiene 100,000 veces más vitamina A que los demás depósitos de grasa del cuerpo (38).

Las necesidades de vitaminas del cuerpo humano varían con los diferentes estados fisiológicos y psicológicos del cuerpo, así como con enfermedades, estado de lactancia, clima, edad, sexo, etc.

**TABLA No. 8**

**INGESTION DIARIA DE VITAMINA A**

Recomendada para personas de salud normal, que habitan en clima templado.

| GRUPO                                        | EDAD (años) | U.I.  |
|----------------------------------------------|-------------|-------|
| Niños lactantes                              | 0 - 1       | 1 500 |
| Niñas o niños                                | 1 - 3       | 2 000 |
|                                              | 4 - 6       | 2 500 |
|                                              | 7 - 9       | 3 500 |
|                                              | 10 - 12     | 4 500 |
| Adolescentes                                 | 13 - 20     | 5 000 |
| Hombres y Mujeres                            | 25 - 65     | 5 000 |
| Mujeres embarazadas<br>(tercer trimestre)    |             | 6 000 |
| Mujeres lactantes<br>(850 ml. leche diarios) |             | 8 000 |

Fuente: Devel H., J. (39)

TABLA No. 9

**VALORES DE VITAMINA A DE ALGUNOS ALIMENTOS.**

| <b>ALIMENTO</b>                     | <b>U.I. por 100 gramos.</b> |
|-------------------------------------|-----------------------------|
| <b><u>Cereales</u></b>              |                             |
| Arroz .....                         | 0                           |
| Avena .....                         | 0                           |
| Trigo .....                         | 0                           |
| Maíz .....                          | 450                         |
| <b><u>Verduras y hortalizas</u></b> |                             |
| Patatas (blancas) .....             | 0                           |
| Ejotes (judías verdes) .....        | 400                         |
| Tomates .....                       | 700                         |
| Zanahorias .....                    | 2 000                       |
| Espinacas .....                     | 9 400                       |
| Amargón .....                       | 10 000                      |
| <b><u>Frutos</u></b>                |                             |
| Naranjas .....                      | 170                         |
| Melón cantalupo .....               | 1 200                       |
| Mangos .....                        | 1 900                       |
| Nísperos .....                      | 1 900                       |
| <b><u>Productos animales</u></b>    |                             |
| Puerco .....                        | 0                           |
| Cordero .....                       | Insignificante.             |
| Pescados frescos (todos) .....      | Insignificante.             |
| Ternera .....                       | 30                          |
| Vaca .....                          | 50                          |
| Pollo .....                         | 400                         |
| Pavo .....                          | 600                         |
| Langosta, camarón .....             | 1 000                       |
| Huevos .....                        | 1 000                       |
| <b><u>Productos lácteos</u></b>     |                             |
| Leche .....                         | 100                         |
| Crema .....                         | 800                         |
| Queso (cheddar).....                | 1 400                       |
| Mantequilla .....                   | 3 200                       |

Fuente: Kirk Othmer (4).

La tabla anterior contiene datos calculados en base al contenido de - caroteno, al que se ha sumado el de Vitamina A. que no siempre lo acompaña, considerando sólo la porción comestible.

La deficiencia de Vitamina A en el organismo humano causa varios trastornos, y se producen por:

- aporte inadecuado de ella
- mala absorción intestinal
- transformación inadecuada de caroteno a Vitamina (enfermedades hepáticas)
- dieta baja en grasas (39).

Entre los TRASTORNOS causados por falta de vitamina A, tenemos:

- No se mantiene la integridad del tejido epitelial, por lo que queda más expuesto a las invasiones por microorganismos.
- XEROFTALMIA.- queratinización del epitelio corneal que puede conducir a ceguera. Se aprecia por una disminución de la transparencia de la córnea.
- NICTALOPÍA.- (Ceguera nocturna), alteración de la visión en los bastones. Desaparece rápidamente después de tomar vitamina A.
- XEROSIS.- Deformación y destrucción de la córnea. Da una apariencia lechosa al epitelio de la córnea.
- QUERATOMALACIA.- inicio de la xeroftalmia, daño parcial y reversible -- cuando se readministra la vitamina.
- CAMBIOS DE FONDO.- cambios degenerativos de los bastones oculares y cappas nucleares. Se manifiesta como pequeñas manchas blancas en el conducto de la retina. Padecimiento por deficiencia severa de Vitamina A.

- Afección de las estructuras ósea y dental.
- Inhibición del crecimiento.

Los animales sujetos a dietas carentes de esta vitamina, no sólo presentan trastornos visuales y lesiones oculares, sino que llegan a fallecer cuando no se les restituye.

En el niño de etapa prenatal, la deficiencia de vitamina A puede ocasionar malformaciones congénitas, o hasta el aborto (40).

La deficiencia de vitamina A rara vez ocurre sola, generalmente va -- acompañada de una mala nutrición.

En los adultos pocas veces se manifiestan signos de deficiencia de -- la vitamina, ya que las reservas son suficientes para prevenir los daños por varios meses; los niños muestran una mayor susceptibilidad (41).

## 2.2.2 APLICACIONES Y ESTABILIDAD DE CAROTENOIDES EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA.

### A) Carotenoides Naturales.

Los primeros carotenoides disponibles para colorear o fortificar el color natural de los alimentos, se obtuvieron por extracción de fuentes naturales. Estos extractos, aún hasta la fecha, se procesan y se pueden adquirir comercialmente en preparaciones hidro o liposolubles. Tal es el caso del annatto, azafrán, paprika, xantofilas, entre otros carotenoides que se han utilizado por centurias.

El Annatto es el extracto de la semilla del árbol Bixa orellana. El principal pigmento de las preparaciones liposolubles de annatto es la Bixina, y de las formas hidrosolubles, la Norbixina.

Las preparaciones de este extracto se usan para colorear aceites, pastas, mantequilla o margarina, quesos, embutidos, aderezos y otros. Los polvos insolubles de annatto se usan en especias y carnes.

El annatto se oxida muy fácilmente por lo cual es sensible a la luz y a variaciones de pH; requiere consumirse en un período menor a seis meses, y almacenarse a temperaturas que oscilen entre 15 y 30°C (42).

La Dieterresina de Paprika es el extracto aceitoso de paprika Capsicum annum, y se compone de 37 a 54 pigmentos, principalmente ésteres de capsantina y capsorrubina.

Imparte coloraciones que van del amarillo rosado al rojo carmín, según las concentraciones que se utilicen. Se aplica en carnes, embutidos, aderezos y salsas (29).

Xantofilas.- sus preparaciones están formadas principalmente por extractos de alfalfa y brócoli, los cuales contienen B-caroteno, Luteína y ésteres de xantofilas, entre los carotenoides más importantes. Se aplican tanto en productos alimenticios como farmacéuticos (18).

Azafrán.- consiste en las estigmas secas de Crocus sativus, que contienen al carotenoide Crocína. Esta preparación imparte un color amarillo atractivo a sopas, productos de carne, bebidas y quesos (29).

Carotenos.- existen preparaciones de caroteno que provienen de dos -- fuentes principales:

1. Extracto de zanahoria, aceite de palma y sus extractos; compuestos principalmente de  $\alpha$  y B-caroteno.
2. De la fermentación producida por ciertas especies de hongos capaces de sintetizar carotenoides (18).

El caroteno proveniente de ambos procesos se utiliza en productos farmacéuticos, veterinarios, alimenticios y cosméticos.

En estas preparaciones de origen natural, los carotenoides se encuentran combinados químicamente con otros constituyentes que afectan el aspecto visual del alimento, y conducen a niveles variados de la intensidad de color. Características propias de los carotenoides naturales, como su baja estabilidad y solubilidad, así como la lenta velocidad de solución, hicieron necesario el desarrollo de una tecnología especial que creara formas comerciales acordes a los requerimientos de la industria alimentaria.

## B) Carotenoides Sintéticos.

En 1966 la Compañía Hoffmann-La Roche, desarrolló una síntesis química para el  $\beta$ -caroteno puro, que más tarde se extendió hacia la producción de Apocarotenal y Cantaxantina. En la actualidad también se preparan el Licopeno, la Crocetina, el B-apocarotenoide, y otros pigmentos de esta familia (29,30).

Se encuentran disponibles en el mercado preparaciones de carotenoides, tanto en base oleosa, como en base acuosa, para aplicarlas según las propiedades del alimento que se desea colorear.

### a) Productos para colorear alimentos grasos.

La lenta velocidad de disolución del  $\beta$ -caroteno cristalino fué superada por medio de la reducción del tamaño de los cristales, hasta un rango de 2 a 5  $\mu$ m. Estos microcristales se suspenden en aceite o grasa comestible para retardar el proceso de oxidación. Como estabilizante de estas suspensiones se usa lecitina de soya y mezclas de antioxidantes, como las tocoferaminas (18,43).

Existen en el mercado suspensiones de  $\beta$ -caroteno en base oleosa, con dos diferentes concentraciones:

- Suspensión al 30%, que proporciona colores que van desde el amarillo limón hasta amarillo naranja; alcanza una actividad biológica de 480,000 U.I. de vitamina A por gramo; se utiliza para colorear productos lácteos, fritos, y alimentos grasos en general, en los cuales muestra un alto rendimiento. En la mantequilla se usa tanto para estandarizar el color, como el contenido de Vitamina A (24,44).

- Suspensión al 20%, se usa en sopas, bebidas, aceites y quesos procesados a los que les proporciona un color crema amarillento.

Existe una suspensión de apocarotena al 20% que se usa para colorear quesos procesados.

**b) Productos para colorear alimentos en base acuosa.**

En alimentos elaborados a base de agua se puede usar el  $\beta$ -caroteno en forma de emulsión (aceite en agua). También se pueden aplicar apocarotena, ester del ácido apocarotenoico y cantaxantina, solos o combinados.

Las preparaciones de  $\beta$ -caroteno que encontramos disponibles en el mercado son:

- $\beta$ -caroteno al 1% soluble en agua fría, que consiste en una solución aceitosa de cristales de caroteno, con antioxidantes como el  $\alpha$ -tocoferol y ascorbato de sodio. Esta solución se emulsifica en un sistema acuoso -- que contiene goma acacia, azúcar, maltodextrina, y se usa especialmente para refrescos, confitería y sopas secas, entre otros (30).
- $\beta$ -caroteno al 10% hidrosoluble, se presenta como polvo, donde el  $\beta$ -caroteno se encuentra en forma de una muy fina y homogénea dispersión en -- una base de gelatina, azúcar y almidón. Esta preparación es capaz de colorear alimentos en forma líquida, sólida, de polvo, y con consistencia de puré. Se aplica en quesos maduros, sustitutos de leche, yogurths, dulces, pasteles, helados, pastas, purés, jugo de tomate y otros (43,45).

Cabe mencionar que el comportamiento del colorante en estos productos es estable y no interfiere en el sabor (44,46).

### C) Estabilidad de Carotenoides.

#### a) Carotenoides puros.

Como los carotenoides son pigmentos muy inestables en su forma aislada o como producto cristalino puro, se debe procurar reducir su labilidad y la posibilidad de una rápida conversión a otro carotenoide, de la siguiente manera:

1.- Evitar el calor excesivo, debido a la alta termolabilidad que presentan, en especial las Xantofilas. Se debe evitar la concentración de soluciones por calentamiento. En procesos que requieren que el solvente se recupere por destilación (extracción y purificación), es importante elegir disolventes con bajo punto de ebullición tales como: éter de petróleo --- (30 - 60°C) y diclorometano (42°C), que substituye al cloroformo (61°C); o bien, utilizar la Evaporación rotatoria a presión reducida, que no requiere temperaturas mayores a 40°C y substituye a la destilación.

Como los carotenoides son estables al calor en sistemas que contienen un mínimo de oxígeno, las soluciones de éstos se pueden calentar bajo una atmósfera de Nitrógeno, a 150°C, con pérdidas muy pequeñas (26,27).

2.- Evitar el contacto con oxígeno atmosférico. Durante los procesos de Cromatografía, se puede introducir una corriente de Nitrógeno, que elimina el oxígeno de la solución y ayuda a estabilizar la evaporación. También se pueden emplear antioxidantes como el Pirogalol o Quinol.

3.- Evitar la presencia de luz. En las soluciones de carotenoides y/o

en los sistemas cromatográficos de ellos se debe excluir completamente la luz, para lo cual es necesario manipularlos en un lugar oscuro, o cubrir el material con un paño negro.

4.- Evitar el contacto con ácidos en cualquier etapa de la manipulación de carotenoides; el mayor peligro a este respecto, es el uso de adsorbentes o disolventes que pudieran contener ácidos, como el diclorometano, que generalmente contiene ácido clorhídrico.

5.- Evitar la presencia de álcalis, pero se pueden usar algunos que no dañen a los carotenoides, como piridina, quinolina o dimetilamina (47).

6.- Almacenar las muestras en la obscuridad bajo una atmósfera de Nitrógeno, o en caso de sólidos al vacío y a una temperatura de 20°C.

Los carotenoides puros se mantienen mejor como sólidos cristalinos. También pueden guardarse en solución con disolventes tales como éter de petróleo, hexano o benceno; en este caso, se deben usar recipientes herméticos color ámbar, o protegidos con papel carbón o aluminio (26,27).

#### b) Carotenoides en alimentos procesados.

El principal factor que afecta a los carotenoides durante el procesamiento de los alimentos es la oxidación. El tipo de pretratamiento y las condiciones de almacenamiento, son variables significativas que influyen en la estabilidad de los carotenoides en el producto terminado (29).

- Productos deshidratados. La estabilidad de los carotenoides en sistemas de alimentos sólidos, depende de la actividad de agua. La deshidratación y el incremento de área superficial en productos liofilizados o pulverizados, origina una baja estabilidad de los carotenoides aún cuando -- los productos estén protegidos del aire. Así los alimentos deshidratados son los más propensos a perder vitamina A por oxidación. La proporción de pérdida depende del tratamiento térmico aplicado y las condiciones de almacenamiento. Durante grandes períodos de almacenamiento se observa pérdida significativa de  $\beta$ -caroteno.

- Productos enlatados. Pequeñas o prácticamente ninguna pérdida de caroteno se registra durante el enlatado y almacenamiento subsecuente de alimentos a temperaturas ordinarias. Es necesario evitar el uso de latas empalmadas ya que ocasionan isomerización de las provitaminas y reducen su actividad en un 10% aproximadamente, este efecto es más acentuado en medios ácidos.

Los procesos antisépticos de enlatado con altas temperaturas por corto tiempo, ocasionan grandes pérdidas de carotenoides; es preferible emplear temperaturas menores por mayor tiempo. El tratamiento térmico en ausencia de oxígeno ocasiona isomerización de la molécula carotenoide, y -- por tanto pérdida de poder vitamínico.

- Productos irradiados. La radiación gamma en productos alimenticios sólidos o en solución daña al carotenoide; esto depende de la intensidad con que ésta se aplique y de las condiciones de almacenamiento.

- Productos cocinados o fritos. La cocción normal o con microondas, tiene efecto nulo o muy pequeño, sobre los carotenoides, siempre y cuando se efectúe a temperaturas moderadas.

Con exceso de temperatura y mayores períodos de tiempo de exposición al calor, ocurre una mayor pérdida de carotenoide. y por tanto de color.

A 65°C .....no se registran cambios importantes.

Más de 100°C ..... degradación oxidativa por isomerización.

135 - 170°C ..... pérdidas importantes de carotenoides.

En algunos productos la vida de anaquel de los carotenoides se incrementa con la adición de BHA y BHT, aún cuando el alimento esté empacado -- con aire; también con el empleo de mezclas con ácido cítrico o pirofosfato de sodio.

La vitamina C o ácido ascórbico posee un efecto estabilizante para -- los carotenoides, por ello se agrega a la mayoría de los alimentos coloreados con ellos (18).

## **2.3 BEBIDAS CARBONATADAS**

### **2.3.1 IMPORTANCIA DE LA INDUSTRIA DE BEBIDAS CARBONATADAS EN MEXICO.**

La industria refresquera del país se constituye por empresas que elaboran bebidas embotelladas, que utilizan en sus procesos frutas naturales, esencias y concentrados, según el caso.

El refresco embotellado es una alternativa importante para satisfacer la sed en forma higiénica, sobre todo en lugares donde no existe agua potable.

Cabe mencionar que la demanda de refrescos depende de la inducción al consumo que las empresas logran mediante extensas campañas publicitarias. Los gastos en este sentido han sido cuantiosos, y merced a ellos los refrescos se han convertido en un producto de consumo masivo. En 1979 este consumo fué de 98.3 litros por persona, y para 1980, ascendió a 110 litros, cifra que representa un aumento del 21%, en sólo un año.

En este aspecto México ocupa uno de los tres primeros lugares en el consumo de refrescos por persona.

Un aumento en el precio de las bebidas carbonatadas, como en cualquier producto, da como resultado inmediato una baja en las ventas del producto. Sin embargo, mediante un incremento en la publicidad las ventas de refrescos no sólo se elevan, sino que continúan su tendencia al alza (48).

## Importancia de ésta Industria en la Economía del País.

Las materias primas que se usan en la elaboración de refrescos son: los jugos o pulpa de frutas naturales, los extractos y concentrados, el -- azúcar, los saborizantes, acidulantes, conservadores, emulsificantes, enturbiaadores y espumantes, principalmente.

La industria embotelladora de refrescos de México consume aproximadamente el 50% de la producción de azúcar destinada a usos industriales, lo cual corresponde al 46 y 50% del total de la producción nacional.

Otros insumos que utiliza son:

- Corcholatas: absorbe el 80% de la producción nacional.
- Envases de vidrio: consume el 35% de la misma.
- Gas carbónico: consume el 90% de la producción.
- Cajas de madera y plástico: consume más del 75% de la producción.

