



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN



FALLA DE ORIGEN

"OBTENCION DE UNA EMULSION SECA DE OLEORRESINA
DE CHILE ANCHO, PARA SU APLICACION
EN ALIMENTOS"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A :

Laura Viloria Montoya

DIRECTORA DE TESIS :

Dra. Sara Esther Valdes Martinez

ASESOR DE TESIS :

QFB Edgar Aguilera Ceron



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 está 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FALLA DE ORIGEN

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de
Exámenes Profesionales

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

Obtención de una Emulsión Seca de Oleoresina de Chile Ancho, para su
Aplicación en Alimentos

que presenta la pasante: Laura Viloría Montoya
con número de cuenta: 8237176-4 para obtener el TITULO de:
Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 14 de Noviembre de 1994

PRESIDENTE M.en C. Adolfo Obaya Valdivia
VOCAL I.B.O. Rosa M. Arriaga Orihuela
SECRETARIO Dra. Sara E. Valdés Martínez
PRIMER SUPLENTE M.en C. J. Guillermo Penieres Carrillo
SEGUNDO SUPLENTE E.S.S. Rodolfo Cruz Rodríguez

AGRADECIMIENTOS

- A la Dra. Sara E. Valdés Martínez, por su asesoría y apoyo brindado para la elaboración de este trabajo. (no se escribe para beneplácito de todos la estimación por los amigos).
- A la sección de orgánica, en especial al MC Enrique Angeles Anguiano, por permitirme emplear su laboratorio para el desarrollo de una de las etapas del trabajo.
- A la Compañía Spectrum S.A. de C.V., en especial al Ing. Agustín Girard L., por la donación de la oleorresina de chile ancho.
- Al QFB Edgar Aguilera C., por su asesoría en la parte de obtención de la emulsión seca.

INDICE

	Pag.
I. Resumen	i
1. Introducción	1
2. Objetivos	4
3. Antecedentes	5
3.1 Importancia del uso de colorantes en alimentos	5
3.1.1. Clasificación de colorantes para alimentos	7
3.1.2. Legislación	10
3.2 Aplicación de colorantes naturales en alimentos	12
3.2.1. Presentaciones comerciales de colorantes naturales	15
3.3 Características de los Carotenoides	17
3.3.1. Procesos de obtención	21
3.3.2. Colorante de chile ancho	25
3.4 Emulsión seca	27
3.4.1. Principio	27
3.4.2. Desarrollo de la técnica	28
3.4.3. Material adsorbente (Silicas hidrofílica e hidrofóbica)	30
4. Metodología	31
4.1. Adecuación tecnológica del método emulsión seca	32
4.2. Evaluación de la estabilidad de la emulsión seca obtenida (Diseño experimental)	36
5. Resultados y Discusión	43
Conclusiones y Recomendaciones	62
Bibliografía	65
Anexo 1	70

I. RESUMEN

En la actualidad se puede observar una marcada tendencia hacia el uso de colorantes de origen natural, principalmente en el área de los rojos, pues éstos son ampliamente utilizados en alimentos, fármacos y cosméticos y son, de los colorantes artificiales los que más restricción están teniendo en su uso. Los colorantes naturales pueden parecer inadecuados para su aplicación en alimentos si se les compara con los colorantes sintéticos en cuanto a estabilidad y poder tintóreo, sin embargo, investigaciones recientes muestran propiedades superiores de los colorantes naturales respecto a aspectos tóxicos, químicos y tecnológicos. Por otra parte, a fin de dar solución a los problemas de estabilidad que estos colorantes naturales puedan presentar, algunas industrias buscan mediante su formulación darles protección y por tanto una vida útil mayor. Con base en lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue preparar un producto en polvo a partir de oleoresina de chile ancho, a través de la adecuación tecnológica del método de emulsión seca, buscando dar mayor estabilidad a la oleoresina, así como una mejor maleabilidad, al formularla como un polvo.

La técnica de emulsión seca, es básicamente un sistema de secado de una emulsión mediante su adsorción, ésta es ampliamente usada en el área de farmacia para proteger fármacos susceptible a degradación, obteniendo además un sistema de liberación controlado. Durante el desarrollo de este trabajo se llevó a cabo la adecuación tecnológica de esta técnica para su uso en alimentos, para lo cual se variaron las velocidades de agitación para obtener la emulsión (4000, 8000 y 10,000 rpm) y la temperatura (ambiente y 40 °C). Las variables de respuesta fueron: Formación de la emulsión seca (+ ó -), aspecto del polvo-partícula obtenida (polvo que pasara malla 100, para reducir el efecto controlado) y tiempo de obtención. Como variables en la formulación se manejaron 2 pH (2.5 y 6.0) y adición o no de antioxidante (BHT 0.1 %), la variable de respuesta aquí fue la estabilidad del polvo obtenido (emulsión seca) con respecto a la oleoresina comercial a 2 diferentes niveles de luz (presencia o ausencia), aire (presencia o ausencia) y temperatura (4°C y ambiente 29°C), en un periodo de 22 días. Los resultados obtenidos para formar la emulsión seca fueron: vel. de 8000 rpm a temperatura ambiente. El producto obtenido tuvo que someterse a reducción de tamaño. En cuanto a la estabilidad obtenida, ésta fue buena presentando la misma tendencia que el extracto comercial.

INTRODUCCION

Durante siglos el color ha tenido un papel importante en la vida del hombre; en alimentos, el color es tradicional e inconscientemente es asociado a la calidad (62). Varios estudios han demostrado que la percepción del sabor no es correcta si los alimentos no presentan la coloración adecuada (62) lo cual se debe a que el color es generalmente la primera impresión que tenemos de éstos y así los consumidores tienden a asociar colores y tonos particulares a cada alimento (45).

En la industria alimentaria los colorantes ayudan a satisfacer el aspecto y uniformidad que todo producto hoy en día debe poseer (56) éstos se caracterizan por contar con grupos que les confieren cierta habilidad para absorber luz, razón por la que aparecen como sustancias coloridas (69).

Los colorantes se clasifican en certificados y no certificados. Los colorantes certificados son compuestos que se sintetizan químicamente con un alto grado de pureza; los no certificados incluyen a los colorantes naturales y a los compuestos naturales idénticos; es decir, la réplica química de los colorantes naturales (53, 62). Los colorantes artificiales o certificados han sido por años ideales para reemplazar colorantes naturales debido a la homogeneidad en tonalidad entre lotes y a su bajo costo (56). Sin embargo, la situación legal de estos ha cambiado paulatinamente con el paso de los años, ya que ha ido aumentando la restricción en su uso por la Foods and Drug Administration (F.D.A.), debido a que estudios toxicológicos han demostrado que algunos son nocivos para la salud, como es el caso de los rojos No. 1, 2 y 4 (52,55).

Lo anterior provoca que la industria alimentaria influenciada por la legislación y los cambios en los patrones de consumo adopte una tendencia hacia el uso de colorantes

de origen natural, principalmente en el área de los rojos pues éstos son ampliamente utilizados en alimentos (8,16).

Los colorantes naturales pueden ser de origen animal, vegetal o mineral (53). Dentro de los colorantes de origen vegetal destacan por su importancia los carotenoides, ya que algunos son precursores de vitamina A (26,43,62). Los carotenoides son componentes característicos de frutos como la zanahoria, el brócoli, el melón, la papaya y diferentes tipos de capsicum (pimiento, paprica, chile ancho, etc.), entre otros, obteniéndose extractos coloridos que van desde el amarillo hasta el rojo (36). De los pigmentos rojos que se extraen de estas fuentes naturales, sobresalen aquellos obtenidos a partir de las diferentes variedades de capsicum (24,36) entre los que se encuentra el chile ancho.

El extracto obtenido del chile ancho (*Capsicum annum grossum*), así como de otras variedades de capsicum, se presenta en forma de oleoresina; si se considera que la adición de colorantes naturales en alimentos es en cantidades que van del 0.01 al 1 % (17, Extract-Oil, S.A.) ya que son extractos concentrados, la aplicación de las oleoresinas como tal puede ser más complicada que el empleo de un colorante en polvo.

Para facilitar la manipulación de las oleoresinas (principalmente la de paprika), tanto para realizar estudios como en su aplicación, se han empleado diferentes procesos para solidificarla como son: la cristalización (24), la micronización, la microencapsulación por métodos como el secado por aspersión (58) y la absorción en ciclodextrinas (27). Sin embargo, aunque la cristalización es un método sencillo y rápido, el uso de los cristales se ve restringido por el tipo de reactivos que se emplean para obtenerlos (cloruro de bario, nitrato de plata, etc.) ya que pueden quedar presentes en los cristales y causar

toxicidad. Respecto a la micronización, ésta se encuentra en investigación resultando un método además caro por la necesidad de emplear equipos sofisticados.

En lo que se refiere a la microencapsulación y la absorción en ciclodextrinas, proporcionan productos de buena calidad y provocan un daño mínimo al colorante, pero no debe perderse de vista que por si solo el pigmento tiene ya un elevado costo (debido a toda la tecnología que implica su obtención y por otra parte a que en todos los casos los rendimientos de extracción son bajos), el cual se ve seriamente incrementado por la aplicación de estos procesos.

Tomando en cuenta lo anterior, surge la necesidad de buscar alternativas tecnológicas que permitan obtener productos de buena calidad y excelente estabilidad, ya sea modificando, mejorando y/o rediseñando su formulación o mediante técnicas menos sofisticadas o costosas que permitan obtener colorante en polvo al menor costo posible, proporcionando además al pigmento mayor vida útil, así como ventajas en cuanto a su manejo. Así, en el presente trabajo se empleó como esquema a seguir el método de la emulsión seca, técnica que por las características del equipo y material que emplea para proporcionar protección al principio activo o en este caso colorante, puede ser una buena opción.

2. Objetivos

Objetivo General

Preparar un producto en polvo a partir de oleoresina de chile ancho, a través de la adecuación tecnológica del método de Emulsión Seca.

Objetivos Particulares

- **Adecuación de la técnica emulsión seca para su uso en oleoresina de chile ancho**
- **Evaluar experimentalmente los factores tecnológicos que intervienen en la técnica emulsión seca durante la adecuación de la misma**
- **Evaluar la estabilidad del producto obtenido (emulsión seca de oleoresina de chile ancho).**

3. Antecedentes

3.1. Importancia del Uso de Colorantes en Alimentos.

Los colorantes empleados en alimentos representan una categoría especial dentro de los aditivos (42,53). Su uso se remonta a por lo menos hace 3000 años, empleándose en un inicio de manera natural al adicionar especias y condimentos que impartían color al alimento y después adicionando extractos de animales, plantas y suelos. En 1856 se crea el primer colorante sintético con fines comerciales, el cual presentaba características superiores de poder tintóreo, estabilidad y uniformidad que los colorantes de tipo natural (9,53,68).

Como se sabe, la importancia del color en alimentos no es una preocupación actual, ya que éstos han influido y siguen influyendo en la percepción, motivación, emoción, aprendizaje y manera de pensar de los consumidores (20,44,45). Algunos estudios han mostrado que los alimentos no gustan si no presentan el color adecuado, afectando además características de olor, sabor y textura (35,68). En alimentos procesados esto es aún más importante, pues durante el proceso puede perderse intensidad en el color, presentarse cambios a coloraciones no deseadas e incluso puede haber pérdida total del color, haciéndose indispensable el uso de aditivos colorantes para restituir la apariencia (5,10,35).

Los colorantes pueden ser adicionados a los alimentos por las siguientes razones (20,22,35,53):

- Establecer la apariencia original cuando el color natural ha sido degradado por el proceso.
- Garantizar uniformidad de color en un producto o lote

- Intensificar el color presente.
- Protección para otros componentes del alimento (como las vitaminas.).
- Para dar una apariencia atractiva.
- Preservar características por las que un alimento es reconocido.
- Servir como índice visual de calidad.
- Realzar la presentación del alimento.

Para que un colorante pueda ser adicionado a un alimento debe cumplir con ciertos parámetros como son (17,22):

- No ser tóxico en los niveles utilizados.
- Ser insaboros e inoloros.
- Presentar estabilidad aceptable frente a factores como luz, pH, potencia oxidoreducción y actividad microbiana.
- Ser compatible con al menos un componente del alimento.
- Tener un elevado poder tintóreo.

Por lo anterior, los colorantes naturales pueden parecer inadecuados para su aplicación en alimentos, si se les compara con los colorantes sintéticos en cuanto a estabilidad y poder tintóreo; sin embargo, en los últimos años las investigaciones realizadas muestran que los colorantes naturales presentan propiedades superiores a los sintéticos con respecto a aspectos tóxicos, químicos y tecnológicos (10,62,64).

Por otra parte debe tenerse en cuenta la tendencia de los consumidores (10,53), en los cuales ha surgido una cierta angustia ante la evidencia del vínculo entre algunos colorantes de tipo sintético y enfermedades como el cáncer, transtornos

nerviosos, enfermedades cardiovasculares y problemas de comportamiento y aprendizaje en niños hiperquinéticos (28,44,62). En 1985 el Departamento de Investigación del Consumidor de E.U., realizó un estudio con 200 amas de casa, en donde se analizó la actitud del consumidor hacia los colorantes y como afecta esto en la decisión de compra, observándose un rechazo hacia los colorantes sintéticos y la preferencia de los colorantes naturales, lo cual se ha confirmado con otros estudios (22,44,45,50,62), donde se observa que la tendencia actual conduce hacia los alimentos "naturales" y las etiquetas limpias; es decir, que no inciten temores en el público en cuanto a posibles enfermedades como las ya mencionadas (28).

En la mente del consumidor la palabra "natural" sugiere seguridad, razón por la que éste busca cada vez mayor y mejor información en las etiquetas de los alimentos que consume, principalmente aquella referida al contenido de componentes como el colesterol, los conservadores, nivel de sal o azúcar y presencia de colorantes de tipo artificial, evitando ingerir aquellos que puedan representar un riesgo para su salud; o sea, que existe un interés creciente hacia la seguridad más que hacia el precio (2,28).

3.1.1. Clasificación de Colorantes

De acuerdo con la FDA (Food and Drug Administration), los colorantes se clasifican en certificados y no certificados (20,42,50,62,70). Los colorantes certificados son aquellos obtenidos por síntesis química y cuyas especificaciones de pureza son establecidas por la FDA. Originalmente eran derivados de alquitrán (parte de una familia de compuestos químicos conocidos como tintes anilínicos), que en la

actualidad ya no se emplea como materia prima (28). Dentro de éstos pueden distinguirse 2 tipos: los tintes y las lacas.

