

# UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería



**Evaluación de la estabilidad fisicoquímica de una bebida con sabor lista para  
consumir, Envasada en Polietileno de Alta Densidad (HDPE)**

**Ana Carolina Tres López**

Guatemala

2010



**Evaluación de la estabilidad fisicoquímica de una bebida con sabor lista para  
consumir, Envasada en Polietileno de Alta Densidad (HDPE)**

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE  
GUATEMALA

Facultad de Ingeniería

**Evaluación de la estabilidad fisicoquímica de una bebida con sabor lista para  
consumir, Envasada en Polietileno de Alta Densidad (HDPE)**

Trabajo de Graduación presentado por  
Ana Carolina Tres López  
Para optar al grado de  
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos


Guatemala

2010

**“Evaluación de la Estabilidad Físicoquímica de una Bebida con Sabor Lista para Consumir, Envasada en Polietileno de Alta Densidad (HDPE)”.**

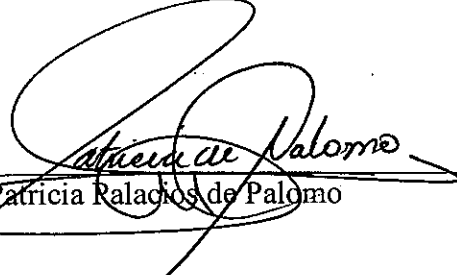
Presentado por:  
Ana Carolina Tres López

**Vo.Bo.:**

(f)   
\_\_\_\_\_  
MAI. Maynor A. Ordoñez Gutiérrez  
Asesor

**Tribunal Examinador:**

(f)   
\_\_\_\_\_  
MAI. Maynor A. Ordoñez Gutiérrez

(f)   
\_\_\_\_\_  
MSc. Patricia Palacios de Palomo

(f)   
\_\_\_\_\_  
MSc. Ana Silvia Colmenares de Ruiz

**Fecha de aprobación: Guatemala 18 de Noviembre de 2010**

## ÍNDICE

|                        |      |
|------------------------|------|
| LISTA DE TABLAS.....   | vi   |
| LISTA DE GRÁFICOS..... | vii  |
| RESUMEN.....           | viii |

### CAPÍTULOS

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| I. INTRODUCCIÓN.....               | 1  |
| II. REVISIÓN DE BIBLIOGRÁFICA..... | 2  |
| III. JUSTIFICACIÓN.....            | 22 |
| IV. OBJETIVOS.....                 | 23 |
| V. HIPÓTESIS.....                  | 24 |
| VI. METODOLOGÍA Y MATERIALES.....  | 25 |
| VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....   | 29 |
| VIII. CONCLUSIONES.....            | 40 |
| IX. RECOMENDACIONES.....           | 41 |
| X. BIBLIOGRAFÍA.....               | 42 |
| XI. APÉNDICE.....                  | 45 |

## LISTA DE TABLAS:

| Tabla  | Página |
|--|--------|
| 1. Resultado de análisis fisicoquímico de bebida con sabor en el tiempo  | 45     |
| 2. Porcentaje de retención del Ácido Ascórbico según el agente quelante utilizado en la bebida.  | 45     |
| 3. Porcentaje de retención del Ácido Ascórbico con y sin EDTA en la bebida, almacenados a 37°C.  | 45     |
| 4. Datos de análisis de varianza para el porcentaje de retención de Ácido Ascórbico en la bebida, con y sin EDTA, almacenados a 37°C   | 45     |
| 5. Porcentaje de retención del Ácido Ascórbico con y sin EDTA evaluando el tipo de agua y tratamiento térmico.   | 46     |
| 6. Análisis de Varianza para el cambio de Ácido Ascórbico en diferentes tipos de agua, con y sin EDTA  | 46     |
| 7. Resultados del porcentaje de retención de Ácido Ascórbico en bebida con sabor, llenada en envasadora industrial, utilizados para determinar el orden de reacción, almacenado a 25°C | 46     |
| 8. Resultados del porcentaje de retención de Ácido Ascórbico en bebida con sabor, llenada en envasadora industrial, utilizados para determinar el orden de reacción, almacenado a 37°C | 47     |
| 9. Resultados del porcentaje de retención de Ácido Ascórbico en bebida con sabor, llenada en envasadora industrial, utilizados para determinar el orden de reacción, almacenado a -5°C | 47     |
| 10. Datos utilizados para la determinación de la ecuación de Arrhenius   | 47     |
| 11. Resultados de evaluación sensorial prueba triangular en bebida con sabor con 100 d de almacenamiento.  | 48     |
| 12. Niveles de significancia de la prueba triangular   | 48     |

