

00528
29

A

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**



FACULTAD DE QUIMICA

**ESTUDIO DE VIDA DE ANAQUEL DE UNA
EMULSION POLIMERICA
A BASE DE CASEINATO DE CALCIO.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUIMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A
SUSANA DELGADO MARTINEZ

MEXICO, D. F.



**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA**

2003





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Se remite a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.
NOMBRE: Susana Delgado Martínez

FECHA: 19 Noviembre 2003

FIRMA: [Signature]

Jurado asignado:

- Presidente Prof. María de los Ángeles Valdivia López.
- Vocal Prof. Edmundo Brito De La Fuente.
- Secretario Prof. Francisco Javier Casillas Gómez.
- 1er. Suplente Prof. Arturo Navarro Ocaña.
- 2do. Suplente Prof. Alberto Tecante Coronel.

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 313 – Departamento de Alimentos y Biotecnología
Conjunto E Facultad de Química – U.N.A.M.
Ciudad Universitaria

[Signature]

Dr. Edmundo Brito De La Fuente
Asesor

[Signature]

M. en C. Luis Medina Torres
Supervisor Técnico

[Signature]

Susana Delgado Martínez
Sustentante

C

Dedicada a...

Dios

Que me ha otorgado Vida y Fe
en mi andar

Mis padres Victor Manuel y Ma. Eugenia

Que con su amor y entrega, han sembrado en mi
el deseo de gozar esta experiencia
maravillosa, que es la Vida

Mi hermano Victor

Que ha sido mi más claro ejemplo
de superación

Mi hermano Pablo

Que guía y protege
cada paso que voy dando

Todos aquellos

Que en alguna ocasión tuvimos la oportunidad
de caminar juntos, y ahora nos hemos
convertido en amigos

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Si al mediodía salgo de mi casa a buscar una estrella, estoy seguro de que no regresaré por la tarde con las manos vacías.

D

Agradecimientos...

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por abrirme sus puertas y convertirse así, en un orgullo para mí el pertenecer a tan privilegiada institución.

A la Facultad de Química, que me dió la oportunidad de continuar en mi proceso educativo y fomentó en mí, el deseo de superación profesional.

Muy en especial al Doctor Edmundo Brito De La Fuente, quien confió en mí este proyecto, compartiéndome sus enseñanzas y así, junto con su dedicación y apoyo incondicional culminara esta etapa en mi vida.

Al personal que colabora en el laboratorio 313 del Departamento de Alimentos y Biotecnología en el Conjunto E de esta Facultad, por facilitarme las instalaciones, equipos y todo lo necesario para llevar a cabo este estudio.

A todos aquellos profesores que estuvieron involucrados en mi enseñanza desde el primero hasta el último semestre.

A mis papás Víctor y María Eugenia, que han sido para mí, el mayor ejemplo de vida, porque juntos hemos acariciado la fortuna al sabernos familia y hemos sorteado de igual manera los sinsabores que se nos han presentado, pero eso sí, nunca han bajado la guardia. De ustedes, he obtenido el 100% en todo sentido, por eso, este trabajo pretendo ser muestra de lo que con su amor y su eterna confianza han creado en mí.

A mi hermano Pablo, que en su pequeño andar por este mundo tuve el privilegio de conocer a todo un angelito!

A mi hermano Víctor, reafirmando mis palabras en la página anterior, así es como te veo, un gran ejemplo que ha estado para mí cuando lo he necesitado, no está por demás el expresarte mi total admiración. Para mí, es un orgullo el ser tu hermana!

A aquellas personitas que conocí a lo largo de mi estadía en las aulas y en los laboratorios de nuestra Facultad, no me queda más que agradecer su cariño, su apoyo y sobretodo su amistad: Gabriel, Juan, Omar, Isaías, Fabián, Alejandro, César, Esteban, Triny, Viri, Cristina, Raúl, Jaime, Marissa, Omar, Alonso, Daniela, Alfonso, Alfredo.

E

A Isaac Rodríguez Victoria, por comenzar una maravillosa amistad desde segundo semestre y ser ahora, parte esencial en mi vida. Además, porque hemos aprendido a caminar juntos para poder alcanzar nuestros sueños. Y a toda su Familia, por encontrar en ellos el cariño y la confianza en estos años compartidos.

A la Familia Sosa Rodríguez, mi entero agradecimiento a tan bella familia por tantos años de cariño y respeto. Por demostrarme junto con mis papás, el sentido de una verdadera amistad. Y sentir su cobijo como el de mi propia familia. A ustedes también les debía esto!

A la Familia Santoyo Alanís, por haber encontrado en ustedes, a unos excelentes amigos, y sin importar cuantas apuestas hicimos, aquí está la muestra de que por fin lo logré!

A la Familia Delgado Carrión, por el gran afecto y respeto que siento hacia ustedes. Y por el apoyo incondicional que siempre he recibido por parte suya.

A las Familias Flores Martínez y Rodríguez Martínez, porque la vida es tan sabia, que nos permite reunirnos para compartir estos momentos.

A mis amigas del alma Perla y Yoame, que a cada una de ustedes le corresponde el haber construido una etapa maravillosa en nuestras vidas, pero a mí me corresponde como resultado, esta bella hermandad.

Índice

Índice General	i
Índice de cuadros, figuras, gráficas y tablas	v
I. Introducción	1
II. Antecedentes	4
II.1 Principios de evaluación de la vida de anaquel en los alimentos	5
II.2 Evaluación de la calidad alimentaria	7
II.3 Aplicación de la cinética a la predicción de la vida de anaquel	10
II.3.1 Función de calidad de alimento-orden de reacción	11

II.4 Estabilidad de un medicamento	14
II.5 Nutrición enteral	16
II.5.1 Mezclas nutricionales para nutrición enteral	17
II.5.1.1 Dietas poliméricas	18
II.6 Caseínas	21
II.7 Preparados proteicos	22
II.7.1 Tipos de preparados proteicos	23
II.7.2 Propiedades funcionales	23
II.8 Caseinato de calcio	26
II.9 Definición de una emulsión	30
II.9.1 Tipos de emulsiones	30
II.9.2 Mecanismos de desestabilización de una emulsión	31
II.9.3 Estabilidad de las emulsiones	32
II.10 Viscosidad en productos lácteos	33
II.11 Vitamina C	36
II.11.1 Modificaciones del contenido y biodisponibilidad en los alimentos	42
II.11.2 Función del ácido ascórbico en los alimentos	43
II.11.3 Métodos analíticos para la determinación del ácido ascórbico en los alimentos	43

III. Hipótesis y Objetivos	45
III.1 Hipótesis	46
III.2 Objetivo general	46
III.2.1 Objetivos particulares	46
IV. Parte experimental	47
IV.1 Metodología	48
IV.2 Formulación	49
IV.3 Diagrama general de la investigación	50
IV.4 Diseño de experimentos	51
V. Resultados y discusión	53
V.1 Resultados y discusión para el monitoreo de Densidad	55
V.2 Resultados y discusión para el monitoreo de pH	58
V.3 Resultados y discusión para el monitoreo de Viscosidad	61
V.4 Resultados y discusión para el monitoreo de la degradación de Vitamina C	66
V.5 Resultados y discusión para el monitoreo microbiológico	70
VI. Conclusiones	71

VII. Recomendaciones	73
VIII. Bibliografía	75
Apéndice	81
A1. Determinación de Densidad	82
A2. Determinación de pH	82
A3. Determinación de Viscosidad	82
A4. Determinación de Vitamina C	83
A5. Análisis microbiológico	85
A6. ANOVA para los resultados del monitoreo de Densidad	88
A7. ANOVA para los resultados del monitoreo de pH	89
A8. ANOVA para los resultados del monitoreo de la degradación de Vitamina C	90

Índice de cuadros

Cuadro	Título	
IV.2.1.	Formulación	49
IV.3.	Diagrama General de la Investigación	50
IV.4.1.	Diseño de experimentos	51
IV.4.2.	Condiciones Aceleradas (NOM-073-SSA1-1993 Estabilidad de Medicamentos. Condiciones de almacenamiento de estabilidad acelerada)	51
IV.4.3.	Cuadro de Muestreo	52

Índice de figuras

Figura	Título	
II.2.1.	Aprovechamiento total de la calidad (Ellis, 1994)	8
II.3.1.4.	Cambio de calidad frente al tiempo mostrando el efecto del orden de reacción sobre la velocidad de cambio (Taoukis et al., 1997)	13
II.3.1.5.	Representación semilogarítmica para una reacción de primer orden de pérdida de calidad frente al tiempo (Taoukis et al., 1997)	13
II.11.1.	Ácido Ascórbico (Fennema, 1993)	36
II.11.2.	Estructuras de los ácidos L-ascórbico y L-deshidroascórbico y de sus formas isoméricas (Fennema, 1993)	37

II.11.3.	Oxidaciones secuenciales de un electrón del ácido L-ascórbico (<i>Fennema, 1993</i>)	38
II.11.4.	Esquema general de los mecanismos de las degradaciones oxidativas y anaeróbicas del ácido ascórbico (<i>Fennema, 1993</i>)	40

Índice de gráficas

Gráfica	Título	
V.1.1.	Efecto de la relación tiempo-temperatura sobre la Densidad en la muestra sabor Vainilla	56
V.1.2.	Efecto de la relación tiempo-temperatura sobre la Densidad en la muestra sabor Fresa	56
V.2.1.	Efecto de la relación tiempo-temperatura sobre el pH en la muestra sabor Vainilla	59
V.2.2.	Efecto de la relación tiempo-temperatura sobre el pH en la muestra sabor Fresa	59
V.3.1.	Efecto de la relación tiempo-temperatura sobre la Viscosidad en ambas muestras a tiempo cero y a 70 días de estudio	61
V.3.2.	Efecto de la relación tiempo-temperatura sobre la Viscosidad en ambas muestras (condiciones aceleradas) a 455 días de estudio	63
V.4.1.	Cinética de degradación de la Vitamina C en la muestra sabor Vainilla	67
V.4.2.	Cinética de degradación de la Vitamina C en la muestra sabor Fresa	67

Índice de Tablas

Tablas	Título	
II.3.1.	Forma de la función de calidad de los alimentos para diferentes órdenes de reacción (<i>Taoukis et al., 1997</i>)	12
II.5.1.	Clasificación de las mezclas de nutrición enteral (<i>Ruiz y Esteban, 1994</i>)	18
II.8.1.	Usos sugeridos del Caseinato de Calcio (<i>Lactalis Industrie U.S.A., Inc.</i>)	28
II.8.2.	Especificaciones físicas y químicas (<i>Lactalis Industrie U.S.A., Inc.</i>)	29
II.8.3.	Especificaciones microbiológicas (<i>Lactalis Industrie U.S.A., Inc.</i>)	29
II.11.3.1.	Resumen de la estabilidad de las vitaminas (<i>Fennema, 1993</i>)	44
V.4.3.	Resultados de la cinética de degradación de la Vitamina C	68
V.5.1.	Resultados de las pruebas microbiológicas para ambas muestras y condiciones a los 30, 60 y 90 días de estudio	70

PAGINACION DISCONTINUA



introducción

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Introducción

La estabilidad de emulsiones es una función compleja no solo de la formulación del producto sino además de la tecnología empleada para su fabricación.

Desafortunadamente, no existen algoritmos que permitan predecir la estabilidad de emulsiones y en consecuencia su vida de anaquel, por lo que, en estos casos la experimentación es obligada.

En este trabajo, se estudió la evolución de parámetros físico-químicos de una emulsión formulada a base de caseinato de calcio y aceite de maíz.

El producto es un prototipo piloto de emulsiones lácteas descritas en el Cuadro Básico de Medicamentos, diseñado para Nutrición Enteral.

Los parámetros que se evaluaron en función del tiempo y la temperatura (temperatura ambiente y 40 °C) fueron el pH, la viscosidad, la densidad y la degradación de Vitamina C.

La información generada permitió proponer la vida de anaquel como función de la evolución de los parámetros citados.

Así, se observó que al cabo de los noventa días de estudio, los parámetros como el pH, la densidad y la viscosidad (ésta última a los 70 días), no son relevantes para poder sugerir la vida de anaquel de la emulsión láctea.

Respecto al efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento en la viscosidad, se observó que hasta los 70 días, los productos presentaron un comportamiento newtoniano [viscosidad constante] sin cambios significativos. Sin embargo, evaluaciones efectuadas a los 455 días de estudio, a temperatura ambiente de almacenamiento, muestran un drástico incremento de viscosidad y un comportamiento reológico del tipo pseudoplástico. Si bien no fue posible establecer el tiempo preciso en que se presenta este cambio, los últimos datos de viscosidad sugieren que los productos estudiados presentan el fenómeno de gelación por envejecimiento, similar al reportado para leches procesadas.

Sin embargo, se observó que la degradación de la Vitamina C, sí es un parámetro relevante para sugerir la vida de anaquel. Siendo ésta, una cinética de degradación de primer orden, que sigue el modelo: $Vitamina\ C = A_0 \exp[-k * tiempo]$

Los resultados obtenidos en el presente trabajo permiten sugerir una vida de anaquel para la muestra sabor Fresa de 241.08 días y para la muestra sabor Vainilla de 160.92 días, las cuales no presentan diferencia significativa a un nivel de significancia del 5%.



antecedentes

Principios de evaluación de la vida de anaquel en los alimentos. Evaluación de la calidad alimentaria. Aplicación de la cinética a la predicción de la vida de anaquel. Estabilidad de un medicamento. Nutrición enteral. Caseínas. Preparados proteicos. Caseinato de calcio. Definición de una emulsión. Viscosidad en productos lácteos. Vitamina C.

TESIS CON
FALSA DE ORIGEN

11.1 Principios de evaluación de la vida de anaquel en los alimentos

Los alimentos son perecederos por naturaleza. Por lo que un sinnúmero de cambios tienen lugar en éstos durante su proceso y almacenamiento.

Se sabe que las condiciones empleadas para procesar y almacenar los alimentos pueden influenciar de manera adversa en los atributos de la calidad de los productos alimentarios.

Así, en el periodo de almacenamiento, uno o más atributos de la calidad de los alimentos pueden alcanzar estados desfavorables.

Por lo que, en ese instante, se considera a los productos como inadecuados para su consumo y se dice que su vida útil ha finalizado.

Durante el periodo de almacenamiento y distribución, los alimentos están expuestos a un amplio rango de condiciones ambientales.

Los factores ambientales tales como, la temperatura, la humedad, el oxígeno y la luz pueden desencadenar varios mecanismos de reacción que resultan en el deterioro de los alimentos.

Como consecuencia de estos mecanismos, los alimentos pueden deteriorarse hasta cierto punto en donde son rechazados por los consumidores, e incluso, llegar a ser considerados como dañinos para la salud (Singh and Wells, 1989).

antecedentes

Estos productos alimentarios son susceptibles a diversos tipos de alteración a lo largo del proceso de elaboración y almacenamiento (*Singh and Heldman, 1976*).

- Alteraciones físicas

Los cambios físicos en los alimentos, están sujetos al mal manejo de la materia prima desde su cosecha, proceso y distribución. Estos cambios reducen considerablemente la vida de anaquel de los productos alimentarios finales.

- Alteraciones químicas

Durante el proceso y almacenamiento de los alimentos, ocurren diversas reacciones químicas que involucran a componentes internos, propios del alimento; y a componentes externos, tales como, la temperatura, la humedad, el oxígeno y la luz.

Estas reacciones alteran el alimento y por ende, reducen la vida de anaquel. Los cambios químicos más importantes en la adulteración de los alimentos son, las reacciones enzimáticas, las reacciones de oxidación, y las reacciones de Maillard.

- Alteraciones microbiológicas.

Para determinar la vida de anaquel del alimento debe considerarse el aspecto microbiológico, tomando en cuenta los rangos de crecimiento microbiano como función de los factores ambientales a los que es sometido el alimento.

Al elaborar un producto alimentario debe considerarse la existencia de microorganismos (de suma importancia: patógenos y esporulados), y se debe contar con procesos que prevengan, reduzcan y/o controlen su crecimiento para asegurar el producto a nivel de salud pública (*Singh et al., 1976*).

11.2 Evaluación de la calidad alimentaria

Una práctica comúnmente empleada para evaluar la vida de anaquel de un producto terminado es determinar, durante un periodo de tiempo, los cambios en ciertos parámetros que dictan su calidad. Debe reconocerse que el término calidad se refiere al conjunto de atributos o características, sin embargo, el autor en cuestión, define a la calidad del alimento como *la medida del deterioro del mismo* (Ellis, 1994).

Desde el punto de vista del consumidor, la calidad reside en la aceptación a nivel sensorial, que se deriva de la presencia (o ausencia) de características deseables (o indeseables) en el producto final.