- Los tintes son sustancias solubles en agua, las cuales imparten color por disolución y en general presentan problemas de estabilidad. Comercialmente pueden encontrarse en polvo, en forma granular, en líquido, pasta y para uso en dispersión con bióxido de titanio. No se indican límites de aplicación para éstos; sin embargo, las buenas prácticas de manufactura sugieren para su uso menos de 300 ppm. (2, 28,45,70).
- Las lacas son una extensión de los tintes, tratadas en un sustrato de hidrato de alúmina. Son insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos e imparten su color por dispersión. Estas son más estables frente a factores físicos y químicos que los tintes y producen tonos más fuertes en el producto final, pero tienden a la coalescencia necesitando un vehículo para su aplicación, aunado a esta desvestaja, se encuentra además su alto costo mayor al de los tintes (2,20,45,62,70).

Los colorantes no certificados son los llamados "colorantes naturales" (9,45,50). Estos son obtenidos de fuentes vegetales, animales o minerales o como duplicados sintéticos de los colorantes naturales (24,26), aunque en su mayoría son de origen vegetal (62). Dentro de éstos se encuentran la clorofila, cochinilla, cúrcuma, annato, paprika, jugo de betabel, extractos de chile ancho, bixina, negro carbón, óxido de titanio, etc. (9,20,62,65).

Una clasificación general de estos colorantes se muestra en el Cuadro 1. Como puede observarse, los colorantes naturales provienen en su gran mayoría de vegetales, ya que éstos ofrecen gran diversidad de fuentes así como de colores (5,53). Estos pigmentos vegetales pueden dividirse, según Benniñón (1980), en tres

clases, con base en su estructura química y propiedades: 1) Clorofilas, 2) Carotenoides y 3) flavonoides.

CUADRO 1. CLASIFICACION GENERAL DE COLORANTES NATURALES

Vegetales	<p>Antocianinas: Cianidina, malvidina, pelargonidina, peonidina y petunidina (hollejo de uva).</p> <p>Betalainas : Betacianinas y betaxantinas (betabel)</p> <p>Carotenoides: Bixina y norbixina (achiote)β -caroteno, apo-8 -carotenal y cantaxantina (paprika, jitomate), crocentina (azafrán), xantófila (cempasúchil).</p> <p>Curcumina (raíz de cúrcuma)</p> <p>Teninos (uvas)</p>
Animales	<p>Rojo-cochinilla-Acido carmínico</p> <p>Hemoglobina</p> <p>Mioglobina</p>
Dioxido de titanio (anatasa)	
Color caramelo (hidrólisis catalítica de azúcares)	

Fuente: Fonseca, L.A.; (1991) Curso Aditivos y Desarrollo de Nuevos Productos en la Industria de Alimentos; Memorias, Parte Colorantes.

Las clorofilas son pigmentos verdes que juegan un papel importante en la fotosíntesis de las plantas y se encuentran dentro de los cloroplastos. Son complejos de magnesio con compuestos porfirínicos y sus derivados, conteniendo un anillo isocíclico. Estos son extraídos de las plantas y están aprobados para su uso en alimentos en países como Canadá (5,17,28,53).

Los flavonoides constituyen un grupo heterogéneo, el cual incluye flavonas, antocianinas, flavonoles, flavanoles, leucoantocianinas y otros componentes fenólicos. Se encuentran ampliamente distribuidos en las frutas y vegetales, en la savia de las células, son sustancias hidrosolubles y el grupo más importante lo

representan las antocianinas, responsables del color rojo de muchas frutas, flores y vegetales y del azul de las uvas (5,26,28).

Los carotenos, al igual que las clorofilas, son pigmentos liposolubles que dan coloraciones de amarillo a rojo-naranja. Algunos están presentes en los plástidos y cloroplastos de las plantas junto con la clorofila, otros están en los cromoplastos y algunos más se encuentran en el citoplasma en forma de pequeños cristales. Químicamente existen 2 tipos de carotenoides: Los carotenos, que contienen únicamente carbono e hidrógeno y las xantofilas, que contienen carbono, hidrógeno y oxígeno (4,26,28).

Los colorantes naturales presentan en su estructura química grupos cromóforos (28,68,71), que son sustancias que absorben a determinada longitud de onda y es por esta capacidad de absorber luz que aparecen como sustancias coloridas (68), dentro éstos se encuentran incluidos los terpenos (carotenoides), compuestos aromáticos (flavonoides, quinonas, antocianinas), alcaloides (sales cuaternarias de amonio), fenonas (cúrcuma) y las porfirinas (mioglobina, clorofila, y sus derivados) (28,68,71).

3.1.2. Legislación

Los colorantes empleados en alimentos están sujetos a restricciones diferentes en cada país, aún cuando organismos internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS) o la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), tratan de regularlos en busca de su libre comercio a nivel mundial (39,57).

En general, el método de certificación de los colorantes abarca una serie de estudios (5) entre los cuales están los de toxicidad aguda, toxicidad de corto y largo plazo, estudios de teratogenicidad y de mutagenicidad (Drake, J.J.P.-1980- citado por Hayward 1992, referencia 28). En los Estados Unidos, los colorantes han sido legislados desde 1886 por el Congreso, quien estableció principios de uso para estos aditivos; después, en 1907, se estableció un programa voluntario de certificación de colorantes (53). En 1938 el proceso de certificación fue retomado por la FDA, generándose la legislación federal en el área de seguridad alimentaria "Federal Food, Drug and Cosmetic Act.", ley manejada por el Departamento de Salud, Educación y Bienestar, la cual fue enmendada en 1960, definiendo el término "aditivo colorante" como cualquier tinte, pigmento u otra sustancia capaz de impartir color a un alimento o cosmético (5,45,53). Las reglas que gobiernan el uso de colorantes cambian constantemente, siendo al momento la FDA la autoridad que establece el uso, límites y tolerancias de estos aditivos colorantes (42,45,51,62).

En México, la Secretaría de Salud es quien regula el uso de aditivos alimentarios (entre ellos los colorantes) mediante el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 18 de Enero de 1988 y aunque este no ha sufrido enmiendas hasta el momento, se consideraron para esta reglamentación muchos de los puntos que se marcaban por la FDA en éste y otros rubros.

La legislación mexicana define a un colorante como aquella sustancia obtenida a partir de vegetales, animales o minerales o por síntesis química, para impartir o acentuar el color. Dicho reglamento reconoce 3 subdivisiones de los colorantes a saber:

- **Colorantes orgánicos-naturales:** entre ellos están el aceite de zanahoria, achiote, annato, carotenos, caramelo, cochinilla, pimienta, pimienta-oleoresina, etc. Estos están exentos de certificación por considerarse inocuos.

- **Colorantes orgánicos sintéticos o colorantes artificiales:** Son el amarillo # 5 (tartrazina), azul # 1 (azul brillante FPC), azul # 2 (indigotina), rojo #3 (eritrocina), rojo cítrico # 2 (sólo se permite para colorear la corteza de naranjas), rojo # 40 y verde # 3 (verde firme FCF).

- **Colorantes orgánico mineral y mineral permitidos:** son el gluconato ferroso y el dióxido de titanio.

3.1.3. Aplicaciones

El color en un alimento es sin duda una propiedad importante en cuanto a aceptación o rechazo por parte del consumidor, pues éste y la apariencia general son el primer contacto que se tiene con los alimentos (21,22,68), razón por la que se emplean colorantes naturales o artificiales que permiten cambiar, atenuar, acentuar o estabilizar el color de los productos, a fin de hacerlos atractivos al consumidor (9,23).

En la actualidad, pese a que los colorantes artificiales ofrecen mayores ventajas en cuanto a homogeneidad entre lotes y bajo costo, están siendo restringidos cada vez más por sus efectos tóxicos (23,28,56,68), representando así los colorantes naturales una gran alternativa como aditivos en la industria de alimentos (9,37), muestra de ello es el número de patentes registradas sobre la obtención de

colorantes de fuentes naturales que para 1987 fue de 356 (contra 71 patentes de colorantes obtenidos de manera sintética), de las cuales el 22 % corresponde a los carotenos, seguidos de las antocianinas con el 13.7 %, las betalainas con el 7.3 % , el annato con 6.38 %, la clorofila con 4.4 %, el color caramelo con 3.88 %, los carmines de la cochinilla con 3.3 %, los flavonoides con 2.77 %, las ficocianinas con 2.77 % y el cacao con 2.5 %; el 37.38 % restante comprende diferentes compuestos coloridos clasificados como micelaneos (21).

En lo que respecta a los carotenoides, estos se han venido usando en la manufactura de alimentos desde 1950 (30) y en la actualidad representan una de las fuentes más importantes en lo que a pigmentos se refiere, ya que numerosos estudios muestran cierta relación entre la ingesta de alimentos frescos ricos en carotenoides y la disminución de enfermedades como cáncer en pulmón, cervical, esófago, colon y próstata, así como de enfermedades cardiovasculares, razones por las que los alimentos procesados que indican en el marbete la presencia de éstos como colorantes tienen gran demanda en el mercado (30,31,38,40).

Dentro de los carotenos, los más empleados como colorantes son el beta-apo-8-carotenal (rojo), la cantaxantina (rojo púrpura), la astaxantina (rojo) y el β -caroteno (rojo-naranja), los cuales tienen aplicación en productos como mantequillas, margarinas, helados, aceites, bebidas, aderezos, caramelos, huevo de gallina y otros productos como los alimentos balanceados para pollo (2,26,28,30,36,58). Tal es la importancia de éstos que a nivel comercial se están elaborando de manera sintética, llamándoseles también colorantes naturales idénticos, ya que se producen con las mismas características que los obtenidos de vegetales y plantas (53,58).

Otros colorantes naturales que tiene aplicación en alimentos son:

- Paprika, la cual está constituida por diferentes carotenoides y da coloraciones que van de amarillo a rojo; ésta tiene aplicación en cereales, repostería, quesos y condimentos (12,24,26).
- Carmin (rojo cochinitilla), éste da tonalidades que van de los rojos intensos hasta los rojos claros y se emplea en productos como caramelos, yoghurts, helados, malteadas y jarabes (9,12,62).
- Concentrado de arándano, el cual es muy estable a pH ácido y ha tenido gran aplicación en yoghurt, pies (pay), cereales y tés (12).
- Extracto de betabel, cuyo nombre comercial es beet; éste se emplea en combinación con caramelo obteniéndose diferentes tonalidades de rojo para su aplicación en productos como: pudines, caramelos, repostería y productos lácteos (9,12).
- Clorofilas, son pigmentos verdes que se emplean en productos enlatados, repostería, sopas y productos lácteos (28,53)
- Antocianinas de color azul, utilizadas en helados, refrescos, productos cárnicos de proteína de soya y gelatinas (28,53)
- Color caramelo, el cual imparte un color café oscuro, se emplea en refrescos carbonatados y acidificados, en panadería y repostería (5,28).
- Cúrcuma, ésta da un color amarillo-naranja y se utiliza en productos como sopas de pasta, mostaza, consomés, dulces, galletas, productos lácteos, confitería y otros productos deshidratados (35,61).
- Extracto de zanahoria, el cual se emplea en productos como mantequilla, margarina y queso (26).

Como puede observarse, los colorantes rojos tiene gran demanda en el mercado, razón por la cual se siguen buscando alternativas de fuentes naturales para la

obtención de estos pigmentos; tal es el caso del extracto de chile ancho, que puede dar tonalidades desde amarillo-naranja hasta rojo (65) y el cual a nivel industrial esta siendo obtenido por empresas como Spectrum de México y Bioquimex.

3.2 Presentaciones Comerciales de Colorantes Naturales

Como ya se ha mencionado, el color es un ingrediente muy importante de los alimentos, ya que este puede ser la llave del triunfo o fracaso de los mismos (45), razón por la que la industria de colorantes se preocupa día con día por ofrecer alternativas especialmente en lo que a colorantes naturales se refiere (5,9,21). Existen diversas presentaciones comerciales de colorantes naturales como:

I. Cochinilla

De la cochinilla se obtiene diferentes colores rojos, los cuales tienen diversas presentaciones a saber (21,23,62):

- a. **Carmín:** colorante rojo claro el cual se usa principalmente en alimentos donde la base principal es agua o alcohol. Proporciona coloraciones claras en soluciones diluidas de agua.
- b. **Carmín ácido estable:** Este colorante posee una tonalidad rojiza clara, ligeramente viscoso, presenta un mínimo de 2,5 % de ácido carmínico y está disponible únicamente en polvo. Puede utilizarse en alimentos donde la base principal sea agua o alcohol.
- c. **Acido líquido:** Solución color rojo magenta, compuesto por carmín, agua, hidróxido de amonio, sodio y glicerina; contiene como mínimo 3.5 % de ácido carmínico y está diseñado para alimentos a base de agua con un pH mayor a 3.5.

- d. **Carmin laca:** Color rojo magenta con poder colorante no menor de 50 % de ácido camínico.

II. **Cúrcuma**

La cúrcuma es un vegetal que se seca, muele y granula para ser empleado como colorante, el cual se conoce con el nombre de curcumina. El producto se comercializa principalmente en dos formas, en mezcla con bixina en solución/aceite o como curcumina pura en forma de polvo fino de color amarillo-naranja, pero se encuentra también en solución alcohólica, como oleo y acuarresina, la raíz seca molida, suspendida en aceite vegetal y como laca. Es soluble en aceites y grasas, poco soluble en agua fría y soluble en agua caliente, así como en disolventes orgánicos (21,35,51).

III. **Otras presentaciones de colorantes naturales.**

Para poder emplear los carotenoides obtenidos de fuentes naturales a nivel comercial es necesario formularlos a fin de mejorar su dispersibilidad y estabilidad en agua o en sustancias solubles en grasa (28). Comercialmente se encuentran cuatro diferentes formulaciones (12,28,53):

- 1.- Como emulsiones en líquido o en forma de partículas esféricas desecadas (beadlets): Se emulsifican soluciones de aceite caliente sobresaturadas de carotenoides en soluciones acuosas de emulsionantes coloidales con la ayuda de plastificantes. Ejemplo de estos son el annato, las betalainas y el β -caroteno.
- 2.- Preparaciones coloidales (polvo secado por aspersión): Se disuelven los carotenoides en un disolvente volátil y entonces se homogenizan en una dispersión coloidal con un agente surfactante. Entre estos se encuentran preparados de annato, betabel (betaxantina y betalainas) y paprika.

3.- Soluciones en aceite: Se disuelven los carotenoides en aceites vegetales calientes y se estabilizan con antioxidantes. Ejemplos de éstos son la oleoresina de annato o de paprika.