## LISTA DE GRÁFICAS:

| Gráfica   | Página |
|---|--------|
| 1. Variación de características de la bebida con sabor a lo largo del tiempo, a 25°C                                    | 31     |
| 2. Comparación del uso de diferentes agentes quelantes en la bebida con sabor, almacenado a 37°C                        | 32     |
| 3. Comparación de porcentaje de retención de Ácido Ascórbico de la bebida con y sin EDTA, a 37°C                        | 33     |
| 4. Porcentaje de retención de Ácido Ascórbico en diferentes tipos de agua y temperaturas de tratamiento, con y sin EDTA | 34     |
| 5. Porcentaje de retención de Ácido Ascórbico vs tiempo, a 25°C. Reacción de Orden 0                                    | 35     |
| 6. Porcentaje de retención de Ácido Ascórbico vs tiempo, a 25°C. Reacción de Orden 1                                    | 35     |
| 7. Porcentaje de retención de Ácido Ascórbico vs tiempo, a 37°C. Reacción de Orden 0                                    | 36     |
| 8. Porcentaje de retención de Ácido Ascórbico vs tiempo, a 37°C. Reacción de Orden 1                                    | 36     |
| 9. Porcentaje de retención de Ácido Ascórbico vs tiempo, a -5°C. Reacción de Orden 0                                    | 37     |
| 10. Porcentaje de retención de Ácido Ascórbico vs tiempo, a -5°C. Reacción de Orden 1                                   | 37     |
| 11. Porcentaje de retención de Ácido Ascórbico a las tres temperaturas, -5, 25 y 37°C                                   | 38     |
| 12. Constante de velocidad de reacción (k) vs temperatura   | 39     |

## RESUMEN

El propósito de este trabajo de investigación es evaluar los efectos de los aditivos adicionados sobre la estabilidad de una bebida con sabor lista para consumir envasada en un recipiente plástico de polietileno de alta densidad (HDPE por sus siglas en inglés). La estabilidad de las bebidas envasadas en este tipo de envase, es muy importante para la industria de bebida, que determina la agilidad que se debe tener la industria para la rotación, distribución y venta de este tipo de productos, y evitar devoluciones y pérdidas.

Como primera etapa de la investigación, se realizó la evaluación de los diferentes elementos de la bebida con sabor envasada en HDPE como el pH, °Brix, Porcentaje de retención de ácido ascórbico y acidez total, a nivel de laboratorio. En esta etapa se pudo determinar que el parámetro de calidad a considerar, en el resto de las evaluaciones, es el ácido ascórbico, que presentó una degradación considerable en la bebida con el tiempo.

En la segunda etapa de la investigación, se realizó la bebida con sabor adicionando dos diferentes aditivos agentes quelantes o secuestrantes, el HMP (hexametilfosfato sódico) y EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), se evaluaron por separado y en conjunto para determinar su eficacia en la estabilidad de la bebida, en donde se obtuvo que el agente quelante que tiene mayor eficacia para la mejora de la estabilidad es el EDTA.

Como tercera etapa, luego de realizar diferentes tipos de evaluaciones, la bebida con sabor que se le adicionó EDTA se envasó en una línea de llenado a nivel industrial de envase HDPE. Esta aplicación será de importancia, ya que la bebida estará expuesta a variables del proceso que no se pueden aplicar a nivel de laboratorio y que pueden afectar a la estabilidad de la bebida. De acuerdo a los resultados se pudo observar una mejora en la estabilidad comparada con la bebida de la primera etapa y se pudo obtener la vida de anaquel de esta bebida por medio de la determinación del orden de reacción, ésta fue de 83 días a 25°C de almacenamiento.

## I. INTRODUCCIÓN

Las bebidas con sabor listas para consumir han aumentado su presencia en el mercado de bebidas suaves y no alcohólicas. Este crecimiento puede deberse a que es una bebida de bajo precio y que satisface el gusto del guatemalteco.