Al evaluar la vida de anaquel, se emplean las técnicas analíticas para calificar y cuantificar los atributos o características de los alimentos y su deterioro. Por ejemplo, las pruebas microbiológicas, las determinaciones físicas y químicas de componentes en los productos (Ellis, 1994).

La vida de anaquel es una característica importante en los alimentos. Para todos aquellos que estén involucrados en el manejo de éstos, deben estar conscientes de la importancia de este factor, desde agricultores, proveedores de materias primas, fabricantes, distribuidores, vendedores hasta los mismos consumidores.

Para el autor citado en este párrafo, la vida de anaquel es definida como *el periodo de tiempo que abarca desde la producción y empaque del producto hasta el punto en donde se convierte inaceptable bajo la influencia de las condiciones ambientales* (Ellis, 1994). Cabe señalar que junto a la influencia de las condiciones ambientales se tendría que mencionar también, la influencia de las reacciones propias del alimento, las alteraciones químicas y microbiológicas.

En la cadena de los alimentos, tanto el almacenamiento y la distribución son dos de los eslabones necesarios, así mismo, las especificaciones de calidad (y

seguridad) dictan las condiciones y la duración máxima de éstos, aunque el deterioro de los alimentos sea gradual.

El aprovechamiento total de la calidad como lo muestra la Figura II.2.1., considera todos los aspectos del producto alimentario desde su inicio. De la investigación y el desarrollo a la producción y finalmente hasta el consumo (Ellis, 1994).

Por lo tanto, un producto alimentario que es elaborado en estas condiciones debe incluir lo siguiente: el Diseño del producto; las Especificaciones tanto de los ingredientes como de los materiales de empaque, los Procesos de elaboración, las Rutas de transportación, almacenamiento y venta, el Almacenamiento "en casa" (una vez adquirido por el consumidor) y el Consumo.

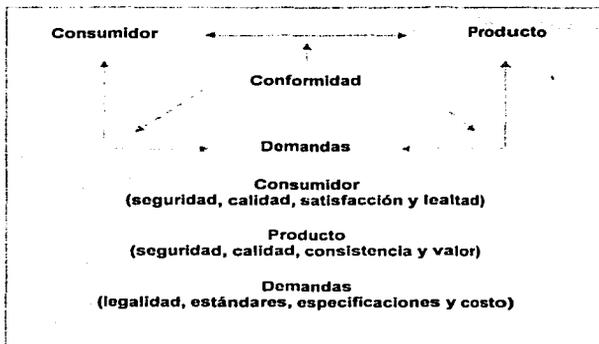


Figura II.2.1. Aprovechamiento total de la calidad (Ellis, 1994).

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Así, la vida de anaquel periodo en el cual el alimento debe mantenerse seguro y contar con una calidad aceptable al momento de su consumo, se considera un aspecto esencial del control sobre el diseño del producto.

La determinación de la vida de anaquel de un nuevo producto, requiere de periodos significativos de almacenamiento (Robertson, 1993). Incluyendo muestras tanto desde el inicio de la investigación y el desarrollo hasta muestras de la producción inicial.

Durante la evaluación de estas muestras almacenadas para la determinación de la vida de anaquel, se pueden detectar varios problemas a nivel laboratorio, éstos pueden ser eliminados o controlados antes de pasar a la línea de producción. De igual manera, al realizar una continua producción del producto se requiere contar con un sistema de aseguramiento de la calidad que permita respaldar los estudios de almacenamiento antes de proceder a la distribución. Estas muestras deben ser almacenadas hasta que se les asigne la fecha de caducidad, incluso ser nuevamente evaluadas para cerciorarse de que ningún cambio sea significativo en la calidad del producto final aún durante su almacenamiento (Robertson, 1993).

Existen métodos para determinar la vida de anaquel, que necesariamente requieren extensos periodos de tiempo, probablemente varios años, para poder obtener resultados (Robertson, 1993). Sin embargo, durante el desarrollo de nuevos productos e incluso reformulados, se necesitan acortar esos tiempos para obtener resultados inmediatos que logren un pronto lanzamiento al mercado.

Muchas técnicas rápidas alternativas (condiciones aceleradas) están disponibles, pero deben complementarse con técnicas a condiciones normales (determinación *directa*) para confirmar resultados, ya que apenas es posible predecir con certeza el comportamiento del producto bajo condiciones normales de almacenamiento (Robertson, 1993).

11.3 Aplicación de la cinética química a la predicción de la vida de anaquel

A pesar de la complejidad de los sistemas alimentarios, el estudio sistemático de los mecanismos degradativos puede aportar métodos satisfactorios para determinar la vida útil. Lo que tiene que quedar claro es que la predicción de la vida útil, puede abordarse de dos modos generales (Taoukis et al., 1997).

El método más común, consiste en seleccionar una simple condición extrema, exponer el alimento a dicha condición durante diversos tiempos de almacenamiento, evaluar la calidad (generalmente por métodos sensoriales) y, a continuación, extrapolar los resultados (normalmente empírico) a las condiciones de almacenamiento normales.

El método alternativo consiste en utilizar un diseño más elaborado, basado en los principios de cinética química y determinar la dependencia de la temperatura real de diversos atributos de calidad. Aunque este método es inicialmente más costoso, probablemente permite hacer predicciones más exactas, formulaciones más eficaces de productos y la capacidad para optimizar el proceso (Taoukis et al., 1997).

La cinética es el estudio de la velocidad a la que tienen lugar las reacciones químicas. Su principal objetivo es determinar un mecanismo de reacción, es decir una descripción detallada de los diversos pasos de un proceso de reacción y la secuencia en que tienen lugar.

Un modelo cinético generalmente se expresa con ayuda de la siguiente reacción:



Donde, A y B son los reactivos, C y D son los productos, y los coeficientes estequiométricos se señalan mediante a, b, c y d.

A condiciones constantes, la velocidad de reacción varía con la concentración de reactivo. Siendo la velocidad de este proceso proporcional al producto de las concentraciones de los reactivos. Esto se expresa con la ecuación de velocidad. Entonces la velocidad a la que un reactivo, por ejemplo el reactivo A, cambia se da de la siguiente manera:

$$- \frac{d[A]}{dt} = k[A]^{\alpha}[B]^{\beta} - k'[C]^{\gamma}[D]^{\delta} \quad (\text{ec. II.3.2.})$$

Donde [A], [B], [C] y [D] son las concentraciones de los reactivos y productos; α , β , γ y δ son los ordenes de reacción y k y k' son constantes de proporcionalidad conocidas como constantes de velocidad de reacción.

Las ecuaciones II.3.1. y II.3.2. son generales, así que, dependiendo de las condiciones, se puede determinar experimentalmente el orden de una reacción midiendo [A] o [P] en función del tiempo. En el caso, de medir [A], la velocidad de reacción, v está dada por:

$$v = \frac{-d[A]}{dt} = k [A]^n \quad (\text{ec. II.3.3.})$$

II.3.1 Función de calidad de alimento-orden de reacción

La reducción de la calidad puede representarse por una pérdida cuantificable de un atributo de calidad deseable A (por ejemplo, un nutriente o el aroma característico) o por la formación de un atributo indeseable B (por ejemplo, generación de aroma o color), como ha sido citado por Taoukis et al., (1997). Las velocidades de pérdida de A o formación de B se expresan con las ecuaciones siguientes:

$$\frac{-d[A]}{dt} = k [A]^n \quad (\text{ec. II.3.1.1.})$$

$$\frac{d[B]}{dt} = k' [B]^n \quad (\text{ec. II.3.1.2.})$$

donde k y k' son las constantes de velocidad de reacción y n y n' son los órdenes de reacción aparente. Ambas ecuaciones, pueden integrarse en la expresión:

$$F(A) = kt \quad (\text{ec. II.3.1.3.})$$

Es decir, A (o B), con la modificación adecuada, puede expresarse en función lineal del tiempo t. El término F(A) se llama función de calidad del alimento y en la Tabla II.3.1., se expresa para diferentes órdenes de reacción aparentes.

La mayoría de los datos de vida útil para un cambio de un atributo de calidad, si se basan en una reacción química característica o en el crecimiento microbiano, siguen una cinética de orden cero (por ejemplo, calidad global de los alimentos congelados, pardeamiento de Maillard) o una cinética de primer orden (por ejemplo, pérdida vitamínica, pérdida oxidativa de color, crecimiento microbiano e inactivación) (Taoukis et al., 1997).

Orden de reacción	0	1	n
Función de calidad	$A_0 - A$	$\ln(A_0 / A)$	$1/n \cdot 1 (A^{1/n} - A_0^{1/n})$

Tabla II.3.1. Forma de la función de calidad de los alimentos para diferentes órdenes de reacción (Taoukis et al., 1997).

Para datos de orden cero, se obtiene la representación gráfica de una línea recta usando coordenadas lineales, como lo muestra la Figura II.3.1.4., mientras que para datos de primer orden, se necesita una ordenada logarítmica para producir una representación lineal, ver Figura II.3.1.5.

Para datos de segundo orden, la representación gráfica de $1/A$ (o $1/B$) versus el tiempo producen una relación lineal. Por lo tanto, basándose en unas pocas medidas puede definirse el orden, mediante la representación gráfica que dé el mejor ajuste lineal, determinándose así, los componentes de la ecuación II.3.1.3. Entonces puede extrapolarse el valor de A_0 (o B_0), el valor alcanzado por el atributo al término de la vida útil especificada, t_s . Para determinar el valor de k (la pendiente) de la representación apropiada, pueden utilizarse diversos métodos estadísticos de ajuste de curvas.

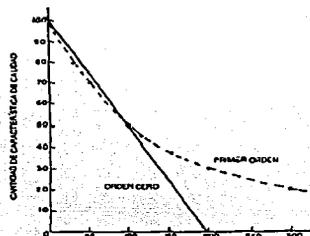


Figura II.3.1.4. Cambio de calidad frente al tiempo mostrando el efecto del orden de reacción sobre la velocidad de cambio (Tboukis et al., 1997).

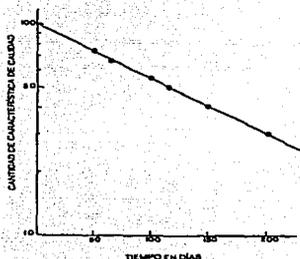


Figura II.3.1.5. Representación semilogarítmica para una reacción de primer orden de pérdida de calidad frente al tiempo (Tboukis et al., 1997).

En este trabajo, al tratarse de un prototipo piloto de emulsiones lácteas descritas en el Cuadro Básico de Medicamentos, diseñado para nutrición enteral, las siguientes líneas se refieren a la estabilidad de un medicamento, que junto con las páginas anteriores, ayudarán a tener una visión mas exhaustiva para la determinación de la vida de anaquel.

11.4 Estabilidad de un medicamento

Al describir las características de calidad que debe reunir un medicamento se reconoció que éste puede sufrir modificaciones o descomposición con el tiempo, dando como resultado una pérdida en la actividad biológica, en su aceptación, o un aumento de las posibilidades de ocasionar efectos adversos, aún cuando el producto cumpla inicialmente con los estándares de potencia, uniformidad de contenido o pureza establecidos (Román, 1990).

De esta manera se puede definir la estabilidad de un producto como *la capacidad de una formulación particular en un contenedor determinado de conservar sus especificaciones físicas, químicas, microbiológicas, terapéuticas y toxicológicas* (Román, 1990).

En cambio, la fecha de caducidad o vida de anaquel, se define como *el tiempo en que la preparación va a permanecer estable, siempre y cuando se almacene y conserve bajo las recomendaciones dadas* (Román, 1990).

Los estudios químicos se enfocan a evaluar la vida de anaquel ante diversos factores ambientales y de tiempo, normales y acelerados, y a través de métodos adecuados de cinética química y de técnicas analíticas confiables y específicas.

De esta forma el empleo de estudios de estabilidad química y la aplicación consecuente en la estimación de la vida de anaquel son un intento por predecir el tiempo aproximado en que la probabilidad de un evento negativo alcance niveles intolerables.

En lo que se refiere a la estabilidad física de la formulación que pudiera llegar a afectar las características de eficacia, seguridad, elegancia o conveniencia de administración del producto (Román, 1990). Un aspecto de la estabilidad tan importante como los anteriores consiste en que el ingrediente activo debe permanecer biodisponible hasta su utilización.

Por último, el producto debe ser medido con respecto a la conservación de sus características microbiológicas originales. Un sistema formulado de preservación, un proceso de sanitización o un método de esterilización, deben ser capaces de resistir el tiempo y las condiciones ambientales para proporcionar las mismas cualidades, tal y como fueron diseñadas y preparadas originalmente (Román, 1990).

La Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-1993 *Estabilidad de Medicamentos*, define al estudio de estabilidad como *las pruebas que se efectúan a un medicamento para determinar el periodo de caducidad y las condiciones de almacenamiento en que sus características físico-químicas, microbiológicas y biológicas permanecen dentro de límites especificados bajo la influencia de diversos factores ambientales tales como temperatura, humedad y luz.*

Y a la estabilidad acelerada la define como *los estudios diseñados para incrementar la degradación química y/o biológica o el cambio físico de un medicamento, por medio del empleo de condiciones exageradas de almacenamiento.*

11.5 Nutrición enteral

El concepto de soporte nutricional (SN), entendido dentro de los cuidados globales del paciente, podría definirse como la provisión de dietas especializadas por vías, tanto parenteral (SN parenteral) o enteral (SN enteral), con el objetivo básico de intentar obtener y/o mantener un estado nutricional correcto en aquellas situaciones en las que la alimentación normal no puede realizarse (Howard, 1998).

De forma estricta, el término SN enteral, o simplemente nutrición enteral, por genérico, es impreciso, ya que englobaría a todas las formas de alimentación o nutrición por la vía digestiva, incluida la alimentación peroral convencional normal (Howard, 1998). Sin embargo, y a efectos de la práctica clínica, sólo incluye a la instilación (goteo) de fórmulas nutricionales especiales bien oralmente, o a través de tubos o dispositivos insertados a diferentes niveles del tracto gastrointestinal superior.

Por lo tanto, el SN enteral podría definirse como la administración de nutrientes al organismo a través de la vía digestiva, utilizando medios distintos a la alimentación oral convencional, ya sea en cuanto a la vía de administración o a la mezcla nutritiva administrada (Planas, 1994).

Con esta definición quedarían implícitas, con la excepción de la suplementación oral, las dos características básicas de este tipo de soporte nutricional: por una parte, la supresión de las etapas bucal (masticación, salivación y regulación térmica) y esofágica de la digestión (con la nutrición intrayeyunal también se suprimiría la fase cefálica de estimulación de la secreción gástrica) y por otra, la necesidad del empleo de dispositivos especiales para su administración (Planas, 1994).

En base a esta definición, las indicaciones del SN enteral se extenderían a todas aquellas situaciones patológicas en las que exista una imposibilidad para satisfacer las necesidades nutricionales mediante una dieta oral normal, bien porque existen alteraciones para la ingestión de los nutrientes y/o porque existen anomalías

digestivas de tipo anatómico o funcional que imposibilitan el tránsito, la digestión o la absorción adecuada de los mismos, pero siempre que la vía digestiva sea viable y segura (American Society for Parenteral and Enteral Nutrition Board of Directors, 1993).

11.5.1 Mezclas nutricionales para nutrición enteral

En cuanto a la nutrición enteral propiamente dicha, las mezclas de alimentos naturales triturados han dejado prácticamente de utilizarse para dar paso a las fórmulas de preparación industrial, cuyas posibilidades de aplicación se han ampliado, considerablemente, en los últimos años, gracias al desarrollo de nuevas formulaciones y a los avances tanto en las técnicas de abordaje del sistema digestivo, a través de sondas, como en la fabricación de materiales para su administración (Ruiz y Escobar, 1994).

La disponibilidad actual, en estos campos, ofrece una gran gama de posibilidades para poder nutrir al paciente por vía digestiva en situaciones que, hasta hace poco tiempo, requerían un aporte parenteral, evitando los efectos adversos ocasionados por la ausencia de sustratos nutritivos sobre la mucosa intestinal (Pianos et al., 1994).

La utilización de estos preparados tiene como ventajas que su composición nutritiva se encuentra perfectamente delimitada, y su homogeneidad y fluidez permiten la administración a través de sondas de pequeño calibre (más confortables y con menores complicaciones que las gruesas).

Otras ventajas son las derivadas de la reducción de los problemas de contaminación microbiológica de la fórmula y la adaptación a los diferentes grados de capacidad digestiva o metabólica (Montejo, 1994).

Las dietas enterales se pueden clasificar en función de diferentes variables como lo muestra la siguiente Tabla:

Según el equilibrio nutricional (contenido proteico)	Normoproteicas Hiperproteicas Dietas especiales
Según la densidad calórica	Estándar Concentradas Diluidas
Según la osmolaridad	Isotónicas Moderadamente hipotónicas Hipertónicas
Según la forma de presentación	Dietas líquidas Dietas en polvo
Según el origen de los nutrientes	Homogeneizados de alimentos natural Dietas de fórmula definida
Según la forma química de los nutrientes	Dietas poliméricas Dietas oligoméricas o monoméricas Dietas modulares o módulos nutricionales

Tabla II.5.1. Clasificación de las mezclas de nutrición enteral (Ruiz y Esteban, 1994).