4.- Suspensiones en aceite: Los carotenoides se micronizan o micropulverizan con un molino coloidal en ausencia de oxígeno y se suspende el producto en aceite vegetal grado alimenticio. El aceite forma una barrera contra el oxígeno, lo cual evita la necesidad de antioxidantes. Ejemplo de éstos es la oleoresina de paprika.

En el mercado se encuentran también carotenoides obtenidos por síntesis química (colores naturales idénticos) entre los cuales están : β --caroteno (en bealets), el cual es soluble en agua y da coloraciones de amarillo a naranja; β --caroteno en polvo (secado por aspersión), éste es sensible a la luz, aire, temperatura y a la humedad, da colores de amarillo muy pálido a naranja; apo-caroteno, que puede aplicarse en alimentos sólidos, semisólidos y líquidos, da coloraciones de naranja a rojo-naranja; cantaxantina, compuesto que da colores en la gama de amarillo a rojo, puede aplicarse en alimentos secos y líquidos, existiendo productos solubles en grasa o en agua (30,32).

3.3. Características de los Carotenoides

De los colorantes naturales, aquellos de origen vegetal representan la mayoría (62); de éstos, la clase más extendida de colorantes la constituyen los carotenoides y las clorofilas, ya que están presentes en todas las frutas, vegetales y plantas, siendo los más abundantes en la naturaleza los carotenoides (4,5,24,26, 58).

Los carotenoides derivan su nombre del más representativo que es el β -caroteno, el cual fue obtenido en 1831 (12), éstos son derivados del isopreno y son clasificados dentro de los lípidos, siendo hidrofóbicos y solubles en disolventes como acetona, alcohol, dietil éter y cloroformo (26). Su estructura consiste de una cadena larga que contiene gran cantidad de dobles enlaces conjugados con anillos en ambos extremos, éstos absorben en la región visible en el intervalo de 380 a 550 nm., dando lugar a carotenoides amarillos (7-11 dobles enlaces), naranjas (9-12 enlaces) y rojos (11-13) (14,47,60).

Los carotenoides se encuentran ubicados en los cloroplastos, cromoplastos y en el citoplasma de las células, en ocasiones unidos a proteínas ó ácidos grasos que están presentes de forma natural en los frutos de donde se extrae (5,24,25,47,48).

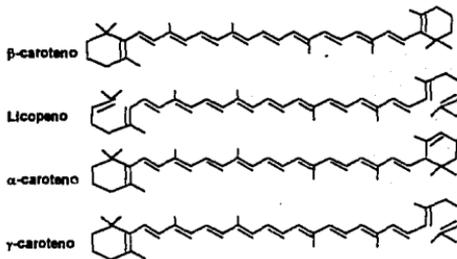
Entre las funciones que desempeñan los carotenoides está su participación en la fotosíntesis, donde actúan como protectores contra el daño que pueden causar factores como la luz (14,43,60); se producen por biosíntesis y catabolismo en los frutos (14) y pueden ser precursores de metabolitos primarios; por ejemplo, de los aproximadamente 600 carotenoides identificados, el 10 % son precursores de retinoides, vitamina A (14,43). Otras funciones son: 1) Impartir dureza a la estructura de membranas celulares, para lo cual requieren de por lo menos 9 dobles enlaces y tener afinidad lipídica hacia los componentes de la bicapa de las membranas (14), 2) Actuar como colorantes naturales (amarillo, naranja y rojo).

En general, los carotenoides son fácilmente oxidables, sobre todo en presencia de luz y calor, razón por la que en su preparación se emplean antioxidantes, principalmente fenoles como el butil hidroxi tolueno (BHT), aminas aromáticas y compuestos con azufre (18).

Como ya se mencionó, los carotenoides pueden clasificarse en dos grupos: Carotenos y Xantófilos (4,26,28, 60):

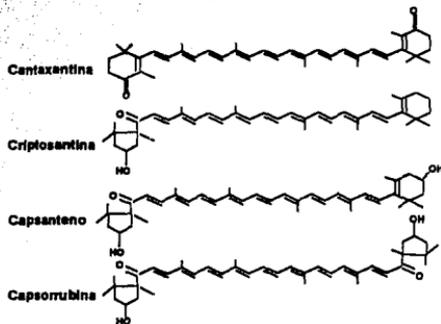
- Los carotenos con fórmula general $C_{40}H_{56}$, son solubles principalmente en disolventes no polares como el éter de petróleo y el n-hexano. Los principales carotenos son los alfa, beta y gama carotenos, así como el licopeno (71) y en menor proporción los delta y ceto carotenos (26). En la figura 1, puede observarse la estructura de algunos carotenos (3,47).

Figura 1
CAROTENOS



- Los xantófilos, son derivados de los carotenoides en diferentes estados de oxidación (60,71); entre los principales están la zeaxantina, el β -apo-8-carotenal, la cantaxantina y la bixina, pudiendo derivarse otros; son más polares que los carotenos debido a la presencia de oxígeno en su estructura. Son solubles en disolventes polares como la acetona, metanol, etanol y otros alcoholes. En la Figura 2 se muestran las estructuras de algunos xantófilos (3,47) :

Figura 2.
XANTOFILOS



Capsanteno

El capsanteno (C₄₀H₅₆O₃) es el principal carotenoide de las especies de Capsicum (chile), representando el 35 % del total de carotenoides en chile rojo (59); para su estudio se ha empleado indistintamente el término capsanteno y capsantina. En la composición de los capsicum, el capsanteno es seguido por la capsorrubina y la criptosantina (26).

El capsanteno se descompone principalmente por oxidación, forma agujas color rojo oscuro en éter de petróleo. Se cree que el precursor del capsanteno es la anteraxantina, cuya síntesis se lleva a cabo en los cromoplastos teniendo como precursor a su vez a la zeaxantina (26).

3.3.1. Procesos de Obtención

Los extractos de carotenoides que se obtienen de diferentes frutos son mezclas de diferentes componentes como el β -caroteno, luteína, violaxantina, apo-caroteno, α -caroteno, xantófilas, licopeno, etc. dependiendo del fruto del que son obtenidos; por ejemplo, para el caso de los capsicum en sus diferentes variedades se han encontrado capsantina, capsorubina, xantofilas y β -caroteno (3,24,26,65).

Para llevar a cabo la obtención de pigmentos oleosos se emplean básicamente 2 etapas: La de extracción y la de saponificación (26), la segunda etapa no siempre es necesario realizarla y esto depende del tipo de carotenoides que estén presentes en el fruto de donde se extraerá (26,29). Previo a estas etapas se lleva a cabo una selección de materia prima.

Extracción:

Para llevar a cabo la extracción no existe una técnica estandar o una línea a seguir, pero en todos los casos se emplean disolventes puros o mezclas de éstos; en algunos casos se incluyen antioxidantes como el butil hidroxi tolueno o butil hidroxi anizol (BHT ó BHA) y/o neutralizantes (Trishidroximetil-aminometano, carbonato de calcio o carbonato de magnesio), dependiendo del tipo de carotenoides presentes en el vegetal o fruto (24,26).

Tomando en cuenta la ubicación de los carotenoides dentro de los diferentes frutos (en cloroplastos, cromoplastos y citoplasma), para su obtención es necesario, previo a la extracción, llevar a cabo una reducción de tamaño de partícula del material de donde se extraerá a fin de facilitar esta operación. Como los carotenoides son lípidos, para su extracción se emplean disolventes orgánicos los cuales deberán

estar libres de componentes que provoquen oxidación, ácidos o halógenos, ser puros y no tóxicos (7,26,29).

Para realizar la extracción se debe tener en cuenta las siguientes consideraciones (24,28):

- Selección de materia prima (eliminación de frutos dañados por microorganismos, así como clasificación de frutos con base a su estado de madurez).
- Si el fruto o vegetal es fresco o congelado.- En este caso existe gran contenido de humedad, por lo cual se recomienda el uso de disolventes miscibles en agua como la acetona, el metanol y el etanol.
- Si el vegetal o fruto es seco.- En este caso se recomienda el uso de dietil éter.
- Llevar a cabo una reducción del tamaño de partícula, independientemente de las características del fruto (fresco, seco, congelado).

Entre los procedimientos empleados para extraer carotenoides están (7,24,26, 29,58,65):

- Extracción con una mezcla de acetona (60%) y metanol (40%), filtrando con ayuda de vacío, realizando a la fracción sólida una segunda extracción con éter de petróleo, precipitando el colorante con etanol a 60 °C (aplicado en paprika).
- Extracción con acetona, incluyendo agitación durante 30 min, la fase líquida se separa filtrando al vacío. Se realiza también una segunda extracción con una mezcla de cloroformo/2 propanol/acetona en relación 2:1:1, separando nuevamente la fase líquida por filtración (aplicado en paprika).

- ◆ **Extracción con acetona a 4°C;** en este caso puede emplearse acetona anhidra o al 80 % (con 20 % de agua) dependiendo de si se extraerán pigmentos de pimienta roja o verde. El extracto se deposita en éter de petróleo para separar las clorofilas y las xantófilas en una columna de celulosa, eluyendo con acetona.
- ◆ **Extracción con acetona,** adicionando sulfato de sodio anhidro y carbonato de magnesio como desecantes y BHT como antioxidante, después se filtra a vacío (empleado para extraer de frutos frescos).
- ◆ **Extracción supercrítica con CO₂.** En la actualidad, se están buscando nuevos métodos de extracción a fin de asegurar la inocuidad del pigmento obtenido. Tal es el caso del método de extracción crítica de carotenoides con CO₂ (66). La extracción supercrítica es un proceso de separación que utiliza gases por arriba de sus condiciones críticas de presión (Pc) y temperatura (Tc), incrementando así su capacidad de solubilizar grasas, aceites, colesterol, cetonas, aldehídos y ésteres, sin dañar proteínas, azúcares y otros carbohidratos. En la actualidad este método se emplea en la extracción de (13,54,66):

- Cafeína de café y té
- α -ácidos (grupo ácido en un carbono α) y aceites aromáticos
- Oleoresinas y aceites esenciales de especias
- Carotenoides
- Principios activos en la elaboración de medicamentos
- Extracción del ácido eicosapentanoico (EPA) del aceite de pescado
- Purificación de productos biotecnológicos

Nota: Para todos los casos en los que se utiliza disolvente en la extracción, éste se elimina a presión reducida empleando un rotavapor.

De manera general el método de extracción supercrítica consiste de 3 etapas (54,66):

- 1.- Extracción
- 2.- Separación del soluto y del disolvente
- 3.- Reestablecimiento de las condiciones de operación

Como ya se mencionó, existen diversas alternativas para la extracción de colorantes, siendo al momento los más difundidos aquellos que emplean disolventes, aunque hay que resaltar que la tendencia guía hacia el empleo de la extracción supercrítica, ya que éste es un método que ofrece algunas ventajas sobre la convencional extracción con disolventes, como se muestra en el Cuadro 2.

Cuadro 2 Comparación Entre Extracción con Disolventes y Extracción Supercrítica

Extracción con Disolventes	Extracción Supercrítica
Ventajas	
<ul style="list-style-type: none"> - Disponibilidad inmediata - Bajo costo - Manejo ampliamente conocido 	<ul style="list-style-type: none"> - No deja residuos de disolvente - Permite extraer a bajas temperaturas - Diversidad de Tc y Pc - Puede hacerse extracción selectiva - No contamina el medio ambiente
Desventajas:	
<ul style="list-style-type: none"> - Algunos disolventes son altamente tóxicos - Quedan residuos de disolvente - Contaminación al ambiente - No en todos los casos permite extracción selectiva 	<ul style="list-style-type: none"> - Elevado costo de inversión - Introducción reciente en alimentos

Saponificación:

La saponificación es un método de liberación de los ácidos grasos mediante el uso de un álcali. Este es un método de purificación, ya que elimina lípidos y clorofilas y no afecta a algunos carotenoides. Puede llevarse a cabo de diferentes maneras como (26, 29,42) :

- a) Se adiciona KOH 0.5 N en alcohol y se hierve durante 30 min.
- b) Se adiciona KOH 0.5 N en alcohol y se deja reposando toda la noche a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno
- c) se realiza un calentamiento con KOH 0.5 N a 40 °C/ 3 hrs. En los 3 casos se mezcla después con éter, se lava con álcali y se evapora a vacío.
- d) Se saponifica con hidróxido de potasio y metanol con una concentración del alcali del 5 o 10 %.

La saponificación se omite cuando en el extracto están presentes pigmentos como astaxantina, fucoxantina (que contienen una fracción ácida) y/o carotenoides esterificados (24,26,29) debido a que éstos son susceptibles a reaccionar o descomponerse.

3.3.2. Colorante de Chile Ancho

El chile ancho pertenece a la familia Solanaceae, género Capsicum y subespecie annuum grossum. Este ha sido empleado como ingrediente en la comida mexicana haciéndola atractiva al consumidor, abarcando todos los estratos sociales (33).

El chile es una fuente natural de carotenoides y es el único fruto cuyos carotenoides presentan acilciclopentanoles (26). Entre los carotenoides que se encuentran en mayor proporción en estos frutos están la capsantina ó capsanteno, la capsorubina,

xantofilas y el β -caroteno, aunque hay presentes otros como componentes minoritarios (24,28). El chile ancho presenta diversidad de variedades en cuanto a características de la planta como altura, tamaño y color de las hojas, forma, número de lóculos y color del fruto (33). Dadas las características del género al que pertenece, el pigmento que de éste fruto puede obtenerse es una oleoresina*, ya que los carotenoides se encuentran unidos a ácidos grasos presentes en el fruto (25,65), siendo el carotenoide mayoritario la capsantina representando cerca del 80 % de los pigmentos rojos presentes (65).

De estudios previos, se sabe que el rendimiento de pigmento que se obtiene, está en función del tipo de extracción que se realice, teniéndose un rendimiento de 2.77% en peso (65), el cual comparado con un rendimiento del 2.2 % de oleoresina de paprika decolorada (24), es significativo. La calidad del colorante está en función de la edad del lote del que se extrae, es decir, de que tan fresco es el fruto, obteniéndose extractos con 46,200 Unidades de Color (U.C.) como máximo y 20,625 U.C. como mínimo. El pH de la oleoresina de chile ancho es de 2.5, presenta una densidad de 0.90 a 0.94 a un intervalo de temperatura de 20 a 28°C, es estable en medio básico, es sensible a la luz y a altas temperaturas (65).