En el mercado se puede encontrar una gran variedad de bebidas listas para consumir y la mayoría está envasada en envase de polietileno de alta densidad conocido por sus siglas en inglés como HDPE. Esto permite que el precio de la bebida no se incremente ya que es un material relativamente de bajo precio. Pero a la vez no es un envase adecuado para utilizarse si se pretende almacenar por más de tres meses a temperatura ambiente. Este tipo de envase tiene características no deseables para un producto alimenticio, es permeable a los gases como el oxígeno.

La vida de un producto se puede ver afectada por distintos factores, como el tipo y calidad de la materia prima utilizada, el tipo de empaque, la temperatura de procesamiento, el oxígeno, la luz, calidad del agua, iones metálicos.

La presencia de oxígeno en productos alimenticios causan degradación por reacciones de oxidación, como resultado se tienen cambios en el producto no deseables. Es por eso que se debe de considerar la adición de algún tipo de antioxidante, para que este proteja a los demás ingredientes contra este ataque, como también se recomienda utilizar otros métodos de envasado, pero que aumentarán el precio al producto final.

Para poder darle estabilidad a la bebida envasada en este tipo de material, es necesario utilizar diferentes tipos de aditivos, además de los antioxidantes, que le dan estabilidad química como microbiológica.

Es importante realizar un estudio de las características fisicoquímicas de los productos alimenticios utilizando algún tipo de parámetro de calidad, ya que con esto se puede determinar la vida de anaquel. Este se utiliza como una forma para garantizar el producto al consumidor y como también para minimizar la incidencia de reclamos.

Este estudio pretende analizar la estabilidad fisicoquímica de una bebida con sabor envasada en plástico HDPE, mejorar la estabilidad utilizando diferentes tipos de aditivos y así poder determinar la vida de anaquel de la bebida envasada en una línea de llenado industrial para este tipo de envase.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Actualmente se le conoce como una bebida suave a una bebida que no contiene alcohol y no son jugos ni néctares de frutas. Históricamente se le conocía como refresco a la bebida derivada de agua gaseosa con sabor a fruta. (Varnam A. H. y J. P. Sutherland, 1994)

Existen una amplia variedad de bebidas, entre éstas se puede encontrar: (Varnam A. H. y J. P. Sutherland, 1994)

- la bebida suave, bebida aromatizada o refresco que se clasifica como un producto líquido listo para tomar que se vende al público, en donde no se incluyen el agua pura, jugos de fruta, leche o preparaciones con leche, té, café, cocoas, etc.
- La siguiente clasificación es la conocida por su nombre en inglés “squash” que es una bebida suave que contiene jugo de fruta con un mínimo de contenido de fruta entre 10 al 25%.
- Luego la clasificación “Crush” que también es un refresco y que contiene jugo de fruta entre 3 a 5%.
- Bebida cítrica triturada que es una bebida suave en donde se procesa la fruta cítrica entera y puede contener de 7 a 10 % de fruta tras su dilución.
- Limonada y otras fruta-das son refrescos que no se ajustan al contenido mínimo de fruta. Las etiquetas de los productos no deben de incluir ilustraciones de fruta.

Para la elaboración de bebidas aromatizadas, se debe de considerar varios elementos como calidad del agua, ingredientes y aditivos (sirope, edulcorantes, acidulantes, preservantes, antioxidantes, emulsificadores, estabilizadores y colorantes entre otros). El ingrediente predominante es el agua que normalmente se ignora y no se controla. (Ashurst, 2005)

A las bebidas aromatizadas se les conoce como “Ready-to-Drink (RTD)” o listas para beber, estos productos están tomando más auge en el mercado. Esto debido a la disponibilidad de envases asépticos, pero que elevan el precio. (Ashurst, 2005)

Usualmente las bebidas aromatizadas son refrescantes y pueden incluir una parte de jugo. Se utiliza entre 10-11% de azúcar y con una adición de ácido de 0.3-0.5% usualmente cítrico. (Ashurst, 2005)

Las bebidas aromatizadas pueden envasarse en diferentes tipos de envase, comunmente se están envasando en envases de llenado aséptico como envases laminados de cartón y aluminio, por el tipo de llenado no se utiliza preservantes químicos.