II.5.1.1 Dietas poliméricas

Son fórmulas nutricionalmente completas, en los que los tres nutrientes básicos (proteínas, hidratos de carbono y grasas) se encuentran en forma compleja, es decir, en forma de polímeros o macromoléculas (Koruda et al., 1987).

Las proteínas, intactas o parcialmente hidrolizadas, proceden de la ovoalbúmina, lactoalbúmina, caseína, proteínas de la carne y de extractos vegetales, especialmente de la soya.

Las grasas se encuentran principalmente en forma de triglicéridos de cadena larga (LCT) procedentes de aceites vegetales (fundamentalmente del maíz o la soya) y en menor proporción, aunque suficiente, de triglicéridos de cadena corta (MCT), así como monoglicéridos y diglicéridos (éstos dos últimos para mejorar su absorción) (Ruiz y Esteban, 1994).

Los hidratos de carbono se presentan, en su mayor parte, en forma de polímeros de glucosa obtenidos por hidrólisis enzimática del almidón de maíz, aunque también contienen cierta cantidad de disacáridos y oligosacáridos de la glucosa, sacarosa, fructosa, maltosa y dextrínomaltoza, los cuales contribuyen a mejorar el sabor.

Prácticamente todas las dietas poliméricas carecen de lactosa y colesterol, y contienen vitaminas y minerales esenciales. En general, suelen ser isotónicas y su presentación en forma líquida, mientras que la densidad calórica suele variar entre 0.6 (diluida), 1.0 (estándar), 1.5 y 2 (concentrada) Kcal/mL, siendo el grupo de las que aportan 1 Kcal/mL el más empleado en la práctica clínica (Ruiz y Esteban, 1994).

Estas fórmulas constituyen las dietas por sonda habituales para los pacientes que conservan un tracto gastrointestinal normofuncionante, es decir con función digestiva y absorbiva intacta (Byers and Jeejeebhoy, 1997). También son adecuadas como suplementos orales en aquellos pacientes que toleran la dieta oral normal, pero que por presentar unas necesidades nutricionales elevadas, éstas no pueden alcanzarse por dicha vía.

Existen varios aspectos de interés en este tipo de dietas que merecen la pena ser analizados. Por una parte, es característico su alto contenido en grasa, de forma que representaría una parte importante del total de kilocalorías que aporta. De hecho, el contenido en grasa supone, en la que menos, un 14% (con un 23% como LCT) del total de kilocalorías de la dieta. Se ha propuesto que la reducción de la grasa en las dietas poliméricas podría ser más adecuada, respecto a las dietas de fórmula definida, en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (Morudo *et al.*, 1987).

Un grupo especial de dieta polimérica es la diseñada para pacientes con insuficiencia respiratoria hipercápnica que se encuentran bajo soporte ventilatorio mecánico, la cual presenta alto aporte de calorías en forma de grasas, lo que permite una menor producción de dióxido de carbono y, en consecuencia, facilitaría la progresión hacia la desconexión de dicho soporte. Otro grupo de dietas, es específico para la administración intrayeyunal, especialmente en aquellos pacientes con diarrea asociada a la nutrición enteral. En otras dietas, el contenido calórico no proteico se realiza fundamentalmente a expensas de los hidratos de carbono, y aunque su osmolaridad es superior, por lo general, son bien toleradas cuando se administran por vía intragástrica e intrayeyunal, lo que las hace apropiadas para pacientes con esteatorrea o hiperlipidemia (Byers and Jeejeebhoy, 1997).

De igual importancia al contenido calórico no proteico de la dieta, es su relación con el aporte de proteínas. La formulación en la mayoría de las dietas poliméricas se realiza para proveer, aproximadamente, 6,25g de proteína (1g de nitrógeno) por cada 150 Kcal, la cual es la que se ha demostrado más eficaz para la obtención de un balance nitrogenado positivo, o lo que es lo mismo, una síntesis neta de proteínas (Parsa *et al.*, 1995). Si no se aportan los requerimientos calóricos mínimos, el contenido proteico es utilizado como fuente de energía, incrementando la ureagénesis. Las dietas con altas relaciones calorías/nitrógeno son recomendables para pacientes con insuficiencia renal y hepática.

Por otra parte, algunas de estas fórmulas contienen fibra alimentaria añadida, cuya presencia puede ser deseable, sobre todo en pacientes con SN enteral prolongado, pero hay que tener en cuenta que aumenta el costo sin que parezca mejorar el estatus clínico ni metabólico del paciente (*Parse et al., 1995*). Además, dependiendo de la fibra empleada, aumentan la viscosidad e interfieren en la absorción de algunos cationes divalentes como el calcio y el magnesio (*Ruiz y Esteban, 1994*).

11.6 Caseínas

La existencia y las propiedades de las micelas de caseína tienen varias consecuencias en el empleo de la leche (*Walstra y Genes, 1987*); son en gran parte responsables de la estabilidad de los productos lácteos durante su calentamiento, concentración y almacenamiento.

Las micelas y los cambios que suceden en ellas determinan en gran parte las propiedades reológicas de los productos lácteos ácidos y concentrados. Las micelas de caseína interactúan con las interfases aire-agua y de aceite-agua; la última interacción es especialmente importante en la homogenización y afecta a ciertas propiedades (estabilidad, viscosidad) de los productos homogenizados (*Walstra y Genes, 1987*).

Las proteínas de fuentes tradicionales se están utilizando recientemente como ingrediente de un número cada vez mayor de alimentos formulados. Las ventajas de las proteínas de la leche como ingredientes de otros alimentos residen en sus excelentes características nutricionales y su capacidad para impartir a los productos finales propiedades funcionales y únicas (*Prentice, 1992*).

Las caseínas exhiben excelente solubilidad y estabilidad al calor por encima de pH 6, las caseínas ácidas (obtenidas con ácido clorhídrico, láctico y sulfúrico) son simplemente precipitados isoeléctricos (pH 4.6) no muy solubles de las cuales se obtienen los caseinatos (sódico, potásico, cálcico) que se preparan neutralizando la

caseína ácida con el álcali apropiado antes de la desecación. Estos caseinatos son muy solubles y sumamente termoestables dentro de un amplio rango de condiciones. Debido a su estructura tipo detergente, estas proteínas cuando se utilizan en productos con un pH mayor a 6 muestran excelentes características emulsionantes por lo que estos caseinatos han encontrado amplia aceptación tecnológica (Fennema, 1993).

11.7 Preparados Proteicos

Las proteínas lácteas de la leche descremada, mazada y suero se concentran de diversas formas; los concentrados se desecan corrientemente y se encuentran disponibles comercialmente en forma de polvo. Estos preparados se utilizan en distintos productos alimenticios (Walstra y Genes, 1987); antes fueron muchos los usos no alimenticios (elaboración de caseínas para fabricar plásticos y para recubrir el papel) pero han disminuido mucho.

La mayoría de los preparados distan mucho de ser puros; algunos son más bien productos alimenticios ricos en proteína. La intensidad con que se han eliminado otros componentes sólidos de la leche varía, dependiendo del principio de aislamiento seguido, de la intensidad del lavado, etc., además, dependiendo de las condiciones, como pH, las proteínas pueden ligar distintas sustancias, especialmente cationes y en el caso de la caseína y de las proteínas del suero desnaturalizadas por el calor, fosfato cálcico (Charalambous and Doxastakis, 1989).

La grasa de estos preparados está constituida por moléculas lipídicas polares unida a la proteína, pero los glóbulos grasos, que de alguna forma han incorporado a sus capas superficiales, cierta porción de proteína plasmática (principalmente caseína) pueden englobarse fácilmente en la masa proteica constituyendo así la porción más abundante de la grasa de la mayoría de los preparados (Walstra y Genes, 1987).

11.7.1 Tipos de preparados proteicos

Las propiedades de los preparados dependen de las de sus proteínas y del método de fabricación. La caseína generalmente se aísla de la leche descremada adicionándole ácido (HCl o ácido láctico) hasta su pH isoelectrónico, de esta forma se pierden la mayor parte del fosfato cálcico y de la proteosa-peptona de las micelas. La caseína ácida se lava, se prensa para eliminar el agua y después se seca, este producto es más bien insoluble. La caseína precipitada por ácido se disuelve en álcali (pH=7) y se deseca por aspersión, así se producen los caseinatos de sodio, de potasio y de calcio (Walstra y Genes, 1987).

La solubilidad y el aroma son buenos si el producto se elabora a partir de caseína fresca (sin desecar) y bien lavada y si el pH durante el aislamiento, lavado y desecación no es demasiado alto (>7). El producto más corriente es el caseinato de Na. Con fines nutritivos, se prefiere el caseinato de calcio y potasio, ambos con características funcionales similares (Walstra y Genes, 1987).

11.7.2 Propiedades funcionales

Los preparados proteicos se emplean en la industria alimentaria para obtener productos con ciertas propiedades deseables que varían mucho de unos alimentos a otros (Walstra y Genes, 1987). La aptitud de un preparado proteico dado dependerá de la composición del alimento y de su forma de elaboración y almacenamiento.

Calidad nutritiva:

Los aminoácidos que constituyen la proteína son el contraste de su calidad nutritiva y es claro que la calidad de la caseína es buena, que las de las proteínas del suero es mejor y que la de la proteína de la leche entera es todavía mejor (Walstra y Genes, 1987). Los concentrados proteicos del suero se utilizan mucho en los alimentos

infantiles para darles una composición proteica más parecida a la de la leche de mujer.

Aroma:

Las proteínas puras carecen de aroma, por lo tanto son otros componentes del deterioro proteico los responsables de cualquier aroma que presenten los preparados (Walstra y Genes, 1987). La actividad de agua no siempre es lo suficientemente baja para evitar las proteólisis microbiana y enzimática. Pueden tener lugar reacciones de Maillard que son probablemente las responsables de los aromas característicos encontrados en los caseinatos.

Solubilidad:

Se requiere que las proteínas empleadas en los alimentos líquidos presenten buena solubilidad, lo que depende por supuesto, de factores como el pH y de la interacción con otros componentes del alimento. Para estimar la solubilidad generalmente se preparan dispersiones del preparado proteico en agua y se determina la fracción de la proteína que no sedimenta al centrifugar. La solubilidad de los caseinatos depende mucho del pH, de la concentración salina y del tipo de catión (Walstra y Genes, 1987). Para ciertos usos (alimentos desecados, productos de panadería) las proteínas pueden ser insolubles, el coprecipitado y la lactoalbúmina son especialmente útiles.

Propiedades gelificantes:

Para otros usos, la solución o dispersión proteica debe transformarse en gel o en una masa sólida en el producto. Las proteínas del suero en solución se insolubilizan por calentamiento, especialmente cerca de su pH isoeléctrico y cuando es alta la concentración de Ca^{2+} a pH mayor que el isoeléctrico. La concentración proteica debe ser alta para que se forme el gel, dado que las proteínas contienen grupos tioles libres. Si el pH es suficientemente alto (>8) se forman enlaces cruzados -S-S-

intermoleculares. Las soluciones de caseinato melifican (caramelizan) acidificándolas, tratándolas con renina o con CaCl_2 (Walstra y Genes, 1987).

Hinchamiento:

O retención de agua no es igual que la ligazón de agua o hidratación. En muchos alimentos es importante la cantidad de agua que puede retener una porción dada de proteína, esta propiedad depende mucho de las condiciones ambientales. La caseína se expande a pH alto, actividad de Ca^{2+} baja y temperatura baja. El hinchamiento del coprecipitado depende mucho de su contenido de calcio, cuanto mayor es éste menor es el hinchamiento (Walstra y Genes, 1987).

Viscosidad de las soluciones proteicas:

La viscosidad es función de la concentración proteica, del estado de hinchamiento de las proteínas y de cualquier posible agregación. En general, además de la concentración, la viscosidad es función de la conformación de la molécula proteica en solución (Walstra y Genes, 1987). La viscosidad depende mucho de la presencia y concentración de los cationes. Por ejemplo, el caseinato cálcico origina soluciones menos viscosas que el caseinato sódico.

Propiedades emulsificantes:

Las distintas proteínas forman, en torno de los glóbulos de grasa, capas de distinto grosor o carga proteica, de ello depende fundamentalmente la cantidad de proteína necesaria para producir una emulsión (Charalambous and Doxastakis, 1989).

1. El tamaño de los glóbulos obtenidos depende del tipo de proteína y de su concentración, de la relación proteína/grasa (Charalambous and Doxastakis, 1989). Si la proteína es relativamente abundante, el tamaño globular obtenido depende principalmente de las condiciones de emulsificación (velocidad de agitación, presión de homogenización).

2. La estabilidad de los glóbulos frente a la coalescencia depende mucho del tipo de proteína y de su carga (Charalambous and Doxastakis, 1989).

Espuma:

La tendencia a formar espuma de una solución proteica va en paralelo con su funcionalidad como emulsionante. Esto significa que, aquellas proteínas que forman espuma tienen buenas propiedades como emulsificantes (Walstra y Genes, 1987).

11. 8 Caseinato de Calcio

Descripción del producto

El caseinato de calcio se obtiene de leche fresca descremada y pasteurizada por coagulación ácida, neutralización y secado. El proceso de manufactura asegura una calidad organoléptica, microbiológica y química en la mayoría de los casos. Sin embargo, hay evidencias en la literatura que existe pérdida de la funcionalidad en algunos lotes de caseinatos debido a pequeñas variaciones en las etapas de precipitación y secado (O'Kennedy et al., 2001).

Esta pérdida de funcionalidad se manifiesta como una tendencia a la gelificación o formación de aglomerados y consecuentemente la desestabilización de las emulsiones donde son empleados.

El problema no ha sido estudiado ampliamente y aún hay muchas preguntas sin respuesta, lo único que es claro es que resulta muy difícil de identificar en la práctica industrial.

Cualidades y Características*

- Fuente de nutrición
- Cuajada fresca
- Color blanco
- Sabor neutro típico de las proteínas lácteas
- Secado por aspersión

Almacenamiento y vida de anaquel*

Para asegurar el mejor almacenaje se requieren las siguientes condiciones:

Temperatura: +5 °C-25 °C

Humedad: <65% Humedad Relativa

Vida de anaquel 24 meses.

Tamaño de partícula*

90% debe pasar la malla 26 AFNOR (315u).

Especificaciones funcionales*

Viscosidad: 100 cps máximo. Solución al 10% medida a la velocidad de corte, medido en un viscosímetro Brookfield a 20 °C.

Empaque*

Bolsas de papel kraft multicapa con separador de polietileno.

** Tomado como referencia de la página electrónica de Lactalis Industrie U.S.A., Inc.*

La siguiente Tabla muestra los principales usos del caseinato de calcio en la industria alimentaria. En la Tabla II.8.2. se hace referencia a sus especificaciones fisico-químicas y en la Tabla II.8.3., a las especificaciones microbiológicas.

Panificación	Controla el proceso de la formación de la masa en productos fermentados por levaduras. Dispersión uniforme de grasas, mejora el valor nutricional de las harinas, cereales y sus productos.
Confitería	Control de la cristalización por retención de agua.
Cárnicos	Emulsificación de grasa. Lígar agua, adhesión y firmeza.
Cremas para café	Emulsificación, coloración y sabor.
Nutrición	Ingesta de proteínas.
Dietas	Enriquecimiento proteico en fármacos, desde alimentos para bebés hasta geriátricos y productos dietéticos.
Vinos	Se utiliza como coagulante y clarificante.
Helados	Emulsificación y estabilización de malteadas y bases para bebidas. Estabilizante en helados dietéticos bajos en calorías y altos en nutrientes. Aumenta la vida de anaquel y minimiza su encogimiento.

Tabla II.8.1. Usos sugeridos del Caseinato de Calcio (Lacialis Industrie U.S.A., Inc.).

Prueba	Límite permisible	Método analítico
Humedad	6% máx.	ISO 5550
Proteína (N x 6.38) en base seca	92% min.	ISO 5549/1978
Proteína	86% min.	IDF 92/1979
Grasa	1.5% máx.	IDF 9 C/1987
Lactosa	0.6% máx.	Boehringer enzimático
Ceniza	4.50% máx.	ISO 554/1985
pH (Solución al 5%)	6.9+/-0.2	ISO 5546
Hierro	20 ppm máx.	Absorción atómica
Cobre	5 ppm máx.	Absorción atómica
Plomo	2 ppm máx.	Absorción atómica
Arsénico	1 ppm máx.	Absorción atómica
Densidad	0.28-0.33 g/mL	Nilema litro
Materia extraña (ADPI)	Disco A/B	ISO 5539
Calcio	1.25%+/- 0.25%	Absorción atómica
Sodio	0.1%+/-0.05	Emisión de flama

Tabla II.8.2.Especificaciones físicas y químicas (*Lactalis Industrie U.S.A., Inc.*).