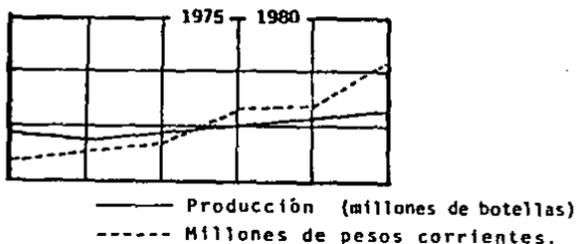
México ocupa el cuarto lugar en el consumo mundial de refresco, y la tendencia de aumento continúa alcanzando niveles similares a los de los Estados Unidos, que ocupa el primer lugar en el consumo mundial.

No obstante el incremento de precios la industria refresquera mantendrá tasas de crecimiento elevadas, en virtud de los márgenes de rentabilidad que obtiene y del crecimiento acelerado del consumo.

A continuación se muestra la Gráfica de producción de refrescos en -- México de los años 1975 a 1980, así como las proyecciones que se realizaron en 1980 de la demanda de producto, para los años subsiguientes (48).

GRAFICA No. 1

PRODUCCION DE LA INDUSTRIA DE REFRESCOS EMBOTELLADOS (1975 - 80).



Fuente: Escenarios Económicos 1981-1985 (48).

TABLA No. 10

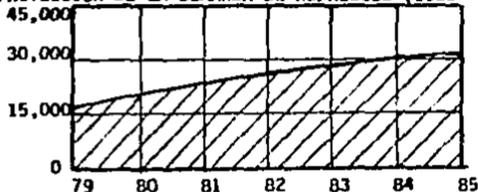
PROYECCION DE LA DEMANDA DE REFRESCOS (1980 - 85).

| AÑO  | PRODUCCION (Miles de botellas) |
|------|--------------------------------|
| 1980 | 20,666                         |
| 1981 | 22,505                         |
| 1982 | 24,508                         |
| 1983 | 26,689                         |
| 1984 | 29,064                         |
| 1985 | 31,652                         |

Fuente: Escenarios Económicos de México (48).

GRAFICA No. 2

PROYECCION DE LA DEMANDA DE REFRESCOS (1980 - 1985).



Fuente: Escenarios Económicos de México (48).

## 2.3.2. PRINCIPALES COMPONENTES FISICOQUIMICOS DE LAS BEBIDAS CARBONATADAS Y SU FUNDAMENTO.

### A) SABOR.

Los sabores se agregan a las bebidas carbonatadas en forma de : extractos alcohólicos, emulsiones, soluciones alcohólicas o zumos frutales.

- EXTRACTOS. Son soluciones de los principios sápidos y aromáticos de una planta en alcohol etílico, con o sin materia colorante. Ejemplos de extractos alcohólicos: uva, jengibre y ciertos tipos de lima y limón.
- EMULSIONES. Se preparan por medio de la emulsificación de los aceites esenciales con goma arábiga, se mezclan con un jarabe espeso de azúcar o glicerina, finalmente la mixtura se pasa por un homogeneizador. Ejemplo de emulsión : naranja.
- SOLUCIONES ALCOHOLICAS. Los aceites se añaden al alcohol, se incorpora el agua necesaria para diluirlas apropiadamente. Ejemplo: sabores cereza y fresa.
- JUGOS DE FRUTA. Pueden ser de fuerza simple o concentrada. Para obtener los jugos de fuerza concentrada, se elimina el agua por calentamiento y vacío, o por congelación y centrifugación.

Los aceites esenciales pueden ser:

- derivados de materias de origen natural

- esencias compuestas.- se basan en un material natural que se fortifica con la adición de materias sintéticas.
- esencias sintéticas.- se producen por métodos químicos; ejemplos: aceite de plátano, cereza, piña y fresa.

La manera en que estas sustancias se aplican a la bebida varían con la forma del agente saborizante y con cada embotellador. Algunos sabores pueden contener el ácido y color necesarios para la bebida terminada.

Los sabores suministran una "fuerza" de 1,2,4 ó 5 onzas. Como "fuerza" se entiende la cantidad de saborizante que se requiere para producir un galón de jarabe para el embotellado. Un sabor de una fuerza corresponde a 7.49 g. de saborizante por litro de jarabe.

#### B) COLOR.

Los colores se agregan a la bebida para darle una apariencia semejante a la fruta que corresponde, y para proporcionar al consumidor un producto siempre uniforme.

Los agentes colorantes que se usan en bebidas en México son:

- caramelo.- color vegetal proveniente de la quema de azúcar de maíz; proporciona matices que van del pardo oscuro.
- colores artificiales alimenticios, entre ellos: Rojo No. 3, Rojo No. 40, Amarillo No. 5, Amarillo No. 6, Azul No. 1, Verde No. 3.

Las soluciones de color se preparan por medio de la disolución de los colores secos en agua, y se preservan con la adición de ácido cítrico, benzoato de sodio, 20% de alcohol etílico, por hervor o esterilización.

Para que los materiales colorantes tengan éxito en las bebidas carbonatadas, deberán tener suficiente potencia colorante, estabilidad, carecer de gusto y olor censurables, además de estar exentos de contaminaciones biológicas y químicas.

### C) MATERIALES EDULCORANTES.

Los agentes edulcorantes son las sustancias que cuando se mezclan -- con el sabor, ácidos, colorantes y demás ingredientes de la bebida, proporcionan un gusto dulce y satisfactorio al producto terminado. A su vez -- contribuyen a la bebida de la siguiente manera:

- suministran cuerpo, que ayuda a portar o transmitir el sabor.
- proporcionan energía o valor alimenticio a la bebida.

El azúcar de caña o remolacha, incoloro o blanco, en estado puro es uno de los edulcorantes que más se utilizan en la industria de bebidas carbonatadas. Consta de un 99% de sucrosa pura y casi no contiene humedad; posee la habilidad de acentuar otros sabores, es rápidamente soluble en agua, de fácil combustión y alto poder calórico.

En un litro de bebida, usualmente encontramos de 60 a 120 gramos de azúcar. Esto nos proporciona entre 300 y 600 calorías de energía.

Algunos fabricantes de bebidas carbonatadas prefieren el empleo de jarabes como materias edulcorantes. Existen varios tipos de jarabes:

**Jarabe simple.**- consiste en azúcar disuelta en agua.

**Jarabe acidulado.**- jarabe simple con el ácido para la bebida.

**Jarabe compuesto.**- posee además los ingredientes sápidos y conservadores.

Para obtener un producto con propiedades duraderas después de la preparación del jarabe, se procede a su pasteurización.

En la actualidad existen bebidas carbonatadas que se preparan con -- edulcorantes artificiales sustitutos químicos no nutritivos del azúcar, los cuales poseen un sabor y calidad comparables a los del azúcar natural; tales son el ciclamato de sodio, ciclamato de calcio y sacarina.

#### D) ACIDULANTES.

Los ácidos se agregan a las bebidas para impartirles un sabor agrio -- que neutraliza la dulzura del azúcar, para hacer resaltar el sabor asociado y ayudar a proteger el producto contra el deterioro. En una bebida -- carbonatada adecuadamente acidificada, las bacterias NO sobreviven por mucho tiempo y se previene el crecimiento de mohos.

Los ácidos que comunmente se usan en la industria de bebidas carbonatadas, son ácidos débiles e ino cuos al organismo humano cuando se aplican en las concentraciones recomendadas; tales como el cítrico, fosfórico y -- tartárico.

**ACIDO CITRICO.** Se obtiene del limón, lima, piña, y de las fermentaciones de una solución de azúcar, por mohos. Este ácido se adapta bien a bebidas cítricas tales como naranja, limón, lima, durazno y otras, en las que comunmente se aplican de 7.5 a 8 gramos por litro de jarabe.

**ACIDO FOSFORICO.** Es el acidulante más barato, se usa principalmente en bebidas de cola. Posee el doble del poder acidulante del ácido cítrico.

Normalmente se aplican de 4 a 4.5 gramos de ácido fosfórico por litro de jarabe.

**ACIDO TARTARICO.** Se obtiene como derivado en la producción de vino. Es ligeramente más ácido que el cítrico. Se usa en bebidas de uva en proporción de 5 a 6 gramos por litro de jarabe, aproximadamente.

En algunas ocasiones se emplea también el ácido ascórbico.

La cantidad de ácido que se agrega a la bebida varía de acuerdo al producto y a la finalidad que se persigue: acidulante, preservador o ambos; además algunos componentes de los agentes saborizantes y las condiciones del agua, pueden afectar la acidez de la bebida.

#### E) AGUA.

En la elaboración de bebidas carbonatas el agua debe tener una excelente calidad, debe estar libre de impurezas de cualquier clase como: olores, sabores, colores, turbiedad, alcalinidad, sólidos y sales que interfieren en la calidad del producto terminado.

Así, el agua que llega del suministro municipal requiere someterse a un tratamiento de aguas, el cual tiene por objeto remover o reducir a un nivel aceptable las impurezas que contiene.

En la Tabla No. 11 se muestran los niveles permisibles de impurezas, y los efectos de cada una de ellas en la bebida terminada.

TABLA No. 11

IMPUREZAS DEL AGUA Y SU EFECTO EN LA BEBIDA CARBONATADA.

| <b>NATURALEZA DE LAS IMPUREZAS</b> | <b>TOLERANCIA MAXIMA (ppm)</b> | <b>EFFECTO TIPICO EN LA BEBIDA</b>                |
|------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------------------|
| Sabor y olor                       | ninguno                        | Sabor censurable                                  |
| Algas y Protozoarios               | ninguno                        | Sabor censurable, sedimen<br>to y deterioro.      |
| Levaduras                          | ninguno                        | Sabor censurable, sedimen<br>to y deterioro.      |
| Mohos                              | ninguno                        | Sabor censurable, sedimen<br>to y deterioro.      |
| Hierro y Manganeseo                | 0.1                            | Manchas, decoloración, --<br>sabor censurable.    |
| Turbidez                           | 5.0                            | Sabor censurable y decolo<br>ración.              |
| Alcalinidad                        | 50.0                           | Neutraliza el ácido de la<br>bebida.              |
| Sólidos Totales                    | 500.0                          | Cloruros-sabor salado.<br>Sulfatos-sabor salobre. |

Fuente: Zapata (9).

**F) AGUA CARBONATADA.**

La tremenda aceptación que tienen las bebidas carbonatadas, se debe en gran parte al sabor único y burbujeo que el anhídrido carbónico imparte al producto.

En las aguas naturalmente carbonatadas el anhídrido carbónico añade fuerza solvente al agua, por lo que permite que recoja sustancias minera-

les de las rocas y mejora su sabor.

Después de innumerables ensayos de producir artificialmente dichas aguas, los científicos llegaron a imitar y mejorar este producto de la naturaleza. Poco tiempo después se incorporaron los sabores, y así surgieron las "bebidas gaseosas" de nuestros días.

En la fabricación de bebidas carbonatadas el anhídrido carbónico no sólo proporciona un sabor distintivo, sino que también destruye o inhibe el desarrollo de bacterias. Esta acción preservativa aumenta proporcionalmente con la cantidad de gas, o grado de carbonatación, que se aplique a la bebida.

La Carbonatación consiste en incorporar suficiente anhídrido carbónico a la bebida, a fin de que al momento de servir se deje escapar el gas bajo la forma de burbujas finas y proporcione ese sabor picante característico. Las cantidades de gas disuelto en el líquido se conocen con el nombre de Volúmenes de gas.

Cuando un volumen de dióxido de carbono (medido bajo condiciones estándar para los gases) se disuelve en el mismo volumen de líquido, se dice que dicho líquido contiene un volumen de dicho gas.

Para que el proceso de carbonatación se lleve a cabo adecuadamente, es importante controlar dos condiciones: la presión del gas y la temperatura del líquido; la cantidad de gas que absorbe el agua aumenta directamente con el aumento de presión del gas y con la reducción de la temperatura del líquido.

A la presión atmosférica (1 atmósfera) y 15°C, un volumen dado de agua absorberá un volumen igual de dióxido de carbono. Por cada atmósfera adicional el agua absorberá un volumen adicional de gas. Así, a 15°C y 2 atmósferas de presión, el agua absorbe dos volúmenes de gas. Si la temperatura del líquido se reduce a 0°C, la capacidad absorbente se incrementa; por ejemplo, a 1 atm. y 0°C, el agua absorbe 1.7 volúmenes de gas.

El número de volúmenes de gas en la bebida terminada tiene una relación definitiva con el gusto del producto. Una carbonatación correcta significa una bebida burbujeante y estimulante, que apaga la sed, refresca y satisface al consumidor; mientras que, la carbonatación insuficiente, deja a la bebida sosa e insípida.

A continuación se muestra la tabla de contenido de gas en bebidas embotelladas.

TABLA No. 12

| VARIACIONES DE GAS EN BEBIDAS EMBOTELLADAS |                  |
|--------------------------------------------|------------------|
| SABOR                                      | VOLUMENES DE GAS |
| Agua carbonatada .....                     | 4 - 5            |
| Líma .....                                 | 4 - 4.5          |
| Ginger-Ale .....                           | 4 - 4.5          |
| Limón .....                                | 3.5              |
| Cola .....                                 | 3.5              |
| Durazno .....                              | 2.5              |
| Uva .....                                  | 2.5              |
| Fresa .....                                | 2.5              |
| Cereza .....                               | 2.5              |
| Crema soda .....                           | 2 - 2.5          |
| Naranja .....                              | 1.5 - 2.5        |

Fuente: Zapata (9).

En la industria refresquera se emplea la Carbonatadora, dispositivo mecánico que mantiene el agua refrigerada bajo una presión controlada de gas, para lograr una carbonatación a una velocidad adecuada; sin embargo, es necesario considerar los siguientes factores:

- El agua debe estar desintegrada bajo la forma de películas finísimas, o dispersada por inyectores atomizadores a fin de exponer toda su superficie al gas anhídrido carbónico.
- Es importante agitar el agua con el gas durante períodos apropiados, para garantizar la saturación completa.
- El aire es el peor enemigo de la carbonatación porque NO se disuelve en el agua con la misma facilidad que el  $\text{CO}_2$ , por lo que tiende a escapar llevándose a éste componente. Por esta razón es importante eliminar el aire o prevenir su introducción durante el proceso.
- Es vital que el agua no contenga materia suspendida, aire atrapado en aceite u otras impurezas, las cuales pueden originar agua turbulenta en la llenadora o cuando se abre la botella, además de que previenen una carbonatación estable.
- El pH debe ajustarse a 7 - 8 para obtener una buena carbonatación.
- Para obtener una operación de llenado satisfactoria, nunca debe haber una diferencia mayor a  $9^{\circ}\text{C}$  entre la temperatura de la botella, la del jarabe y del agua carbonatada (9).

### G) GOMAS.

Las gomas se utilizan en las bebidas carbonatadas para proporcionar turbidez a la bebida y ajustar la densidad del aceite saborizante. Generalmente se utiliza la goma acacia (soluble en agua) en este tipo de productos.

En el caso de que se apliquen colorantes liposolubles (como los carotenoides), se requiere aplicar además la goma ester.

Goma ester. - conocida comercialmente como Ester gum 8 BG, es el ester glicerol de la resina de leña (de pino) refinada. El producto consiste en una resina termoplástica amarilla pálida, con bajo grado de acidez, olor suave y económica.

Es soluble en hidrocarburos aromáticos, terpenos, ésteres, cetonas y aceites cítricos, así como en la mayoría de los aceites esenciales; insoluble en alcoholes de bajo peso molecular.

Esta resina es sensible a la oxidación debido a que su presentación ofrece un área de exposición grande; al oxidarse se oscurece y pierde poder de solubilidad.

La goma ester se encuentra aprobada por las Regulaciones de Estados Unidos y de México, como material para ajustar la densidad de los aceites cítricos saborizantes en la preparación de bebidas carbonatadas; siempre y cuando su proporción no exceda de 100 ppm en la bebida final.

Actúa de la misma manera que los aceites vegetales bromados, funciona como agente enturbiante y aumenta la estabilidad cuando se dispersa en la bebida final (46,47).

Para aplicar la goma ester en la preparación de la bebida se procede de la siguiente manera:

1. Se pulveriza la goma. a fin de reducir el tiempo de disolución, y se vierte lentamente sobre el aceite esencial con agitación.
2. Se agrega el aceite bromado y se continúa la agitación.

(los pasos 1 y 2 constituyen la fase oleosa).

La fase acuosa está formada por: goma acacia o arábiga, preservativo, agua, colorante hidrosoluble.

3. Se mezclan las dos fases y se homogeniza.

Esta goma posee la cualidad de no alterar el sabor del refresco (49,-50).

#### H) ACEITE VEGETAL BROMADO.

Es un agente enturbador que sirve para equilibrar la baja densidad de los aceites esenciales en un producto determinado. La legislación mexicana establece un máximo de aplicación de 15 mg/Kg en productos terminados. También se usa para restar claridad a los líquidos (19).

## I) PRESERVATIVOS.

La función de estas sustancias es prevenir el deterioro enzimático y bacteriano en los productos alimenticios; sin embargo, es necesario aclarar que su acción es nula si se descuida la limpieza de equipos y envases que tengan contacto con el producto a preservar (51).

La mayoría de las bebidas carbonatadas se preservan satisfactoriamente con el ácido y anhídrido carbónico que contienen.

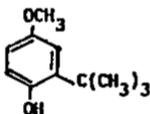
El conservador más usado para preparar jugos de fruta sin carbonatar o con baja carbonatación, es el BENZOATO DE SODIO. Esta sustancia funciona como antiséptico, es decir previene el desarrollo de microorganismos y aumenta su poder de acción en medios ácidos, en especial en presencia de ácido ascórbico.