El análisis realizado con espectrometría de masas-gases, indica la existencia de capsanteno libre y en forma esterificada con ácido palmítico (65), el cual es el ácido graso predominante en el chile ancho (52.2 %), así como en la paprika (25).

* Las oleoresinas se han definido como el líquido viscoso, semisólido, obtenido por extracción y que posee todo el carácter organoléptico de la especie (aceites volátiles y fijos, pigmentos, constituyentes pungentes y antioxidantes naturales), con base en esto y en las características mencionadas, es que a algunos extractos de carotenos se les da el nombre de oleoresinas.

Otros ácidos grasos presentes en la oleoresina de chile ancho son laúrico (trazas), mirístico (15.25 %), linoléico (5 %), oléico (28.79 %), esteárico (3.76 %) y linolénico (trazas) (65).

El orden de reacción al que obedece la degradación de estos pigmentos es de primer orden, a diferencia de la oleoresina de paprika, que presenta una degradación de segundo orden (26).

3.4. Emulsión Seca

En la industria farmacéutica, así como en la de alimentos se han desarrollado diversas técnicas para protección de compuestos sensibles a factores como la luz, el oxígeno, etc., que aceleran su degradación. Estas técnicas además de incrementar la vida útil del producto, facilitan su manipulación y almacenamiento; entre éstas se encuentra la microencapsulación (6,34,67), la formación de microesferas (6), el empleo de ciclodextrinas (27), el uso de liposomas y actualmente en la industria farmacéutica el empleo del método emulsión seca (6).

3.4.1 Principio

La emulsión seca ha sido definida por Farah, en 1986, como "una dispersión de partículas hidrofílicas e hidrofóbicas cuya estructura fue iniciada por la obtención previa de una emulsión agua en aceite o aceite agua".

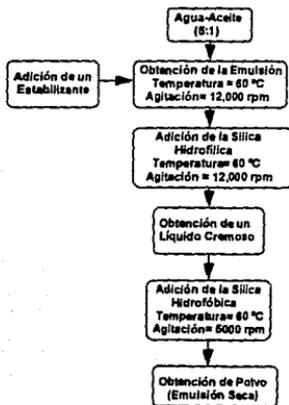
El objetivo de esta nueva tecnología es la de lograr proteger un principio activo hasta su llegada, dentro del cuerpo humano, al lugar óptimo de liberación. Para lograrlo es necesario el formar una emulsión que será estabilizada y protegida por

dos materiales adsorbentes inactivos; estos son una sílica altamente polar y capaz de absorber la fase acuosa y una sílica con baja polaridad compatible con la fase oleosa (6).

3.4.2 Desarrollo de la técnica

De manera general, la preparación de una emulsión seca involucra pasos sencillos como puede verse en el diagrama 1. Por otra parte emplea tecnología económica, de fácil implementación y uso. A fin de obtener un polvo al final del proceso, es necesario el empleo de materiales adsorbentes, que además sean inocuos y no tóxicos. (6)

Diagrama 1. Esquema General Para la Obtención de una Emulsión Seca.



Fuente: Berthod, A et al. (1988); Dry Adsorber Emulsions: An oral Sustained Drug Delivery System; Journal of Pharmaceutical Sciences 77(3):216-221.

El primer paso, como se observa en el Diagrama 1, consiste en obtener una emulsión agua-aceite ó aceite-agua, colocándose el material a proteger en alguna de las fases, ya sea la acuosa o la oleosa. (6). Como la técnica fue desarrollada en la industria farmacéutica, se han empleado en la fase oleosa aceite mineral y silicona, razón por la que se recomienda trabajar a altas temperaturas (60, 80 °C) esta etapa, a fin de mantener en estado líquido la fase oleosa, agitando además a una velocidad de 12,000 rpm.

El segundo paso consiste en adicionar alguno de los materiales adsorbentes (sílica hidrofílica ó sílica hidrofóbica) a la temperatura a la que se realizó la emulsión y continuar agitando a 12,000 rpm. En este punto se obtiene un líquido de características cremosas (6)

Finalmente, se adiciona el otro material absorbente a una velocidad de agitación de 5000 rpm y a la temperatura a la que se ha estado trabajando. El líquido cremoso se transforma en una pasta y eventualmente en un polvo (emulsión seca) (6).

Los polvos obtenidos de esta manera han sido caracterizados en cuanto al tamaño de partícula obtenido, tiempo de liberación del principio o sustancia absorbida, estabilidad con respecto al tiempo y por microscopía electrónica, encontrándose que pueden obtenerse tamaños de partícula entre 300 y 2000 micras, siendo el tamaño de la partícula determinante en el tiempo de liberación, observándose tiempos menores con tamaños de partícula pequeños y que el componente a proteger queda dentro de una matriz formada por la emulsión adsorbida en las sílicas. Se ha probado que a un año de almacén, las características del componente a proteger son las mismas que las de uno recién elaborado y que el polvo se conserva en buen estado y sin cambios al fluir. (6)

3.4.3. Material Adsorbente (Silicas Hidrofílica e Hidrofóbica)

El material absorbente empleado en la industria farmacéutica (silicas hidrofílica e hidrofóbica), se ha venido usando en la formación de tabletas, cápsulas de gelatina, pastas para dientes, cosméticos y pomadas, entre otros; en algunos casos se emplea para facilitar el proceso y en otros para mejorar las características del producto final, aunque pueden obtenerse los 2 efectos al mismo tiempo (11). Por ejemplo, para polvos se emplea para favorecer su fluidez en el proceso y para evitar su aglomerado y endurecimiento en el producto final (11,51).

Estas silicas (hidrofílicas e hidrofóbicas), se han distinguido principalmente por su alta pureza química, pues se encuentran libres de Na_2O As, B y Pb, presentan HCL < 0.05 % y TiO_2 < 0.03 % (49, 50). Entre los medicamentos en que se emplean están: Acido .acetilsalicílico (45 % + 5), Vitamina C (45 % +5), Acido feniletibarbítúrico (45 % +5) y Codeína (71 % + 5), etc. (11)

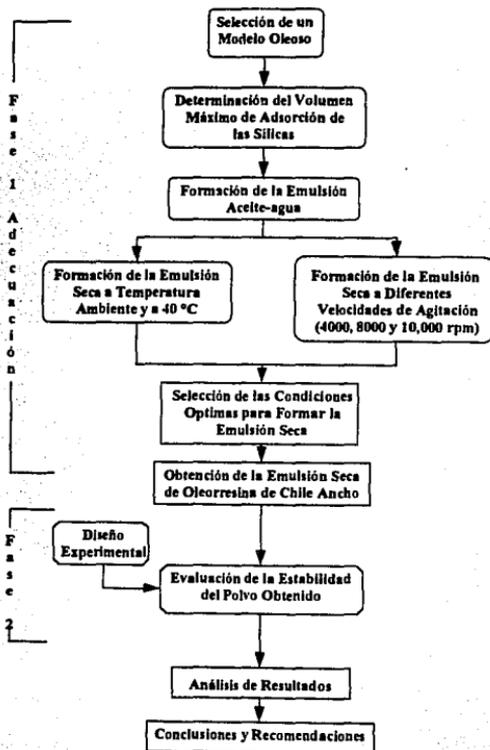
Para ambas silicas, se ha revisado el aspecto toxicológico, encontrándose en estudios con ratas a las que se administró estas silicas en 500mg/kg de peso del animal durante 6 meses, que no se reportan daños patológicos, ni gástricos, ni alteraciones en sangre o cambios superficiales, ni en tejido (11,51). También se estudió el posible daño a embriones, en este caso el suministro fue de 100 y 500 mg/kg. de peso del animal, sin encontrarse daños (11).

Gärtner, 1952 (citado por Ferch, 19..) menciona que estas silicas no producen silicosis y que no irritan la mucosa gástrica. Estas silicas han sido empleadas en tratamientos para gastritis y enteritis, con resultados favorables (11). Por otra parte, se ha reportado que se eliminan en excretas (51).

4. Metodología

De acuerdo con el Diagrama 2, se propuso llevar a cabo la adecuación tecnológica del método emulsión seca, para lo cual se efectuó el análisis de las operaciones involucradas en el desarrollo de la técnica (Diagrama 1, pág. 27), evaluando además los factores que intervienen.

Diagrama 2. Metodología General



Con objeto de facilitar la etapa experimental, se planteó trabajar en dos fases. La primera fase incluyó, como se muestra en el Diagrama 2, la adecuación de la técnica; la segunda fase incluyó la evaluación de la estabilidad del colorante en polvo obtenido con respecto a una muestra comercial donde se evaluó la pérdida de colorante con respecto al tiempo.

4.1 Fase 1. Adecuación Tecnológica del Método Emulsión Seca

Dado que la Técnica de Emulsión Seca (E.S.), es un método empleado para fármacos y se propuso su uso para un colorante que se empleará en la manufactura de alimentos, fue necesario realizar una serie de ajustes a la técnica que se reporta en la bibliografía (6), como se observa en el Diagrama 2, los cuales se describen a continuación:

Como en este caso se trabajó con una oleoresina, para la etapa de formación de la emulsión base (aceite-agua), ésta fue considerada como la fase oleosa y por tanto no fue necesario el empleo de aceite mineral ó silicona, que además están prohibidos en alimentos. En la fase líquida se empleó agua destilada.

Una vez establecido el material adsorbente empleado (sílicas hidrofílica e hidrofóbica), se llevó a cabo la determinación del volumen máximo de adsorción para cada uno, pues en los reportes de la técnica original (diagrama 1, pág. 28), no se indica. Para el caso de la sílica hidrofóbica, debido al costo de la oleoresina se propuso el uso de un modelo oleoso en base a los ácidos grasos del extracto : ácido mirístico, ác. palmítico, ác. oléico y ác. esteárico (25,59,65). En el caso de la sílica hidrofílica, se empleó agua destilada para obtener el volumen de adsorción.

El procedimiento para ambas sílicas fue adicionar el líquido (agua o modelo oleoso) poco a poco mediante goteo en cantidades conocidas a un peso de sílica establecido, la cual se depositaba previamente en los tubos de ensayo graduados, mezclándose suavemente con ayuda de un palillo largo de plástico a fin de facilitar la incorporación del líquido y el material adsorbente; después se dejó reposar por 10 minutos y se procedió a centrifugar a 3500 rpm (centrífuga Beckman GTR, rotor GH 3.7) durante 20 minutos, tomando como volumen máximo de adsorción aquel en donde ya no se excluyera de la fase sólida agua o aceite según correspondiera; todo lo anterior se realizó a temperatura ambiente. En la Figura 3, se muestra un esquema de la adición de agua o modelo oleoso a la sílica.



Figura 3

Una vez encontrados los volúmenes de adsorción, se procedió a realizar una prueba en el caso de la sílica hidrofóbica con la oleoresina, con objeto de conocer el volumen real de capacidad de adsorción del colorante en la sílica (la oleoresina empleada en la etapa experimental fue donada por la Compañía Spectrum S.A. de C.V.).

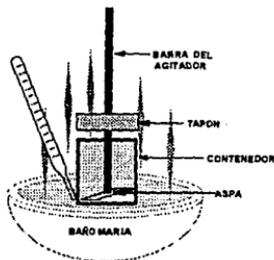
Ya establecidos los volúmenes de máxima adsorción en ambos casos (sílica hidrofílica y sílica hidrofóbica) se procedió a formar la emulsión aceite-agua o

emulsión base, punto que corresponde a la obtención de la emulsión del diagrama original (pág. 28), probándose las siguientes velocidades de agitación: 4000, 8000 y 10,000 rpm, las cuales fueron establecidas en función de la capacidad del equipo en el que se trabajó (homogenizador Virtis "23"). Por otra parte, la emulsión se realizó a temperatura ambiente y a 40 °C, indicando como variable de respuesta (+) ó (-), dependiendo de si la emulsión se formó o no, es decir, al obtener una fase homogénea era (+) si se observaba un sistema heterogéneo era (-).

Para conocer la diferencia de los resultados obtenidos, se propuso su evaluación con un análisis de variancia de bloques aleatorios, tomándose las velocidades como diferentes tratamientos.

En la Figura 4 se muestra el sistema que se implementó para llevar a cabo la emulsión base (así como la emulsión seca en general), con ayuda del agitador virtis modelo 23, el cual consta de una barra para la agitación, un aspa de cuchilla plana, una base para soportar el contenedor y un motor para proporcionar el impulso de agitación y las velocidades. El contenedor empleado fueron vasos de precipitados y se implementó un tapón de unicel forrado. Para las muestras que se trabajaron a 40 °C, se utilizó un baño maría y se controló la temperatura con ayuda de un termómetro.

Figura 4



Ya establecida la velocidad y temperatura de trabajo para la emulsión se procedió a la adición de las sílicas.

Con objeto de conocer si el orden de adición afectaba las características del polvo final o el tiempo en el que éste se obtenía, es decir, se pretendía con ésto conocer si la operación de adición de material absorbente podía ser en una etapa conjunta o era necesario su adición por separado, se probaron los siguientes órdenes de adición:

- i) 100 % de la sílica hidrofóbica y despues 100 % de la hidrofílica
- ii) a) 50 % de la sílica hidrofóbica, b) 100 % de la hidrofílica, c) 50 % de la hidrofóbica
- iii) a) 50 % de la sílica hidrofóbica, b) 50 % de la hidrofílica, c) 50 % de la hidrofóbica, d) 50 % de la hidrofílica
- iv) Mezclar las sílicas relación 1:1 y adicionarlas poco a poco

Paralelo al paso anterior se trabajaron diferentes velocidades de agitación (4000, 8000 y 10,000 rpm) a la temperatura a la que mejor se formó la emulsión aceite-agua.

Para estos factores (adición de sílica y velocidad de agitación), se indicó como variable de respuesta (+) ó (-) dependiendo de si la emulsión seca se formó o no, lo anterior con base en las características de formación que se describen en la bibliografía y que se detallan en el Diagrama 1 (pág. 28), así como las características del polvo obtenido y el tiempo total en que se obtiene la emulsión seca.

4.2 Fase 2. Evaluación de la Estabilidad de la Emulsión Seca de Oleoresina de Chile Ancho Obtenida (Diseño Experimental)

Para llevar a cabo esta parte, se propuso el uso de conceptos de Ingeniería de Calidad en el diseño experimental, así como en su desarrollo y análisis (19,41,63).