Prueba	Mínimo	Máximo	N	C	Método Analítico
Cuenta Total/g	20000	5000	5	2	ISO 4833/1991
Coliformes/g	3	10	5	2	ISO 4832/1991
Termófilos/g	1000	5000	5	2	DSV MICR. II 1*
Hongos y levaduras/g	-	<10	-	-	Método interno
Clostridium reductor de sulfatos a 46°C/g	50	100	5	2	DSV MICR. II 1A
Salmonella/375g	25	Neg			FDA BAM/1984

Tabla II.8.3.Especificaciones microbiológicas (*Lactalis Industrie U.S.A., Inc.*).

11.9 Definición de una emulsión

Una emulsión se describe generalmente como un sistema que contiene dos fases líquidas inmiscibles, dispersas una en otra, en forma de pequeñas gotas que tienen entre 0.1 y 50 μm de diámetro (Charalambous and Doxastakis, 1989). La fase constituida por pequeñas gotas se denomina fase interna o dispersa, y la matriz en la que están disueltas se denomina fase externa o continua.

La formación de pequeñas gotitas dispersas está asociada a un incremento del área interfacial entre los dos líquidos, valor que aumenta exponencialmente a medida que disminuye el diámetro de la gotita (Charalambous and Doxastakis, 1989).

11.9.1 Tipos de emulsiones

En una emulsión, hay gotas líquidas y/o cristales líquidos dispersos en un líquido. Con frecuencia se utilizan las abreviaturas O/W y W/O para indicar el tipo de emulsión, aceite en agua y agua en aceite, respectivamente (Fennema, 1993).

Las emulsiones y los emulsificantes tienen gran importancia en la industria de alimentos (Follows, 1994). La leche, la crema, la mayonesa, los aderezos para ensaladas y los helados son ejemplos de emulsiones del tipo aceite en agua; la mantequilla y la margarina son ejemplos de una emulsión agua en aceite.

Otro tipo de emulsión comúnmente usada en la rama de los alimentos es la de aire en un líquido, teniendo como ejemplo a los merengues y cremas batidas para pastelería. En estos productos una característica deseada es la formación y la estabilidad de la espuma formada (Charalambous and Doxastakis, 1989).

11.9.2 Mecanismos de desestabilización de una emulsión

Debido a la gran cantidad de energía libre positiva existente en la interfase de los dos líquidos, las emulsiones son termodinámicamente inestables, por lo que tienden a desestabilizarse por uno o más de los tres mecanismos siguientes:

1. **Formación de crema.** Se produce bajo la acción de la fuerza gravitatoria entre fases que tienen distinta densidad. La velocidad a la que se produce cumple la ley de Stokes (Fennema, 1993):

$$V = \frac{2r^2g\Delta\rho}{9\mu}$$

Donde:

- V = la velocidad del glóbulo
- r = el radio del glóbulo
- g = la fuerza de la gravedad
- $\Delta\rho$ = la diferencia de densidad entre las dos fases
- μ = la viscosidad de la fase continua

2. **Floculación o agregación.** Es un segundo mecanismo que desestabiliza las emulsiones. Una vez producida la floculación, los glóbulos grasos se mueven como un conjunto en vez de como individuos (Fennema, 1993). En una leche no homogenizada los glóbulos grasos están predispuestos a flocular, lo que, intensifica la velocidad de formación de crema. La floculación no implica una ruptura de la película interfacial que rodea normalmente cada glóbulo y por tanto no implica un cambio en el tamaño de los glóbulos originales. La principal causa de floculación es la carga electrostática inadecuada de la superficie del glóbulo.

3. **Coalescencia.** Esta es la tercera forma y la más grave de desestabilización de una emulsión, e implica la ruptura de la película interfacial, el agrupamiento de los glóbulos y la reducción del área interfacial. En el caso extremo, existirá una interfase plana entre la fase lipídica homogénea y la fase acuosa homogénea. El contacto de los glóbulos es una etapa previa a la coalescencia, ésto puede producirse mediante la floculación, formación de crema, y/o movimiento browniano (Fennema, 1993).

Para obtener emulsiones estables debe contrarrestarse la tendencia espontánea a minimizar el área interfacial a través de la coalescencia, lo cual se consigue añadiendo emulsificantes a la disolución, que son compuestos que se adsorben en la interfase disminuyendo la tensión superficial, ofreciendo una resistencia física a la coalescencia (Wong, 1995).

11.9.3 Estabilidad de las emulsiones

La estabilidad de una emulsión depende de la contribución de los siguientes factores; tensión interfacial, repulsión debida a la carga eléctrica, estabilización por sólidos finamente divididos, estabilización por macromoléculas, estabilización mediante cristales líquidos, y estabilización por aumento de la viscosidad de la fase continua (Follows, 1994).

El desarrollo continuo de nuevos tipos de productos alimentarios y la continua mecanización del procesado de los alimentos han incrementado el uso de emulsiones alimentarias y la necesidad de un mayor conocimiento de sus propiedades (Man, 1994).

La leche, la crema y diversos productos lácteos son emulsiones; en muchos casos se desea su estabilidad física, esto quiere decir, que la emulsión no debe cambiar en su aspecto aún en condiciones de reposo (Charalambous and Doxastakis, 1989). Sin embargo, en ciertos procesos, se persigue un cambio de la emulsión, tal como

ocurre en la separación de la crema de la leche descremada, en la agregación de los glóbulos en el batido de la crema, en la congelación del helado y en la rotura de la emulsión por el batido.

Se ha demostrado que los aspectos coloidales deben ser importantes en la leche y en sus productos (Walstra, 1987). La leche tiene muchos elementos estructurales de dimensiones coloidales, sus partículas varían mucho de tamaño y composición y algunas tienen una estructura complicada. Los glóbulos grasos y micelas de caseína están especialmente expuestos a muchos cambios; algunos de ellos son esenciales en ciertos procesos de elaboración lactológica, otros afectan a las propiedades físicas y a la estabilidad de la leche y de sus productos derivados (Prentice, 1992).

11.10 Viscosidad en productos lácteos

Muchos productos lácteos líquidos se comportan bajo múltiples condiciones como líquidos newtonianos; ésto significa que tienen una viscosidad verdadera que no depende de la velocidad de deslizamiento (Prentice, 1992). La viscosidad (η) se define como la relación entre la fuerza de deslizamiento y la velocidad de deslizamiento; la velocidad es propia del flujo sencillo en régimen laminar (es decir, flujo laminar con aerodinamismo paralelo). La velocidad de deslizamiento entonces es igual al gradiente de velocidad ($\dot{\gamma}$), que es perpendicular a la dirección del flujo (Walstra y Genes, 1987).

En muchas dispersiones la viscosidad media disminuye al aumentar la velocidad de deslizamiento; a esto se le denomina (adelgazamiento por deslizamiento). Tal comportamiento implica que el líquido no tiene una verdadera viscosidad sino una viscosidad aparente (η_a). Para evitar confusiones al reportar datos de viscosidad que dependen de la velocidad de desplazamiento o velocidad de cizalla, $\dot{\gamma}$, es más conveniente reportar la función $\eta_a = f(\dot{\gamma})$, bien a través de la representación gráfica de

los resultados o empleando algún modelo matemático para esta función (Geanakoplis, 1982).

Los productos lácteos esterilizados concentrados gelifican a menudo. Normalmente, la viscosidad del producto permanece constante, o incluso disminuye ligeramente; después aumenta bruscamente (espesamiento al envejecer) y pronto la leche forma un gel que no puede redispersarse. Autores que han estudiado este fenómeno, concluyen que el envejecimiento de la leche se da en un período igual o mayor a 4 meses en condiciones de almacenamiento a una temperatura de 40 ° C.

En el envejecimiento de la leche, las micelas de caseína forman una red pero la explicación de este fenómeno todavía se desconoce; al parecer serían dos los mecanismos responsables (Walstra y Genes, 1987).

Uno es la degradación proteolítica de la caseína que hace a las micelas sensibles a la agregación, algo semejante a lo que ocurre en la coagulación por renina; sucede esto en la leche UHT porque las proteinasas, especialmente las bacterianas, resisten bien al tratamiento térmico. Sin embargo, no todas las proteinasas dan lugar a la gelación. En ocasiones, la caseína se disuelve dejando una solución clara (si no hay grasa presente) y un sedimento de fosfato cálcico; en casos extremos la gelación tiene lugar en dos semanas. Si hay proteinasa láctea (plasmína) ocasiona la disolución de la caseína más que su gelación (Walstra y Genes, 1987).

El segundo mecanismo, mucho más corriente, todavía se entiende menos; son esenciales las reacciones químicas, lo que parece indicar la intervención de los enlaces químicos cruzados. La reacción principal difiere de la que causa la coagulación térmica, variables diversas ejercen efectos muy distintos en la inestabilidad (Walstra y Genes, 1987).

La gelación por envejecimiento también tiene lugar en ausencia de proteínas del suero. El bloqueo de los grupos tiol no impide la gelación sin embargo, esta suficientemente comprobado que intervienen en ella las reacciones redox. Las reacciones de Maillard se han hecho responsables tanto de causar como de retrasar la gelación. Probablemente, son varias las reacciones implicadas y bajo condiciones distintas o para productos distintos, el mecanismo responsable pudiera ser distinto (Walstra y Gencs, 1987).

La gelación por envejecimiento se lleva a cabo especialmente en productos muy concentrados a temperaturas altas (Walstra y Gencs, 1987). Se ha visto que algunos de los siguientes factores afectan a la gelación:

1. Diferencia entre lotes de leche distintos.
2. La intensidad de la concentración influye en la gelación.
3. Al aumentar la temperatura corrientemente aumenta la gelación.
4. El tratamiento térmico intenso retrasa la gelación.
5. El almacenamiento en frío de la leche evaporada (después de concentrarla pero antes de esterilizarla) acelera la gelación.
6. La adición de azúcar retrasa la gelación.
7. La adición de polifosfatos retrasa mucho la gelación.
8. La adición de $MnSO_4$, $ZnSO_4$ o $FeSO_4$ generalmente retrasa la gelación.

Puntos tomados de Harwalkar, V.R., *Age Gelation of Sterilized Milks*, in: *Developments in Dairy Chemistry - Vol. 4*, P.F. Fox [ed.], Elsevier Applied Science, NY (1982).

11.11 Vitamina C

Conocida como ácido ascórbico, (Figura 11.11.1.) es una de las vitaminas hidrosolubles no sintetizadas por el organismo humano. El hombre y otros primates, son los únicos mamíferos conocidos incapaces de sintetizar ácido ascórbico; por consiguiente, necesitan Vitamina C dietética para la prevención del escorbuto. Esto se debe a que carecen de una enzima hepática necesaria para la conversión de L-gulonolactona en ácido L-ascórbico (Torun et al., 1994).

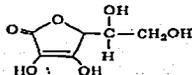


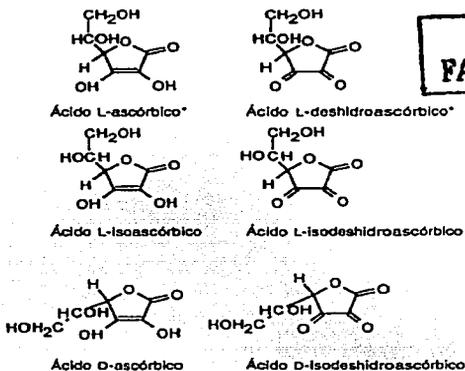
Figura 11.11.1. Ácido Ascórbico (Fennema, 1993).

El ácido ascórbico es un compuesto afín a los carbohidratos con propiedades ácidas y reductoras debido al resto 2,3-enediol (Fennema, 1993); es un compuesto muy polar y por tanto, es muy soluble en disoluciones acuosas e insoluble en disolventes apolares. Sin embargo, el ácido ascórbico es, sorprendentemente, un antioxidante eficaz cuando se dispersa en aceites y también en emulsiones.

El carácter ácido del ácido ascórbico (AA) se debe a la ionización del grupo hidroxilo en el C-3 ($pK_{a1}=4.04$ a 25°C). Una segunda ionización, la disociación del hidroxilo en el C-2 ($pK_{a2}=11.04$ a 25°C), es mucho menos favorable (Fennema, 1993). La oxidación de dos electrones y la disociación de hidrógeno convierten el ácido L-ascórbico en el ácido L-deshidroascórbico (DHAA). El DHAA exhibe aproximadamente la misma actividad que el AA porque se reduce casi totalmente a AA en el organismo.

Los ácidos L-isoascórbico (isómero óptico en la posición C-5) y D-ascórbico (isómero óptico en la posición C-4), como se muestra en la Figura 11.11.2., se

comportan químicamente de la misma manera que el AA pero estos compuestos carecen de actividad vitamínica C (Fennema, 1993). El ácido L-isoascórbico y el AA se utilizan ampliamente como ingredientes de los alimentos por sus actividades reductoras y antioxidantes, pero el ácido isoascórbico (o el D-ascórbico no tienen valor nutritivo.



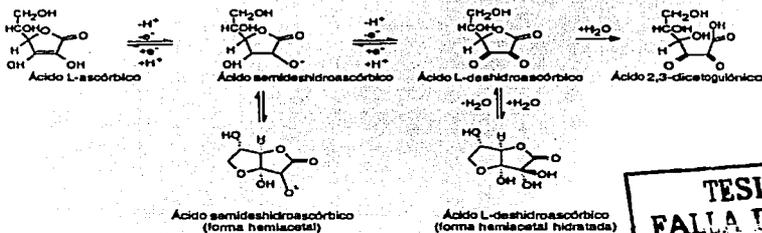
TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Figura II.1.1.2. Estructuras de los ácidos L-ascórbico y L-deshidroascórbico y de sus formas isoméricas. Los asteriscos indican que poseen actividad vitamínica C (Fennema, 1993).

El ácido ascórbico es muy sensible a diversas formas de degradación, entre los diversos factores que pueden influir en los mecanismos de degradación cabe citar la temperatura, la concentración de sales y azúcar, el pH, el oxígeno, las enzimas, la

concentración inicial del ácido y la relación ácido ascórbico-ácido dehidroascórbico (Fennema, 1993).

La oxidación del AA puede ocurrir en dos procesos de transferencia de un electrón o como una reacción única de dos electrones sin detección del intermediario semihidroascorbato, como lo muestra la siguiente Figura:



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Figura II.11.3. Oxidaciones secuenciales de un electrón del ácido L-ascórbico. Todos los compuestos poseen actividad vitamínica C, excepto el ácido 2,3-dicetogulónico (Fennema, 1993).

La pérdida de actividad vitamínica C durante la degradación oxidativa del AA se produce con la hidrólisis de la lactona del DHAA para formar el ácido 2,3-dicetogulónico (DKG). Esta hidrólisis se ve favorecida en condiciones alcalinas y el DHAA es más estable a un pH en el intervalo de 2.5-5.5. La estabilidad del DHAA a valores de pH > 5.5 es muy baja y disminuye a medida que aumenta el pH (Fennema, 1993).

Se hace mención a la ruta de degradación anaeróbica del ácido ascórbico, ya que toma importancia en alimentos enlatados, por ejemplo las hortalizas, tomates y

zumos de frutas, una vez que se ha consumido el oxígeno residual. No obstante, incluso en estos productos la pérdida de AA a través de esta ruta anaeróbica progresa habitualmente de forma muy lenta. Se ha observado la canalización de la ruta anaeróbica por metales traza, a una velocidad que va en aumento a medida que se incrementa la concentración de cobre.

El mecanismo de la degradación del AA no se ha establecido aún totalmente. Parece que está implicada la ruptura directa del puente 1,4 de la lactona sin previa oxidación a DHAA, quizá siguiendo el modelo de una reacción enol-ceto (Fennema, 1993).

A diferencia de la degradación del AA bajo condiciones oxidativas, la degradación anaeróbica exhibe la velocidad máxima a un pH de alrededor de 3-4. A la vista del oxígeno residual presente en muchos alimentos envasados, la degradación del ácido ascórbico en envases sellados, especialmente latas y botellas, debería ocurrir normalmente mediante ambos tipos de degradación, la ruta oxidativa y la anaeróbica (Figura II.11.4.). En la mayoría de los casos, las constantes de velocidad para la degradación anaeróbica del ácido ascórbico serán de dos o tres órdenes de magnitud inferior que las de la reacción oxidativa.