El benzoato se agrega en solución durante la preparación del jarabe. Uno por ciento, o menos, de éste compuesto en la bebida terminada es suficiente para preservar el producto; dicha cantidad no es dañina para la salud y está permitida para alimentos y bebidas, sin embargo debe quedar indicado su uso en la etiqueta del producto (9,15).

## J) ANTIOXIDANTES.

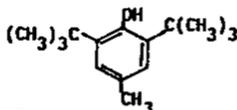
Son sustancias que remueven el oxígeno del espacio libre de la botella. En la industria de bebidas carbonatadas se usan el BHA y BHT (butil hidroxí anisol, y butil hidroxí tolueno, respectivamente) como agentes que previenen la oxidación de los componentes del producto.

Ambas sustancias son solubles en lípidos e inhiben la formación de radicales libres, sin embargo, en presencia de grasas oxidadas no ejercen ninguna acción protectora ni reversible.



BHA

El BHA posee la ventaja de que el cuerpo humano lo elimina rápidamente, aproximadamente el 80% en 24 horas. Presenta una dosis letal media de 4.5 mg. -- por kilogramo de peso.



BHT

El BHT se absorbe en pequeñas cantidades por el organismo humano y presenta una dosis letal me dia de 4 mg. por kilogramo de peso.

En ambos antioxidantes el radical hidroxilo es el responsable de la actividad protectora. La mezcla de BHA y BHT ejerce un efecto sinérgico (suman su actividad protectora), y es más efectiva que cualquiera de ellos en su forma individual a la misma concentración.

Algunos ácidos con propiedades quelantes aumentan la potencia de los antioxidantes, tal es el caso de los ácidos fosfórico, cítrico y ascórbico (15, 34).

El ácido ascórbico o vitamina C se encuentra naturalmente presente en muchas frutas, jugos y conservas de ellas, y posee la propiedad de estabilizar a las bebidas que contienen sabores extremadamente sensibles, como tangerina y uva.

En sistemas en los que se ha removido el oxígeno y que contienen la

cantidad suficiente de este agente reductor, el ácido ascórbico actúa como un aceptor de oxígeno y crea un ambiente anaerobio; así, sin ser un agente antimicrobiano general, es capaz de inhibir a algunos microorganismos - termorresistentes.

Si queda oxígeno en el producto el ácido sufrirá descomposición, y cuando éste se termine, la oxidación será responsable de los cambios de colores y sabores.

La adición de ácido ascórbico a bebidas que contienen carotenoides - es de especial interés, ya que al agregar de 20 a 50 mg. de ácido por litro, se obtiene una mayor estabilidad y brillantez del color; además protege y aumenta el poder refrescante de jugos y néctares. Estas condiciones también se aplican a aceites de naranja y productos deshidratados.

En la Tabla No. 13, podemos apreciar los componentes típicos en algunas bebidas carbonatadas.

TABLA No. 13

INGREDIENTES TÍPICOS EN VARIAS BEBIDAS CARBONATADAS

| BEBIDA           | SABORES                                                     | COLOR                               | PORCENTAJE DE AZUCAR | ACIDO     | CANTIDAD g/l de azúcar. | CARBONATACION Volúmenes de gas. |
|------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------|----------------------|-----------|-------------------------|---------------------------------|
| Agua carbonatada | bicarbonato o sulfato de sodio.                             | Ninguno                             | -                    | -         | -                       | 4.0 - 5.0                       |
| Naranja          | aceite y jugo de naranja.                                   | Sunset yellow Ponceau o Tartrazina. | 12.0 - 14.0          | Cítrico   | 7.50                    | 1.5 - 2.5                       |
| Limon            | aceite de limón                                             | Ninguno                             | 11.0                 | Cítrico   | 7.50                    | 3.5                             |
| Durazno          | aldehído C-14                                               | Tartrazina                          | 11.0 - 13.0          | Cítrico   | 7.50                    | 2.5                             |
| Lima             | raíz de jengibre, aceite de jengibre y aceite de lima       | Caramelo                            | 7.0 - 11.0           | Cítrico   | 7.50                    | 4.0 - 4.5                       |
| Cola             | Extracto de nuez cola, aceite de lima, aceites de especias. | Caramelo                            | 11.0 - 13.0          | Fosfórico | 4.49                    | 3.5                             |
| Uva              | antracinato de metilo y aceite de cognac, o jugo de uva.    | Amaranto y Azul brillante.          | 11.0 - 13.0          | Tartárico | 5.62                    | 2.5                             |

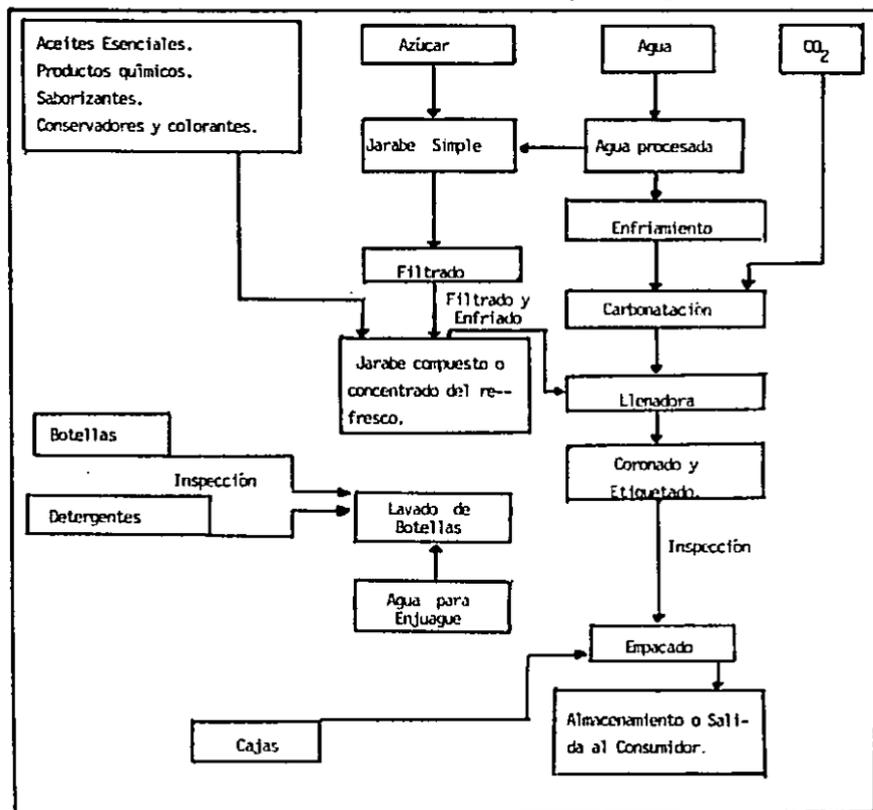
Fuente: Zapata (9).

### 2.3.3 PROCESO DE ELABORACION DE BEBIDAS CARBONATADAS.

A continuación se muestra un diagrama donde se indican los pasos a seguir en la elaboración de una bebida carbonatada.

ESQUEMA No. 1

#### PROCESO DE ELABORACION DE UNA BEBIDA CARBONATADA, EN LA PLANTA.



Fuente: Visita a la Planta de Jarritos, y Enriquez (29,52).

En una planta embotelladora se efectúan los siguientes pasos:

- 1.- Tratamiento de aguas.
- 2A.- Preparación de los jarabes.
- 2B.- Lavado de envases.
- 3.- Enfriamiento, Carbonatación y Llenado.

### 1.- Tratamiento de aguas.

El agua que llega a la planta generalmente tiene dos procedencias: - Pluvial (con gran cantidad de contaminantes), y Subterránea (que llega potable, por tuberías); es necesario someterla a un tratamiento con el fin de eliminar o disminuir el nivel de impurezas, y sólo así obtener una bebida con buena calidad.

El agua tratada tiene dos destinos: Sala de Jarabes y Línea de Embotellado:

### 2.A.- Sala de Jarabes.

Para preparar los jarabes, es necesario filtrar el azúcar, ya que muchas veces trae consigo granitos carbonizados, provenientes de la quema -- que se realiza previa a la cosecha.

Ya que el azúcar está filtrado, pasa a los tanques donde se preparan los jarabes.

Para preparar el jarabe compuesto o terminado, se mezcla el jarabe -- simple (azúcar y agua) con: un conservador, un acidulante, saborizante y -

colorante; éste jarabe pasa al laboratorio donde se prueba que tenga la densidad necesaria.

### 2.B.- Lavado de Botellas.

Las botellas deben poseer una apariencia aceptable, estar estériles, perfectamente enjuagadas y exentas de detergente, además de poseer una buena fuerza mecánica.

Ya lavado el envase pasa a la Llenadora, donde todos los pasos anteriores e independientes se unen.

### 3.- Enfriamiento, Carbonatación y Llenado.

El jarabe terminado pasa a un carbonatador enfriador con amoníaco; este aparato enfría el jarabe, elimina el aire del agua y le inyecta gas.

La refrigeración del jarabe es una etapa de gran importancia, ya que si éste se enfría de 8 a 11 °C por debajo de la temperatura del agua carbonatada, se mejora la velocidad y uniformidad del llenado. Esto se debe a que cuando el agua carbonatada fría tiene contacto con el jarabe caliente de la botella, crea un disturbio que se traduce en pérdidas de gas e irregularidades en el llenado completo del producto terminado.

Después del enfriamiento del jarabe, éste y el agua carbonatada pasan a la mezcladora. Generalmente se emplean cinco tantos de agua por uno de jarabe.

El llenado se efectúa automáticamente; conforme se llena la botella, se extrae el aire y se coloca la corona(45,52).

#### 2.3.4 DIFERENTES COLORANTES UTILIZADOS EN BEBIDAS CARBONATADAS

Para seleccionar un colorante se deben considerar ciertos factores:

- Solubilidad del colorante en agua u otros solventes a diferentes -- temperaturas.
- Estabilidad frente a pHs diferentes, azúcares, álcalis, y otros componentes del alimento, así como el proceso que implica su elabora--ción.

En el caso de bebidas, es importante considerar que los jugos de fruta contienen ácido ascórbico natural y anhídrido sulfuroso como conservador; ambos, agentes fuertemente reductores que atacan al colorante.

Para el cálculo de la dosis que se va a emplear, debe tomarse en cuenta el grado de sensibilidad del colorante a la luz. A bajas concentraciones, el color que es sensible puede decolorarse completamente, mientras - que en altas concentraciones, la decoloración puede ser poco observable -- por largos períodos de tiempo.

Los colorantes naturales son más sensibles a la luz, por lo que se -- les debe dar mayor protección y evitar su exposición directa a los rayos - solares.

En base a estas consideraciones y a las disposiciones legales que rigen el uso de los colorantes sintéticos en alimentos, se recomiendan para aplicación de la Industria embotelladora: Rojo No. 3, Rojo No. 40, Amari--llo No. 5, Amarillo No. 6, Azul No. 1, Verde No. 3, Rojo No. 5 y Rojo No. 6 (19, 53).

**A) PROPIEDADES DE CADA COLORANTE Y TONALIDADES QUE OFRECEN.**

**a) Colorantes Sintéticos permitidos para uso en Alimentos, Drogas y -  
Cosméticos.**

1.- ROJO No. 3 (Eritrocina).- Químicamente pertenece a la clase de las Xantinas; es un polvo rojo oscuro que imparte tonalidades rosa azuladas; se usa principalmente en bebidas de fresa y uva. Su estabilidad ante la luz y los cambios de pH, es pobre.

2.- ROJO No. 40 ("Allura AC").- Químicamente pertenece a la clase Monoazo; se presenta como un polvo fino rojo oscuro, que proporciona tonalidades amarillentas y rojizas. Se usa principalmente para preparar bebidas de naranja y durazno. Su estabilidad ante la luz es muy buena, y ante los cambios de pH, sólo buena.

3.- AMARILLO No. 5 (Tartrazina).- Químicamente pertenece a la clase de las Pirazolonas; es un polvo anaranjado que se usa para colores tipo limón; mezclado con el azul brillante FCF proporciona un color lima. Se usa en bebidas de naranja, durazno y limón; su estabilidad ante la luz y los cambios de pH es buena.

4.- AMARILLO No. 6 (Sunset Yellow FCF).- Pertenece al grupo Monoazo. Es un polvo anaranjado que proporciona tonalidades rojizas; se usa para colorear bebidas de sabor naranja. Su estabilidad ante la luz es moderada, y ante los cambios de pH, buena.

5.- AZUL No. 1 (Brilliant Blue FCF).- Pertenece al grupo Trifenil-me

tano. Es un polvo color bronce púrpura que proporciona tintes azul verdosos; se aplica en mixturas de colores: con el amarillo No. 5 se obtiene el tono de bebida de lima. Con el rojo No. 3 proporciona color uva. Su estabilidad ante la luz es justa y ante los cambios de pH, buena.

6.- AZUL No. 2 (Indigoide).- Perteneció a la clase Trifenil-metano. Proporciona tonalidades azul fuerte. Su estabilidad ante la luz es muy pobre y ante los cambios de pH, pobre.

7.- VERDE No. 3 (Fast Green FCF).- Es un polvo rojizo que se usa con el mismo fin que el Azul No. 1.

Hasta aquí todos los colorantes mencionados, se permiten en Estados Unidos y México; los dos siguientes sólo están permitidos por la Secretaría de Salud en México.

8.- ROJO No. 5 (Carmiosina)

9.- ROJO No. 6 (Ponceau 4R)

Ambos se presentan como polvos finos de color rojo oscuro. Se utilizan para colorear productos sabor cereza, fresa y frambuesa. Mezclados con el Azul No. 1 proporcionan tonos Uva (53,54).

Las soluciones de color se logran mediante la disolución del agente colorante seco en agua; generalmente se les agrega un preservativo, o se esterilizan para lograr mayor estabilidad en la bebida final (9,45).

Para preparar una bebida de naranja, normalmente se requieren de 10 a 20 mg. de azo colorante por litro de bebida.

## b) Carotenoides.

Los polvos hidrosolubles de  $\beta$ -caroteno,  $\beta$ -apo-8'-carotenal, éster etílico del ácido  $\beta$ -apo-8'-carotenóico y cantaxantina, que se encuentran disponibles en el mercado, contienen 10% de la sustancia activa pura y en estado sólido presentan colores que van del violeta al café oscuro.

Estos polvos se disuelven en agua para dar dispersiones ligeramente turbias:

- El  $\beta$ -caroteno y el éster etílico del ácido apocarotenóico dan una coloración que va del amarillo al anaranjado rojizo (según la concentración).
- El apocarotenal da una solución roja amarillenta.
- Y, la Cantaxantina da una solución roja.

En la industria de bebidas no alcohólicas, que comprende: jugos, refrescos y concentrados de naranja, se emplean varias concentraciones y combinaciones de carotenoides, con el fin de obtener materias extraordinariamente brillantes por homogenización de la solución colorante con la pulpa o concentrado de la fruta utilizada, o con el jarabe terminado, antes de la preparación a granel.

De 1 a 2 mg. de B-caroteno imparten un tinte amarillento a un litro de bebida; cantidades mayores en el mismo volumen producen un color amarillo-naranja intenso.

Mezclas de  $\beta$ -caroteno con cantaxantina o con  $\beta$ -apo-8'-carotenal, producen tonalidades naranja o amarillo naranja.

La combinación más adecuada para producir tonalidades naranja, es la mezcla 1:1  $\beta$ -caroteno - cantaxantina. No se recomienda que el  $\beta$ -apo-8'-carotenal, o la cantaxantina se usen solos, ya que ellos proporcionan tonalidades excesivamente rojas (29).

Si se requieren amarillos más intensos, libres de tintes rojos, se puede aplicar el derivado de fosfato sódico de la riboflavina en combinación con bajas concentraciones de  $\beta$ -caroteno. Sin embargo la riboflavina presenta una estabilidad muy pobre frente a la luz, por lo cual limita las posibles aplicaciones de dichas combinaciones.

La emulsificación de las soluciones oleosas de  $\beta$ -caroteno o del éster etílico del ácido apocarotenico, producen un color amarillo puro (18).

En la industria de jugos y néctares, se recomiendan las adiciones de  $\beta$ -caroteno y cantaxantina como sigue, los cuales no se decoloran en presencia de ácido ascórbico (44, 46).

TABLA No. 14

**COLORACION DE JUGOS Y NECTARES CON CAROTENOIDES**

| JUGOS Y NECTARES | CAROTENOIDES                             | DOSIS SUGERIDA<br>(mg/l) |
|------------------|------------------------------------------|--------------------------|
| Toronja          | $\beta$ -caroteno-cantaxantina (2:1) 10% | 2.5 - 5.0                |
| Piña             | $\beta$ -caroteno 10%                    | 3.0 - 5.0                |
| Guayaba          | Cantaxantina 10%                         | 10.0 - 20.0              |
| Naranja          | $\beta$ -caroteno 10%                    | 20.0 - 40.0              |
| Mango            | $\beta$ -caroteno 10%                    | 25.0 - 50.0              |
| Papaya           | $\beta$ -caroteno 10%                    | 25.0 - 50.0              |
| Chabacano        | $\beta$ -caroteno 10%                    | 40.0 - 60.0              |
| Durazno          | $\beta$ -caroteno 10%                    | 50.0 - 75.0              |
| Fresa            | Cantaxantina 10%                         | 150.0 - 200.0            |

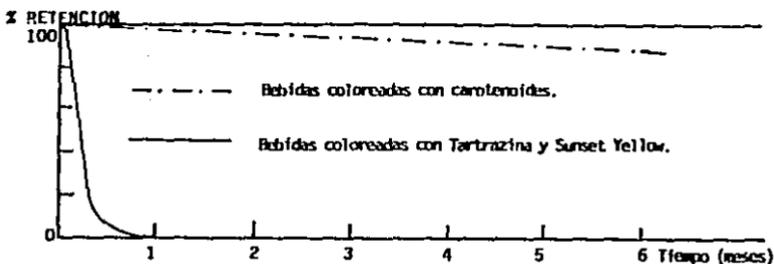
Fuente: Productos Roche, S.A. Div. Ind. Alimentarias.