Se prepararon emulsiones secas de oleoresina de chile ancho con antioxidante (BHT) y sin éste, con objeto de evaluar la necesidad de antioxidante al exponer las muestras a un medio adverso (en presencia de oxígeno) y al pH de la oleoresina (2.5) y empleado una solución buffer de fosfatos para cambiar el pH a uno básico. Esto se llevó a cabo, ya que con la adaptación de la técnica lo que se perseguía era dar mayor estabilidad al colorante, lo cual se pretendió reforzar con el uso de antioxidante y un pH básico. En este caso la variable de respuesta fue la estabilidad del producto final con respecto al tiempo y frente a condiciones de almacen (luz y temperatura).

- Selección de Factores y Niveles para el Diseño Experimental

De los antecedentes bibliográficos se sabe que los colorantes naturales son altamente sensibles a la temperatura, pH, luz y oxígeno. La presente fase de este estudio se avocó a evaluar la estabilidad de las emulsiones obtenidas frente a estos factores y comparando contra una muestra de oleoresina de chile ancho comercial.

Para el caso de las emulsiones secas, el pH y la presencia o ausencia de antioxidante fueron factores de proceso (formulación) y la temperatura y luz factores que se manejan durante el almacenamiento y manipulación. Para la muestra comercial de colorante sólo se manejaron los factores de luz y temperatura,

pues ésta es un parámetro comparativo, la cual se expone a condiciones de pH y ausencia de antioxidantes establecidas por el fabricante.

En la tabla 1 se integran los factores, así como los niveles a manejados para las emulsiones secas:

Tabla 1. Factores y Niveles de Estudio Para la Emulsión Seca

FACTOR	NIVEL 1	NIVEL 2
A) Temperatura	30 ° C	4 ° C
B) Luz	Con luz	Sin luz
C) Antioxidante	Con antioxidante	Sin antioxidante
D) pH	2.5	6.0

En la tabla 2 se muestran los factores y niveles para el colorante comercial:

Tabla 2. Factores y Niveles Para la Muestra Comercial de Oleoresina de Chile Ancho

FACTOR	NIVEL 1	NIVEL 2
A) Temperatura	30 ° C	4 ° C
B) Luz	Con luz	Sin luz

Para la selección del arreglo ortogonal, se procedió a obtener los grados de libertad de los factores y de sus interacciones, cuya suma da los grados de libertad del experimento. En el caso de la emulsión seca, se seleccionó un L16, el cual fue adecuado para emplearlo con 4 factores en lugar de 5. Para la muestra comercial se utilizó un L4. De esta manera en ambos casos se obtuvo información de la influencia de cada factor por separado, así como de sus interacciones, quedando la siguiente distribución para la emulsión seca:

- Efecto temperatura-luz A X B
- Efecto temperatura-antioxidante A X C

- Efecto temperatura-pH A X D
- Efecto luz-antioxidante B X C
- Efecto luz-pH B X D
- Efecto antioxidante-pH C X D

Para la muestra comercial, de acuerdo con el arreglo ortogonal seleccionado únicamente se dió la primera interacción:

- Efecto temperatura-luz A X B

Cabe mencionar que el orden de los factores fue asignado con base en lo reportado en la bibliografía (por la influencia que pudiese tener cada factor), correspondiendo el número 1 a la temperatura, 2 a la luz, 3 a su interacción y así sucesivamente. El orden para realizar los eventos fue aleatorización completa; en el Cuadro 3 se resumen las combinaciones hechas para cada evento en el caso de la emulsión seca:

Cuadro 3. Combinaciones de Niveles y Factores para la Emulsión Seca

EVENTO	FACTOR			
	A	B	C	D
1	1	1	1	1
2	1	1	1	2
3	1	1	2	1
4	1	1	2	2
5	1	2	1	1
6	1	2	1	2
7	1	2	2	1
8	1	2	2	2
9	2	1	1	1
10	2	1	1	2
11	2	1	2	1
12	2	1	2	2
13	2	2	1	1
14	2	2	1	2
15	2	2	2	1
16	2	2	2	2

En el Cuadro 4 se resumen las combinaciones hechas para cada evento, para la muestra comercial de oleoresina:

Cuadro 4. Combinaciones de Niveles y Factores para la Oleoresina Comercial

EVENTO	FACTOR	
	A	B
1	1	1
2	1	2
3	2	1
4	2	1

- **Materiales y equipo para la fase 2**

Refrigerador:

Para el manejo de las muestras a nivel bajo de temperatura se empleó un refrigerador con puerta de cristal, en el cual se instaló un foco de luz con objeto de garantizar la exposición a la luz de las muestras que así lo requirieron. Previo a la colocación de las muestras a baja temperatura, se evaluó la temperatura en el lugar en el que se colocaron, con ayuda de un termómetro, debiendo registrarse 4°C en esa área. Una vez que las muestras fueron colocadas se verificó la temperatura cada 24 horas.

Gaveta:

Para el trabajo de las muestras al nivel alto de temperatura, se procedió primero al montaje de una gaveta o compartimiento, el cual constaba de una superficie blanca y tres paredes, también blancas. En la parte superior se colocó un foco que permitiera asegurar la exposición a la luz de las muestras que así lo requirieron. Al igual que en el refrigerador, la temperatura se evaluó durante una semana antes de correr la fase experimental, empleando un termómetro el cual fue colocado en el área donde se colocaron después las muestras, encontrándose una temperatura de 30°C. De igual manera que en el punto anterior, aquí se planteó evaluar la temperatura durante el tiempo que duró la experimentación, con objeto de observar si se presentaban variaciones en ésta.

Frascos:

A fin de tener una manipulación adecuada de las muestras, se colocaron en frascos de cristal transparentes en el caso de aquellas que iban expuestas a la luz y frascos ámbar en el caso de aquellas que se protegieron contra la luz. Cada muestra fue rotulada para tener un control adecuado y se colocaron en el nivel de temperatura correspondiente.

El cerrado de los frascos no fue hermético ni con condiciones controladas de oxígeno, pues se pretendía evaluar el manejo del colorante en condiciones lo más cercano posible a las de trabajo (al ser manipulado para su aplicación o almacenamiento). Cabe mencionar que el efecto del oxígeno se evaluó de manera

indirecta al determinar la influencia sobre la estabilidad que tuvo la presencia o ausencia de antioxidante en la emulsión seca.

Espectrofotómetro:

Para llevar a cabo las determinaciones de pérdida de colorante, unidades de color y características de intensidad, brillo y matiz; se empleó un Espectrofotómetro Beckman DU-64 en el cual se midió la absorbancia con respecto al tiempo a una determinada longitud de onda. Para la etapa de pérdida de colorante fue necesario realizar un barrido completo de una muestra de oleoresina de chile ancho estableciendo el intervalo de 300 a 900 nm. en el equipo, con lo cual se perseguía encontrar el punto de máxima absorbancia para el colorante (459 nm), de igual manera se corrió una muestra de cada una de las emulsiones secas obtenidas, coincidiendo el punto de máxima absorbancia con lo cual se asumió que al resuspender el colorante no se presentaba interferencia por parte del material de protección en las lecturas de absorbancia.

El colorante se evaluó a 459 nm cada 2 días, siendo la variable de respuesta en ambos diseños, el % de Pigmento Remanente (%P.R.) a un tiempo "X". El %P.R., se obtuvo al emplear la siguiente fórmula (49,62):

$$\%P.R. = \frac{\text{Abs. al tiempo X}}{\text{Abs. al tiempo 0}} \times 100$$

Donde : Abs. al tiempo X, es la absorbancia al tiempo en el que se quiere conocer el % P.R.

Abs. al tiempo 0, es la absorbancia inicial.

Otro parámetro que se determinó dentro de esta etapa fueron las Unidades de Color con respecto al tiempo, que se plantaron como una medida indirecta de la pérdida de colorante. Para esta determinación se empleó la siguiente fórmula, obtenida de la determinación recomendada por AMCO INTERNACIONAL (Anexo 1).

$$U.C. = \frac{\text{Absorbancia x 6600}}{\text{Peso de la muestra en g.}}$$

Para llevar a cabo esta determinación se siguió el procedimiento para evaluar Unidades de Color en Capsicums (Anexo 1)

Otro resultado que se obtuvo, como parte integral del diseño experimental de la evaluación del colorante y quizá el más importante, fue el % de influencia de cada uno de los factores a los cuales se evaluó la estabilidad, así como el porcentaje de influencia de las interacciones de éstos factores, mediante un análisis de varianza de dos vías (41,63).

5. Resultados y Discusión

Los datos obtenidos a lo largo de la experimentación, se presentan de manera paralela a la discusión de resultados con objeto de facilitar la interpretación, observación y comentarios de los mismos.

Fase 1. Adecuación tecnológica

Para llevar a cabo la selección del modelo oleoso se tomó en cuenta el tipo de ácidos grasos presentes en los frutos de capsicum, principalmente los presentes en el chile ancho (25,59,65), seleccionándose una mezcla de aceite de girasol y soya en relación 1:1 (en base a sus ácidos grasos), modelo oleoso similar a la oleoresina.

Una vez establecido el modelo oleoso, se procedió a realizar las pruebas para determinar los volúmenes de adsorción máxima para las sílicas hidrofílica e hidrofóbica, proponiéndose los siguientes volúmenes de agua y aceite, para 1 gramo de material adsorbente:

Tabla 3. Volúmenes de Agua y Aceite Propuestos para Encontrar el volumen Máximo de Adsorción en las Sílicas

Sílica Hidrofílica (g.)	Agua (ml)	Sílica Hidrofóbica (g.)	Mezcla Aceites (ml)
1	3	1	2
1	4	1	3
1	5	1	4

Los primeros volúmenes probados fueron los de 3 ml para el agua y 2 ml para el aceite, encontrándose en ambos casos sílica sin humectar o sin aceite; para estos

volúmenes no fue necesario realizar una centrifugación, ya que como se mencionó antes había sílica en exceso. Los siguientes volúmenes probados fueron de manera paralela el de 4 y 5 ml. para el agua y 3 y 4 ml. para el aceite.

Para el caso del modelo oleoso se observó que al adicionar 4 ml. se presentaban 3 fases en los tubos una fase de aceite en la superficie de 0.8 ml., una fase de sílica sobresaturada de aceite y una fase de sílica con aceite compactada. Al adicionar 3 ml. se observó una exclusión de 0.3 ml de la mezcla de aceites, teniéndose así un volúmen máximo de adsorción de 2.7 ml en la sílica hidrofóbica.

En el caso de la sílica hidrofílica para ambos volúmenes (4 y 5 ml.), se observó un exceso de material adsorbente y sólo se procedió a centrifugar en el caso de 5 ml observándose zonas reseca y cuarteada, para esta sílica se probó un volumen adicional de 6 ml de agua teniéndose al final del paso de centrifugado un sobrenadante de 0.3 ml, dando así un volumen máximo de adsorción de 5.7 ml.

Tanto para la sílica hidrofílica como hidrofóbica, se realizaron las pruebas por triplicado, para todos los volúmenes.

Una vez establecidos los volúmenes de máxima adsorción se procedió, para el caso de la sílica hidrofóbica a una prueba con oleoresina de chile ancho, encontrándose que con 2.7 ml de oleoresina después de centrifugar existían grietas blanquecinas en la superficie del tubo. Se procedió entonces a incrementar la cantidad de colorante con ayuda de una pipeta automática, esta vez se adicionaron 3 ml de colorante y se encontró una humectación homogénea sin que se excluyera colorante del material adsorbente. Por lo tanto, para la sílica hidrofóbica se consideró un volumen máximo de adsorción de 3 ml de colorante y para la sílica

hidrofílica de 5.7 ml de agua. Ya con estos valores, de cantidad de líquido que podía captar cada una de las sílicas, se procedió a formar la emulsión base colorante-agua con las siguientes velocidades de agitación: 4000, 8000 y 10,000 rpm. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Formación de la Emulsión Base (Colorante Oleoso - Agua), a Diferentes Velocidades

Velocidad (rpm)	Observaciones
4000	A esta velocidad se obtuvo una emulsión base (colorante oleoso-agua) estableciéndose un tiempo mínimo de 5 minutos y un máximo de 15 minutos para que se formara, observándose que no había diferencia en el aspecto de la emulsión (homogeneo en los dos casos) a 5 o 15 minutos de agitación. Cabe mencionar que no se consideró importante evaluar si la emulsión se desestabilizaba pues el material adsorbente a emplear en la etapa posterior a ésta, es empleado como estabilizante de emulsiones. Por otra parte el proceso de la emulsión seca es continuo y no se presenta una etapa de reposo o un tiempo muerto dentro del desarrollo de la técnica que pudiera alterar el sistema de la emulsión base. Otra observación, fue que a esta velocidad no había pérdida de colorante o agua sobre las paredes del recipiente o su tapón.
8000	igual que para la velocidad anterior se estableció un límite mínimo de 5 minutos y uno máximo de 15 min para que se formara la emulsión base. A esta velocidad, por las cantidades manejadas y las características propias del equipo, así como del contenedor donde se realizaba la emulsión, se perdía parte de la misma al ser expulsada por las aspas del agitador, razón por la que se consideró una velocidad inadecuada.
10,000	A esta velocidad fue imposible evaluar la formación de la emulsión, ya que por la velocidad y los volúmenes empleados, se tenía problemas de expulsión del colorante y el agua del contenedor, sin que se formara la emulsión base, siendo insuficiente el sistema de tapón empleado, que en ocasiones era también expulsado.

Al hacer las corridas experimentales para las diferentes velocidades y una vez comparados los resultados, se procedió a seleccionar la de 4000 rpm para esta

etapa de la técnica, ya que con ésta se formaba la emulsión base y no se presentaban problemas de pérdida de líquido al ser expulsado por la fuerza de la agitación, como con las otras velocidades.

En esta etapa no fue posible realizar el análisis de varianza propuesto, ya que los datos con las velocidades de 8000 y 10,000 rpm, no se consideraron válidos al existir pérdida de colorante o emulsión en 8000 rpm y por no poderse realizar las observaciones a 10,000 rpm.

La comparación realizada en esta etapa respecto a las temperaturas fue con objeto de conocer si un incremento de ésta favorecía la formación de la emulsión base como se menciona en los antecedentes (6). Cabe mencionar que la variación de temperatura sólo se realizó para la velocidad de 4000 rpm, observándose lo siguiente:

Temperatura Ambiente

A ésta temperatura se tuvo mayor facilidad para llevar a cabo la operación y no se presentó problema alguno para formar la emulsión. Por otra parte habría que destacar que el costo es menor a esta temperatura, pues no incluye una etapa de calentamiento donde se requiere de una fuente de calor, así como de un control adecuado de éste.