Otra alternativa de llenado es en envases plásticos, que tienen dificultades en la preservación del producto en comparación a los otros. Este tipo de llenado deja su contenido vulnerable a la degradación oxidativa y al crecimiento de mohos que es necesario el uso de preservantes químicos aún si el producto es llenado asépticamente. (Ashurst, 2005)

El llenado frío de bebidas, que con anterioridad se pasteuriza entre 90-95°C por 20-23 segundos y se enfría para su llenado se debe de considerar el tipo de envase a utilizar. Sí se utiliza un envase que tiene como barrera una capa de aluminio se mantendrá la calidad del producto por 4 a 6 semanas a 6°C. Durante este tiempo el color, vitamina C y propiedades sensoriales se mantentien aceptables. Mientras que sí se utiliza un envase sin capas como aluminio, se vida de anaquel se reduce a 14 días, esto debido a la alta razón de permeabilidad de oxígeno. El contenido de oxígeno es preferible mantenerlo bajo de 5 ppm inmediatamente luego de llenar o bien el uso de gas nitrogeno para llenar el espacio de cabeza. (Ashurst, 1999)

#### A. LOS ADITIVOS

Se define como un aditivo alimentario a las sustancias que como tal no es consumida normalmente como alimento, ni es utilizada como ingrediente básico, con o sin valor nutritivo, se adiciona al alimento por fines tecnológicos en cualquiera de las fases de fabricación, directa o indirectamente. (CODEX STAN 192.1995) Definición elaborada en primeras reuniones de la Comisiòn del Codex Alimentarius en 1963. (Multon, 2000)

De esta definición se puede extraer lo siguiente, el aditivo se adiciona o se añade intencionalmente con un objetivo preciso. Muchas de las industrias las utilizan por las actuales exigencias como accesibilidad o disponibilidad de un producto en cualquier

época del año, precios razonables, facilidad de empleo, facilidad de conservación o como calidad sanitario, calidad organoléptica. (Multon, 2000)

La aplicación de los aditivos alimentarios según el Codex Alimentarius Norma para los aditivos alimentarios debe cumplir con cuatro principios:

1. Inocuidad de los aditivos alimentarios: No presentan riesgos apreciables para la salud de los consumidores en las dosis de uso propuestas, según las pruebas que dispone el JECFA (Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios), como también el aditivo cuenta con ingestión diaria admisible (IDA), y se deberá adicionar al alimento en una cantidad igual o menor a la dosis máxima o constituirá la dosis mínima necesaria para lograr el efecto técnico previsto.
2. Justificación del uso de aditivos: El uso está justificado únicamente si ofrece alguna ventaja, no presenta riesgos apreciables para la salud de los consumidores, no induce a error y cumple una o más de las funciones tecnológicas y los siguientes casos cuando no se puede alcanzar por otros medios, como conservar la calidad nutricional, aumentar la calidad de conservación o estabilidad de un alimento y proporcionar ayuda en la fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, transporte o almacenamiento del alimento entre otros.
3. Buenas Prácticas de Fabricación (BPF): Se deberá limitar a la dosis mínima necesaria para obtener el efecto que se desea. Como también reducir en lo posible la cantidad de aditivo y deberá ser de calidad alimentaria apropiada y se preparará y manipulará como un ingrediente alimentario.
4. Especificaciones de identidad y pureza de los aditivos alimentarios: Deberán ser de calidad alimentaria apropiada y satisfacer las especificaciones de identidad y pureza recomendadas por la Comisión del Codex Alimentarius o por las especificaciones elaboradas por organismos nacionales e internacionales competentes.

El uso de aditivos tiene su interés por tener diferentes funciones, y que de manera más práctica el papel de los aditivos es el de asegurar y mejorar la conservación, las

cualidades organolépticas y el valor nutricional de los alimentos, como también el de responder a las nuevas tendencias del consumo. (Multon, 2000)

## B. ADITIVOS QUE MEJORAN LA CONSERVACIÓN:

1. LOS ANTIOXIDANTES: Definidos por el Código Alimentario como sustancias que pueden utilizarse para impedir o retardar en los alimentos la oxidación catalíticas y procesos de enranciamientos naturales u otro deterioro del flavor que se produzca como consecuencia de la oxidación generados por la acción del aire, luz o indicios, pueden aplicarse solos o mezclados entre sí. (Cubero, *et al* 2002) (Pokorny, *et al* 2005)