**B) VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS CAROTENOIDES EN COMPARACION CON LOS COLORANTES SINTETICOS.**

**ESTABILIDAD.-** Los azo colorantes Amarillo No. 5 y Amarillo No. 6, muestran una estabilidad relativamente baja en comparación con los carotenoides.

GRAFICA No. 3.

RETENCION DE COLOR DE AZO COLORANTES Y CAROTENOIDES.



Fuente: Coloring of Fruit Juices (16).

Como ya se mencionó, el ácido ascórbico se adiciona a las bebidas por su carácter reductor, capaz de prevenir la oxidación de los ingredientes -saboreantes, pero al entrar en contacto con los azo colorantes los decolora y sufre destrucción simultánea; mientras tanto, los carotenoides no resultan atacados por esta vitamina, sino que reciben un efecto estabilizante en su presencia.

El anhídrido sulfuroso, otro agente reductor que comúnmente se adiciona a las bebidas, ataca a los azo compuestos, no así a los carotenoides.

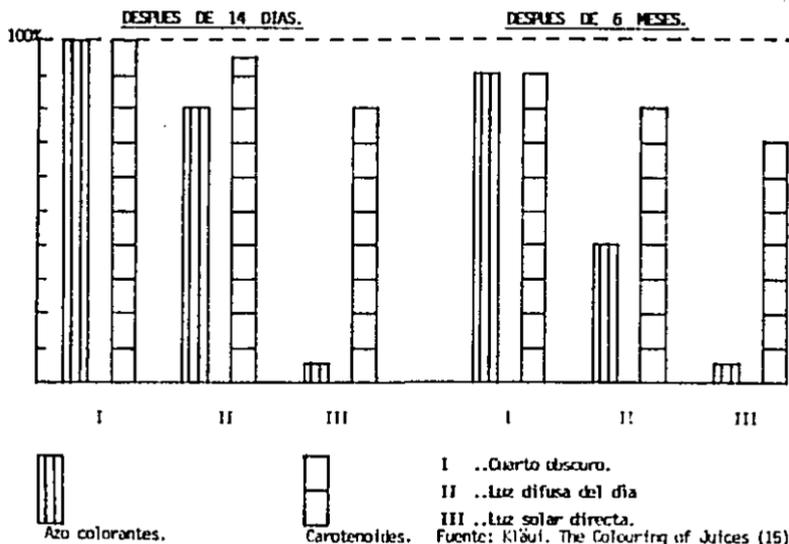
Los colores que se obtienen con carotenoides se muestran estables por largos periodos de tiempo, aún cuando se exponen a la luz solar directa, a jarabes de azúcar, y a un rango de pH de 2 a 7 (45).

Cuando las bebidas se preparan con jugo natural retendrán su completa intensidad de color, aún cuando se expongan a la luz directa del día -- por varios meses.

En bebidas carbonatadas que se someten a experimentación, nunca se observa sedimentación o formación de nata colorida (15).

GRAFICA No. 4

RETENCION DE COLOR DE AZO COLORANTES Y CAROTENOIDES EXPUESTOS A DISTINTOS GRADOS DE LUMINOSIDAD.



**RENDIMIENTO.-** Normalmente se requieren de 10 a 20 mg. por litro de azo - colorante amarillo No. 6 y Rojo No. 3, para colorear un litro de bebida de naranja, mientras que sólo se requieren de 1 a 6 mg. por litro de  $\beta$ -caroteno, para conseguir el color amarillo-naranja deseado (16).

**NUTRICIONALES.-** Los colorantes sintéticos son sospechosos de causar trastornos fisiológicos en el hombre y animales de experimentación, mientras que los carotenoides suministran incrementos al valor nutritivo de la bebida: Cuando se incorporan 6 mg. de  $\beta$ -caroteno a un litro de bebida, la actividad como provitamina del mismo es, aproximadamente, de 10,000 U.I. - Así, medio litro de bebida aporta la recomendación mínima diaria de este nutriente (12).

**LEGISLACION.-** Las listas de colorantes artificiales permitidos para alimentos están sujetas a restricciones o prohibiciones continuas, debido a que las investigaciones de los expertos para asegurar su inocuidad también continúan.

Los resultados acerca de los efectos primarios, mutagénicos y teratogénicos que estas sustancias presentan, las pueden catalogar como nocivas para la salud.

Por otro lado, a pesar de que el uso de aditivos alimentarios está -- controlado por las autoridades sanitarias de cada país, existen muchas discrepancias entre las listas de compuestos permitidos en los diversos países. Así tenemos que algunas sustancias colorantes para alimentos que se encuentran permitidas en un país, están prohibidas en otro; tal es el caso de los siguientes colorantes:

ROJO No. 2. En 1973 en Rusia se comprobó que afecta la reproducción en ratas, por lo cual su dosis se restringió a 1.5 mg./kg. En 1974 se prohibió su uso por la industria alimentaria japonesa. Hasta 1976. la FDA prohibió su uso en los Estados Unidos.

ROJO No. 3. Desde 1974 se prohibió su uso en Japón. En 1983 fué sujeto a estudios por los Estados Unidos, por considerar lo un producto peligroso. En 1988 se encuentra aprobado por los E.U. y México.

AMARILLO No. 5. Se encuentra prohibido para uso en alimentos en Japón desde 1974. En 1976 fué sujeto a estudios por los Estados Unidos. En 1984 se restringió su dosis a 7.5 mg./kg. de peso en E.U.. En 1988 figura en la lista de colorantes permitidos para alimentos -- por E. U. y por México.

AMARILLO No. 6. Se encuentra prohibido para alimentos, en Japón, desde 1974. En 1984 se restringió su dosis a 5 mg./kg. de peso en E.U. En 1988 figura en la lista de colorantes sintéticos permitidos para alimentos por E.U., no así en la de México (55).

Por otra parte los carotenoides son colorantes reemplazantes de colorantes sintéticos amarillos y rojos, que por ser sustancias naturales -- son fácilmente metabolizados por el organismo animal. Evaluaciones toxicológicas y químicas los han colocado en las listas de colorantes aceptados para alimentos en muchos países.

#### DESVENTAJAS DE CAROTENOIDES.

- Su alto costo en relación con los azo colorantes.
- La sensibilidad de éstos pigmentos a la luz solar; aún mayor en presencia de oxígeno (26).

### 2.3.5 DETERIORO DE LAS BEBIDAS CARBONATADAS Y PRECAUCIONES QUE SE DEBEN OBSERVAR DURANTE SU PRODUCCION Y MANIPULACION.

Cuando hablamos de DETERIORO nos referimos a los cambios indeseables en apariencia, color, sabor u olor, que ocurren en la bebida terminada, debido a cambios físicos o químicos, contaminación o desarrollo de microorganismos.

Ciertos cambios físicos son causados por el calor o la luz solar.

Los cambios químicos incluyen oxidación, acción enzimática, reacción del cloro, alcalinidad y presencia de minerales.

La contaminación por materias extrañas se refiere a olores, metales o aceites que imparten sabores censurables.

El desarrollo de microorganismos origina natas, turbiedad o sedimento.

- TEMPERATURA. Temperaturas excesivamente altas o bajas cañan al -- producto.

El congelamiento de la bebida trae por consecuencia: precipitación de azúcar y cambio de color.

Altas temperaturas, superiores a 18°C, causan los mismos efectos además de alterar el sabor y acelerar reacciones de deterioro del producto.

- LUZ SOLAR. La luz solar directa, en especial la solar, es perjudi-

cial al sabor y color de todas las bebidas, particularmente de las que -- contienen jugos cítricos. En las bebidas cítricas produce sabores descritos como "aceitosos, acedos o aterpenados"; en otro tipo de bebidas causa la pérdida general de sabor, color y carácter (51).

Se debe evitar al máximo la exposición de las bebidas a la luz solar durante su transporte, almacenamiento o expendio; sin embargo es necesario tomar otras medidas, ya que esto no es absolutamente posible.

Los envases de vidrio obscuro ofrecen cierta protección, pero se obtienen mejores resultados con el empleo de antioxidantes, los cuales remueven el oxígeno del espacio libre de la botella, responsable de los cambios indeseables en el color y sabor de la bebida y que son acelerados -- por la luz solar.

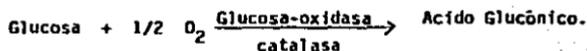
- OXIGENO. El oxígeno del aire que se acumula en el espacio libre de la botella, tiende a combinarse con los elementos saboreantes de la bebida y formar peróxidos. Estos compuestos oxidan a los componentes cítricos y blanquean la bebida.

El oxígeno también contribuye al desarrollo de microorganismos.

Existen varios métodos para eliminar el oxígeno:

- Medios mecánicos.
- Adición de agentes reductores como los ácidos ascórbico y eritórbi-  
co (aunque decoloran a los colorantes sintéticos).
- Empleo de un sistema enzimático: glucosa-oxidasas-catalasa, el cual

se agrega al jarabe antes de embotellar la bebida. Esta enzima re  
mueve el oxígeno de las bebidas cítricas mediante la reacción:



Con lo cual incrementa la vida de anaquel de la bebida (51).

- ENZIMAS. Las enzimas presentes en los zumos de frutas aceleran --  
cambios en el sabor. Tales condiciones pueden controlarse mediante el al  
macenamiento a bajas temperaturas y lejos de la luz solar, o con la elimi-  
nación del contacto con el aire.

- CLORO. Es un fuerte agente blanqueador que ocasiona pérdida de co-  
lor y cambios indeseables en el sabor y olor de las bebidas. Estos efec--  
tos los ocasiona de tres maneras:

- por sí sólo.
- al combinarse con impurezas orgánicas o inorgánicas del agua. (Por ejemplo: con los fenoles provenientes de desperdicios industriales acarreados por el agua forma clorofenoles, los cuales imparten ---olor y sabor censurables).
- al destruir sabores y olores agradables de los jarabes.

Como el cloro es un eficaz desinfectante, se debe tratar el agua de--  
sinfectedada con un equipo purificador de carbón activado.

- ALCALINIDAD. La alcalinidad del agua y el alto contenido de MINERA  
LES, destruyen o neutralizan la acidez de la bebida y reaccionan con los -  
ingredientes saboreantes, originando un producto muy dulce, insípido, con

olor censurable y carente de efecto preservativo.

Por las razones expuestas es necesario tratar el agua con cal para reducir las sales, tales como carbonatos y bicarbonatos de calcio y magnesio.

- OLORES CENSURABLES. Pueden ser ajenos a la planta o provenir de -- ciertos productos destinados a la limpieza, tales como esterilizantes, pinturas, insecticidas y otros que contengan sustancias volátiles.

Para evitar la contaminación por olores, la planta embotelladora debe mantenerse limpia y bien cerrada; nunca se deben almacenar sustancias para la limpieza cerca de la sala de jarabes o donde puedan contaminar el azúcar y las tapas coronas. Además, los compuestos limpiadores para los equipos, sólo podrán ser los autorizados por industrias especializadas.

- METALES. Este tipo de contaminación es muy peligrosa para las bebidas, ya que les imparte un sabor metálico como resultado de la exposición de los jarabes altamente acidulados a metales corrosivos, como el latón, cobre, fierro galvanizado, entre otros.

Para evitar esta contaminación, se debe seleccionar el equipo adecuado para el procesamiento de la bebida con metales o aleaciones, que no se vean afectados por la acción del ácido o del agua carbonatada.

- MATERIA ORGANICA. Consiste en microorganismos y materiales suspendidos captados durante el recorrido del agua.

Puede detectarse como partículas finas que se coagulan lentamente en la botella, originando nebulosidades, anillos en los golletes del envase, turbiedad, sedimento, cambios de color durante el reposo y pérdida de gas al abrir el envase.

Los materiales suspendidos se deben eliminar con el tratamiento de -  
aguas:

- Cloración.- el cloro oxida la materia orgánica.
- Coagulación.- reúne las partículas para su asentamiento.
- Filtración.- separa dichas partículas.
- Tratamiento con carbón activado.- remueve por completo el exceso de cloro.

Los microorganismos pueden ser: protozoarios, algas, bacterias o levaduras que se desarrollan en la bebida.

Los protozoarios, algas y algunas bacterias llegan acarreadas por el agua que entra a la bebida.

Las levaduras se encuentran en el polvo del aire y se introducen a la bebida durante su elaboración en los envases sucios o el azúcar contaminado.

Los efectos que causan éstos microorganismos se encuentran en la Tabla No. 11.

Para evitar dichos efectos en la bebida, se recomienda:

- Que la acidez y carbonatación sean las adecuadas.
- Mantener limpio y esterilizado el equipo, particularmente el que -- tiene contacto con los jarabes.
- Preparar los jarabes (especialmente los diluidos) el mismo día que se van a emplear, ya que constituyen un medio ideal para el desarrollo de muchos microorganismos.
- Evitar en el equipo secciones como: extremos cerrados, tuberías dobladas o esquinas pronunciadas donde se pueden acumular residuos - de jarabe difíciles de limpiar, y que son capaces de recoger levaduras y bacterias.

#### BEBIDAS QUE CONTIENEN CAROTENOIDES.

En el caso de bebidas que contienen carotenoides se deben seguir las mismas precauciones, pero hay que recordar que la adición de antioxidantes liposolubles no protege a éstos pigmentos. El ácido ascórbico es un agente que puede alargar la estabilidad del producto.

La solución de color debe prepararse justo antes de utilizarla.

Es muy importante la homogenización del carotenoide con los demás ingredientes de la emulsión, ya que éste paso representa una reducción de la cantidad de agente colorante requerida; además, debe considerarse la cantidad de concentrado de fruta utilizada, ya que influye en la estabilidad del color.

En el caso de concentrados de naranja que contienen menos de tres gramos por litro, no son suficientemente estables cuando se colorean con  $\beta$ -caroteno, y pueden sufrir blanqueamiento con la luz solar en un tiempo rela-

tivamente corto (29).

Para finalizar éste tema, se reconoce que los casos de deterioro de las bebidas carbonatadas se manifiestan con mayor frecuencia en las épocas frías del año, en las cuales el consumo de bebidas desciende, mientras que durante los períodos de calor los productos se consumen con mayor rapidez, antes de que ocurra la descomposición de la bebida carbonatada (9,51).

## CAPITULO III.

### MATERIAL Y METODOS.

3.1 Etapas del desarrollo experimental.

3.2 Determinaciones analíticas efectuadas.

## MATERIAL Y METODOS.

### 3.1 ETAPAS DEL DESARROLLO EXPERIMENTAL.

El estudio se realiza sobre el comportamiento de cuatro presentaciones de Carotenoides sintéticos, disponibles en el mercado por la Compañía Roche. Dos de estos carotenoides consisten en preparaciones de polvos hidrosolubles:

- Cantaxantina al 10%
- $\beta$ -caroteno al 10%.

Y los otros dos, en preparaciones liposolubles, como suspensiones:

- $\beta$ -caroteno en concentración de 30%
- Apocarotenal en concentración de 20%

Todos ellos se aplican para dar color a bebidas carbonatadas de mandarina, piña y toronja, con el fin de observar el comportamiento de dichas bebidas, y compararlo con el de las preparadas con colorantes artificiales.

1.- La primera parte de la Metodología de la Experimentación, se enfoca hacia la búsqueda de la fórmula adecuada que iguale el color comercial; para ello se establecen variaciones sobre la fórmula base, con el fin de encontrar la que proporcione una mayor estabilidad al colorante en estudio.

2.- La segunda parte de la Metodología de la Experimentación, se enfoca a las pruebas de Estabilidad que se practicaron al lote de bebidas preparadas con la fórmula que se encontró más adecuada en la parte anterior.

Las pruebas consisten en someter las bebidas terminadas a diferentes condiciones de almacenamiento para observar el comportamiento de los colorantes en ellas. Dichas condiciones son:

- Exposición a la luz directa del sol.
- Exposición a la luz difusa del día.
- Almacenamiento en la oscuridad.

Como patrones de comparación se utilizaron bebidas del mismo sabor -- que se prepararon con la fórmula del embotellador y se colorearon con las cantidades usuales de colorantes artificiales: amarillo No. 5, amarillo -- No. 6, rojo No. 3 y azul No. 1; los cuales se combinan entre sí para proporcionar los tonos característicos del producto comercial.

La estabilidad de los agentes colorantes carotenoides, se puede demostrar por medio de la cuantificación de absorbancia que muestran las bebidas, durante las diferentes etapas que atraviesan al someterse a diversos grados de luminosidad no controlada.

#### A) Ensayos de Fórmulas.

Se partió de las fórmulas base que recomendaron los fabricantes de -- los colorantes, las cuales son dos: una para Carotenoides hidrosolubles y otra para carotenoides liposolubles.

#### Preparación de la Fórmula Base con carotenoides hidrosolubles.

Se sigue el método tradicional para la preparación de la bebida, con la única variante de la manera de preparar la solución de color. General-

mente se utilizan de 1 a 6 mg. de B-caroteno hidrosoluble por litro de bebida carbonatada.

Para preparar la solución de color:

- La cantidad deseada de agente colorante, se agrega a 10 o hasta 15 veces su peso en agua. Se agita y se deja reposar treinta minutos con -- agitación ocasional para que todas las partículas se hidraten.

- La suspensión resultante se calienta a 60°C en Baño María con agitación constante durante quince minutos, y se filtra.