Temperatura 40 °C

Presentó la desventaja de la formación de un condensado ligero en las paredes del contenedor que impedía observar el interior; este condensado se presentaba también en la parte superior del barra del agitador, por arriba del tapón. Cabe mencionar que el orificio del tapón era mayor al diámetro de la barra del agitador a fin de permitir un giro libre de ésta, lo cual podía representar un problema ya que el condensado podía resbalar al interior del contenedor y afectar el volumen de agua manejado.

En general, no se observó diferencia entre la emulsión base obtenida a temperatura ambiente y a 40°C. A 40 °C se presentaron algunos problemas, ya que trabajar a esta temperatura exige un sistema de calentamiento y sostenimiento de la misma; por otra parte la exposición prolongada de la oleoresina a una alta temperatura puede ocasionar daños al colorante, debido a que puede favorecerse la oxidación de los ácidos grasos presentes, así como la posible degradación del color. En base a ésto se consideró adecuado trabajar a temperatura ambiente la elaboración de la emulsión base, quedando entonces las condiciones de operación para esta etapa del proceso de la siguiente manera:

Temperatura ambiente

Velocidad de agitación = 4000 rpm

Tiempo de agitación = 5 minutos

- Etapa de la formación de la Emulsión Seca

En este punto se evaluó la velocidad de agitación para formar el polvo (emulsión seca), así como el orden en que fueron adicionadas las sílicas, estableciéndose que el producto obtenido tenía que pasar la malla 100 con objeto de favorecer posteriormente la liberación del colorante.

En la Tabla 5 se muestran los tiempos para obtener la emulsión seca a 4000 y 8000 rpm, así como para los órdenes de adición (a) 100 % sílica hidrofóbica - 100 % sílica hidrofílica y (b) 50 % hidrofóbica-50 %hidrofílica-50 % hidrofóbica-50 % hidrofílica.

Tabla 5. Tiempos Obtenidos a Dos Ordenes de Adición de las Sílicas y a Dos Velocidades de Agitación

	4000 (rpm)	8000 (rpm)
(a)	min.	min.
	11.5	10.0
	11.8	11.0
	11.6	10.2
	$\bar{t} = 11.63 \pm 0.20$	$\bar{t} = 10.40 \pm 0.43$
(b)	17.0	15.0
	17.5	14.7
	17.3	15.1
		$\bar{t} = 17.26 \pm 0.20$

Donde: (a)= 100 % sílica hidrofóbica-100 % sílica hidrofílica

(b)= 50 % hidrofóbica-50 %hidrofílica-50 % hidrofóbica-50 % hidrofílica

Como puede observarse, para el orden de adición del material adsorbente (a) el tiempo a 4000 rpm difiere en 1.23 minutos respecto a la de 8000 rpm y en 2.33 minutos para el orden de adición (b); es decir, si pudiera tenerse un 100 % de eficiencia en cuanto a tiempo, empleando 4000 rpm y adicionando las sílicas por el método (a) se disminuiría la eficiencia en 11.83 %. Para esa misma velocidad pero adicionando el material adsorbente por el método (b) disminuiría 65.96 %, esto respecto de la agitación a 8000 rpm y adición (a), que para este caso fue el mejor tiempo.

Analizando lo anterior y considerando también las características del producto obtenido, donde se encontró que al realizar un tamizado del polvo para 4000 rpm quedaba el 61.82 % retenido en malla 60 y solo el 13.64 % pasaba malla 100, para 8000 rpm se retenía el 44.24 % en malla 60 y 20.61 % pasaba malla 100, se decidió que la velocidad más adecuada fue la de 8000 rpm, pues dió un mayor porcentaje

de partículas que pasaban la malla 100 (parámetro establecido, a fin de favorecer la liberación del colorante), así como el menor tiempo para obtener la emulsión seca.

Para la velocidad de 10,000 rpm no fue posible evaluar siquiera el tiempo de formación de la emulsión seca, ya que se formaban grandes aglomerados heterogéneos en los que pudo observarse, al trocearlos, que en su interior había sílica sin emulsión base ó que estaban sumamente húmedas (había emulsión base en exceso).

Para llevar a cabo el análisis la comparación del orden de adición de material adsorbente sobre el tiempo de formación de la emulsión seca, se trabajaron otras dos propuestas (c)= 50 % sílica hidrofóbica-100 % sílica hidrofílica-50 % sílica hidrofóbica y (d)= Mezcla de sílicas 1:1 adicionadas al mismo tiempo. Estas se trabajaron a 8000 rpm y se compararon los tiempos obtenidos con (a) y (b), como se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Tiempo Promedio Obtenido a los Diferentes Ordenes de Adición de las Sílicas

	(a)	(b)	(c)	(d)
Tiempo promedio (min)	10.4	14.9	11.9	4.6

Donde: (a)= 100 % sílica hidrofóbica-100 % sílica hidrofílica
(b)= 50 % hidrofóbica-50 %hidrofílica-50 % hidrofóbica-50 % hidrofílica
(c)= 50 % sílica hidrofóbica-100 % sílica hidrofílica-50 % sílica hidrofóbica
(d)= Mezcla de sílicas 1:1, adicionadas al mismo tiempo

Como puede verse el menor tiempo se obtuvo cuando se adicionó la mezcla de sílicas (1:1), dando 4.6 minutos. El mayor fue para la forma de adición (b) con 14.9 minutos, lo cual se debe a los tiempos muertos que se tienen al incrementar el

número de pasos en el proceso de adición. Por otra parte, se observó en general que el material adsorbente no presentó problemas de incorporación como se había pensado, característica que aunado al hecho de adicionarlo en mezcla ayudó en gran medida a disminuir el tiempo de formado de la emulsión seca.

El producto obtenido era ligeramente húmedo y se secaba al contacto con el aire del ambiente. Como aún a esta velocidad no se obtuvo un buen porcentaje de polvo que pasara la malla 100, fue necesario llevar a cabo una disminución del tamaño de partícula para lo que se empleó un molino de cuchillas. El producto así obtenido presentó características homogéneas de tamaño y color, además no presentó problemas de higroscopicidad.

Ya establecidas las condiciones de trabajo para el proceso en general (ver tabla 7), se procedió a la formación de emulsión seca de oleoresina con y sin antioxidante (BHT al 0.02 %) evaluándose así la necesidad de antioxidante al exponer las muestras a un medio adverso como lo es la presencia de oxígeno. También se emplearon dos diferentes valores de pH (2.5 y 6), observándose la influencia del pH en la estabilidad de la emulsión seca, así como de la oleoresina comercial de Chile ancho de la cual se encontró en estudios anteriores que presentaba mayor estabilidad a pH básico (44)

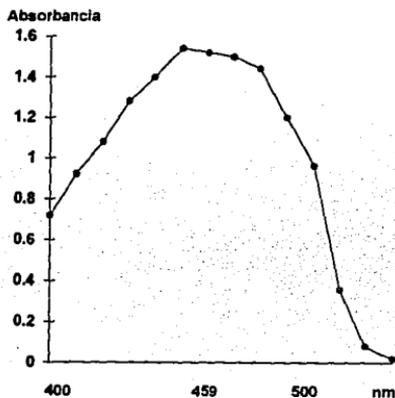
Tabla 7. Condiciones de Trabajo para Formar la Emulsión Base y la Emulsión Seca

	Emulsión Base	Emulsión Seca
Velocidad Agitación (rpm)	4000	8000
Tiempo (min.)	5	4,6
Temperatura (°C)	ambiente	ambiente

Fase 2. Resultados y Discusión de la Evaluación de la Estabilidad de la Emulsión Seca.

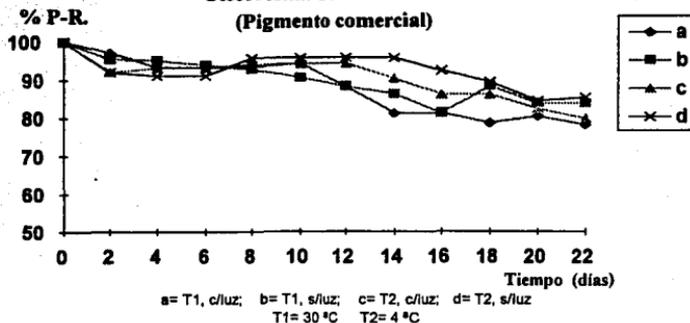
En este punto se emplearon, como se menciona en la metodología, parámetros de Ingeniería de Calidad en el diseño experimental. Para la determinación del Porcentaje de Pigmento Remanente (%PR), se corrió previamente un barrido completo del colorante en el espectrofotómetro encontrándose que la mayor lectura de absorbancia se presentó a 459 nm como puede observarse en la Grafica 1, lectura que está dentro del intervalo reportado para los carotenoides, el cual va de 426 a 502 nm (1,46,49).

Grafica 1. Espectro de Absorbancia para la Oleoresina de Chile ancho



Los resultados obtenidos en cuanto a %PR, se pueden apreciar en las gráficas 2 para el control (oleoresina de chile ancho) y en 3 y 4 para la emulsión seca, a las temperaturas de 30 y 4 °C respectivamente.

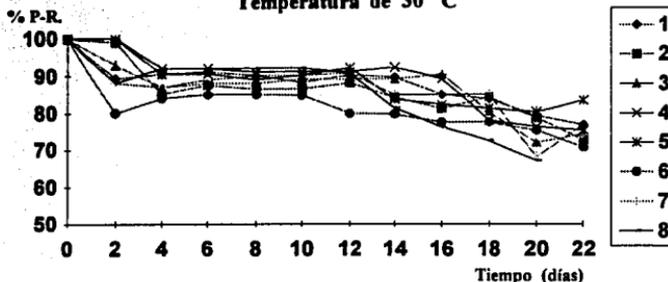
**Gráfica 2. Porcentaje de Pigmento Remanente
Oleoresina de Chile Ancho
(Pigmento comercial)**



En la gráfica 2 puede observarse que el control presenta mayor estabilidad a la temperatura de 4 °C y en ausencia de luz, lo cual concuerda con lo reportado en el estudio realizado por Sawaya y Solano (1993), existiendo una diferencia de 11.49 % más de pigmento remanente en "d" que en "a" (muestra a 30 °C, con luz). Por otra parte, se observa en el gráfico que presentó una disminución en el color seguida de un aumento, después tendió a permanecer en cierta manera estable y luego descendió; comportamiento que se observa también para la emulsión seca (gráficas 3 y 4) y que se ha presentado en otros estudios de estabilidad para otros colorantes naturales (56,61,62,65), el cual puede deberse a cambios en la estructura de los componentes de los colorantes durante su almacenamiento.

En la gráfica 3 se puede observar que para las muestras a 30 °C el % P.R. descendió al día 4 hasta el 85% y se mantuvo constante hasta el día 12, a partir del cual se presentó una disminución constante, teniéndose al día 22 tan sólo el 75 % de pigmento remanente.

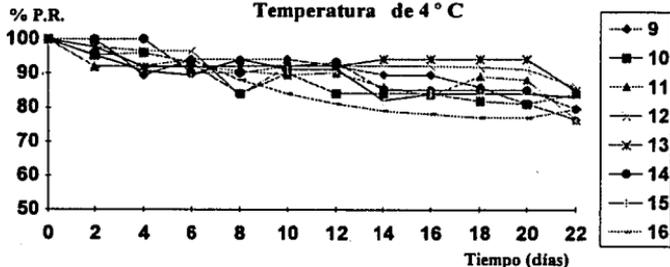
Gráfica 3. Porciento de Pigmento Remanente de la Emulsión Seca de Oleoresina de Chile Ancho
Temperatura de 30 °C



1= T1, c/luz, c/antiox., pH 6; 2= T1, c/luz, c/antox., pH 2.5; 3= T1, c/luz, s/antiox, pH 6
4= T1, c/luz, s/antiox, pH 2.5; 5= T1, s/luz, c/antiox, pH 6; 6= T1, s/luz, c/antiox, pH 2.5

En la gráfica 4 se muestran los resultados para las muestras que permanecieron en refrigeración (4°C); se observa que del día 0 al 20 las muestras se mantuvieron en un intervalo de 90 a 95 % P.R., disminuyendo al 80-85 % el día 22. Puede observarse que las condiciones del punto 16 mostraron un comportamiento diferente al resto de las muestras, lo cual puede deberse a errores en la manipulación.

Gráfica 4. Porciento de Pigmento Remanente de la Emulsión Seca de Oleoresina de Chile Ancho
Temperatura de 4 °C



9= T2, c/luz, c/antiox, pH 6; 10= T2, c/luz, c/antiox, pH 2.5; 11= T2, c/luz, s/antiox, pH 6
12= T2, c/luz, s/antiox, pH 2.5; 13= T2, s/luz, c/antiox, pH 6; 14= T2, s/luz, c/antiox, pH 2.5;
15= T2, s/luz, s/antiox., pH 6; 16= T2, s/luz, s/antiox, pH 2.5.

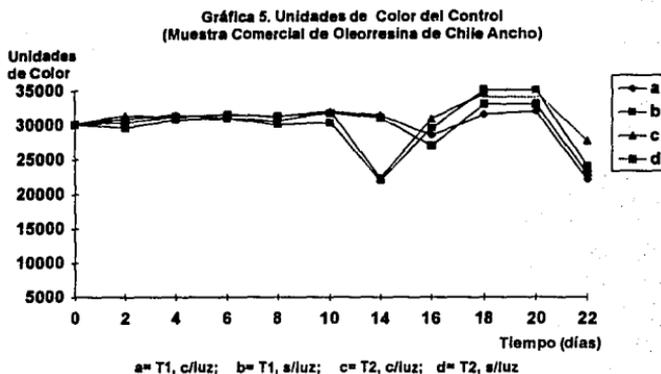
Si se compara la gráfica 3 con la 4, se observa que las muestras a 30 °C presentan 11.76 % mayor pérdida de color que aquellas a 4 °C, ésto viene a demostrar que aún una temperatura menor a 40 °C (30°C) para manipular carotenoides, como se recomienda en la bibliografía (24,36), no es lo suficientemente baja como para evitar la degradación del colorante.

Al comparar los 3 gráficos se observa que la emulsión seca almacenada a 30 °C presentó un 6.25 % menos de pigmento remanente (P.R.) que el control a la misma temperatura y 11.76 % P.R. menos que el control en refrigeración. Que tanto las muestras control como la emulsión seca a 4°C, mostraron un comportamiento similar hasta el día 14, a partir del cual la muestra comercial presentó una mayor degradación (85 % P.R. al día 16, mientras que la emulsión seca se mantuvo en 90-95 % hasta el día 20), habiendo al final de la experimentación una diferencia de 6 % más pigmento en la emulsión seca que en el control.