La vitamina C está involucrada en una gran cantidad de procesos biológicos muchos de los cuales dependen de su actividad reductora o antioxidante (Mataix y Cararo). Es importante en la síntesis de colágeno y norepinefrina, y en el metabolismo intermediario de varios aminoácidos, folatos, corticosteroides, péptidos neuroendócrinos y ácidos biliares. Además favorece la cicatrización de las heridas, influye en las funciones de los leucocitos y se le ha atribuido un papel benéfico en otras funciones del sistema inmunológico, reacciones alérgicas, metabolismo del colesterol y carcinogénesis. Otro importante efecto nutricional es que aumenta la absorción intestinal del hierro inorgánico cuando los dos nutrientes se ingieren juntos (Mataix y Cararo).

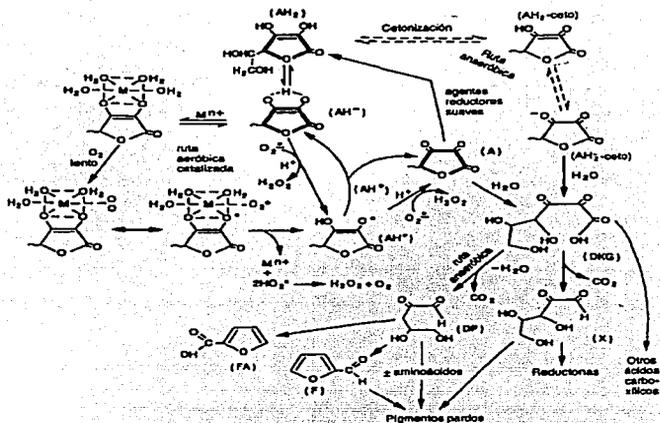


Figura II.11.4. Esquema general de los mecanismos de las degradaciones oxidativas y anaeróbicas del ácido ascórbico (Fennema, 1993).

El ácido ascórbico interviene en múltiples procesos, tales como: formación de hormonas esteroideas, neurotransmisores, carnitina, conversión del colesterol en ácidos biliares, incremento en la absorción de hierro a nivel gástrico, además de intervenir en la síntesis del colágeno; proteína necesaria para el mantenimiento del tejido conectivo de la piel, cartílagos, ligamentos, huesos, dientes y vasos sanguíneos (Torun, 1994).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El ácido ascórbico funciona en muchas reacciones bioquímicas casi todas con oxidación, por eso se necesita o facilita la conversión de: ciertos residuos de prolina del colágeno en hidroxiprolina durante la síntesis del colágeno, la oxidación de cadenas laterales de la lisina proteica para dar hidroximetililisina para la síntesis de carnitina, la síntesis de esteroides de la corteza adrenal, la conversión de ácido fólico en ácido folínico, en el metabolismo microsomal de las drogas y en el metabolismo de la tirosina (Torun, 1994).

A nivel de los tejidos, una función importante del ácido ascórbico se relaciona con la síntesis de sustancias intercelulares, entre ellas el colágeno, la matriz dental y ósea y el cemento intercelular del endotelio capilar. En consecuencia, el escorbuto se asocia con un defecto de la síntesis de colágeno que se manifiesta en la falta de curación de las heridas, en defectos de formación de los dientes, y en la ruptura de capilares, que produce numerosas petequias y su coalescencia forma equimosis. Si bien esto último se ha atribuido a filtración capilar por adhesión insuficiente de las células endoteliales, también se cree que el tejido fibroso pericapilar es deficiente en el escorbuto, produciendo un respaldo insuficiente del capilar y su ruptura bajo presión (Torun, 1994).

Se absorbe fácilmente del intestino, y la absorción del ascorbato dietético es casi completa a través de un proceso activo saturable que se cree dosis-dependiente. En condiciones donde la absorción gastrointestinal esté comprometida, se puede dar por vía parenteral. Se distribuye ampliamente a lo largo de todas las células del organismo a través del plasma. Las concentraciones en el plasma varían acorde a la ingesta. La ingestión adecuada ofrece concentraciones mayores de 0,5 mg/dL. Se metaboliza a nivel hepático por oxidación y sulfatación y se excreta por la orina. Una de las vías metabólicas de L-ascorbato en el hombre incluye su conversión en oxalato y su excreción eventual por la orina (Torun, 1994).

El ácido ascórbico es considerado no tóxico. Su excesivo consumo es eliminado a través de la orina. Altas dosis pueden producir: trastornos gastrointestinales; acidez, diarrea, cólicos, flatulencia, efectos inofensivos reversibles al disminuir la dosis. En megadosis se ha observado la formación de cálculos renales por la excesiva eliminación de oxalatos en la orina (hiperoxaluria) (Torun, 1994).

11.11.1 Modificaciones del Contenido y Biodisponibilidad en los alimentos

Es el nombre genérico utilizado para todas aquellas sustancias que exhiban cualitativamente la actividad biológica del ácido ascórbico (tanto al ácido ascórbico como a su forma oxidada el ácido dehidroascórbico). El ácido isoascórbico, utilizado como conservador, posee propiedades antioxidantes pero carece de actividad antiescorbútica (Torun, 1994).

Más del 80% de la Vitamina C en las dietas occidentales proviene de alimentos de origen vegetal: frutas cítricas, vegetales verdes, tomates, frutillas y papas (Torun, 1994). En menor proporción proviene de alimentos enriquecidos o fortificados, carnes rojas, pescados, huevos y lácteos, y prácticamente nada se obtiene de los cereales.

El contenido de Vitamina C varía en las diferentes frutas y vegetales frescos, aún dentro del mismo tipo de fruta o vegetal y sus cantidades disminuyen notablemente por la cocción y por pérdida en agua de cocción (Torun, 1994).

Almacenamiento: La Vitamina C es muy lábil. El calor la destruye rápidamente, especialmente en presencia de luz y oxígeno (Torun, 1994).

Procesamiento: Los procesos que emplean calor y/o contacto con el aire, reducen el contenido de Vitamina C de los alimentos. Estos procesos incluyen el lavado, escaldado, blanqueo y enlatado; el enlatado reduce la Vitamina C entre 30 y

90%. Los procedimientos de pasteurización que causan menor pérdida son los que utilizan corto tiempo (72 °C por 15 seg) (Torun, 1994).

11.11.2 Funciones del ácido ascórbico en los alimentos

Además de su función como nutriente esencial, el ácido ascórbico se utiliza ampliamente como un ingrediente/aditivo alimentario debido a sus propiedades antioxidantes y reductoras (Fennema, 1993). El ácido ascórbico inhibe eficazmente el pardeamiento enzimático al reducir los productos orto-quinona.

Otras funciones del ácido ascórbico son las siguientes:

- a) acción reductora en los acondicionadores de la masa de panificación.
- b) protección de ciertos compuestos oxidables (folatos) mediante efectos reductores y secuestro de radicales libres del oxígeno.
- c) inhibición de la formación de nitrosaminas en carnes curadas.
- d) reducción de los iones metálicos.

La acción antioxidante del ácido ascórbico es multifuncional al inhibir la autooxidación lipídica por varios mecanismos (Fennema, 1993). Entre ellos:

- 1) secuestro del oxígeno singulete.
- 2) reducción de los radicales libres de oxígeno y de carbono con la formación de un radical menos reactivo, el semidehidroascorbato o el ácido 2,3-deshidroascórbico.
- 3) oxidación preferencial del ascorbato, con agotamiento concurrente de oxígeno.
- 4) regeneración de otros antioxidantes, como por reducción del radical tocoferol.

11.11.3 Métodos analíticos para la determinación de ácido ascórbico en los alimentos

Los procedimientos tradicionales incluyen una titulación redox de la muestra con un colorante, como el 2,6-dicloroindofenol, durante la cual, la oxidación del ácido

ascórbico va acompañada de la reducción del indicador redox a su forma incolora. Una limitación de este proceder, es la interferencia de otros agentes reductores y la falta de respuesta del ácido 2,3-deshidroascórbico (Fennema, 1993).

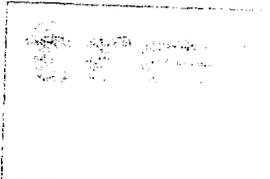
Es de especial interés, que para el monitoreo vitamínico en diversos productos alimenticios así como en el etiquetado nutricional se refiera a la Vitamina C, por ser objeto de la oxidación, y a que es bastante inestable a pH > 5.

Su pérdida a veces se usa como índice de la pérdida de calidad global (Fennema, 1993). En la siguiente Tabla se muestra la estabilidad de diversas vitaminas, incluida la Vitamina C (ácido ascórbico).

Nutriente	Neutro	Ácido	Alcalino	Aire u oxígeno	Luz	Calor	Pérdida máxima por cocción
Vitamina A	E	I	E	I	I	I	40
Ácido ascórbico	I	E	I	I	I	I	100
Biotina	E	E	E	E	E	I	60
Carotenos	E	I	E	I	I	I	30
Colina	E	E	E	I	E	E	5
Vitamina B12	E	E	E	I	I	E	10
Vitamina D	E	E	I	I	I	I	40
Folato	I	I	I	I	I	I	100
Vitamina K	E	I	I	E	I	E	5
Niacina	E	E	E	E	E	E	75
Ácido pantoténico	E	I	I	E	E	I	50
Vitamina b6	E	E	E	E	I	I	40
Riboflavina	E	E	I	E	I	I	75
Tiamina	I	E	I	I	E	I	80

E estable (destrucción sin importancia); I inestable (destrucción significativa).

Tabla II.11.3.1. Resumen de la estabilidad de las vitaminas (Fennema, 1993).



hipótesis y objetivos

Hipótesis. Objetivo general. Objetivos particulares.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Hipótesis

Hipótesis

III.1 Hipótesis

Tanto la degradación de la Vitamina C, como el aumento en la viscosidad en la emulsión serán los parámetros relevantes para poder sugerir una vida de anaquel aproximada. La Vitamina C se deteriora siguiendo una cinética de primer orden y la viscosidad aumenta con el almacenamiento.

III.2 Objetivo general

Proponer la vida de anaquel de una emulsión polimérica a base de caseinato de calcio, para conocer la estabilidad del producto a través del estudio de la evaluación de parámetros físico-químicos en condiciones aceleradas de almacenamiento.

Objetivos

III.2.1 Objetivos particulares

- Evaluar la evolución de los parámetros físicos como el pH, la densidad y la viscosidad en función del tiempo y la temperatura (temperatura ambiente y 40°C).
- Evaluar la evolución de los parámetros químicos como la degradación de Vitamina C (Acido ascórbico) en función del tiempo y la temperatura (temperatura ambiente y 40°C).



partexperimental

Metodología. Formulación. Diagrama general
de la investigación. Diseño de experimentos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

IV.1 Metodología

Se estudió una emulsión formulada a base de caseinato de calcio y aceite de maíz, siendo el producto un prototipo piloto de emulsiones lácteas descritas en el Cuadro Básico de Medicamentos, diseñado para Nutrición Enteral. Las metodologías para el monitoreo de cada parámetro físico-químico y las pruebas microbiológicas, se describen en el Apéndice.

Las condiciones de elaboración empleadas para la emulsión fueron 250/50 psi con un homogeneizador de pistón GEA-NIRO Mod. 2652 a 70 °C. El producto formado se somete a esterilización de 121 °C/15 min., en un autoclave vertical de laboratorio.

Los parámetros físico-químicos estudiados se seleccionaron por la influencia de los ingredientes de la formulación (cuadro IV.2) más relevantes para la estabilidad de la emulsión en las condiciones de almacenamiento, éstos son:

- Caseinato de Calcio: por intervenir en el fenómeno de envejecimiento o gelación de la leche (Harwalkar, 1982).
- Aceite de Maíz: por ser susceptible a reacciones de oxidación y ser el componente de la fase oleosa en la emulsión estudiada, y por la posible desestabilización de la emulsión durante las condiciones de almacenamiento empleadas.
- Vitamina C (ácido ascórbico): por ser objeto de la oxidación y la degradación térmica. Su pérdida se usa como índice de la pérdida de calidad global en los alimentos. Además de contar

partexperimental

con especificaciones legales (*Diario Oficial de la Federación 21 de julio de 1997*), que norman la concentración de este nutrimento en este tipo de productos.

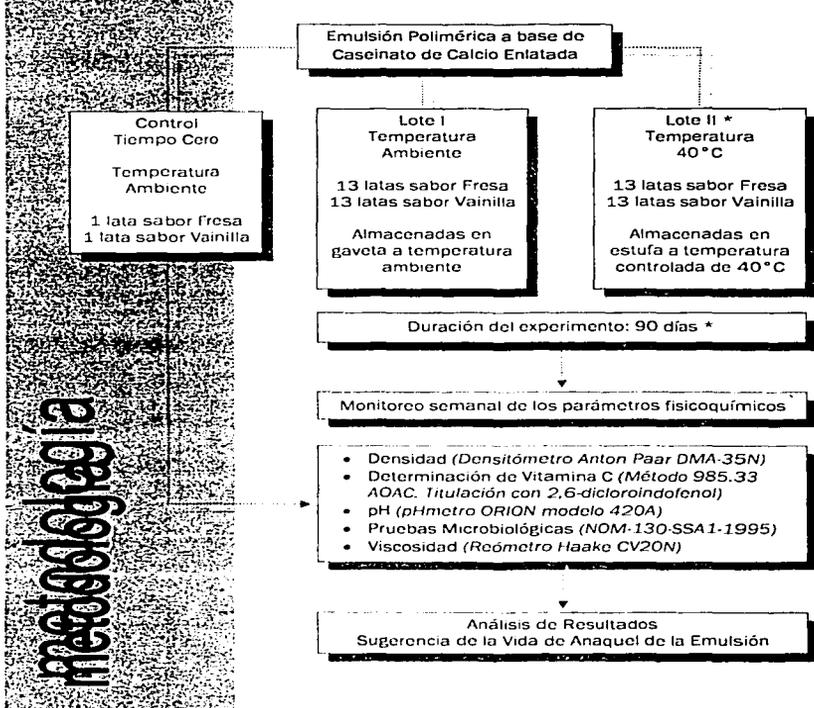
IV.2 Formulación

Ingrediente	% (w/w)
Agua Desionizada	78.38
Maltodextrina ¹	9.00
Caseinato de Calcio ²	4.00
Azúcar glass ³	3.80
Aceite de Maíz ⁴	3.20
Mezcla Minerales ⁵	0.85
Mezcla de Vitaminas ⁶	0.12
Vitamina C (ácido ascórbico) ⁷	0.03
Lecitina de Soya ⁸	0.40
Sabor artificial ¹⁰	0.18
Citrato de Sodio ⁹	0.04

Cuadro IV.2.1. Formulación

^{1,3,8} Arancia, S.A. de C.V.; ² Helm de México, S.A.; ⁴ marca Mazola; ^{5,6,7} Watson Foods; ⁹ Dermet de México, S.A. de C.V.; ¹⁰ Sabor artificial Fresa-WJ-F-024 y sabor artificial Vainilla-WJ-V-011.

IV.3 Diagrama General de la Investigación



* Basado en NOM 073-SSA1-1993 Estabilidad de Medicamentos. Condiciones de almacenamiento de estabilidad acelerada.

IV.4 Diseño de experimentos

Se propuso un diseño factorial de 2 x 2, como lo muestra el siguiente Cuadro, para el estudio en cuestión. Los parámetros que se evaluaron, en función del tiempo y la temperatura (ambiente y 40°C), fueron el pH, la viscosidad, la densidad y la degradación de Vitamina C. La información generada permitió proponer la vida de anaquel como función de la evolución de los parámetros citados.

Muestras	Control	Condiciones Aceleradas
	Temperatura ambiente	Temperatura 40 °C
Sabor Fresa	M ₁ C ₁	M ₁ C ₂
Sabor Vainilla	M ₂ C ₁	M ₂ C ₂

Cuadro IV.4.1. Diseño de experimentos

Los parámetros a evaluar en emulsiones siguiendo la NOM-073-SSA1-1993 *Estabilidad de Medicamentos. Condiciones de almacenamiento de estabilidad acelerada* (ver Cuadro IV.4.4.) son: concentración del fármaco (en este caso, Vitamina C), características organolépticas y viscosidad. La estabilidad se completó con pruebas de pH y de densidad. Eventualmente, se realizaron pruebas microbiológicas según la metodología reportada en el Apéndice.

Condiciones de almacenamiento	Análisis
40°C +/- 2°C a humedad ambiente para formas farmacéuticas líquidas y sólidas	Semanalmente - por 90 días

Cuadro IV.4.2. Condiciones Aceleradas* (NOM-073-SSA1-1993 *Estabilidad de Medicamentos. Condiciones de almacenamiento de estabilidad acelerada*)

Al tratarse de un producto diseñado principalmente para Nutrición Enteral y considerando que en un gran número de situaciones, esta alimentación se da vía sondas gastrointestinales, las características organolépticas no fueron evaluadas de manera formal en este estudio.

Respecto a las pruebas microbiológicas, sólo se realizaron éstas para evaluar si el producto era comercialmente estéril de acuerdo a la NOM Norma Oficial Mexicana NOM-130-SSA1-1995.