- Esta solución se homogeneiza con el concentrado de sabor y se adiciona a los otros ingredientes. La homogeneización ofrece brillantez y pureza de color a la bebida final, ya que permite una distribución uniforme de color a través de la solución completa.

#### Preparación de la Fórmula Base con carotenoides liposolubles.

Se utilizan las suspensiones de carotenoides micronizados en aceites vegetales para colorear aceites saborizantes, antes de la emulsificación. El proceso se puede observar en el Esquema No. 2.

#### Cantidades y Preparación de la Bebida

| Componentes.                               | Cantidad (g)        |
|--------------------------------------------|---------------------|
| Goma ester/aceite saborizante (2:1) .....  | 40.0                |
| Aceite vegetal bromado .....               | 7.0                 |
| Suspensión de B-caroteno al 30% .....      | 3.3                 |
| Solución de goma acacia (30% en peso)..... | 360.0               |
| Acido ascórbico .....                      | 20.0                |
| Jarabe simple (64% en peso) .....          | completar a 1,000.0 |

DOSIS: 5 - 15 mg. de suspensión 20 ó 30%, por litro de refresco.

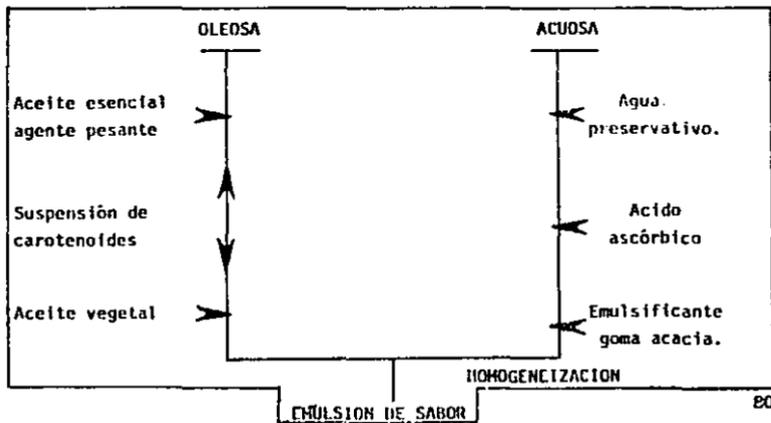
La suspensión de B-caroteno se calienta en la mezcla de aceites esenciales o aceite vegetal, arriba de 130°C, para lograr la disolución completa; posteriormente se enfría por debajo de los 100°C. Esta mezcla se vacía en el resto de la fase oleosa y se adiciona a la fase acuosa, con agitación constante. Se homogeneiza a alta presión para lograr una emulsión estable.

La bebida final se obtiene por mezcla de la emulsión de sabor con el jarabe endulzante, ácido cítrico y agua carbonatada.

Generalmente se emplean 5 g. de esta emulsión de sabor por litro de carbonatado. De esta manera, cada litro de bebida preparado con B-caroteno al 30%, tendrá 0.0165 g. ó 5 ppm. de B-caroteno puro.

#### ESQUEMA No. 2.

PROCESO DE COLORACION DE BEBIDAS CARBONATADAS CON CAROTENOIDES (Via Aceites - Esenciales).



### A<sub>1</sub>) Desarrollo de la Bebida Sabor Piña.

#### CON CAROTENOIDES LIPOSOLUBLES (suspensión de B-caroteno al 30%).

De los ensayos realizados se deduce que el color que resulta en la bebida no sólo depende de la concentración de colorante, sino que intervienen todos los ingredientes de la fase oleosa de la emulsión.

Saborizante. Como agente saborizante se utilizó un aceite con las propiedades requeridas por el comerciante; este aceite está formado por:

- 98.7% de aceite mineral
- 0.9% de aldehído C-19 (aromatizante)
- 0.3% de base de piña.

Se pudo observar que cuando la cantidad de aceite saborizante es insuficiente en la emulsión de sabor, al cabo de varios días de exposición a la luz solar se forma un anillo colorido en la parte superior de la bebida como indicio de una emulsión inestable, en la que el colorante se separa por un mal balance de la fórmula.

La relación de aceite saborizante que recomienda la fórmula base es de 2.7% respecto al total de la emulsión, y su proporción respecto al colorante es de 80:20. Sin embargo, se encontró que la proporción más adecuada en la práctica, fué de 90-93% : 9.5 - 7% aceite-colorante, respectivamente.

Aceite Vegetal Bromado. Sirve para aumentar la estabilidad de la dispersión final. Según la fórmula base, el aceite se agrega en proporción -

de 0.7% en el total de la emulsión. Si se aumenta la proporción de este componente en la emulsión, se obtiene una mayor estabilidad de la bebida final. Así, con un 0.5% más de aceite vegetal bromado se consiguió una bebida más estable.

Goma Ester. Es un componente indispensable para la integración de los carotenoides en la emulsión. Si se omite, la bebida preparada con carotenoides sufre decoloración completa en un día de exposición a la luz solar.

Sin embargo, si su proporción en la emulsión se incrementa a más del doble de la cantidad recomendada, se forma un anillo gomoso en la parte superior de la botella.

La proporción que recomienda la fórmula original es de 2.7% en el total de la emulsión, sin embargo, es imposible disolver dicha cantidad de goma en el aceite. La proporción de goma que se encontró más adecuada para esta bebida, fué de 1.35%.

Colorante. Se utiliza la suspensión de B-caroteno al 30%, via aceites esenciales. La proporción que se recomienda corresponde a 0.23% en el total de la emulsión, y ésta resultó la más adecuada entre las que se ensayaron.

Todos los productos ensayados presentaron tonalidades amarillas agradables a la vista.

En la Tabla No. 15 se muestran los ensayos que se practicaron para la elaboración de la bebida.

TABLA No. 15

VARIACIONES REALIZADAS EN LAS FORMULAS PARA OBTENER LA BEBIDA DE PIÑA.  
Para preparar un kilogramo de emulsión con Carotenoides Liposolubles .

| INGREDIENTE (g.)                                         | FORMULA BASE          | ENSAYO No. 1      | ENSAYO No. 2      | ENSAYO No. 3      | ENSAYO No. 4      | ENSAYO No. 5      | ENSAYO No. 6      |
|----------------------------------------------------------|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Goma ester                                               | 26.7                  | 13.3              | 13.3              | 13.3              | 14.0              | 21.0              | 21.0              |
| Aceite saborizante                                       | 13.3                  | 26.7              | 31.8              | 31.8              | 31.8              | 42.0              | 42.0              |
| Aceite vegetal bromado                                   | 7.0                   | 7.0               | 13.0              | 13.0              | 13.0              | 7.0               | 7.0               |
| β-caroteno (susp. al 30%)                                | 3.3                   | 2.3               | 2.3               | 2.3               | 3.3               | 2.6               | 3.0               |
| Sol. goma acacia al 30%                                  | 360.0                 | 360.0             | 360.0             | 360.0             | 360.0             | 360.0             | 360.0             |
| Acido ascórbico                                          | 20.0                  | 20.0              | 20.0              | 20.0              | 20.0              | 20.0              | 20.0              |
| Jarabe al 64%                                            | $\frac{C}{1.000}$     | $\frac{m}{1.000}$ | $\frac{p}{1.000}$ | $\frac{e}{1.000}$ | $\frac{t}{1.000}$ | $\frac{r}{1.000}$ | $\frac{a}{1.000}$ |
| Sol. formada por agua, benzoato de sodio, ácido cítrico. | no se indica cantidad | 150 ml/l          |
| BHA Y BHT                                                | -                     | 0.2 g c/u         |
| Emulsión por litro de bebida                             | 5 g.                  | 5.1 ml            | 1.5 ml            | 2.5 ml            | 2.5 ml            | 2.5 ml            | 2.5 ml            |

1

TABLA No. 16

COMENTARIOS DE LOS ENSAYOS DE BEBIDA DE PIRA.

| BEBIDA       | COMENTARIOS.                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FORMULA BASE | La goma no se disuelve en esa cantidad de aceite y se hace "chiclosa" a 100°C (temperatura indicada por el fabricante); por tanto, se invierten las cantidades de goma y aceite; y después de alcanzar los 100°C, se debe bajar a 50°C para disolver la goma.                                    |
| ENSAYO No. 1 | La emulsión se homogeneizó a 3000 lb/pulg <sup>2</sup> . Se obtuvo el color del comerciante, pero falta turbidez. Se separó el color (por falta de aceite saborizante). Decoloración en tres días de exposición al sol. A los tres meses se destapó y despidió olor a ácido sulfúrico.           |
| ENSAYO No. 2 | Se homogeneizó a 2900 lb/pulg <sup>2</sup> . Se observa en la bebida falta de color, pero el tono y la turbidez deseados. Decoloración completa en 49 horas de exposición a la luz solar.                                                                                                        |
| ENSAYO No. 3 | Se homogeneizó a 2500 lb/pulg <sup>2</sup> . La bebida muestra falta de color pero turbidez deseada. Al exponerse al sol se separa ligeramente el color y a los 4 días, se observa decoloración completa.                                                                                        |
| ENSAYO No. 4 | Falta color respecto a la bebida comercial, sin embargo, se obtuvo la turbidez deseada. A los diez días de exposición a la luz solar muestra ligera decoloración, pero se observa la formación de anillo amarillo en la parte superior de la bebida. (Ensayo destinado a pruebas de estabilidad) |
| ENSAYO No. 5 | Falta color, la bebida muestra un tono de la bebida característica de toronja. La goma se aplicó en cantidad proporcional a la de colorante. No se forma el anillo; decoloración en 4 días de exposición a la luz solar.                                                                         |
| ENSAYO No. 6 | No se forma el anillo gomoso. Se observa poca decoloración a los dos días de exposición a la luz solar.                                                                                                                                                                                          |

El Ensayo No. 1 resultó el mejor en cuanto a la igualación del color del producto comercial, aunque sabemos que le hace falta aceite saborizante, y su estabilidad es muy pobre.

El Ensayo del que resultó una bebida agradable a la vista y más estable, fué el No. 4, y los productos elaborados en él fueron los que se destinaron a las pruebas de estabilidad.

Es necesario aclarar que si se incrementa la cantidad de emulsión, -- con el fin de intensificar el color de la bebida, ésta sufre una pérdida de brillantez y muestra un aspecto lechoso.

Se realizó un ensayo en el cual se aplicó el B-caroteno a la fase -- oleosa del comerciante. La bebida se preparó con 1.25 ml. de la emulsión por litro, y mostró el color y turbidez del producto del embotellador pero una estabilidad muy pobre, pues se decoloró en un día de exposición a la luz solar (se piensa que éste comportamiento se debió a la ausencia de ácido ascórbico y goma ester, así como probablemente al empleo de diferentes ingredientes y cantidad de ellos).

## Bebida Sabor Piña.

### CON CAROTENOIDES HIDROSOLUBLES (dispersión de B-caroteno al 10%)

Debido a que los colorantes sintéticos que normalmente se utilizan en la industria embotelladora son solubles en agua, para aplicar los carotenoides hidrosolubles, se siguió la fórmula y procedimiento que el comerciante emplea en la elaboración de su producto.

#### Procedimiento del embotellador:

Se prepara una emulsión con:

- Aceite saborizante (aldehído C-19, base de piña y aceite mineral)
- Aceite vegetal bromado.
- Solución de goma acacia al 40%.
- Amarillo No. 5 y No. 6
- BHA y BHT en alcohol.
- agua.

Para obtener un litro de bebida de piña, utilizan 5 ml. de esta emulsión, además de 150 ml. de una solución formada por ácido cítrico, benzoato de sodio y jarabe simple; se completa con agua carbonatada.

Para los ensayos con carotenoides se empleó la emulsión del comerciante, pero sin color.

En el Ensayo No. 1 se agregaron 2.3 g. de B-caroteno al 10% a un kilo gramo de emulsión, y se emplearon 1.25 ml. de esta emulsión para obtener un litro de bebida.

Dicha bebida poseía la turbidez igual a la del producto comercial pero mostró un color más claro. Se decoloró en 24 horas de exposición a la

luz solar.

En el Ensayo No. 2 se preparó la bebida del comerciante, sin color, y se le agregaron 85 mg. de Riboflavina y 25 mg. de B-caroteno en su preparación al 10% hidrodispersable, por litro.

La bebida resultante iguala el color de la bebida del comerciante pero presenta demasiada turbidez.

**Nota:** Las cantidades en que se aplican los componentes de esta emulsión y de la solución del comerciante no fueron proporcionadas, debido a que dichos datos se consideran información confidencial.

## A<sub>2</sub>) Desarrollo de la Bebida Sabor Mandarina.

CON CAROTENOIDES LIPOSOLUBLES (suspensión de apocarotenal al 20% y Cantaxantina en dispersión al 10%).

El color resultante en la bebida depende de la proporción en que se apliquen, tanto el colorante, como los demás ingredientes; por tal razón, se realizaron variaciones de fórmula en los componentes que mostraron interferir con el color del producto.

Saborizante. Se utilizó un aceite esencial del comerciante, formado por 90% de aceite de naranja y 10% de aceite de mandarina.

Se encontró que al aumentar la proporción de aceite saborizante en la emulsión, se proporciona una mayor estabilidad al carotenoide en la bebida final, y se logra una mejor disolución de la goma.

Según la fórmula base la proporción de aceite saborizante en el total de la emulsión, corresponde a un 2.7%, y su relación con el colorante, corresponde a 4:1.

Se encontró que la proporción de 4.2% de aceite saborizante en la emulsión, da mayor estabilidad al colorante, y la relación más adecuada con el colorante, fué la de 9:1.

Aceite Vegetal Bromado. La proporción que recomienda la fórmula base en el total de la emulsión es de 0.7% y en esta bebida, esta proporción resultó más adecuada que al aumentar la cantidad de este ingrediente.

Goma Ester. La proporción de goma que se recomienda para el 100% de la emulsión es de 1.35%; sin embargo, se obtuvieron mejores resultados -- con el aumento de este porcentaje a 2.13 (con el consecuente aumento de la proporción de aceite, para lograr la disolución de ésta).

La proporción goma - colorante que mostró mejor estabilidad fue la - de 4:1 respectivamente.

Colorante. Se utiliza suspensión de apocarotenal al 20% y cantaxantina hidrodispersable al 10%. La proporción recomendada es de 10:1, respectivamente.

En la Tabla No. 17 se muestran las variaciones realizadas en los diversos componentes de la fórmula original.

En el Ensayo No. 1 se emplea una proporción de colorante de 0.26% respecto al total de la emulsión, en la forma de 2.4 g. de apocarotenal y --- 0.24 g. de cantaxantina, puros, por kilogramo de emulsión.

La bebida preparada con ésta emulsión muestra el tono y la turbidez deseados, pero el color es más claro y muestra rápida decoloración ante la luz.

En el Ensayo No. 2 se emplearon 4 g. de apocarotenal y 0.4 g. de cantaxantina. Se obtiene un producto con tono agradable, pero no igual al -- del comerciante, ya que le falta tono rojizo. Se pensó agregar más cantaxantina, pero con ella, el color tiende a rosa.

Aunque no se consiguió el tono del comerciante, el producto más adecuado resultó el Ensayo No. 2, en cuanto a la obtención de un color agradable y estable.

TABLA No. 17

**VARIACIONES REALIZADAS EN LAS FORMULAS PARA OBTENER LA BEBIDA DE MANDARINA**

Para preparar un kilogramo de emulsión con carotenoides Liposolubles

| INGREDIENTE (g.)                                          | FORMULA BASE                  | ENSAYO No. 1 | ENSAYO No. 2 |
|-----------------------------------------------------------|-------------------------------|--------------|--------------|
| Goma ester                                                | 13.32                         | 13.32        | 21.0         |
| Aceite saborizante                                        | 26.7                          | 31.8         | 42.0         |
| Aceite Vegetal Bromado                                    | 7.0                           | 13.0         | 7.0          |
| Apocarotenal (20%)                                        | --                            | 2.4          | 4.0          |
| Cantaxantina (10%)                                        | 10.1                          | 0.24         | 0.4          |
| Sol. goma acacia (30%)                                    | 360.0                         | 360.0        | 360.0        |
| Acido ascórbico                                           | 20.0                          | 20.0         | 20.0         |
| Jarabe al 64%                                             | C o m p l e t a r a<br>1000.0 | 1000.0       | 1000.0       |
| Sol. formada por agua, benzoato de sodio<br>Acido cítrico | 150 ml/l                      | 150 ml/l     | 150 ml/l     |
| BHA Y BHT                                                 | 0.2 g c/u                     | 0.2 g c/u    | 0.2 g c/u    |
| Emulsión por litro de bebida                              | 5 g.                          | 5 g.         | 5 g.         |

TABLA No. 18

**COMENTARIOS DE LOS ENSAYOS DE BEBIDA DE MANDARINA**

| ENSAYO       | COMENTARIOS                                                                                                                                       |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ensayo No. 1 | Decoloración completa a la vista en 48 horas de exposición al sol.<br>Buen tono y turbidez.                                                       |
| Ensayo No. 2 | Se comienza a decolorar a los 4 días de exposición al sol. Refresco muy claro.<br>Si se aumenta la cantidad de carotenoide el tono tiende a rosa. |

## Bebida Sabor Mandarina.

CON CAROTENOIDES HIDROSOLUBLES (dispersiones de Cantaxantina y B-caroteno, ambas al 10%)

Al igual que en la bebida de piña, se siguió la fórmula y procedimiento que el comerciante emplea para elaborar su producto, con la única diferencia de la sustitución de los colorantes sintéticos Rojo No. 3 y Amarillo No. 5 por la cantaxantina y el B-caroteno, ambos en preparaciones hidrodispersables, al 10% de concentración.