Los antioxidantes pueden inhibir o retardar la oxidación de dos formas: captando radicales libres, se denominan antioxidantes primarios o por mecanismos que no estén relacionados con la captación de radicales libres, se denominan antioxidantes secundarios. Los primarios incluyen compuestos fenólicos, tales como la vitamina E, y se destruyen durante el periodo e inducción. Los secundarios operan a través de un número de mecanismos, incluyendo su unión a metales pesados, captación del oxígeno, conversión de hidroperóxidos a especies no radicales, absorción de la radiación UV o desactivación del oxígeno singulete. Usualmente los antioxidantes secundarios solo poseen actividad antioxidante en presencia de un segundo componente minoritario, lo cual puede observarse en el caso de agentes secuestradores, tales como el ácido cítrico, que solo son efectivos en presencia de iones metálicos y agentes reductores tales como el ácido ascórbico que solo son efectivos en presencia de tocoferoles u otros antioxidantes primarios. (Pokorny, *et al* 2005)

a. **ÁCIDO ASCÓRBICO:** El ácido ascórbico suele sintetizarse a partir de glucosa y se encuentra disponible en forma de ácido o como su sal sódica. Las formas isoméricas del ácido ascórbico no tienen actividad como vitamina, pero son activas como agentes sinérgicos. Puede ejercer un efecto beneficioso como antioxidante cuando se añade para la estabilización de bebidas, especialmente los refrescos. En teoría, 11 mg de ácido ascórbico es capaz de eliminar 1 mg de oxígeno disuelto. (Pokorny, *et al* 2005)

El ácido ascórbico es sensible a diferentes tipos de degradación. Entre algunos de los factores que influyen en mecanismos degradativos se encuentran la temperatura, la concentración de sal y azúcar, el pH, el oxígeno, las enzimas, los catalizadores metálicos, la concentración inicial de ácido y la relación ácido ascórbico-ácido dehidroascórbico (forma oxidada). (Pirone *et al*, 2002)

Se puede observar mayor degradación cuando el pH de la matriz se encuentra cercano al  $pK_1=4.04$  a  $25^\circ\text{C}$  del ácido ascórbico. (Pirone *et al*, 2002)

Se ha observado que la oxidación de esta vitamina está en función de muchas variables, entre estos se encuentran: la temperatura, el pH como se había mencionado anteriormente, la disponibilidad de oxígeno, los metales de transición y las radiaciones electromagnéticas, azúcares reductores, algunas sales, la actividad acuosa, peróxidos, enzimas y la presencia de vitaminas como la riboflavina.

De acuerdo al (FDA, 2010a), el ácido ascórbico es considerado como seguro y puede ser adicionado de acuerdo a las buenas prácticas de manufactura.

La oxidación de dos electrones y la disociación de hidrógeno convierten el ácido L-ascórbico en el ácido L-dehidroascórbico (DHAA). El ácido ascórbico es sensible a la oxidación, especialmente cuando la reacción está catalizada por iones metálicos, como  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ . Como también, el calor y la luz aceleran el proceso. (Fennema, 2000)

La velocidad de la degradación oxidativa del ácido ascórbico se considera habitualmente como una reacción de primer orden en relación con la concentración del monoanión ascorbato ( $\text{AH}^-$ ), el oxígeno molecular y los iones metálicos. Las constantes de velocidad obtenidas en presencia de iones metálicos a concentraciones de varias partes por millón son varios órdenes de magnitud superior que las determinadas en disoluciones casi desprovistas de iones metálicos. (Fennema, 2000)

La velocidad de oxidación del ácido ascórbico catalizada por metales es proporcional a la presión parcial del oxígeno presente o disuelto y es independiente de la concentración de oxígeno a presiones parciales. Esto quiere decir, la oxidación del ácido ascórbico catalizada por quelatos metálicos es independiente de la concentración de oxígeno. La potencia de los iones metálicos en la canalización depende del metal implicado, se estado de oxidación y de la presencia de quelantes. La potencia catalítica es así:  $\text{Cu(II)}$  es aproximadamente 80 veces más potente que el  $\text{Fe(III)}$  y el complejo de

este con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) es alrededor de 4 veces más catalítico que el Fe(III) libre. (Fennema, 2000)

2. AGENTES QUELANTES: Los metales pesados se comportan como promotores de la oxidación de los lípidos. La quelación de los iones de metales pesados, formando complejos inactivos, consigue mejorar la estabilidad de aceites. El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) tiene capacidad para quelar metales. (Pokorny, *et al* 2005)