Puede verse también en estos gráficos, que tanto para la muestra comercial (control) como para la emulsión seca, se presentó mayor % de pigmento remanente para las muestras a 4 °C que para aquellas que se mantuvieron a 30 °C y que en el control las muestras "a y c" que se manipularon expuestas a la luz, se obtuvieron porcentajes menores de pigmento que en "b y d" a su respectiva temperatura, lo cual concuerda con lo reportado para carotenoides de paprika (24). Sin embargo, esta influencia de la luz no se observa en el caso de la emulsión seca para ninguna de las temperaturas (30 y 4 °C), donde se encontró que el comportamiento se da por igual para las muestras expuestas a la luz que para aquellas que permanecieron en frascos ámbar.

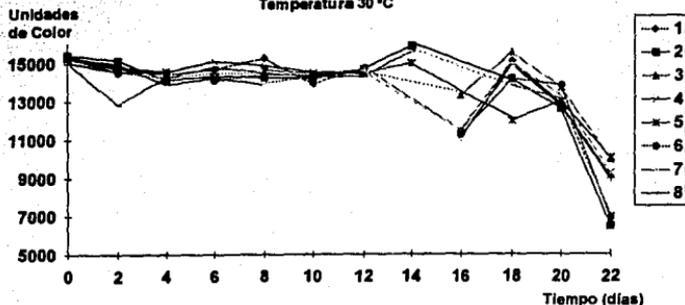
- Resultados Unidades de Color

En las gráficas 5, 6 y 7 se muestran los resultados obtenidos respecto a las Unidades de Color (U.C.), las cuales se realizaron a 462 nm como se marca en la técnica recomendada por AMCO INTERNACIONAL (Anexo 1).



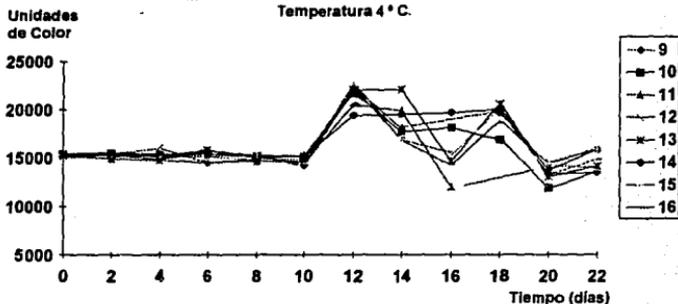
En la gráfica 5, puede verse que al igual que en el caso del % P.R. primero hubo un descenso en el valor de las unidades de color (U.C.) y después se presentó un aumento; sin embargo, a partir del día 10 las determinaciones de U.C., tanto para el control como para la emulsión seca (gráficas 6 y 7) muestran un comportamiento errático.

**Gráfica 6. Unidades de Color
Emulsión Seca de Oleorresina de Chile Ancho
Temperatura 30 °C**



1= T1, c/luz, c/antiox., pH 6; 2= T1, c/luz, c/antiox., pH 2.5; 3= T1, c/luz, s/antiox., pH 6
4= T1, c/luz, s/antiox., pH 2.5; 5= T1, s/luz, c/antiox., pH 6; 6= T1, s/luz, c/antiox., pH 2.5

**Gráfica 7. Unidades de Color
Emulsión Seca de Oleorresina de Chile Ancho
Temperatura 4 °C.**



9= T2, c/luz, c/antiox., pH 6; 10= T2, c/luz, c/antiox., pH 2.5; 11= T2, c/luz, s/antiox., pH 6
12= T2, c/luz, s/antiox., pH 2.5; 13= T2, s/luz, c/antiox., pH 6; 14= T2, s/luz, c/antiox., pH 2.5;
15= T2, s/luz, s/antiox., pH 6; 16= T2, s/luz, s/antiox., pH 2.5.

En las tres gráficas de unidades de color se observa que después del día 10 los valores obtenidos aumentaron, en algunos casos hasta el 14.4 % respecto del valor inicial de U.C.; esto puede deberse a que los intervalos de longitud de onda a los que absorben los carotenoides amarillos, naranjas y rojos se encuentran en valores

muy cercanos; por ejemplo, el β -caroteno (amarillo) absorbe en el intervalo de 426 a 470 nm, la capsorubina (rojo café) en 454 a 502 nm y el capsanteno (rojo) en 459-472 nm (49).

Considerando el hecho de que el extracto de chile ancho contiene en su composición capsanteno, capsorubina, xantofilas y β -caroteno (65) y que los mismos carotenoides son precursores de otros (24,36), puede pensarse que al existir degradación de unos componentes se está dando lugar a la formación de otros compuestos o componentes que absorben a la misma longitud de onda, lo cual podría ser confirmado a través de una caracterización y seguimiento de dichos componentes, tal vez mediante cromatografía (HPLC) o espectrometría masas-gases.

Con base en lo anterior, se puede decir que las unidades de color no son un parámetro confiable en este caso para evaluar pérdida de color (estabilidad).

- Porcentaje de Influencia de los Factores Temperatura, Luz, pH y Antioxidante, Así Como de sus Interacciones.

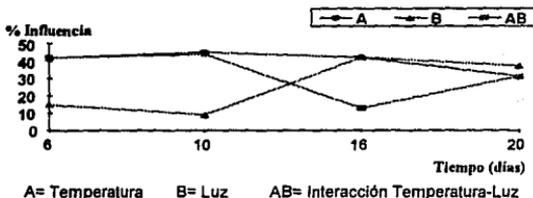
En la tabla 8 se presenta el análisis de varianza, tanto para el arreglo ortogonal del control como para el de la emulsión seca.

Tabla 8. Porcentaje de Influencia de los Factores Temperatura, Luz y su Interacción Sobre el Control

Factor	Tiempo en Días			
	6	10	16	20
Temperatura A	42.17	44.53	42.18	31.10
Luz B	15.31	9.0	42.18	37.08
A x B	42.17	44.53	12.84	31.39

En la tabla 8, puede observarse que tanto el factor temperatura como su combinación con la luz (interacción de factores), tienen gran influencia en la degradación del colorante durante los primeros días, este efecto se mantuvo hasta el día 16 donde se observa una disminución en la influencia de la interacción y un incremento en la influencia de la luz. Para el día 20, la ingerencia que tienen tanto los factores en forma independiente como en interacción es evidente y se da en forma igualitaria; el comportamiento de éste fenómeno se aprecia mejor en la gráfica 8.

Gráfica 8. Por ciento de influencia de la Temperatura, Luz y su Interacción Sobre el Control



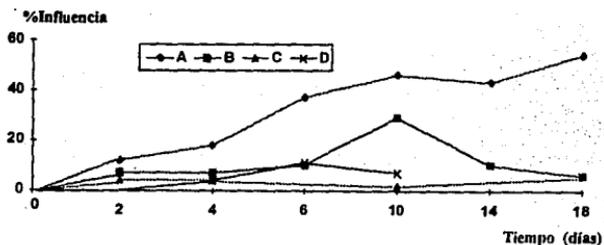
En el comportamiento que se observa en la gráfica 8, puede verse que la temperatura fue el factor con mayor efecto y que se mantuvo constante; que la luz comenzó a influir a partir del día 16 y finalmente el colorante es susceptible a cualquiera de estos factores, así como a la combinación de los mismos. Los anterior coincide con lo reportado en estudios anteriores sobre la estabilidad de colorante de chile ancho (65).

En la tabla 9, así como en la gráfica correspondiente (9), se muestran los resultados obtenidos del por ciento de influencia de los factores temperatura, luz, pH y antioxidante, sobre la emulsión seca.

Tabla 9. Porcentaje de influencia de los Factores Sobre la Estabilidad de la Emulsión Seca de Chile Ancho

Factor	Tiempo (días)					
	2	4	6	10	14	18
Temperatura A	11.85	18.12	36.8	46	42.5	53.57
Luz B	6.84	7.5	10.13	29	10	5.71
Antioxidante C	4.27	4.4	—	1.45	—	5.5
pH D	0.48	1.9	10.66	6.9	—	—

Gráfica 9. Influencia de los Factores Sobre la emulsión Seca



A= Temperatura; B= Luz; C= Antioxidante; D= pH

Tanto en la tabla como en la gráfica 9, puede observarse que al igual que en el control el factor con mayor porcentaje de influencia en la pérdida de color fue la temperatura, sin embargo, para la emulsión seca dicha influencia fue en aumento iniciando el segundo día con 11.85 % y alcanzando al día 18 53.57 %. El efecto de los otros factores en la degradación fue mínimo, sin representar importancia la ausencia o presencia de un pH básico o antioxidante en la formulación de la

emulsión seca, lo cual puede deberse a la acción protectora de las sílicas hidrofílica e hidrofóbica (11).

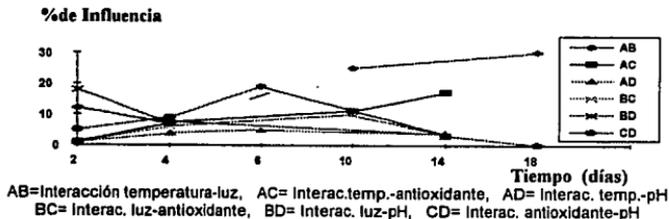
Respecto al efecto de las interacciones de los factores, los resultados se muestran en la tabla 10 y su respectiva gráfica:

Tabla 10. Porcentaje de Influencia de la Interacción de los Factores En la Emulsión Seca

Interacción de Factores	Tiempo (días)					
	2	4	6	10	14	18
AB	11.84	7.1	----	25.38	10.4	30
AC	0.94	6.7	----	10.61	16.87	----
AD	----	4.13	4.77	----	4.0	----
BC	0.94	6.47	----	9.7	----	----
BD	18.18	7.1	----	----	1.38	----
CD	5.5	8.75	18.66	----	3.1	0.54

— Valores menores a 0.5

Gráfica 10. Influencia de la Interacción de los Factores Sobre la emulsión Seca de Oleoresina de Chile Ancho



En la tabla y gráfica 10, puede observarse que de las interacciones de los factores la relación temperatura-luz fue la que mostró una mayor influencia, iniciando su efecto a partir del segundo día igual que el factor temperatura. Otra interacción que presentó un efecto importante, pero a partir del décimo día fue la de luz-antioxidante, lo cual puede deberse a la presencia de ácidos grasos en la oleoresina.

En general se observa un comportamiento errático en el porcentaje de influencia de las interacciones las cuales mostraron valores que suben y bajan constantemente, lo cual al igual que en caso de las unidades de color puede deberse a la presencia de diferentes compuestos que absorben a la misma longitud de onda que el colorante. En este caso hay que señalar que la presencia de dichos componentes como pueden ser proteínas ó sustancias que proporcionan el sabor y aroma propios del chile ancho y que no fueron eliminados de la oleoresina, pueden estar interactuando con el buffer o el antioxidante o con el material de protección, dando lugar a lecturas de absorbancia erráticas. Por otra parte, el mismo efecto que se presenta al evaluar las unidades de color (lecturas erróneas por formación de compuestos que pueden estar absorbiendo a la misma longitud de onda).

Pese a este comportamiento ninguna de las interacciones presentó un efecto importante sobre la estabilidad de la emulsión seca de oleoresina de chile ancho (porcentaje de influencia mayor al 20 % en este caso), lo cual aunado a la poca importancia del efecto de los factores por separado (excepto la temperatura) demuestra que el material empleado en la formulación de la emulsión seca (silicas hidrofílica e hidrofóbica) cumplió con su objetivo en gran medida, que es la de proteger al colorante.

Conclusiones y Recomendaciones

Conclusiones:

- La adecuación tecnológica del método emulsión seca resultó efectiva y presenta la ventaja de no incluir una etapa de secado, lo cual puede disminuir costos en el secado de colorantes. Por otra parte, equipo empleado en la obtención de una emulsión seca es de tecnología sencilla y de fácil manejo.
- Las condiciones de trabajo para obtener la emulsión seca en este caso fueron 4000 rpm/5 minutos para la emulsión base y 8000 rpm/5 min para obtener el polvo, todo a temperatura ambiente.
- Las Unidades de Color no resultaron un buen parámetro de evaluación de la estabilidad del colorante, ya que al degradarse éste puede estar produciendo compuestos que absorben a la longitud de onda marcada por la técnica (462 nm).
- Al obtener los porcentajes de influencia de los factores temperatura, luz, antioxidante y pH, se encontró que la temperatura es la que ejerce un mayor efecto en la degradación del colorante (53.57 % de influencia).
- De las interacciones de los factores manejados en la evaluación de estabilidad se encontró que la relación temperatura-luz fue la de mayor influencia (30 %).
- El antioxidante no mostró ninguna ingerencia en la estabilidad del colorante, por lo que la presencia de éste en la formulación de la emulsión seca no se considera necesaria.
- Respecto al pH no es necesario el llevar a cabo el paso de adición de buffer, ya que no hay diferencia entre las muestras a pH ácido (2.5, que corresponde al del extracto) o básico (muestras a las que se adicionó buffer)
- Tanto el método de emulsión seca como las sílicas empleadas en la protección del colorante cumplieron con el objetivo de preservarlo y por tanto prolongar la vida útil de la oleoresina.

- El polvo obtenido de colorante de chile ancho por el método de emulsión seca, presenta buenas características de manejo ya que aún expuesto al medio ambiente no presentó problemas de higroscopicidad o adherencia al envase.
- La única desventaja que puede presentar la emulsión seca de oleoresina de chile ancho, es que solo puede emplearse en sistemas emulsionados para obtener una liberación total del colorante.
- La emulsión seca de oleoresina de chile ancho presentó el mismo comportamiento que la muestra comercial de oleoresina en la evaluación de la estabilidad.
- Las muestras que dieron los mejores resultados de porcentaje remanente de colorante fueron las de emulsión seca a 4 °C, manteniendo el 95% de colorante hasta el día 20, mientras que la muestra comercial obtuvo a ese día sólo el 85 %.

Recomendaciones:

- Es necesario realizar estudios sobre la aplicación del colorante en polvo obtenido por el método de emulsión seca, en alimentos y probar su estabilidad dentro de éstos.
- Se considera necesario también el llevar a cabo un diseño de aspas para el homogenizador tipo helicoidal que permita manejar volúmenes mayores de colorante y sílicas, para así poder proceder después a llevar a cabo el escalamiento de la técnica.
- Sería recomendable el empleo de este método para otros colorantes, ya que por la característica de incluir una fase oleosa y una acuosa puede aplicarse en la formulación o secado de colorantes acuosos y oleosos o una combinación de éstos.