### Procedimiento del embotellador:

Se prepara una emulsión con:

- Aceite saborizante (90% esencia de naranja y 10% de mandarina).
- Aceite vegetal bromado.
- Solución de goma acacia o Purity al 40%
- Rojo No. 3 y Amarillo No. 5
- BHA y BHT en alcohol
- Agua.

Para obtener un litro de bebida de mandarina se utilizan 1.25 ml. de esta emulsión, además 150 ml. de una solución formada por jarabe simple, - ácido cítrico y benzoato de sodio; se completa con agua carbonatada.

Para preparar la bebida con carotenoides se recomienda la adición de B-caroteno - cantaxantina, en proporción 10:1, respectivamente.

Ensayo No. 1. Se preparó la bebida incolora del comerciante y se le agregaron 75 mg. de B-caroteno (10%) y 16.25 mg. de cantaxantina (10%) por litro de producto.

La bebida resultante muestra un aspecto lechoso y falta de brillantez. Al exponerse a la luz solar directa, muestra separación del color y decoloración completa a la vista, a las 48 horas de someterse a dichas condiciones.

Ensayo No. 2. A un litro de bebida del comerciante, carente de color, se le adicionan 10 mg. de  $\beta$ -caroteno (10%) y 7.0 mg. de Cantaxantina (10%). Esta bebida sufre pérdida completa de color a las 24 horas de exposición a la luz solar directa.

Ensayo No. 3. Con la emulsión blanca del comerciante se preparó una bebida que contenía 4.8 mg. de cantaxantina pura y 3.2 mg. de  $\beta$ -caroteno puro, por litro de bebida. Esta bebida posee un exceso de color rojo y -- falta de amarillo; cuando se expone a la luz solar directa sufre decoloración completa en 48 horas.

Ensayo No. 4. Con la misma emulsión se preparó una bebida cuyo contenido de carotenoides era de 2.1 mg. de cantaxantina pura y 4.5 mg. de --  $\beta$ -caroteno puro, por litro de bebida. Con esta combinación se obtiene el tono del producto comercial pero se aprecia un exceso de turbidez. Cuando el producto se expone a la luz solar directa, sufre decoloración completa en 24 horas.

Con estos cuatro ensayos, nos pudimos dar cuenta de la importancia de la homogeneización del colorante con los demás ingredientes de la emulsión, ya que los problemas a que nos enfrentamos, tales como exceso de turbidez, y por tanto, falta de brillantez, separación del color y rápida decoloración de los productos, son consecuencia de una mala integración de las mo-

téculas carotenoides con los demás ingredientes de la bebida.

Dado el papel tan importante que la homogeneización del color en la emulsión, juega, se preparó una emulsión con color, la cual contenía 4.34 g. de  $\beta$ -caroteno y 0.94 g. de cantaxantina puros, por kilogramo. Con esta emulsión, se prepararon los dos siguientes ensayos.

Ensayo No. 5. Se preparó un litro de bebida con 4.25 ml. de la emulsión de color, con lo cual se pudo observar una mayor estabilidad del color. Al cabo de ocho días de exposición a la luz solar directa, la bebida apenas empezó a decolorarse de la parte superior; después de quince días, se observó casi completa ausencia de color.

Ensayo No. 6. Se emplearon 7.5 ml. de la misma emulsión por litro de bebida. La decoloración a los ocho días es menor que la que presenta la bebida del ensayo anterior, y después de quince días de exposición a la luz solar directa, conserva bastante color.

La bebida más estable es la del Ensayo No. 6, que posee un color mandarina agradable, más no iguala el color del producto comercial.

Con el empleo de diferentes concentraciones de carotenoides se llegó a la conclusión de que NO es posible obtener el tono comercial con carotenoides, ya que se aprecia falta de tono rojo, y al agregar más cantaxantina, el tono tiende a rosa.

Debido a esto, se realizó un ensayo en el que se mezclaron los carotenoides con colorantes sintéticos, para ello se preparó la emulsión de sa-

bor con  $\beta$ -caroteno, cantaxantina y Amarillo No. 6.

En esta prueba se obtiene el color exacto, tono y turbidez de la --- muestra comercial.

### A<sub>3</sub>) Desarrollo de la Bebida Sabor Toronja.

#### CON CAROTENOIDES LIPOSOLUBLES (suspensión de B-caroteno al 30%)

Para preparar un kilogramo de emulsión se ensayó la siguiente fórmula:

| INGREDIENTE                          | GRAMOS             |
|--------------------------------------|--------------------|
| Goma ester .....                     | 21.0               |
| Aceite esencial .....                | 42.0               |
| Aceite vegetal bromado .....         | 7.0                |
| Susp. de B-caroteno al 30% .....     | 2.6                |
| Solución de goma purity al 30% ..... | 360.0              |
| Acido ascórbico .....                | 20.0               |
| BHA y BHT .....                      | 0.2 c/u            |
| Jarabe al 64% .....                  | completar a 1000.0 |

El aceite esencial está formado por 98.8% de aceite mineral y 1.20% - de base de toronja.

Se requieren 5 ml. de esta emulsión por litro de bebida, además de -- 150 ml. de una solución formada por ácido cítrico, benzoato de sodio y --- agua. Se completa con agua carbonatada. Con la bebida resultante se obtuvo el color idéntico al comercial y bastante estabilidad: empieza a decolorarse poco después de cuatro días de exposición a la luz solar. La bebida en cuarto ambiente no sufrió decoloración al cabo de 21 días.

### 3.2 DETERMINACIONES ANALITICAS EFECTUADAS.

#### OBJETIVO.

El objetivo de las pruebas a realizar es comparar la pérdida de color que sufren refrescos preparados con colorantes artificiales, de una marca comercial, con los preparados con carotenoides, cuando ambos se someten a diferentes grados de luminosidad (no controlada).

#### TIPO DE ANALISIS.

El estudio de estabilidad de carotenoides en bebidas carbonatadas se realiza sobre un total de dieciocho muestras correspondientes a bebidas -- preparadas con carotenoides, y nueve muestras facilitadas por la industria donde se realizó el estudio.

Cada muestra, analizada por triplicado procede de cuatro o cinco bebidas preparadas en el mismo lote.

Se compara la pérdida de color que sufren tres muestras expuestas a -- la luz solar directa, tres a la luz difusa del día y tres a la oscuridad.

Las tres muestras que se someten a cada grado de luminosidad corresponden a:

- 1) una bebida coloreada con carotenoides en envase normal.
- 2) una bebida coloreada con carotenoides en envase ámbar.
- 3) una bebida del comerciante, preparada con colorantes artificiales.

El tiempo de prueba fué de diecisiete días, ya que en ese tiempo las bebidas coloreadas con carotenoides mostraron completa ausencia de color (a simple vista), cuando se sometieron a la luz solar directa.

#### MATERIAL O EQUIPO EMPLEADO.

La cuantificación de la pérdida de color se realiza mediante la determinación colorimétrica de ABSORBANCIA, con un Espectrofotómetro (Perkin-Elmer, Coleman 55, con fuente de poder 55:204).

Fundamento.- El color se aprecia porque los cambios en la configuración electrónica y en la energía de las moléculas, producen espectros en las regiones ultravioleta y visible del espectro.

La región ultravioleta y visible del espectro se define como la radiación asociada con la absorción en el intervalo de 200 a 800 nm., que son los límites espectrales del espectrofotómetro ultravioleta visible convencional.

La respuesta del ojo humano está limitada a la luz visible y tiene una baja sensibilidad abajo de 450 y arriba de 675 nm.. Las determinaciones que así se realizan tienen el inconveniente de los efectos de las fragilidades humanas, incluyendo: fatiga, lentitud de respuesta, y una tendencia a respuestas más rápidas a los colores dominantes.

Su limitación más seria es quizá, su incapacidad para determinar el nivel de poder de radiación, excepto por comparación.

Para el ojo humano, el color es un criterio subjetivo y psicológico. La precisión es siempre menor a la obtenida con los instrumentos fotoeléctricos.

El principio básico de la mayoría de los métodos cuantitativos de absorbanza, consiste en comparar el grado de absorción (o transmitancia) de la energía radiante a una longitud de onda particular, con una solución del material en cuestión y una serie de soluciones patrón.

Las mediciones de ABSORCIÓN implican la determinación de la reducción del poder de radiación que experimenta un haz de la misma como consecuencia de su paso por un medio absorbente. La longitud de onda a la que se presenta una absorbanza máxima, depende de la magnitud de la energía involucrada en una determinada transición electrónica.

La absorción se verifica cuando un cuanto de energía radiante coincide con una transición permisible a un estado energético más alto, por parte del átomo o molécula que se está estudiando.

Método.- Se selecciona el filtro y la longitud de onda apropiada. -- (En nuestro caso: Filtro No. 2 y 430 nm. de longitud de onda). Se fija la escala de lectura del instrumento a cero transmitancia cuando la celda está oscura, y a 100 divisiones de la escala (absorbanza cero) con los blancos (56).

Se procede a colocar la celda con la muestra y tomar la lectura correspondiente.

CAPITULO IV.

RESULTADOS.

## RESULTADOS

Las bebidas de piña que se sometieron a prueba contienen 2.5 mg. de B-caroteno puro por litro de bebida.

Dichas bebidas presentan un pH de 3.5; 10.1°Brix. y un índice de refracción de 1.348.

Las bebidas del comerciante presentan un pH menor a 3.5 y los grados Brix varían desde 9.5 a 11.

En la Tabla No. 19 se dan los valores obtenidos para la determinación de color retenido (como Absorbancia a 430 nm.) en las bebidas de piña coloreadas con carotenoides, sometidas a diferentes grados de luminosidad; a su vez, se comparan con los obtenidos para los refrescos coloreados con colorantes artificiales, considerados como tradicionales en la industria de bebidas carbonatadas.

Una vez establecidos estos parámetros, en la Tabla No. 20 se comparan los valores de porcentaje de color retenido en las bebidas coloreadas con carotenoides y con colorantes artificiales, sometidas a los mismos tipos de almacenamiento establecido.

En la Tabla No. 21 podemos apreciar los porcentajes de pérdida de color durante el almacenamiento de las bebidas; y en la Tabla No. 22 se considera a la pérdida transcurrida a los diecisiete días, como un 100% de de coloración, para poder interpretar mejor el comportamiento del color en cada intervalo de tiempo.

Las intensidades de color de bebidas que contienen carotenoides y -- las correspondientes a las coloreadas con colorantes artificiales, a lo -- largo de su almacenamiento bajo diferentes condiciones, se muestran diagramáticamente en la Gráfica No. 5.

En la Gráfica No. 6. podemos observar el comportamiento de las bebidas preparadas con carotenoides (en envase tradicional y en envase ámbar) y con colorantes artificiales, cuando fueron expuestas a la luz solar por un período de diecisiete días.

En la Gráfica No. 7 observamos el comportamiento de las mismas bebidas que se almacenaron expuestas a la luz difusa del día (en un cuarto donde podían penetrar los rayos solares a través de la ventana).

En la Gráfica No. 8 se observa el comportamiento de las bebidas que se almacenaron protegidas de la luz por medio de papel estaño.

NOTA: En las tablas se denomina como Bebida Patrón a la bebida del comerciante, la cual fué preparada con colorantes artificiales.

TABLA No. 19

COMPORTAMIENTO DE BEBIDAS CARBONATADAS FRENTE A DIFERENTES CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO.

Lecturas de Absorbancia (en Espectrofotómetro, a 431 nm.; Filtro No. 2) / Tiempo de exposición.

| BEBIDA                               | TIEMPO |      |      |        |        |       |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
|--------------------------------------|--------|------|------|--------|--------|-------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|
|                                      | Inic.  | 1 h. | 2 h. | 3.5 h. | 4.5 h. | 15 h. | 1 d. | 3 d. | 4 d. | 5 d. | 6 d. | 7 d. | 9 d. | 11 d. | 13 d. | 15 d. | 17 d. |
| Exposición a la luz directa del Sol. |        |      |      |        |        |       |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
| Prueba                               | .503   | .472 | .444 | .439   | .452   | .435  | .429 | -    | -    | .363 | .353 | .350 | .344 | .340  | .340  | .337  | .329  |
| Prueba en envase ámbar.              | .527   | .527 | .495 | .509   | .506   | .489  | .487 | -    | -    | .408 | .403 | .396 | .395 | .393  | .376  | .372  | .349  |
| Bebida Patrón                        | .793   | .789 | .784 | .775   | .772   | .769  | .769 | .762 | .761 | .739 | .734 | .722 | .717 | .715  | .696  | .692  | .664  |
| Exposición a la luz difusa del día.  |        |      |      |        |        |       |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
| Prueba                               | .427   | .410 | .401 | .400   | .399   | .391  | .379 | .374 | .369 | .366 | .366 | .360 | .352 | .342  | .342  | .342  | .338  |
| Prueba en envase ámbar.              | .615   | .600 | .596 | .578   | .576   | .574  | .570 | .561 | .547 | .545 | .543 | .542 | .532 | .526  | .519  | .512  | .506  |
| Bebida Patrón                        | .812   | .808 | .806 | .803   | .801   | .796  | .791 | .787 | .784 | .778 | .770 | .768 | .759 | .752  | .746  | .742  | .741  |
| Comportamiento en la Oscuridad.      |        |      |      |        |        |       |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
| Prueba                               | .629   | .620 | .609 | .601   | .595   | .584  | .574 | .570 | .566 | .564 | .564 | .562 | .560 | .556  | .552  | .548  | .545  |
| Prueba en envase ámbar               | 1.1    | .171 | .133 | .199   | .243   | .248  | .201 | .107 | .111 | .297 | .260 | .298 | .361 | .346  | .392  | .431  | .428  |
| Bebida Patrón                        | .820   | .819 | .816 | .813   | .806   | .802  | .793 | .789 | .783 | .782 | .782 | .773 | .769 | .760  | .753  | .741  | .740  |

Inic. - Lectura Inicial

h. - hora (s)

d. - días

TABLA No. 20

COMPORTAMIENTO DE BEBIDAS CARBONATADAS FRENTE A DIFERENTES CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO.

Porcentajes de Color retenido / Tiempo de exposición.

| BEBIDA                               | TIEMPO |      |      |        |        |      |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
|--------------------------------------|--------|------|------|--------|--------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|
|                                      | Inic.  | 1 h. | 2 h. | 3.5 h. | 4.5 h. | 5 h. | 1 d. | 3 d. | 4 d. | 5 d. | 6 d. | 7 d. | 9 d. | 11 d. | 13 d. | 15 d. | 17 d. |
| Exposición a la luz directa del Sol. |        |      |      |        |        |      |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
| Prueba                               | 100    | 94   | 88   | 87     | 90     | 86   | 85   | 79   | 77   | 72   | 70   | 70   | 68   | 68    | 68    | 67    | 65    |
| Prueba en envase ámbar               | 100    | 100  | 94   | 97     | 96     | 93   | 93   | -    | -    | 77   | 76   | 75   | 75   | 75    | 71    | 71    | 66    |
| Bebida Patrón                        | 100    | 99   | 99   | 98     | 97     | 97   | 97   | 96   | 96   | 93   | 93   | 91   | 90   | 90    | 88    | 87    | 84    |
| Exposición a la luz difusa del día.  |        |      |      |        |        |      |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
| Prueba                               | 100    | 95   | 94   | 94     | 91     | 89   | 88   | 88   | 86   | 86   | 86   | 83   | 82   | 80    | 80    | 80    | 79    |
| Prueba en envase ámbar               | 100    | 94   | 95   | 94     | 94     | 93   | 93   | 90   | 89   | 89   | 88   | 88   | 86   | 86    | 84    | 83    | 82    |
| Bebida Patrón                        | 100    | 99   | 99   | 99     | 99     | 98   | 97   | 97   | 97   | 96   | 96   | 96   | 93   | 93    | 92    | 91    | 91    |
| Comportamiento en la Oscuridad.      |        |      |      |        |        |      |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
| Prueba                               | 100    | 99   | 97   | 96     | 95     | 93   | 91   | 91   | 90   | 90   | 90   | 89   | 89   | 88    | 88    | 87    | 87    |
| Prueba en envase ámbar               |        |      |      | 5      | 4      | n    |      |      | c    | o    | r    | d    | u    | r     | a     |       |       |
| Bebida Patrón                        | 100    | 100  | 100  | 99     | 98     | 98   | 97   | 96   | 95   | 95   | 95   | 94   | 94   | 93    | 92    | 90    | 90    |

Inic = Lectura Inicial

h = hora (s)

d = día (s)

TABLA No. 21

PORCENTAJES DE PERDIDA DE COLOR DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE LAS BEBIDAS .