A continuación se presentan las condiciones de muestreo (Cuadro IV.4.3.) para los dos lotes preparados según la formulación y proceso previamente descritos. El primer lote fue de sabor Fresa (M₁) y el segundo de sabor Vainilla (M₂). En el citado cuadro, C₁ representa las condiciones t = 90 días y T = temperatura ambiente; C₂ las condiciones t = 90 días y T = 40°C.

Condición	Muestra	Semana													Total	
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		13
C ₁	M ₁	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	27
	M ₂	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
C ₂	M ₁	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	27
	M ₂	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Total		2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	54

Cuadro IV.4.3. Cuadro de Muestreo

Por tratarse de lotes piloto completos, los resultados generados podrán ser estadísticamente extrapolados a niveles reales de producción.



resultados y discusión

Resultados y discusión sobre la evolución de la densidad, pH, viscosidad, degradación de Vitamina C y pruebas microbiológicas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

resultados y discusión

Para dar inicio a este Capítulo, cabe subrayar que, no se presentan especificaciones para este tipo de productos porque no se encuentran disponibles en la literatura o no están determinadas. En otras palabras, si bien existe una formulación típica para dietas poliméricas publicada en el Cuadro Básico de Medicamentos (Diario Oficial de la Federación del 21 de julio de 1997), los parámetros físico-químicos no han sido especificados.

Las especificaciones para la concentración de la Vitamina C son una excepción a lo anteriormente descrito. Para este caso, sí están descritos los límites inferiores y superiores de este principio activo.

Por tal motivo, se sugieren los límites permisibles para cada parámetro fisicoquímico, basados así, en la evolución de los resultados del presente estudio, como en referencias bibliográficas de especificaciones de productos similares, (productos lácteos concentrados y/o evaporados).

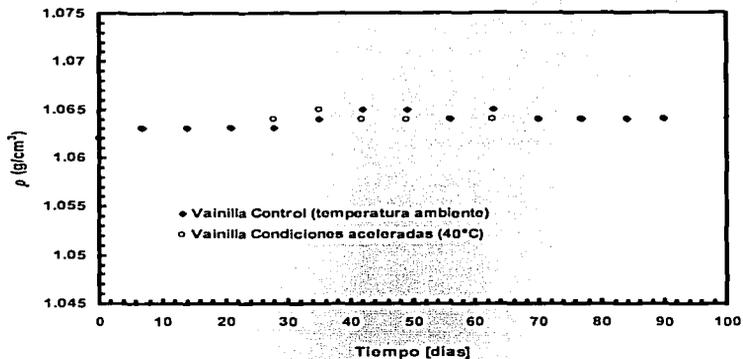
V.1 Resultados y discusión para el monitoreo de Densidad.

En las Gráficas V.1.1. y V.1.2. se muestran los resultados de la evolución de la densidad con la vida de anaquel. Como los datos lo sugieren, prácticamente no hay cambios significativos ni a temperatura ambiente ni en condiciones aceleradas de 40°C.

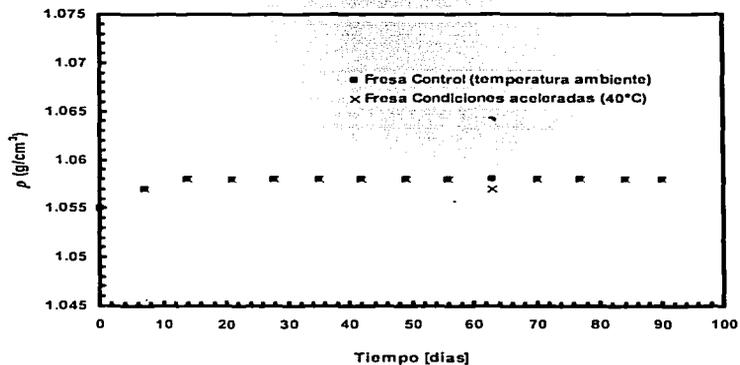
Para varios líquidos, la variación de la densidad con la temperatura ha sido reportada como una función decreciente, ésto es, a medida que la temperatura aumenta, la densidad disminuye (Chang, 1997). Sin embargo, para las dietas poliméricas de estudio, al menos en el rango analizado entre temperatura ambiente (25°C) y 40°C, esta dependencia no es significativa.

Lo anterior puede ser explicado si se considera que el principal componente de estos productos es el agua. En relación con la fracción proteica y de grasa presentes en las formulaciones, las diferencias en densidades, en función de la temperatura, son mínimas (Choi and Okos, 1986), lo que también explica los resultados experimentales de este trabajo.

La diferencia entre los resultados observados entre los dos sabores es mínima, si se considera que se trata de dos lotes diferentes con prácticamente la misma formulación. En otras palabras, se trata de una diferencia de 0.006 g/cm³, entre el promedio para Vainilla de 1.064 g/cm³ y el promedio de Fresa de 1.058 g/cm³, que bien puede explicarse por pequeñas diferencias en el pesado de los ingredientes o durante el proceso de fabricación (mayor o menor evaporación de agua).



Gráfica V.1.1. Efecto de la relación tiempo-temperatura sobre la Densidad en la muestra sabor Vainilla.



Gráfica V.1.2. Efecto de la relación tiempo-temperatura sobre la Densidad en la muestra sabor Fresa.

Para efectos de comparación, la densidad para leche fresca a temperatura ambiente está en el rango 1.027–1.033 g/cm³ (Walstra y Genes, 1987). Por otro lado, la densidad para leche evaporada (según Norma de los E.U. – citada por Walstra y Genes, 1987) a las mismas condiciones de temperatura es de 1.066 g/cm³. En particular, este último valor es muy cercano a los valores obtenidos para las dietas poliméricas de este trabajo.

Finalmente, los resultados de este trabajo sugieren que, la densidad y su evolución con el tiempo de almacenamiento (0-90 días), no son parámetros de relevancia para predecir la vida de anaquel de emulsiones enterales como las formuladas en este trabajo.

V.2 Resultados y discusión para el monitoreo de pH

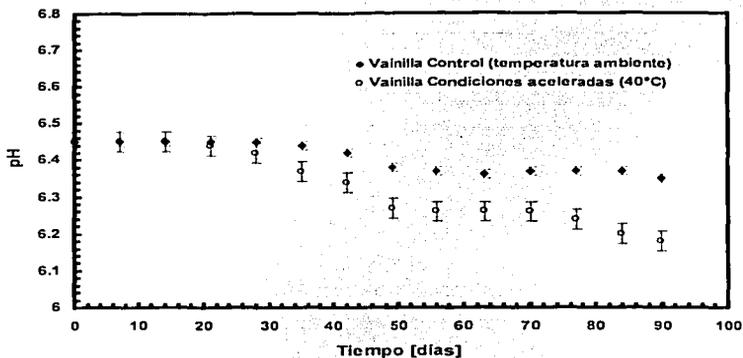
En las Gráficas V.2.1. y V.2.2., se muestran los resultados de la evolución del pH como función de la temperatura. Como los datos lo sugieren, al incrementarse la vida de anaquel se observa una muy ligera disminución en el pH, particularmente a 40°C, donde la diferencia es de alrededor de 0.3 unidades para el caso del sabor Vainilla y de 0.2 unidades para el sabor Fresa.

En condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente, el pH se mantuvo estable dentro de los límites 6.35–6.5, para ambos sabores. Para este último caso, en el Apéndice se muestra que la variación es mínima y no significativa a un $\alpha = 0.05$.

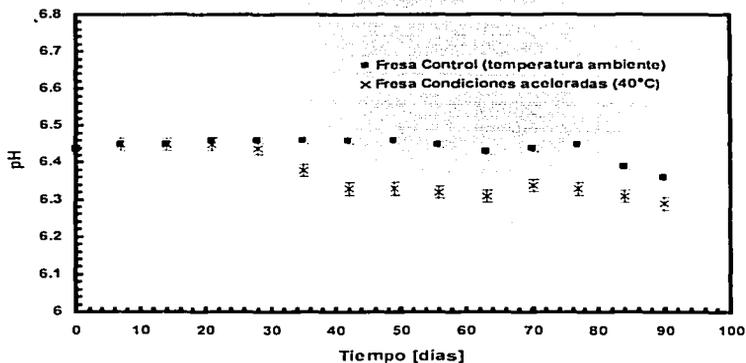
Si bien se ha reportado en la literatura que el pH es una función de la temperatura (Chang, 1997), los resultados de pH obtenidos en estas emulsiones no presentan un deterioro significativo con respecto a la temperatura de almacenamiento.

En el caso particular de la leche, las condiciones de proceso alteran el equilibrio dentro del sistema salino micelar. Por ejemplo, la pasteurización y la esterilización incrementan irreversiblemente la cantidad de fosfato coloidal y consecuentemente el pH se reduce al liberarse protones de los fosfatos (Walstra y Genes, 1987). En este estudio, este efecto de disminución de pH debido a la liberación de protones de los fosfatos no es tan marcado como en el caso de la leche, pero puede explicar los ligeros cambios observados durante el almacenamiento, particularmente a 40°C.

Se debe mencionar que, la ligera disminución del pH no puede ser explicada por actividad microbiológica ya que, si bien es cierto que esta actividad reduce el pH, los niveles de disminución son mucho mayores de los observados en este estudio.



Gráfica V.2.1. Efecto de la relación tiempo-temperatura sobre el pH en la muestra sabor Vainilla.



Gráfica V.2.2. Efecto de la relación tiempo-temperatura sobre el pH en la muestra sabor Fresa.

Adicionalmente, después de 90 días, aún en condiciones de temperatura ambiente, una disminución de pH debido a actividad microbiana sería de tal magnitud que llevaría a las proteínas a su punto isoeléctrico produciendo su precipitación, y el proceso estaría acompañado de olores típicos de putrefacción, fenómenos ambos que no fueron observados en las latas examinadas, inclusive las almacenadas a 40°C por 90 días.

Al igual que la densidad, no existe reportado o normado un rango de pH para este tipo de productos o emulsiones enterales. En este trabajo se obtuvo y mantuvo un rango entre 6.2-6.5 con la formulación y proceso de elaboración propuestos.

Ciertamente, como los demás datos de estabilidad lo confirman mas adelante, en este rango estas emulsiones exhiben una muy buena solubilidad y estabilidad en condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente y aceleradas a 40°C.

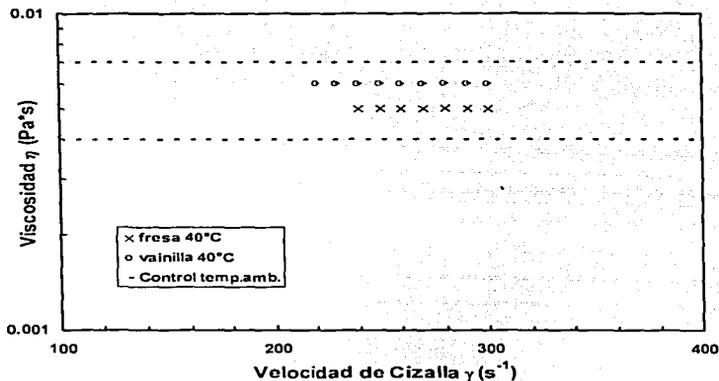
El rango de pH obtenido para estos productos está muy por arriba del punto isoeléctrico de las caseínas, localizado a $\text{pH}=4.6$ (Fenema, 1993). A medida que las caseínas y los caseinatos se acercan a este pH, pierden su solubilidad y su capacidad como agentes emulsificantes, ya que carecen de fuerzas electrostáticas.

Finalmente, respecto a la evolución del pH con el almacenamiento o vida de anaquel, no se observan cambios significativos relevantes para establecer o predecir una vida de anaquel determinada.

Se concluye entonces que, el pH disminuye ligeramente con la temperatura y el tiempo de almacenamiento, pero esta disminución no es significativa para alterar la calidad de los productos estudiados.

V.3 Resultados y discusión para el monitoreo de Viscosidad

En la Gráfica V.3.1. se muestra la evolución de la viscosidad como función de la temperatura y para los dos sabores preparados, hasta 70 días de almacenamiento. Como los datos lo sugieren, en estas condiciones de almacenamiento, la viscosidad prácticamente es una constante, independiente de la velocidad de cizalla. Esto corresponde a un comportamiento del tipo Newtoniano.



Gráfica V.3.1. Efecto de la relación tiempo-temperatura sobre la Viscosidad en ambas muestras a tiempo cero y a 70 días de estudio.

Nota Importante: Debido a fallas en el Reómetro Haake CV20N solamente se presentan los datos de las cuatro muestras a los 70 días de estudio.

Los resultados fluctuaron entre 5 y 6×10^3 Pa*s o bien entre 5-6 cp y prácticamente no se observaron diferencias significativas entre los dos sabores, ni en función del tiempo. Estos resultados sugieren que las emulsiones son estables hasta los 70 días de observación.

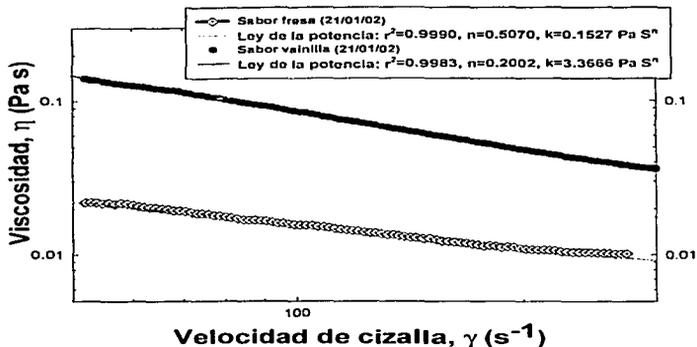
Como se estableció en la hipótesis, había expectativas de que el fenómeno de gelación por envejecimiento se presentara bajo las condiciones de almacenamiento acelerado. Lo anterior se hubiese manifestado a través de un incremento significativo en la viscosidad. Sin embargo, los datos obtenidos hasta los 70 días, no mostraron este fenómeno de gelación por almacenamiento.

Los valores de viscosidad reportados en la Gráfica V.3.1., son cercanos a los reportados para leche entera, de 2.4 cp a 20°C y de 0.8 – 1 cp a 40°C (Walstra y Genes, 1987). Evidentemente, las diferencias entre estos últimos valores con los obtenidos en este trabajo se explican por las diferencias en la composición.

Poco después de concluido el estudio formal de vida de anaquel, se pudo tener acceso nuevamente al reómetro, de manera que se decidió evaluar la viscosidad de muestras que se mantuvieron en vida acelerada hasta los 455 días.

Los resultados de viscosidad para estas muestras se resumen en la Gráfica V.3.2. Como se puede apreciar, entre los 70 días y los 455 días de almacenamiento, se produjo un cambio muy pronunciado en la viscosidad.

Los productos pasaron de un comportamiento newtoniano de relativa baja viscosidad a un comportamiento pseudoplástico, alcanzando viscosidades del orden de 0.15 Pa*s para las bajas velocidades de cizalla.



Gráfica V.3.2. Efecto de la relación tiempo-temperatura sobre la Viscosidad en ambas muestras (condiciones aceleradas) a 455 días de estudio.

Como los datos de la Gráfica lo sugieren, en estas condiciones de almacenamiento sí se presentan diferencias significativas entre los dos sabores. Los resultados del comportamiento pseudoplástico, fueron representados adecuadamente por el modelo de la Ley de la Potencia o modelo de Ostwald-de Waele (Brito et al., 1999).

$$\eta = k \gamma^{n-1}$$

Donde

η = viscosidad [Pa s]

γ = velocidad de cizalla [1/s]

n = índice de flujo [-]

k = índice de consistencia [Pa sⁿ]

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La muestra sabor Vainilla muestra un comportamiento más pseudoplástico (menor valor del índice n) que la muestra sabor Fresa. Por otro lado, respecto al nivel de consistencia, también la muestra sabor Vainilla es más consistente (mayor valor de k) que la de sabor Fresa. Si se considera que ambas muestras fueron formuladas prácticamente con los mismos ingredientes y proceso, sólo cambiando el sabor, es difícil explicar porqué estas diferencias tan marcadas.

La progresión observada de un estado estable a uno inestable, al incrementar el tiempo de almacenamiento, siguiendo cambios en el comportamiento reológico ha sido recientemente reportada en la literatura (Dickinson *et al.*, 2003). Según estos autores, una manifestación de la inestabilidad en muchas emulsiones O/W a partir de caseinato de sodio, son los cambios viscosos, de comportamientos Newtonianos a pseudoplásticos. En este estudio, se observa la misma tendencia, esto es, la emulsión pasa de un comportamiento Newtoniano ($0 < t < 70$ días) hasta un comportamiento pseudoplástico ($t > 70$ días).