- Se recomendaría también llevar a cabo un seguimiento de los cambios químicos que se dan en los colorantes naturales durante su almacenamiento, ya que el comportamiento de éstos no es el mismo que el de los colorantes artificiales.
- Se recomienda el empleo de la técnica emulsión seca en otras áreas de alimentos como sería la de saborizantes, en donde podría aprovecharse la característica de liberación controlada.

Bibliografía

1. Almeida, L.; López, J.; Candela, L. and Alcázar, D. (1990), Separation and Determination of Individual Carotenoids in Capsicum Cultivar by Normal-Phase High-Performance Liquid Chromatography. *J. Chromatogr.* 502: 95-106.
2. Baker, R.C.; Wong, H.P. and Robbins, K.R. (1988) Fundamentals of New Product Development. Elsevier, Amsterdam, pp 12-19, 60-74
3. Bauernfeind, J.; (1972); Carotenoid Vitamin A Precursors and Analogs in Foods and Feeds.; *J. Agric. Food Chem.*; 20(3): 456-473
4. Bauernfeind, J.C. (1975) Carotenoid as Food Colors. *Food Tech.* 29(5):48
5. Bennion, M. (1980) *The Science of Food*
6. Berthod, A.; Rollet, M. and Farah, N.; (1988) Dry Adsorbed Emulsions: An Oral Sustained Drug Delivery System, *Journal Pharm. Sci.* 77(9):216-222
7. Biacs, P.A.; Daood, H.G.; Pavisa, A and Hajdu, F. (1989) Studies on the Carotenoid Pigments of Paprika (*Capsicum annuum* L. var. Sz-20) *J. Agric. Food Chemistry* 37: 350-353
8. Bilyk, A. (1979), Extractive Fractionation of Betalains. *J. Food Sci.* 44
9. Biocon's, (1988), Label Clean-up Has Led to an Increased Use of Natural Colors, *Food Engineering*, 60(1): 64
10. Bruhn, Ch.M. and Schutz, H.G., (1986), Consumer Perceptions of Dairy and Related-Use Foods, *Food Technology*, p 89
11. Cantor, K.G. (1970), Basic Characteristics and Application of Aerosil, HORSTERSH, part 6 Aerosil pharmaceuticals and cosmetics. *Drugs made in Germany, Vol. XIII, 47-108*, Boletín Técnico, Pigments, Issocet of the Inorganic Chemical Products Division.
12. Chr. Hansen's; (1992) Natural Colors (Catalogo de Chr. Hansen's Laboratory) pp. 6
13. Collins P. (1993), Annato Chemistry, Extraction and Uses. Resumen extenso del trabajo presentado en "The First International Symposium on Natural Colorants for Food, Nutraceuticals, Beverages and Confectionery", Nov. 7-10, Amherst, Massachusetts, USA.
14. Davies B.H. (1991) Carotenoid Metabolism as a Preparation for Function, *Pure and Appl. Chem.* 63(1): 1931-1940
15. Diario Oficial de la Federación (18 de enero de 1988). Aditivos Alimentarios, # 5, México, D.F.

16. Dillon and Maurer, (1974), Evaluation of Betalin Pigments as Colorants in Turkey Summer Sausages, Department of Poultry Sciences, Univ. Wisconsin.
17. Dziezak, J.D., (1987), Applications of Food Colorants, Food Technology, (4):78
18. Enciclopedia of Food, Agric. and Nutrition, McGraw Hill co., New York, 1977, pp 112-114, 427, 435, 584-584.
19. Estrada, F.S. (1991), Estudio Técnico Económico para la Instalación de una Planta de Alimentos Balanceados para Camarón Cultivado, Cap. ... Diseño del Experimento. Tesis de Lic. Ing. en Alimentos, FES-C, UNAM.
20. Fonseca, L.A. (1991); Memorias del curso "Aditivos y Desarrollo de Nuevos Productos en la Industria de Alimentos" Parte de Colorantes; Sede Auditorio Nabor Camillo Cd. de México.
21. Francis, F.J., (1987), Lesser-Known Food Colorants; Food Technology, 8(68): 62-67
22. Furia, T. (1975), Handbook of Food Additives. CRC. Press, USA, pp. 295-350.
23. García, Z. y Zaragoza, S. (1991); Estudio de la Estabilidad del Colorante de Cochinilla y su Aplicación en Alimentos; Tesis Profesional Ing. Alimentos; FES-Cuautitlán UNAM, pags. 14-22
24. Govindarajan, V.S.; (1987) Capsicum Production, Technology, Chemistry and Quality, Part III. Chemistry of Color, Aroma and Pungency Atimuli; Food Science and Nutrition, 24(3): 87-288
25. Gregory, G.; Chen, T. and Philip, T. (1987); Quantitative Analysis of Carotenoids and Carotenoid Esters in Fruits by HPLC: Red Peppers; Journal Food Sci. 52(4):1071-1073
26. Gross, J. (1987) Pigments in Fruits, Academic Press, London, pp 87-155
27. Hashimoto H., Tanaka T., and Okemoto (1993) Stabilization of Color by Cyclodextrin Inclusion, Resumen extenso del trabajo presentado en "The First International Symposium on Natural Colorants for Food, Nutraceuticals, Beverages and Confectionery", Nov. 7-10 Amherst, Massachusetts.
28. Hayward, P.M. (1992) Colorantes (Food Colourings). Rev. Tecnología de alimentos 27 (4,5,6): 34-43
29. Heinenen, M.I.; Ollilainen, V.; Linkola, E.K.; Varo, P.T. and Koivistoinen, P.E. (1989) Carotenoids in Finish Foods: Vegetables, Fruits and Berries, Journal Agric. Food Chem., No 37, pp 655-659

30. Hoffman-La Roche Inc. (1986) Carotenoids: Beta Carotene, Apo-carotenal, Canthaxanthin. Roche Chemical Divisions, Food Business Unit., U.S.A.
31. Hoffman-La Roche Inc. (1993) Good Nutrition for Healthy Marketing. Antioxidant Vitamins, U.S.A.
32. Hoffman-La Roche Inc. (1993) Product Data Foods & Pharmaceuticals. Product Codes: No. 65659, 65633, 65661. Roche Vitamins and Fine Chemicals, Nutley, N.Y.
33. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (SARH) (1984) Presente y Pasado del Chile en México.
34. Jones, D.A. and Gabot, P.A. (1976), In Microencapsulation, Ed. Nixon, New York, USA, pp 77-91
35. Kaersley, M.W. and Rodriguez, N.; (1981); The Stability and Use of Natural Colors in Foods; Food Technology 16(4): 74
36. Khachik, F.; Beecher, G.R.; Goli, M.B. and Lusby, W.R. (1991) Separation, Identification and Quantification of Carotenoids in Fruits, Vegetables and Human Plasma By HPLC. Ninth International Symposium of Carotenoids, Pure & Appl. Chem, 63(1):71-80
37. Knott, M.; (1989); Colours: a Consumer Whitewash?; Food Manufacturing 64(2): 21-23
38. Krinsky, N.I. (1993) Antioxidant Functions of Beta-Carotene (Background). Vitamin Nutrition Information Service 1(5):1-3
39. Laqui, S. (1983) Los Colorantes para la Industria Alimentaria. La Alimentación Latinoamericana 17(142):12-14
40. Lauchance, P. (1988) Dietary Intake of Carotenes and Carotene GAP. Clinical Nutrition 7(3): 118-122
41. Marfil, R.C. (1991), Métodos Taguchi. Una herramienta para el Mejoramiento de la Calidad. Tecnol. Aliment. (Méx.) 26(5): 14-33
42. Mathews, R. A. and Stewart, A.R.; (1984); Report Summarizes Data from Food Additives Surveys; Food Technology; 38(3): 55-60
43. Matzuno, T. (1991), Xanthophylls as Precursors of Retinoids. Pure and Appl. Chem, 63(1): 81-88
44. McNutt, K.W.; Powers, M.E. and Sloan, A.E.; (1986); Food Colors, Flavors, and Safety: A Consumer Viewpoint; Food Technology; 40(1): 72-78
45. Meggos, H.N.; (1984); Colors-Key Food Ingredients; Food Technology; 38(1): 70-72

46. Mejía, L.; Hudson, E.; González, E and Vázquez, F., (1988), Carotenoid Content and Vitamin A Activity of Some Common Cultivars of Mexican Peppers. *J. Food Sci.* 53(5): 1448-1451.
47. Méndez, H.; Jarén, G.; Garrido, F. and Mínguez, M.M.I. (1993), Color Modification During Paprika Processing Resumen extenso del trabajo presentado en "The First International Symposium on Natural Colorants for Food, Nutraceuticals, Beverages and Confectionery", Nov. 7-10 Amherst, Massachusetts.
48. Mimuro, M and Kato, T. (1991), Carotenoids in Photosynthesis: Absorption, Transfer and Dissipation of Light Energy, *Pure and Appl. Chem.* 63(1): 123-130.
49. Mínguez, M.M.I.; Jarén, G.M. and Garrido, F.J. (1991), Color Quality in Paprika, *J. Agric. Food Chem.* 40(12): 2384-2388.
50. Moore, L.; (1990); Special Emphasis: Colors. The Natural Vs Certified, Debate Rages on Colors Wanted: Require High Performance and Reproducibility, Naturals a Plus. Many Openings. *Food Engineering*; pp 69-72
51. Nájera, G.A.J. (1988) Los Colorantes Naturales en la Industria Alimentaria. Trabajo Monográfico de Actualización, Fac. de Quím. UNAM, pags. 3-18
52. Noonan, J.E. (1977), The Present and the Future Status of Certified Color Additives: The Uncertain Additives. En *Current Aspect of Food Colorants*, Furia T. E. ed CRC Press, New York, pp 61-66
53. Newsome, L.R.; (1986) Food Colors; *Food Technology*; 40(7): 49-56
54. Obaya, J.A y Guerrero, B.C. (1994), Aplicación de la Extracción Supercrítica en la Industria de Alimentos. *Tecnol. de Alim.* 28(4,5,6): 22-28
55. Otterstätter, G. (1987), Colorantes Alimenticios Ayer, Hoy, Mañana. *Industria Alimentaria Vol. 9(2):3-8.*
56. Paredes, A.M.A. y Ruvalcaba, R.A.L.; (1991); Estudio Sobre la Estabilidad de Polvo de Betabel y su Posible Aplicación en Alimentos; Tesis Profesional Ing. Alimentos FES-Cuautitlán UNAM, pags. 1-13
57. Parker, Z. (1984); Regulation at Food Colours; *Ing, Proces Pack*; 6(7): 23-24
58. Paust, J. (1991); Recent Progress in Commercial Retinoids and Carotenoids Ninth International Symposium of Carotenoids, *Pure & Appl. Chem.* 63(1):45-49
59. Philip, T. and Francis, J. (1971) Isolation and Chemical Properties of Capsanthin and Derivatives. *Journal of Food Science* 36:823-827

60. Pulz, O. and Loest, K. (1993) Colorants from Microalgae with Special Emphasis to Phycobiliproteins and Processes for Their Manufacture. Resumen extenso del trabajo presentado en "The First International Symposium on Natural Colorants for Food, Nutraceuticals, Beverages and Confectionery", Nov. 7-10 Amherst, Massachusetts.
61. Ramírez, Z.J.A.; (1992) ; Estudio de la Estabilidad de los Colorantes Cúrcuma y Achiote Frente a Diferentes Dosis de Radiación; Tesis Profesional de Ing. Química, Facultad de Química UNAM; pags. 1-10
62. Reyes, Q.R.; (1991); Evaluación de la Estabilidad y Aplicación de una Mezcla de Colorantes de Rojo Cochinilla y Rojo # 3; Tesis Profesional de Ing. en Alimentos, FES-Cuautitlán UNAM; pags. 1- 25
63. Ross, P.J. (19..), Taguchi Techniques for Quality Engineering, Loss Function, Orthogonal Experiments, Parameter and Tolerance Design. ed. McGraw Hill Book Company, México, Chapters 1,2,3 and 6.
64. Rush, S.; (1987); Color by Numbers; Food Technology N.Z; 22(9): 38-40
65. Sawaya, M.J y Solano, P.A.; (1993); Extracción, Caracterización y Estabilidad de los Pigmentos de Chile Ancho; Tesis Profesional de Química; FES-Cuautitlán UNAM; pags. 8-10
66. Schwartz, S.J. (1993) Supercritical Fluid and Analysis of Carotenoids from Natural Sources. Resumen del trabajo presentado en "The First International Symposium on Natural Colorants, for Food, Nutraceuticals, Beverages & Confectionery", Nov. 7-10, Amherst, Massachusetts.
67. Valdés, M.S.E. (1982), Stability of Water Soluble Nutrients in Natural and Processed Food Materials Used in Fishfarmin. Tesis Doctoral, University of Strathclyde, Glasgow, England, pp 26-27
68. Valle, V.P.; (1991); Toxicología de Alimentos; 2a. Edición; México, D.F.; pags. 51-57.
69. Walford, J. (1986) Developments in Food Colours. Applied Science Pub., London, England, pp 40-42
70. Warner Jenkinson Company Inc. (1993), Certified Food Colors. Booklet 7, Ed. Universal Foods Corporation, St. Louis, Missouri, pp. 18-39
71. Wong, D.W.S.; (1989); Mechanism and Theory in Food Chemistry; Ed. AVI Pub.Co, New York, pp 147-148

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

ANEXO

DETERMINACION DE UNIDADES DE COLOR EN OLEORRESINAS DE PAPRIKA Y CAPSICUM

- a) Pesar en un matraz aforado de 100 ml. color ámbar, utilizando una balanza analítica, de 0.3 a 0.5 g. de muestra homogenizada (agitar antes de tomar la muestra).
- b) Aforar hasta la marca con ACETONA al 100 % grado reactivo.
- c) Tomar una alícuota de 1 ml. con pipeta volumétrica e introducirla en un matraz aforado color ámbar de 100 ml.
- d) Aforar hasta la marca con acetona al 100 % .
- e) Leer la absorbancia a 462 nm. de esta última solución, utilizando ACETONA como blanco, empleando una celda de 1 cm de longitud.
- f) Calcular las Unidades de Color (U.C.) con la siguiente fórmula:

$$UC = \frac{\text{Absorbancia} \times 66,000}{\text{peso de la muestra en g.}}$$

NOTA; El tiempo máximo que deberá transcurrir desde que se hace la primera dilución hasta que se lee la absorbancia, no deberá exceder los 5 minutos.