| BEBIDA                                      | TIEMPO |      |      |        |      |       |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
|---------------------------------------------|--------|------|------|--------|------|-------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|
|                                             | Inic.  | 1 h. | 2 h. | 3.5 h. | 5 h. | 15 h. | 1 d. | 3 d. | 4 d. | 5 d. | 6 d. | 7 d. | 9 d. | 11 d. | 13 d. | 15 d. | 17 d. |
| <b>Exposición a la luz directa del sol.</b> |        |      |      |        |      |       |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
| Prueba                                      | 0      | 6    | 12   | 13     | 10   | 14    | 15   | 21   | 23   | 28   | 30   | 30   | 32   | 32    | 32    | 33    | 35    |
| Prueba en envase ámbar                      | 0      | 0    | 6    | 3      | 4    | 7     | 7    | -    | -    | 23   | 24   | 25   | 25   | 25    | 29    | 29    | 34    |
| Bebida Patrón.                              | 0      | 1    | 1    | 2      | 3    | 3     | 3    | 4    | 4    | 7    | 7    | 9    | 10   | 10    | 12    | 13    | 16    |
| <b>Exposición a la luz difusa del día.</b>  |        |      |      |        |      |       |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
| Prueba                                      | 0      | 4    | 6    | 6      | 9    | 11    | 12   | 12   | 14   | 14   | 14   | 17   | 18   | 20    | 20    | 20    | 21    |
| Prueba en envase ámbar                      | 0      | 2    | 5    | 6      | 6    | 7     | 7    | 10   | 11   | 11   | 12   | 12   | 14   | 14    | 16    | 17    | 18    |
| Bebida Patrón.                              | 0      | 1    | 1    | 1      | 1    | 2     | 3    | 3    | 3    | 4    | 5    | 5    | 7    | 7     | 8     | 9     | 9     |
| <b>Comportamiento en la Oscuridad.</b>      |        |      |      |        |      |       |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
| Prueba                                      | 0      | 1    | 3    | 4      | 5    | 7     | 9    | 9    | 10   | 10   | 10   | 11   | 11   | 12    | 12    | 13    | 13    |
| Prueba en envase ámbar                      |        |      |      |        |      |       |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
| Bebida Patrón.                              | 0      | 0    | 0    | 1      | 2    | 2     | 3    | 4    | 5    | 5    | 5    | 6    | 6    | 7     | 8     | 10    | 10    |

Inic = Lectura Inicial

h = hora (s)

d = día (s)

**TABLA No. 22**

**PORCENTAJES DE PERDIDA DE COLOR DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE LAS BEBIDAS.**

Considerando a los 17 días, 100 % de pérdida.

| BEBIDA                                     | TIEMPO |      |      |        |        |       |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
|--------------------------------------------|--------|------|------|--------|--------|-------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|
|                                            | Inic.  | 1 h. | 2 h. | 3.5 h. | 4.5 h. | 15 h. | 1 d. | 3 d. | 4 d. | 5 d. | 6 d. | 7 d. | 9 d. | 11 d. | 13 d. | 15 d. | 17 d. |
| <b>Exposición a la luz directa del sol</b> |        |      |      |        |        |       |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
| Prueba                                     | 0      | 17   | 34   | 37     | 29     | 40    | 43   | 60   | 66   | 80   | 86   | 86   | 91   | 91    | 91    | 94    | 100   |
| Prueba en envase ámbar                     | 0      | 0    | 18   | 19     | 21     | 21    | 21   | -    | -    | 68   | 71   | 74   | 74   | 74    | 85    | 85    | 100   |
| Bebida Patrón.                             | 0      | 6    | 6    | 12     | 19     | 19    | 19   | 25   | 25   | 44   | 44   | 56   | 62   | 62    | 75    | 81    | 100   |
| <b>Exposición a la luz difusa del día</b>  |        |      |      |        |        |       |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
| Prueba                                     | 0      | 19   | 29   | 29     | 43     | 52    | 57   | 57   | 67   | 67   | 67   | 81   | 86   | 95    | 95    | 95    | 100   |
| Prueba en envase ámbar                     | 0      | 11   | 28   | 33     | 33     | 39    | 39   | 56   | 61   | 61   | 67   | 67   | 78   | 78    | 89    | 94    | 100   |
| Bebida Patrón.                             | 0      | 11   | 11   | 11     | 11     | 21    | 33   | 33   | 33   | 44   | 55   | 55   | 78   | 78    | 89    | 100   | 100   |
| <b>Comportamiento en la obscuridad.</b>    |        |      |      |        |        |       |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
| Prueba                                     | 0      | 8    | 23   | 31     | 38     | 54    | 69   | 69   | 77   | 77   | 77   | 85   | 85   | 92    | 92    | 100   | 100   |
| Prueba en envase ámbar                     |        |      |      |        |        |       |      |      |      |      |      |      |      |       |       |       |       |
| Bebida Patrón.                             | 0      | 0    | 0    | 10     | 20     | 20    | 30   | 40   | 50   | 50   | 50   | 60   | 60   | 70    | 80    | 100   | 100   |

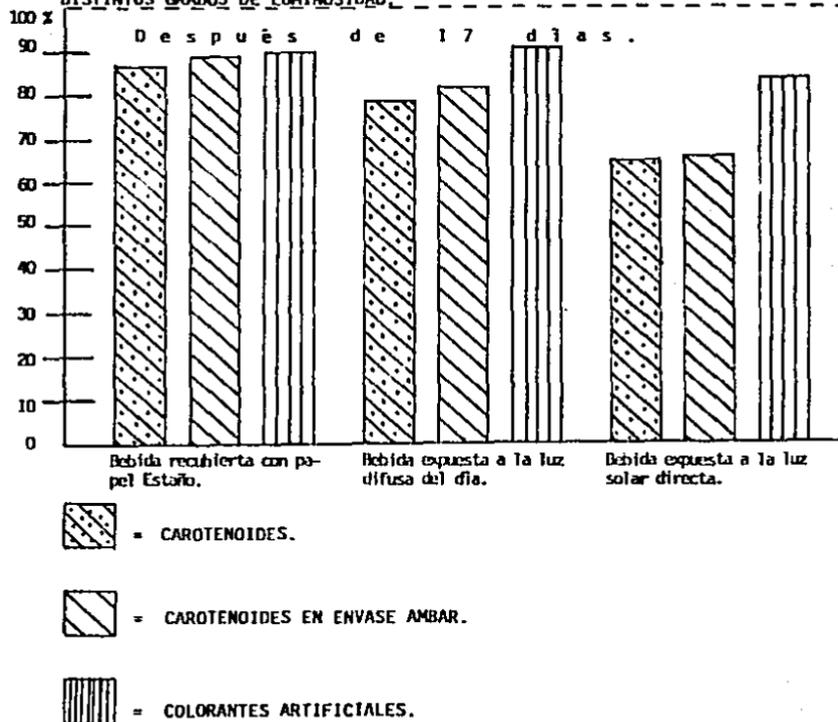
Inic = Lectura Inicial

h = hora (s)

d = día (s)

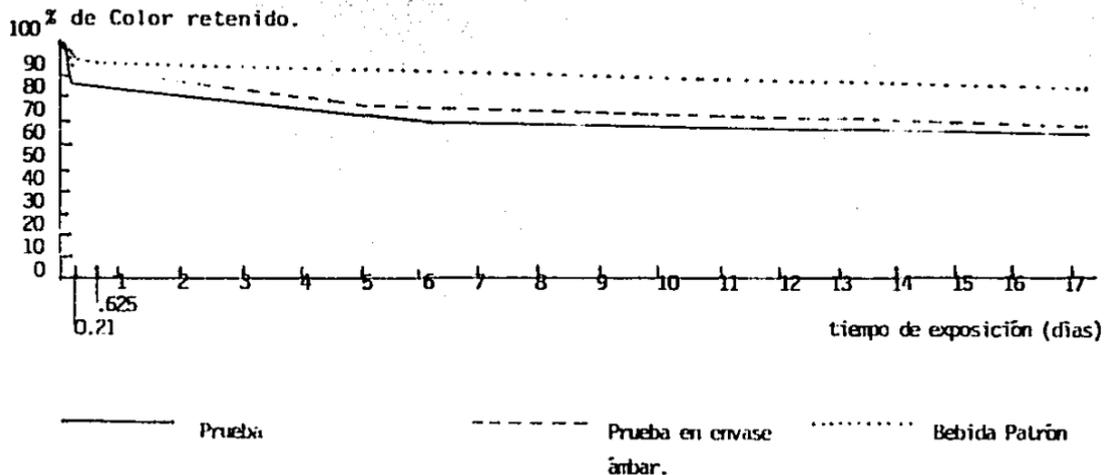
GRAFICA No. 5

RETENCION DE COLOR DE COLORANTES ARTIFICIALES Y CAROTENOIDES EXPUESTOS A -  
DISTINTOS GRADOS DE LUMINOSIDAD.



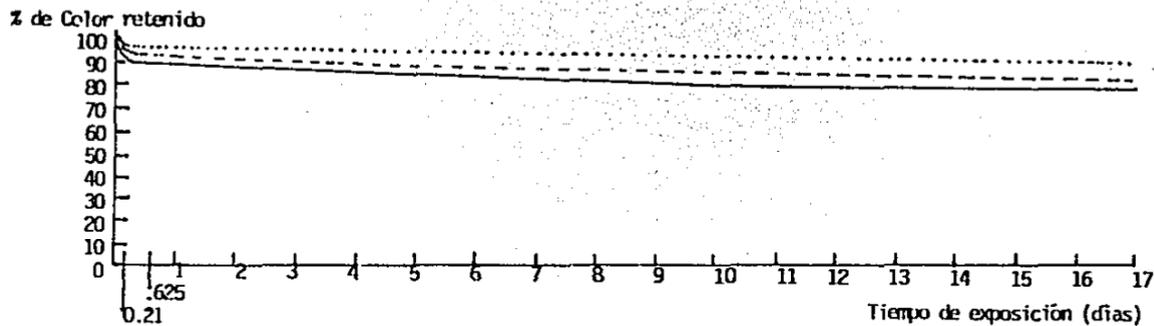
GRAFICA No. 6

RETENCION DE COLOR DE BEBIDAS EXPUESTAS A LA LUZ SOLAR.



GRAFICA No. 7

RETENCION DE COLOR DE BEBIDAS EXPUESTAS A LA LUZ DIFUSA DEL DIA.



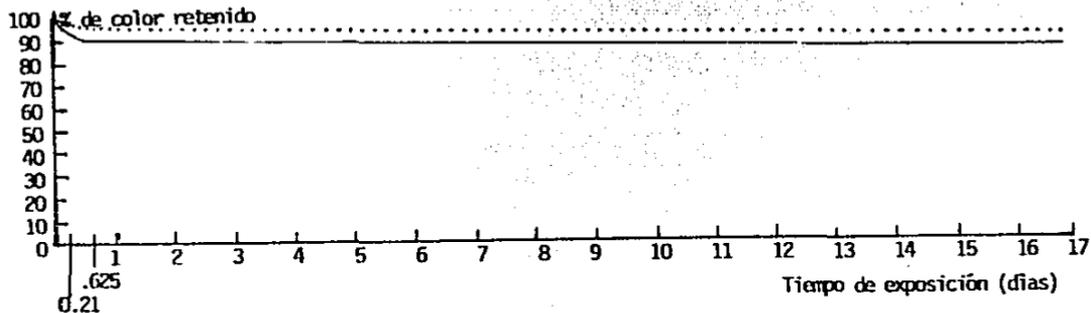
— Prueba

- - - Prueba en envase  
ámbar.

..... Bebida Patrón

GRAFICA No. 8

RETENCION DE COLOR DE BEBIDAS ALMACENADAS EN LA OBSCURIDAD.



———— Prueba

..... Bebida Patrón.

CAPITULO V.

DISCUSION.

## D I S C U S I O N .

1.- Las pruebas de estabilidad para los Carotenoides en bebidas carbonatadas se realizaron por medio de la toma de lecturas de absorbancia, las cuales equivalen al color retenido por las bebidas durante un lapso de diecisiete días; este lapso de tiempo fué el requerido para que las bebidas preparadas con carotenoides carecieran de color a simple vista, aún cuando el espectrofotómetro registraba más del 50% del color original (esto se debe a la incapacidad del ojo humano para registrar el rango de longitudes de onda que el espectrofotómetro es capaz de registrar). En la Tabla No. 19, "Absorbancia / tiempo de exposición", podemos observar los valores para el color retenido.

2.- La observación más importante que se deduce de la Tabla No. 20, "Relación porcentaje de color retenido / tiempo de exposición", es la comparación de pérdida de color entre bebidas preparadas con colorantes artificiales y con carotenoides expuestos a la luz solar, luz indirecta y -- obscuridad; siendo la primera condición la prueba más drástica a que se somete una bebida para probar la estabilidad del colorante.

En esta tabla, podemos observar que la estabilidad que muestran los carotenoides es comparable con la de los colorantes artificiales, cuando la bebida se mantiene en la obscuridad protegida de los rayos solares, -- más no cuando la bebida se expone a ellos, condición ante la cual, las bebidas que contienen carotenoides muestran un 18 ó 19% menos de retención de color que las bebidas que contienen colorantes artificiales.

3.- Cuando las bebidas se exponen a la luz difusa del día, y no a los rayos solares directos, la diferencia entre el comportamiento de los carotenoides y los colorantes artificiales, en las bebidas, no es tan grande. Como podemos observar, ésta diferencia va de un 9 a un 12% menos de retención de los primeros respecto a los segundos.

4.- Como se observa en la Tabla No. 21: "Porcentajes de pérdida de color durante el almacenamiento de las bebidas", las bebidas con carotenoides expuestas a la luz solar directa, sufrieron una pérdida de 34 y 35% de su color original en un período de diecisiete días, período en el cual no es apreciable color alguno a simple vista.

Por otro lado, comparando los períodos en los que ocurre la mayor pérdida de color, en la Tabla No. 22, "Porcentaje de pérdida de color durante diecisiete días (considerada como un 100%)", encontramos que en las bebidas con carotenoides que se envasaron en casco de vidrio transparente, es durante el primer día cuando ocurre la mayor pérdida de color.

En las bebidas que fueron coloreadas con colorantes sintéticos, la pérdida de color tiene un comportamiento que se podría considerar directamente proporcional al tiempo de exposición (eliminando el primer día, en el cual, se pierde un 19%, pérdida significativa, pero no tan drástica, como ocurre en el caso de los carotenoides).

5.- En las bebidas que fueron almacenadas expuestas a la luz difusa del día (Ver Tabla No. 21), se aprecia que las que contienen carotenoides, sufrieron una pérdida de 18 y 21% (en envase ámbar y normal, respectivamente) de color en un período de diecisiete días, mientras que las que fueron coloreadas con colorantes sintéticos sufrieron una pérdida que equivale al 50% de la primera; es decir, un 9%.

Comparando los períodos en los que ocurre la mayor pérdida de color - (Tabla No. 22: "Porcentajes de pérdida de color durante 17 días", considerada ésta, el 100%), podemos apreciar que las bebidas con carotenoides envasadas en el casco tradicional, sufren durante el primer día un 57% de -- pérdida de color.

En las bebidas que se envasaron en casco ámbar, esta rápida decoloración del primer día, es menos drástica, se registra un 39% de pérdida. -- Las bebidas que contienen colorantes artificiales, nuevamente muestran un comportamiento casi proporcional en cuanto a pérdida y tiempo de exposi--- ción, aunque durante el primer día, pierden un 33% del total del color per--- dido al cabo del tiempo establecido.

6.- En las bebidas que no estuvieron expuestas a la luz solar, podemos apreciar que existe una muy pequeña diferencia en los totales de pérdi da que sufren las bebidas preparadas con carotenoides y con colorantes sin téticos, al cabo de los diecisiete días (Tabla No. 21); en ambos tipos de bebida, es otra vez, durante el primer día cuando ocurre la mayor pérdida de color.

En la Tabla No. 22, se aprecia que las bebidas con carotenoides du-- rante el primer día, muestran una pérdida de 69%, mientras que las prepara das con colorantes artificiales muestran sólo el 30%, en ambos casos, res-- pecto al total de la pérdida considerada a los 17 días en este estudio. - La pérdida de color en ambas bebidas almacenadas en la oscuridad, es ca-- sí inapreciable a simple vista, por lo cual su comportamiento podría con-- siderarse estable.

7.- Podemos apreciar que en los tres tipos de almacenamiento las be-- bidas que contienen carotenoides así como las tradicionales, sufren la ma

yor decoloración durante las cinco primeras horas, en comparación con el total del tiempo de prueba (cuatrocientos ocho horas). Se aprecia que esta decoloración en absoluto es proporcional al comportamiento durante las horas o días siguientes de prueba.

Esto lo podemos observar mejor en la Tabla que se muestra a continuación:

TABLA No. 23.

**PORCENTAJES DE PERDIDA DE COLOR (considerando 100% de pérdida a los 17 días)**

| BEBIDA                                    | 4.5 horas | 408 horas |
|-------------------------------------------|-----------|-----------|
| <u>Exposición a la luz solar directa</u>  |           |           |
| Prueba .....                              | 29.....   | 100       |
| Prueba en ámbar .....                     | 12 .....  | 100       |
| Bebida Patrón .....                       | 19 .....  | 100.      |
| <u>Exposición a la luz difusa del día</u> |           |           |
| Prueba .....                              | 43 .....  | 100       |
| Prueba en ámbar .....                     | 33 .....  | 100       |
| Bebida Patrón .....                       | 11 .....  | 100       |
| <u>Almacenamiento en la oscuridad</u>     |           |           |
| Prueba .....                              | 38 .....  | 100       |
| Bebida Patrón .....                       | 20 .....  | 100       |

(Datos de las Tablas No. 21 y 22 .)

Esto nos lleva a pensar que si una bebida no sufre decoloración perceptible durante las primeras cinco horas, se puede considerar que tendrá un comportamiento estable, en cuanto a la conservación de color, detectable sensorialmente durante un período largo de tiempo ( a no ser que posea contaminación microbiológica, o de otro tipo. ).

8.- Finalmente, el comportamiento gráfico de la estabilidad lo podemos apreciar en:

Gráfica No. 6 "Bebidas expuestas a la luz solar", donde podemos observar que a partir del sexto día de exposición, las bebidas preparadas con carotenoides siguen un comportamiento que se puede considerar paralelo al de la bebida que contiene colorantes artificiales.

Gráfica No. 7 "Bebidas expuestas a la luz difusa del día"; la pérdida de color de las bebidas que contienen carotenoides durante las diez -- primeras horas es muy drástica; sin embargo, después de ellas las bebidas muestran un comportamiento paralelo al de las que contienen colorantes sintéticos, y por tanto, la diferencia tan grande de porcentajes de color retenido al cabo de los diecisiete días, se debe a los cambios ocurridos en estas diez primeras horas.