Según varios reportes de la literatura científica compilados por Barnes (1994) y Dickinson (1999), las propiedades pseudoplásticas son características de emulsiones con cierto grado de floculación, esta última, siendo signo de desestabilización del sistema coloidal. Así, emulsiones que originalmente son estables y presentan comportamientos Newtonianos como resultado de su formulación, evolucionan hacia comportamientos pseudoplásticos debido a fenómenos de agregación y floculación.

Los resultados de este trabajo muestran la tendencia arriba discutida. Sin duda, los productos estudiados después de 455 días de almacenamiento, presentan signos de inestabilidad, sin embargo, éstos no llegan a una separación total de las fases. Los resultados obtenidos después de 455 días de almacenamiento, sugieren fenómenos de agregación que parecieran similares a los reportados, en el pasado, en el llamado "envejecimiento o añejamiento de la leche". No es claro que este

último fenómeno sea debido únicamente a agregaciones, lo que sí es claro, es que la viscosidad se incrementa con el almacenamiento. En este estudio también se presentan fenómenos de agregación, manifiestos por cambios drásticos en el comportamiento reológico. Que éste último sea o no llamado un fenómeno de envejecimiento o añejamiento, pierde relevancia ante la notable pérdida de calidad del producto. Las causas exactas que explican este fenómeno están aún abiertas a la discusión y presentación de más evidencia experimental en la literatura científica (Dickinson *et al.*, 2003).

Finalmente, para mantener la consistencia en el análisis de todos los datos del presente estudio, los datos de viscosidad a 455 días no se consideran para efectos de proponer una vida de anaquel.

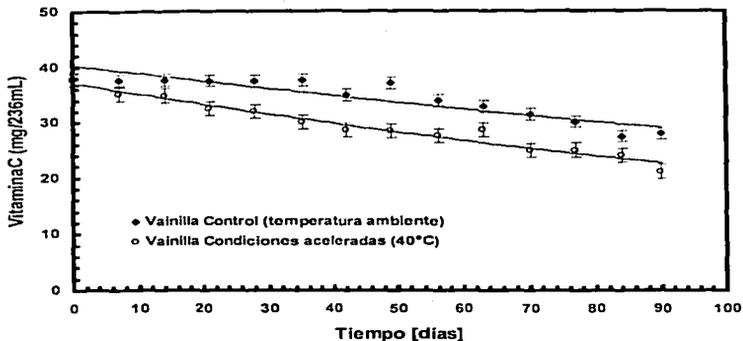
V.4 Resultados y discusión para el monitoreo de la degradación de Vitamina C

Los datos de la cinética de degradación de la Vitamina C se muestran en las Gráficas V.4.1. y V.4.2. Como estos resultados lo sugieren, la Vitamina C muestra una degradación muy significativa como función del tiempo y la temperatura de almacenamiento, como se había planteado en una de las hipótesis del presente trabajo.

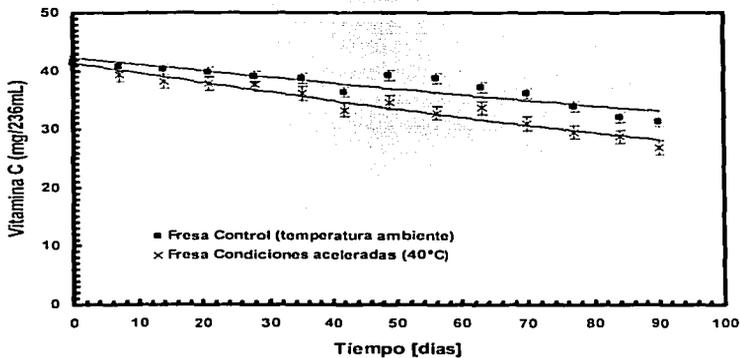
Se debe recordar que, las concentraciones que deben prevalecer en este tipo de productos, sí están normadas (Diario Oficial de la Federación-21 de julio de 1997). En esta normativa, se establece un rango entre 9.7-15.9 mg/100 mL de muestra.

Los valores obtenidos a tiempo cero son de 16.3 mg/100 mL para el caso del sabor Vainilla y de 17.7 mg/100 mL para el sabor Fresa. Estos valores sugieren que el producto inicialmente se encuentra ligeramente por arriba del límite superior de la concentración normada, practica común cuando sé esta consciente de la degradación de esta vitamina. Sin embargo, como las Gráficas V.4.2. y 3 lo muestran respectivamente, la concentración disminuye conforme aumenta el tiempo y la temperatura de almacenamiento.

Con objeto de determinar el tipo de cinética de deterioro que sufre la Vitamina C en este tipo de emulsiones, se analizaron los resultados experimentales mediante los modelos descritos en la Tabla II.3.1., del Capítulo II y los resultados de este análisis se resumen en la Tabla V.4.3.



Gráfica V.4.1. Cinética de degradación de la Vitamina C en la muestra sabor Vainilla.



Gráfica V.4.2. Cinética de degradación de la Vitamina C en la muestra sabor Fresa.

Modelo: Cinética de 1^{er} Orden. Vit C = Ao exp [-k * tiempo]			
Muestra	Ao [mg Vit C/236mL]	K [1/días]	r²
Fresa – T. ambiente	42.08 +/- 0.9324	0.0025 +/- 0.0004	0.7347
Fresa – T. 40°C	41.30 +/- 0.6359	0.004 +/- 0.0003	0.9332
Vainilla – T. ambiente	39.75 +/- 0.8751	0.0034 +/- 0.0005	0.8303
Vainilla – T. 40°C	37.10 +/- 0.6572	0.0054 +/- 0.004	0.9438

Tabla V.4.3. Resultados de la cinética de degradación de la Vitamina C.

Como se puede apreciar, la degradación de la Vitamina C sigue un modelo cinético de 1er. Orden. Las constantes del modelo demuestran que, en el rango de temperatura estudiado, esta cinética es ligeramente dependiente de la temperatura (los valores de la constante K aumentan). Esta dependencia se describe por un modelo tipo Arrhenius descrito por la siguiente ecuación

$$K(T) = K_0 e^{bt}$$

Sin embargo, para poder aplicar este tipo de ecuación se debe contar con resultados experimentales de más de dos temperaturas, ya que con los dos únicos puntos que se manejaron en este estudio, no sería posible que fuera representativo. Dos puntos pueden ser siempre representados por una línea recta.

Finalmente, para poder sugerir una vida de anaquel determinada, se utilizó la ecuación de Primer Orden. Se debe hacer notar que se cuenta con los valores de Ao y

K (para cada muestra) y se tiene el valor del límite inferior permisible de la concentración de la Vitamina C en este tipo de emulsiones, siendo de 23mg/236mL (*Diario Oficial de la Federación 21 de Julio de 1997*). Entonces, se puede estimar el 'tiempo' y a continuación, sustituir en esta ecuación todos los valores antes mencionados.

Así, teniendo en cuenta que se trata de un producto piloto, se tiene que, para la muestra sabor Fresa se sugiere una vida de anaquel de 241.08 días y para la muestra sabor Vainilla se sugiere una vida de anaquel de 160.92 días.

Para la explicación de la degradación de la Vitamina C, (se hace referencia a la Sección II.11 del capítulo de Antecedentes) que menciona que en alimentos envasados y/o enlatados se maneja la posible degradación del ácido ascórbico como una combinación de las rutas oxidativa y anaeróbica, dando como resultado el ácido 2,3-dicetogulurónico, el cual no posee actividad vitamínica C. Entonces, para fines de nutrición enteral y considerando los resultados de este estudio, se tiene que tomar en cuenta que la degradación de la Vitamina C, no alcance valores por debajo de los establecidos en el límite inferior de la norma.

V.5 Resultados y discusión para el monitoreo microbiológico

En la Tabla V.5.1., se muestran los resultados de las pruebas microbiológicas realizadas a los 30, 60 y 90 días de almacenamiento a las condiciones previamente descritas. Como estos resultados lo sugieren, al resultar negativas cada una de las pruebas realizadas, se confía en la eficiencia del proceso de esterilización empleado en la elaboración de estas emulsiones enterales.

Así, estos resultados de las pruebas microbiológicas se confirman con lo señalado por el *PROYECTO de Norma Oficial Mexicana NOM-144-SSA1-1995* que menciona que, para productos lácteos enlatados, las especificaciones microbiológicas deben dar resultado negativo.

ANÁLISIS	30 días		60 días		90 días	
	Fresa	Vainilla	Fresa	Vainilla	Fresa	Vainilla
Microorganismo	Límite (UFC/mL)		Límite (UFC/mL)		Límite (UFC/mL)	
Mesofílicos anaerobios	Negativo		Negativo		Negativo	
Mesofílicos aerobios	Negativo		Negativo		Negativo	
Termofílicos anaerobios	Negativo		Negativo		Negativo	
Termofílicos aerobios	Negativo		Negativo		Negativo	

Tabla V.5.1 Resultados de las pruebas microbiológicas para ambas muestras y condiciones a los 30, 60 y 90 días de estudio.

Los resultados anteriores permiten concluir que, estos productos son confiables y seguros para el consumo humano y no representan un riesgo para la salud pública.



conclusiones

TESIS CON
FALLA DE JUDICEN

VI. Conclusiones

- La variación en la densidad y en el pH, no son parámetros relevantes para poder sugerir la vida de anaquel de la emulsión láctea en estudio.
- Del tiempo cero a los 70 días de estudio, la emulsión se presenta estable, con un comportamiento newtoniano de viscosidad constante.
- Los resultados del monitoreo de la viscosidad, no muestran un aumento en ésta, por lo que no se presenta el fenómeno de Envejecimiento de la leche, en las condiciones de tiempo y temperaturas empleadas hasta los setenta días de estudio.
- A los 455 días de almacenamiento, las muestras presentan cambios drásticos en el comportamiento reológico, pasando de bajas viscosidades newtonianas a mayores viscosidades pseudoplásticas. Estos cambios pueden ser explicadas por fenómenos de agregación de la proteína, en función de la vida de anaquel.
- La degradación de la Vitamina C, sí resulta un parámetro relevante para sugerir la vida de anaquel del producto piloto en estudio; siguiendo una cinética de primer orden, aplicando el modelo: $Vitamina\ C = A_0 \exp[-k \cdot tiempo]$
- Se sugiere una vida de anaquel para la muestra sabor Fresa de 241.08 días y para la muestra sabor Vainilla de 160.92 días. No mostrando diferencia significativa a un $\alpha = 0.05$.



recomendaciones

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VII. Recomendaciones

- Se propone, emplear más de dos temperaturas de almacenamiento, para poder así aplicar la ecuación de Arrhenius y obtener datos que ayuden en estudios posteriores a la predicción de la vida útil a distintas temperaturas.
- Se propone, complementar el estudio y sustentar la vida de anaquel sugerida con pruebas sensoriales. Como se hizo mención a lo largo de estos capítulos, este estudio radicó específicamente en el monitoreo de parámetros físico-químicos, (densidad, pH, viscosidad y degradación de Vitamina C) y pruebas microbiológicas. La segmentación de la emulsión láctea en estudio, se centró principalmente para Nutrición Enteral, así pues, el Análisis Sensorial se propone como un estudio complementario, siempre y cuando, se defina el cambio en la segmentación hacia los consumidores.
- Se propone, para estudios posteriores, complementar el monitoreo de la viscosidad a condiciones de almacenamiento aceleradas, para así obtener datos que representen de los setenta a los noventa días de estudio.
- Se propone complementar el estudio, con la comparación de tecnologías empleadas en la elaboración de la emulsión tipo láctea y su efecto en la vida de anaquel sugerida.

TESIS CON
FALLA DE CUBREN



bibliografía

TESIS CON
FALLA DE CUBREN

VIII. Bibliografía

- American Society for Parenteral and Enteral Nutrition Board of Directors. Guidelines for use of parenteral and enteral nutrition in the adult and pediatric patients. *J Parenteral & Enteral Nutrition*, 17(4), pp. 1-52 suppl., (1993).
- Barnes, H.A., Rheology of Emulsions – A Review, *Colloids and Surfaces A*, 91, pp. 89-95 (1994).
- Brito-De La Fuente, E., Nava, J.A., Medina, L., Ascanio G. and Tanguy, P.A. *Process viscometry of Complex Fluids and Suspensions with helical ribbon agitators*, *The Canadian Journal of Chem. Eng.* Vol. 76, pp. 689-695 (1998).
- Byers, P.M., Jeejeebhoy, K.N. *Enteral and Parenteral Nutrition*. Lippincott-Raven Publishers, 3^a Ed., Philadelphia, PA, pp. 457-473, (1997).
- Chang, R. *Química*. Mc Graw Hill, U.S.A., pp. 450, 639, (1997).
- Charalambous, G., Doxastakis, G. *Food Emulsifiers Chemistry, Technology, Functional Properties and Applications*. Elsevier, The Netherlands, pp. 1-7, (1989).
- Choi, Y. and M.R. Okos. Effects of temperature and composition on the thermal properties of foods, in *Food Engineering and Process Applications, Volume 1, Transport Phenomena*, M. Le Maguer and P. Jelen eds. Elsevier Applied Science Publishers, New York, pp. 93-101, (1986).
- *Diario Oficial de la Federación* 21 de julio de 1997.

- Dickinson, E., Rheology of emulsions - The relationship to structure and stability, In: B.P. Binks (Ed.) Modern Aspects of Emulsion Science, Cambridge, U.K. Royal Society of Chemistry (1999).
- Dickinson, E., Radfor, S., y Golding, M., Stability and rheology of emulsions containing sodium caseinate: combined effects of ionic calcium and non-ionic surfactant, Food Hydrocolloids, 17, pp. 211-220 (2003).
- Ellis, M.J. The methodology of shelf life determination. Blackie Academic & Professional, Glasgow, Great Britain, pp. 27-39, (1994).
- Fellows, P. Tecnología del Proceso de los Alimentos. Principios y Prácticas. Acribia, Zaragoza, España, pp. 90, 122, (1994).
- Fennema, O.R. Química de los Alimentos. Acribia, Zaragoza, España, pp. 550-551, 918, (1993).
- Geankopolis, C.J. Procesos de Transporte y Operaciones Unitarias. CIA Editorial Continental S.A. de C.V., México, pp. 682, 736, (1982).
- Hart, F.L. Análisis Moderno de los Alimentos. Acribia, Zaragoza, España, pp. 53, (1991).
- Harwalkar, V.R., Age Gelation of Sterilized Milks, in: Developments in Dairy Chemistry - Vol. 4, P.F. Fox (ed.), Elsevier Applied Science, N.Y., (1982).
- Howard, L. Enteral and Parenteral Nutrition Therapy. Harrison's Principles of Internal Medicine 14th Ed., McGraw-Hill, pp. 472-480, (1998).

- Koruda, M.J., Guenter, P., Rombeau, J.L. Enteral nutrition in the critically ill. Crit Care Clin, 3 pp. 133-153, (1987).
- Labuza, T.P. Application of chemical kinetics to deterioration of foods. J. Chem. Educ. 61: 348-358, (1994).
- Man, C.M.D. Shelf life Evaluation of Foods. Blackie Academic & Professional, Glasgow, Great Britain, pp. 262-264, (1994).
- Mataix, J., Carazo, E. Nutrición para Educadores. Edición Díaz de Santos S.A. pag 98.
- Montejo, J.C. y Grupo de Trabajo de Metabolismo y Nutrición de la SEMIUC. Nutrición enteral: indicaciones y dietas enterales. Med Intensiva, 18(8), pp. 20-34, (1994).
- Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-1993, Estabilidad de medicamentos.
- Norma Oficial Mexicana NOM-130-SSA1-1995, Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias.
- O'Kennedy, B.T., Cribbin, M. y Kelly, P.M., Stability of sodium caseinates to ethanol, Milchwissenschaft, 56, 12, pp. 680-884 (2001).
- Parsa, M.H., Tabora, F., Al-Sawaf, M., Shoemaker, W.C. Alimentación enteral. Tratado de Medicina Crítica y Terapia Intensiva. Editorial Panamericana, 2da. Ed., Buenos Aires, pp. 1155-1161, (1995).

- Planas, M., Porta, I., Masclans, J.R., Farre, M., Padro, J.B. Complicaciones generales de la nutrición enteral. *Med Intensiva*, 18(8), pp. 410-415, (1994).
- Planas, M. y Grupo de Trabajo de Metabolismo y Nutrición de la SEMIUC. Nutrición enteral: indicaciones y dietas enterales. *Med Intensiva*, 18(8), pp. 30-36, (1994).
- Prentice, J.H. *Dairy Rheology. A concise guide.* VCH Publishers, Inc. New York, pp. 49-50, (1992).
- PROYECTO de Norma Oficial Mexicana NOM-144-SSA1-1995, Bienes y servicios. Leche rehidratada y reconstituida, pasteurizada y ultrapasteurizada. Disposiciones y especificaciones sanitarias.
- Robertson, G.L. *Food Packaging.* Marcel Dekker, New York, pp. 47-49, (1993).
- Román, F.D. *Innovación y Desarrollo Farmacéutico.* Asociación Farmacéutica Mexicana, A. C., México D.F., pp. 83-86, (1990).
- Ruiz, S.S., Esteban, A. *Características de las distintas dietas enterales.* Springer-Verlag Ibérica S.A., 2ª Ed., Barcelona, pp. 280-284, (1994).
- Ruiz, S.S., Esteban, A. *Indicaciones de las diferentes dietas de nutrición enteral. Alimentación enteral en el paciente grave.* Springer-Verlag Ibérica S.A., 2ª Ed., Barcelona, pp. 285-290, (1994).
- Singh, R.P. and Heldman, D.R. Simulation of liquids food quality during storage. *Trans. Am. Soc. Agric. Eng.*, 19(1), pp. 178-184, (1976).