Gráfica No. 8 "Bebidas almacenadas en la obscuridad"; observamos que la diferencia de comportamiento entre bebidas preparadas con carotenoides y con azo colorantes ocurre durante las primeras quince horas.

9.- El comportamiento global, se puede observar en la Gráfica No. 5, donde se aprecia que las bebidas con carotenoides, almacenadas en la obscuridad muestran muy poca diferencia de pérdida de color con las preparadas con el otro tipo de colorantes, mientras que la diferencia más drástica, la encontramos en las bebidas que estuvieron expuestas a la luz solar.

10.- Respecto a los ensayos de fórmulas, se pudo observar que utilizando carotenoides liposolubles se obtienen mejores resultados que con -- los mismos en preparación hidrosoluble ya que éstos últimos, proporcionan

una gran turbidez a la bebida. convirtiendo al producto en una bebida con aspecto lechoso y desagradable para el consumidor.

Analizando los ingredientes de la fórmula base y comparándolos con - las variaciones que sobre ellas se realizaron podemos observar que:

11.- Aunque la goma ester es indispensable para aplicar el carotenoi de liposoluble, un incremento en la cantidad de goma, se traduce en la for mación de un anillo gomoso en la parte superior de la bebida, además de -- que opaca y baja la intensidad de color que el carotenoi de proporciona a - la bebida.

La goma necesita mínimo dos tantos de aceite saborizante para lograr la disolución, así pues cuando se disminuye la cantidad de aceite. además de tener problemas con la disolución de la primera, se observa una separación del color y falta de turbidez en la bebida.

12.- La cantidad de colorante es importante, ya que mientras el caro tenoi de se encuentra más concentrado en la emulsión la bebida posee mayor estabilidad. Lo mismo ocurre con la cantidad de emulsión que se agrega a la bebida: a mayor cantidad de emulsión, ésta se comporta de manera más es table sin embargo, la emulsión de carotenoides presenta el inconveniente de que al agregarse en mayor cantidad, para conseguir un tono más intenso, proporciona el aspecto lechoso desagradable a la bebida.

13.- La homogeneización de la emulsión es un paso clave en los resul tados que se obtengan en la bebida final, en cuanto a turbidez o brillan-- tez del producto y a la estabilidad de sus componentes, aún en la misma - emulsión.

Se encontró que para obtener una bebida con la misma apariencia que la del comerciante, la homogeneización más adecuada fué a 2,500 lb/pulg<sup>2</sup>.

Si se homogeneizan los ingredientes de la emulsión a una presión mayor, se obtiene una bebida demasiado transparente, a la cual le falta turbidez.

Si homogeneizamos a una presión menor, se obtiene un producto muy turbio y lechoso.

CAPITULO VI.

CONCLUSIONES Y

RECOMENDACIONES.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

1.- Podemos concluir que en las bebidas carbonatadas, los carotenoides presentan algunas ventajas respecto a los colorantes artificiales:

- mayor eficiencia miligramo a miligramo.
- resisten altas presiones de homogeneización.
- no son tóxicos e inclusive aportan valor nutritivo al producto en que se apliquen.

2.- Sin embargo, a pesar de que la bibliografía indica lo contrario, las bebidas coloreadas con carotenoides expuestas a la luz solar directa, mostraron el doble o más del doble de la decoloración que sufre una bebida preparada con colorantes artificiales al cabo de diecisiete días. Aunque este efecto no aparece en las bebidas que son protegidas de los rayos solares y dichas condiciones extremas de quince días de exposición a la luz solar directa, son muy difíciles de encontrar en la práctica actual (generalmente, las bebidas sólo se exponen a la luz solar directa durante su transporte), sería imposible conservar las bebidas con carotenoides en bodegas oscuras ya que no sería atractivo para el consumidor, aún cuando éstas tuvieran las mismas características organolépticas que la bebida que acostumbran consumir.

3.- Debido a la gran importancia y trascendencia que este estudio puede representar para la industria embotelladora y alimentaria en general

de México, en el caso de que surjan nuevas restricciones para los colorantes artificiales; sugiero que se ensayen nuevas fórmulas con el fin de -- conseguir la óptima estabilidad de los carotenoides en las bebidas carbonatadas.

4.- De confirmarse este hecho con los mismos o con otros carotenoides que quedan aún por estudiar, recomiendo se efectúe un estricto control microbiológico del producto obtenido para descartar éste factor como una posible e importante causa de decoloración.

5.- La búsqueda de un agente "fijador" para los carotenoides, diferente al ácido ascórbico, que no interactúe con los demás ingredientes de la bebida carbonatada y que les proporcione una mayor estabilidad a estos agentes colorantes tan susceptibles a oxidarse, representa otra alternativa de estudio así como los ensayos con otro tipo de envases que protejan al producto de los rayos solares.

6.- Considero todos estos estudios de gran interés para la industria embotelladora de México, ya que en nuestro país se emplea una concentración de color muy alta en los refrescos y las cantidades de colorantes artificiales que estamos ingiriendo, podrían llegar a ser peligrosas para la salud de los consumidores, aunque esto aún no esté demostrado.

## INDICE DE ABREVIACIONES

### Y SIMBOLOS.

#### ABREVIACION

aprox.

atm.

BHA

BHT

°C

CO<sub>2</sub>

c/u

d.

etc.

E.U.

exp.

g.

h.

kg.

lb.

l.

mg.

g.

ml.

No.

nm.

%

pH

P.M.

ppm.

pulg<sup>2</sup>

sol.

susp.

U.I.

#### SIGNIFICADO

aproximadamente

atmósfera (s)

butil hidroxí anisol

butil hidroxí tolueno

grados centígrados

dióxido de carbono

cada uno

día (s)

etcétera

Estados Unidos

exposición

gramo (s)

hora (s)

kilogramo (s)

libra (s)

litro (s)

miligramo (s)

microgramo (s)

mililitro (s)

número

nanómetro (s)

porcentaje o por ciento

potencial de hidrógeno

peso molecular

partes por millón

pulgada (s) cuadrada (s)

solución

suspensión

Unidades Internacionales

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Potter N., Norman. LA CIENCIA DE LOS ALIMENTOS. México D.F., Ed. Edutex S.A., Versión en español de la 2a. ed. en inglés, 1978. 749 pp.
- 2) Garduño T., Alejandro. DESARROLLO DE ALIMENTOS. México D.F., Tesis 1978. 210 pp.
- 3) Hart F., L. & Fisher H., J. ANÁLISIS MODERNO DE LOS ALIMENTOS. Zaragoza, España, Ed. - Acribia. 1971.
- 4) Kirk - Othmer. ENCICLOPEDIA DE TECNOLOGIA QUIMICA Vol., 3, 5 y 16. México D.F. Ed. Hispano Americana. 1a. ed. en español, 1961.
- 5) Barranco & Col. SINTESIS DE PROCESO PARA LA OBTENCION DE COLORANTES NATURALES A PARTIR DE FLOR DE JAMAICA, FLOR DE COMPAZUCHIL Y BETABEL PARA LA INDUSTRIA ALIMENTARIA. México D.F., Tesis Facultad de Química Universidad Ibero-Americana, 1978.
- 6) Institute of Food Technologists' Expert Panel on Food Safety & Nutrition. "Food Colors" Food Technology. U.S.A. Publication of the Institute of Food Technologists Vol 34 (7) Jul 1980. pp 77 - 84.
- 7) Linder, Ernst. TOXICOLOGIA DE LOS ALIMENTOS. Zaragoza, España. Ed. Acribia.
- 8) Meggos N., Harry. "Colors - Key Food Ingredients" Food Technology. U.S.A. Publication of the Institute of Food Technologists. Vol 38 (1). Enero 1984. pp. 70 - 74.
- 9) Zapata Ruiz, J. MANUAL PRACTICO DE BEBIDAS PARA LA INDUSTRIA DE REFRESCOS. México D.F. All America Publishers Service, Inc. Ed. Abeja. 1966. 110 pp.
- 10) Society of Dyers and Colourists. COLOR INDEX. U.S.A. Additions and Amendments No. 32. 3a. ed. rev. Jul. 1979. PP. 802 - 832.
- 11) Lorentzen J., Ronald. "FDA Procedures for Carcinogenic Risk Assessment". Food Technology. U.S.A. Publication of the Institute of Food Technologists. Vol 38 (10). Octubre -- 1984. pp. 108 - 111.
- 12) Roche. "La Coloración de Jugos de Fruta y Bebidas Carbonatadas con carotenoides". Servicio de Información de la División de Vitaminas y Productos Químicos. México D.F. Departamento de Industrias Alimentarias. Sept. 1954.
- 13) Otto Isler. "Carotenoides". Chemical Research Department. F. Hoffmann La Roche & Co. - Ltd. Basle, Switzerland. 1971.
- 14) Uribe Salinas, Victor. Entrevista con el Ing. Tec. en Alimentos. Jefe del Dpto. de Vitaminas, Lab. Roche. Sept. 1985.
- 15) Badal Bergal, Salvador. QUIMICA DE LOS ALIMENTOS. México D.F. Departamento de Alimentos. Facultad de Química Universidad Nacional Autónoma de México. Ed. Alhambra Mexicana. 1981. 1a. reimpresión 1982. 429 pp.
- 16) Uribe Salinas, Victor. "The Coloring of Fruit Juices and Carbonated Beverages with Carotenoids". Informe Técnico. Foto. de Industrias Alimentarias. México D.F. Lab. Roche S.A. ----

1984. pp. 1 - 5.
- 17) Kläui H. "Carotenoids as Food Colours" Functional Properties of Fats in Foods. Zurich, Switzerland. Ed. J. Solms. 1973. pp. 133 - 169.
  - 18) Mathews A. & Stewart R. "Report Summarizes Data from Food Additive Surveys". Food Technology. U.S.A. Publication of the Institute of Food Technologists. Vol 32 (3). Marzo - 1981. pp. 53 - 58.
  - 19) DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACION, México, D.F., Tomo CDXXI No. 11. Enero 18 de 1988. 1a. Sección. pp. 26, 27; 71 - 79; 81, 89.
  - 20) Johnston M., Ruth & Saltzman Max. INDUSTRIAL COLOR TECHNOLOGY. U.S.A. Symposium Chairman Advances in Chemistry Series Vol 107. American Chemical Society 1971. 177 pp.
  - 21) National Archives and Records of the United States Administration. CODE OF FEDERAL REGULATIONS FOOD AND DRUGS. Published by the Office of the Federal Register. Rev. April 1 - 1986.
  - 22) National Archives and Records of the United States Administration. CODE OF FEDERAL REGULATIONS FOOD AND DRUGS. Published by the Office of the Federal Register. Partes 1 - 199. Rev. April 1 - 1987.
  - 23) Lee A., Frank. BASIC FOOD CHEMISTRY. Geneva, New York, Cornell University. The Avi Publishing, Comp. Inc. 1980.
  - 24) Mínguez Mosquera, M.I. & Fernández Díez, M. J. "Relación entre los pigmentos Carotenol des rojos y amarillos". Grasas y Aceites. Sevilla, España. Instituto de la Grasa y sus Derivados. Vol 32 (5). Sept-Oct., 1981. pp 293 - 298.
  - 25) Braverman J., B. INTRODUCCION A LA BIOQUIMICA DE LOS ALIMENTOS. México, D.F., Ed. El - Manual Moderno, S.A. 1980.
  - 26) Guel Montoya, Rosa Ma. ANALISIS DE METODOS EXPERIMENTALES PARA LA OBTENCION DE CAROTENOS A PARTIR DE ALFAFA. México D.F. Tesis, Facultad de Química, U.N.A.M., 1979.
  - 27) Morales Vázquez, Ma. Jesús. IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION DE CAROTENOS EN MAMEY. México D.F., Tesis, Facultad de Química, U.N.A.M. 1983.
  - 28) Fisher B. & Beneder E. VALOR NUTRITIVO DE LOS ALIMENTOS. México D.F. Ed. Limusa, 1978.
  - 29) Enriquez H., E. EVALUACION DE CAROTENOIDES COMO ADITIVOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA. Tesis, México. Facultad de Química, U.N.A.M. 1978.
  - 30) Rocha Quiroz, Miguel. SEPARACION DE PIGMENTOS CAROTENOIDES DE ALGA SPIRULINA. Tesis, - México, D.F. Facultad de Química, U.N.A.M., 1985.
  - 31) Ranjanna S. MANUAL OF ANALYSIS OF FRUIT AND VEGETABLE PRODUCTS. U.S.A. Central Food -- Technological Research Institute Mysore. Mc. Graw Hill Publishing C.O., New Delhi. 1978.
  - 32) Mínguez M. & Carrido F. "Relación entre los Pigmentos Carotenos Rojos y Amarillos". Grasas y Aceites. Sevilla, España; Instituto de la Grasa y sus derivados. Vol 35 (1). Ene. 1981. pp. 4 - 10.

- 33) Minguez M. & Garrido F. "Pigmentos Carotenoides. Métodos de Separación, Cuantificación e Identificación de los mismos". Grasas y Aceites. Sevilla, España. Instituto de la Grasa y sus Derivados. Vol 35 (1), Feb. 1984. pp 35 - 40.
- 34) Taylor J., R. FOOD ADDITIVES. U.S.A. Wiley International Ed., 1980. 126 pp.
- 35) Mammion M., Daniel. HANDBOOK FOR FOODS, DRUGS AND COSMETICS. U.S.A. A Wiley Interscience Publication, John Wiley & Sons., 2a. ed., 1984.
- 36) Weedon B., C. L., "Acetylene Chemistry" Progress in Organic Chemistry. London. Cook J., Butter Worths Scientific Publications. Vol 1, 1952. pp. 134 - 172.
- 37) Mac Laren, Donald S. "Vitamin A" Progress in Food Nutrition Science. Great Britain, Pergamon Press; Vol 1 (5). 1977. pp. 335 - 348.
- 38) Nosti Vega, M. & Col. "Composición y Valor Nutritivo de algunas variedades españolas de Aceltunas de Mesa". Grasas y Aceites. Sevilla, España. Instituto de la Grasa y sus Derivados. Vol 35 (1). Ene. 1984. pp. 11 - 14.
- 39) Devel H., J. THE LIPIDS, THEIR CHEMISTRY AND BIOCHEMISTRY. U.S.A., Interscience Publication, New York, Vol. 3, 1957.
- 40) Chick Harriette. "The Discovery of Vitamins" Progress in Food Nutrition Science. Great Britain, Pergamon Press; Vol 1 (1), 1977. pp. 1 - 20.
- 41) Holman T., Ralph. "Quantitative Chemical Taxonomy" based upon Composition of Lipids. Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids. Great Britain. Ed. Advisory Board. 1a. ed. Vol 16, 1978. pp. 20, 21.
- 42) Kläui, H. Nottingham University Seminar. April 16, 1970, to be published in Institute of Food Science and Technology (U.K.) Proceedings, 1970.
- 43) Roche. "Colouration of Carbonates". Catálogo de Información del Dpto. de Vitaminas y Productos Químicos. División de Industrias Alimentarias. Suiza, 1986.
- 44) Rauermfeind, J.C. Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precursors Technological and Nutritional Applications. New York, U.S.A. Ed. Academic Press, Inc. 1a. ed. 1981. 908p.
- 45) Kläui, Haugheem & Hirschke. "Carotenoids" Encyclopedia of Food and Nutrition, Pergamon Press, Oxford, Vol 9. 1970.
- 46) Wyatt, C.J. Beverages: Today's Health Concerns. U.S.A. Dpto. of Food Science & Technology. Ed. Oregon State University. 1a. ed. 1983. pp. 129.
- 47) Chan H., T. et al. "Papaya Puree and Concentrate Changes in Ascorbic Acid, Carotenoids and Sensory Quality during Processing". Journal of Food Science. U.S.A. Vol 40 (701). 1975.
- 48) Cámara de Comercio de México. "Refrescos Embotellados". Espejillos Económicos de México 1981-1985. México D.F. Dpto. de Desarrollo Comercial, 1986. PP. 126 - 131.
- 49) Hercules Incorporated. "Purified Glycerol Ester of Wood Rosin-Beverage Grade". Hercules Ester Resin #1, Synthetic Resin. Wilmington Delaware, U.S.A. International Department. No. 339, p. 2.

- 50) Química Hércules, S.A. de C.V. "Ester Gum 8 B". Información de Química Hércules, S.A., México, 1986. pp. 2
- 51) Scott, Don & Craig, Ted. "¿Se Puede Conservar la Frescura (Sabor y Color) en Bebidas - Cítricas Embotelladas?". The Beverages Soft Drink Bottlers Handbook. U.S.A. Femco Laboratories, Div. of G.D. Seale & Co. Chicago, Illinois. No. XVI., 1986.
- 52) Visita a la Planta Embotelladora de Jarritos. Entrevista con Q.I. Andrés Núñez Cabello, 1986.
- 53) Spectrum. "Propiedades Físicas y Químicas de los Colorantes". Informe del Dpto. de Aditivos Alimentarios. México D.F., Spectrum S.A. de C.V. Mayo 1988.
- 54) Kohnstamm H. de México. "Colorantes Certificados" Lista de Colorantes permitidos para Alimentos, Drogas y Cosméticos. México, D.F. H. Kohnstamm de México. Mayo de 1988.
- 55) Correa Monroy, Patricia M. "Contribución al Color y Aplicación de algunos Aditivos en la Industria Confitera." Tesis, México D.F., Universidad La Salle. Q.F.B. 1981.
- 56) Willard H., Hobart & col. MÉTODOS INSTRUMENTALES DE ANÁLISIS. México D.F., Cia Ed. Continental S.A. 4a. imp. 1981. pp. 407.