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

- Singh, R.P., Heldman, D.R. and Kirk, J.R. Kinetics of food quality degradation: ascorbic acid oxidation in infant formula during storage. *J. Food Sci.*, 41, pp. 304-308, (1976).
- Singh, R.P. and Wells, J.H. Time-temperature indicators in food inventory management, in 1989 *Food & Beverages Technology International USA*, pp. 195-198, (1989).
- Taoukis, P.S., Labuza, T.P., Saguy, I.S. *Handbook of food deterioration and shelf-life prediction*: CRC Press, New York, pp. 361-403. (1997).
- Torun, B., Menchu, M.T., Elias, L.G. *Recomendaciones Dietéticas Diarias del INCAP*. Publicaciones INCAP, Guatemala, pp. 72-74, (1994).
- Walstra, P., Genes, R. *Química y Física Lactológica*. Acribia, Zaragoza, España, pp. 292-299, (1987).
- Wong, D.W.S. *Química de los Alimentos. Mecanismos y Teoría*. Acribia, Zaragoza, España, pp. 44-46, (1995).
- www.liusa.com/products.htm Lactalis Industrie U.S.A., Inc. (caseinato de calcio, secado por aspersión).

A

metodologías y ANOVA

Determinación de densidad, pH, viscosidad,
Vitamina C. Análisis microbiológico. ANOVA
para los resultados del monitoreo de
densidad, pH y degradación de Vitamina C.

TESIS CGN
FALLA DE ORIGEN

Metodologías

A1. Determinación de Densidad

Definición: Es la masa de una cierta cantidad de material dividida por su volumen; por lo tanto se expresa en Kg/m^3 (unidades del SI) o en g/mL (unidad del c.g.s.).

- Preparar el densitómetro Anton Paar DMA-35N de acuerdo a las instrucciones.
- Medir la densidad de la muestra.
- Anotar los resultados.
- Realizar por triplicado y obtener su promedio.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A2. Determinación de pH

Definición: En una disolución se define como $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$

Método 11.032 de la AOAC

Preparar el potenciómetro de acuerdo a las instrucciones del aparato (pHmetro ORION 420A) y calibrar contra una solución buffer de pH conocido.

- Ajustar el control de temperatura del aparato a la temperatura de la muestra.
- Medir el pH de la muestra.
- Anotar los resultados.
- Realizar por triplicado y obtener su promedio.

A3. Determinación de Viscosidad

Definición: Es la medida de la resistencia de un fluido a fluir. A mayor viscosidad el líquido fluye de modo más lento, la viscosidad en un líquido comúnmente disminuye cuando aumenta la temperatura.

- a) Preparar el réómetro Haake CV20N de acuerdo a las instrucciones del equipo.
- b) Realizar las lecturas de las muestras.
- c) Anotar los resultados.
- d) Realizar por triplicado.

A4. Determinación de Vitamina C

Método 985.33 de la AOAC. Vitamina C (reducción del ácido ascórbico) en formulas infantiles a base de leche y listas para tomarse. Método de titulación con 2,6-dicloroindofenol

1. Principio: El ácido ascórbico se estima por titulación con una reacción de oxidación-reducción colorida con el 2,6-dicloroindofenol. Se adiciona EDTA para eliminar interferencias de hierro y cobre.

2. Reactivos.

2.1 Solución precipitante. Disolver con agitación 15g de hojuelas de HPO_3 glacial en 40mL de ácido acético glacial CH_3COOH y 150mL de agua destilada. Diluir a 250mL con agua y filtrar rápidamente a través de papel Whatman No.541 en un frasco de 500mL.

Disuelva con agitación 0.9g de EDTA en 200mL de agua y diluya a 250mL.
Mezcle volúmenes iguales de HPO_3 y EDTA antes de ser utilizadas.

2.2 Solución estándar de ácido ascórbico (1mg/mL). Pesar lo más exactamente posible 50mg del estándar de referencia USP de ácido ascórbico (almacenado en un desecador lejos de la luz solar). Transferir a un matraz de 50mL y aforar con la solución precipitante. Preparar justamente antes de ser empleada en la valoración de la solución estándar de indofenol.

2.3 Solución estándar de Indofenol. Disuelva 0.0625g de la sal de sodio del 2,6-dicloroindofenol en 50mL de agua dentro de un matraz volumétrico de 250mL, al cual se ha adicionado previamente 0.0525g de NaHCO_3 grado reactivo. Agite vigorosamente y cuando se haya disuelto el colorante aforar a 250mL con agua destilada. Filtrar rápidamente y almacenar en refrigeración.

2.3.1 Valoración de la solución estándar: Transferir tres alícuotas de 2,0mL de la solución de ácido ascórbico (2.2) cada una en un matraz de 50 mL conteniendo 5 mL de solución precipitante. (2.1)

Usando una bureta de 25mL calibrada cada 0,05 mL y con llave de teflón, titular rápidamente con la solución estándar de indofenol hasta que haya un vire a color rosa que persista durante 5 segundos (cada titulación debe requerir aproximadamente 15mL y las titulaciones deben chequearse cada 0.1mL). Titular tres blancos compuestos de 7mL de la solución precipitante mas 15mL de agua. El promedio del blanco es 0.1mL

Cálculo de los equivalentes del colorante:

Ácido ascórbico equivalente a un mL de solución estándar de indofenol = mg ácido ascórbico / (mL colorante - mL blanco) = 2mg / (mL colorante - mL titulación del blanco).

3. Preparación de la muestra de ensayo. Pipetear de 25-30mL de la muestra de ensayo así como también el equivalente en volumen de la solución precipitante (2.1) en un matraz de 125mL. Designar el volumen total como V y el volumen de la alícuota de la muestra como E. Filtrar a través de papel Whatman No. 541. Designar a este filtrado como solución de ensayo.

Determinación. Pipetear tres alícuotas de 10 mL de la solución de ensayo cada una en un matraz Erlenmeyer de 50 mL y titular con la solución estándar de indofenol. De la misma forma titular dos blancos compuestos del mismo volumen de la solución precipitante y agua equivalentes a los mL de la solución estándar de indofenol usado en la titulación de la solución de ensayo. Titular con la solución estándar de indofenol hasta obtener el mismo color del punto final observado en la titulación de la alícuota del estándar.

mg ácido ascórbico / L formula lista para tomar = $(X-B) \times (F/E) \times (V/Y) \times 1000$

Donde:

X = promedio en mL de la titulación de la solución de ensayo.

B = promedio en mL de la titulación del blanco.

F = mg ácido ascórbico equivalentes al mL de la solución estándar de indofenol.

E = volumen de la alícuota de la muestra.

V = volumen de la solución de ensayo.

Y = volumen de la solución de ensayo titulada = 10 mL

1000 = conversión de mL a L

AS. Análisis microbiológico

NOM-130-SSA1-1995, Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias.

a) Preparación de las muestras

Llevar un registro en el laboratorio en donde se anoten:

- Todos los datos importantes para la identificación del producto. Conservar el envase y la etiqueta.
- Los defectos físicos que se observen en el envase como abolladuras, golpes que lo deformen, oxidación, derrames, defectos aparentes de las cerraduras, abombamiento, etcétera.

Según su apariencia externa clasificarlas como sigue:

- Latas planas o normales.
- Abombamiento ligero (Flipper), Grado I. Únicamente uno de los extremos de la lata se encuentra ligeramente abombado, pero puede comprimirse fácilmente.
- Abombamiento elástico (Springer), Grado II. Uno de los extremos se encuentra abombado; al presionarle el extremo opuesto se abulta.
- Hinchazón (Soft swell), Grado III. Ambos extremos se encuentran abombados, pero pueden comprimirse o ceden ligeramente a la presión.
- Hinchazón (Hard swell), Grado IV. Ambos extremos se encuentran abombados y no pueden comprimirse: la lata puede reventar.

b) Preparación de latas o envases normales

- Lavar el envase con un cepillo, usando agua caliente y jabón; enjuagar y dejar secar.
- Destapar con un abridor de latas sanitario estéril.
- En las latas de cierre de anillo o dispositivos abre fácil, abrir por la cara opuesta.

c) Examen de alimentos envasados de baja acidez (pH > a 4.6)

- Inocular aproximadamente 2g o 2mL, en cada uno de 4 tubos con caldo hígado, previamente calentado a 100 °C para expulsar el oxígeno disuelto, y enfriar rápidamente.
- Inocular asimismo, 4 tubos de caldo púrpura de bromocresol.
- Incubar según el siguiente esquema:

Medio de cultivo	Tubos	Temperatura	Tiempo	Investigación
Caldo hígado o CCC	2	35 °C	96h /120h	Mesofílicos anaerobios
Caldo hígado o CCC	2	55 °C	24h /72h	Termofílicos anaerobios
Caldo púrpura de bromocresol	2	35 °C	96h /120h	Mesofílicos aerobios
Caldo púrpura de bromocresol	2	55 °C	24h /48h	Termofílicos aerobios

- Transferir los alimentos líquidos por medio de una pipeta, utilizando un bulbo o propipeta.
- Tener cuidado al manipular el producto, incluso cuando provenga de envases aparentemente normales. La Toxina botulínica puede estar presente.
- Observar los tubos diariamente, hasta el término del tiempo de incubación si no hay crecimiento en todos los tubos, descartar e informar como NEGATIVO.

d) Formulación de medios de cultivo empleados

Caldo de hígado picado o caldo carne cocida (CH o CCC)

FORMULA	
Hígado o carne magra de res	500g
Agua destilada	800mL
Peptona	10g
Fosfato dipotásico	1g
Almidón soluble	1g
pH final	7.0 ± 0.2

- Disolver los ingredientes en el agua, ajustar el pH y envasar en tubos de 22 x 175 mm, en volúmenes de 10 a 12 mL. Esterilizar en autoclave a 121 ± 1 °C por 15 min.

Caldo glucosa púrpura de bromocresol (CGPB)

FORMULA	
Glucosa	10g
Extracto de carne	3g
Peptona	5g
Púrpura de bromocresol (1.6% en etanol)	2mL
Agua destilada	1000mL
pH final	7.0 ± 0.2

- Disolver los ingredientes en el agua, ajustar el pH y envasar en tubos de 22 x 175 mm, en volúmenes de 12 a 15 mL. Esterilizar en autoclave a $121 \pm 1^\circ\text{C}$ por 15 min.

e) Expresión de resultados para Envases alterados, con pH > de 4,6

- Presencia de mesofílicos aerobios: La flora presente en este caso, puede estar constituida por bacilos o ser mixta.
- Presencia de bacilos esporulados: Generalmente consiste en esporas termorresistentes de diferentes especies de bacilos. Regularmente el alimento no presenta alteraciones, ya que las esporas no pueden desarrollarse en condiciones de anaerobiosis; sin embargo, se han encontrado alteraciones producidas por bacilos con esporas resistentes (*Bacillus mesentericus* y *Bacillus subtilis*), en alimentos de acidez media, con tratamiento térmico adecuado, pero con vacío incompleto. También se ha encontrado *Bacillus B nigrificans*, en conservas de betabeles con ennegrecimiento del producto.
- Presencia de flora mixta: La presencia de flora mixta se debe generalmente a la penetración de gérmenes, con posterioridad al proceso térmico, actuando como vehículo el agua de enfriamiento. La flora que se observa puede ser muy variada. La penetración de los gérmenes se debe a defectos en las cerraduras, que permiten el paso de los microorganismos. Las latas generalmente se encuentran infladas y pueden mostrar defectos o derrames. El pH y el aspecto del producto varían.

- Presencia de mesofílicos anaerobios: Consiste de anaerobios del género *Clostridium*, entre los que se encuentran *C. sporogenes*, *C. putrificans*, *C. histolyticum*, *C. bifermentans*, *C. perfringens* y *C. botulinum*; este último es el de mayor importancia sanitaria, por producir una toxina muy potente. Las latas pueden estar parcialmente infladas y el producto parcialmente digerido; el olor es pútrido. El pH aumenta. En este caso, es necesario practicar la prueba en animales, tanto del producto como del filtrado del cultivo, para investigar la presencia de la toxina. Esta prueba la podrá realizar un laboratorio oficialmente acreditado por las autoridades correspondientes.
- Presencia de termofílicos aerobios: Consta de bacilos termofílicos estrictos o facultativos, que poseen esporas muy resistentes al calor (especie tipo *B. stearothermophilus*, causante de la descomposición ácida flat sour). Las latas son planas, sin alteración y con marcado aumento de la acidez del producto; puede haber olor anormal o enturbiamiento del líquido.
- Termofílicos anaerobios: Pertenecen también al género *Clostridium*, con esporas muy resistentes al calor. La especie tipo *C. thermosaccharolyticum*, es un anaerobio estricto no productor de sulfhídrico; las latas se encuentran infladas. Otro tipo de descomposición poco común, puede ser causada por *C. nigrificans*, que produce sulfhídrico con ennegrecimiento del producto.

AG. ANOVA para los resultados del monitoreo de Densidad

Probar la hipótesis de que no existe diferencia entre los resultados obtenidos en la evolución de la densidad (condiciones aceleradas) de las muestras sabor Fresa y Vainilla.

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Vainilla (40 °C)	14	14.892	1.06371429	5.2747E-07
Fresa (40 °C)	14	14.807	1.05764286	7.0879E-07

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu$

$H_a: \text{al menos una sea diferente}$

Análisis de varianza de un factor					
Fuente de variación	g.l.	S.M.	C.M.	F calculado	F teórico
Entre grupos	1	3.5714E-08	3.5714E-08	0.0539419	4.22519975
Dentro de los grupos	26	1.7214E-05	6.6209E-07		
Total	27	1.725E-05			

g.l. Grados de libertad / S.M. Suma de cuadrados / C.M. Cuadrados medios

Decisión: Como F calculado es menor que F teórico, se acepta H_0 ; por lo que se concluye que, los resultados obtenidos en la evolución de la densidad en condiciones aceleradas de las muestras sabor Fresa y Vainilla no son significativamente diferentes al 5% de significación.

A7. ANOVA para los resultados del monitoreo de pH

Probar la hipótesis de que no existe diferencia entre los resultados obtenidos en la evolución del pH (condiciones aceleradas) de las muestras sabor Fresa y Vainilla.

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Vainilla (40 °C)	14	88.59	6.32785714	0.01006429
Fresa (40 °C)	14	89.17	6.36928571	0.00391484

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu$

H_a : al menos una sea diferente

Análisis de varianza de un factor					
Fuente de variación	g.l.	S.M.	C.M.	F calculado	F teórico
Entre grupos	1	0.01201429	0.01201429	1.71889002	4.22519975
Dentro de los grupos	26	0.18172857	0.00698956		
Total	27	0.19374286			

g.l. Grados de libertad / S.M. Suma de cuadrados / C.M. Cuadrados medios

Decisión: Como F calculado es menor que F teórico, se acepta H_0 ; por lo que se concluye que, los resultados obtenidos en la evolución del pH en condiciones aceleradas de las muestras sabor Fresa y Vainilla no son significativamente diferentes al 5% de significación.

AB. ANOVA para los resultados del monitoreo de Degradación de Vitamina C

Probar la hipótesis de que no existe diferencia entre los resultados obtenidos en la evolución de la degradación de la Vitamina C (condiciones aceleradas) de las muestras sabor Fresa y Vainilla.

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Vainilla (40 °C)	14	481.72	34.4085714	18.5732901
Fresa (40 °C)	14	525.33	37.5235714	9.98127088

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu$

H_a : al menos una sea diferente

Análisis de varianza de un factor					
Fuente de variación	g.l.	S.M.	C.M.	F calculado	F teórico
Entre grupos	1	67.922575	67.922575	4.15738885	4.22519975
Dentro de los grupos	26	393.513094	15.135119		
Total	27	461.435669			

g.l. Grados de libertad / S.M. Suma de cuadrados / C.M. Cuadrados medios

Decisión: Como F calculado es menor que F teórico, se acepta H_0 ; por lo que se concluye que, los resultados obtenidos en la evolución de la degradación de la Vitamina C en condiciones aceleradas de las muestras sabor Fresa y Vainilla no son significativamente diferentes al 5% de significación.