Como también el uso de un agente quelante como el EDTA, se liga a  $\text{Ca}^{++}$  o  $\text{Mg}^{++}$  que son esenciales para el mantenimiento integral de la membrana lipopolisacárido de células gram negativo como métodos de preservación. (Zeuthen y Bogh-Sarensen, 2003)

El EDTA también se le conoce como ácido edético. Todas sus sales son bien conocidos como agentes quelantes, de acuerdo a una invención en bebidas edulcoradas con alitame, es utilizado, para evitar el desarrollo de malos sabores durante el almacenamiento en un nivel entre 10 a 50 ppm. También se evaluó su efecto quelante en muestras que contenían hierro, observaron un efecto positivo en la mayoría de las muestras evaluadas. (Glowaky *et al*, 95)

De acuerdo a Palomino 2009, durante su evaluación utilizaron concentraciones de EDTA entre 0.25 y 0.75 mM en un medio que contiene un sistema generados de radicales libres en pulpa de guayaba, determinaron que esta adición del agente quelante, produce una notable inhibición a la oxidación. Pero en dosis altas de EDTA el efecto inhibitorio de la oxidación se ve disminuida, este fenómeno es evidente cuando utilizan concentraciones de 0.75 mM de EDTA. De acuerdo al Codex Alimentarius Stan 192.1995, sobre aditivos se permite una adición menor a 200 ppm de EDTA.

Otro agente quelante muy utilizados son los polifosfatos, que proporcionan propiedades quelantes durante un período de tiempo relativamente más breve que el EDTA, pero junto con un conservante, puede destruir microorganismos que pueden estar presentes durante el envasado inicial de la bebida. Los polifosfatos sódicos poliméricos de cadena lineal como el hexametáfosfato sódico (HMP), pueden proporcionar mayor estabilidad microbiana, especialmente cuando la dureza del agua utilizada en la formulación es de 61ppm a 200ppm. (Kearney *et al*, 2007) De acuerdo al Codex

Alimentarius Stan 192.1995, sobre aditivos se permite una adición menor a 1000 ppm de HMP.

Una larga cadena de polifosfato exhibe una actividad antibacterial en *Staphylococcus aureus*, aunque otros polifosfatos tienen los mismos valores quelantes.

El Hexametáfosfato (HMP) mostró una acción inhibitoria en el crecimiento del *S. aureus* con una concentración del 0.05%, y tuvo la mayor actividad antibacterial entre los polifosfatos. El valor quelante y el efecto inhibitorio del crecimiento del HMP bajo gradualmente con el calentamiento, pero los patrones difieren. (Matsuoka, 1995)

A 0.05 a 1.0%, HMP no mostró acción bactericida contra células de *S. aureus* en incubación por 8 horas, su acción fue bacteriostática. Por los análisis realizados se sugiere que HMP actúa en la membrana celular y disminuye la tolerancia a la sal del *S. aureus*. (Matsuoka, 1995)

HMP induce la fuga de magnesio de las células hacia el medio e incrementa la fuga de aminoácidos y ácidos nucleicos de bajo peso molecular de las células a agua deionizada. (Matsuoka, 1995)

Se asume que la acción antibacterial del HMP en *S. aureus* fue causada por la pérdida de osmoregulación y la permeabilidad selectiva resultante del daño en la membrana, así como la disminución de la función metabólica causada por la fuga de sustratos. (Matsuoka, 1995)

3. LOS ANTIMICROBIANOS: Los antimicrobianos son compuestos químicos que se adicionan a los alimentos para retardar el crecimiento de microorganismos o bien, eliminarlos. La función es inhibir o inactivar los microorganismos que deterioran y a los patógenos. (Zeuthen y Bogh-Sarensen, 2003) Los preservantes exponen a las bacterias a estrés letal o sub letal. Las bacterias pueden tener diferentes mecanismos para sobrevivir al estrés. Como por ejemplo la formación de endosporas y las bacterias que no forman esporas, tienen cambios significativos fisiológicos que mejoran su capacidad de sobrevivir bajo este tipo de estrés. (Davidson y Harrison, 2002)

Existen diferentes tipos de compuestos aprobados, esto se debe a que muchos de estos tienen aplicaciones limitadas por el pH o componentes del alimento que pueden interactuar. Entre estas interacciones ocurren debido a que la mayoría de los

antimicrobianos son anfifílicos, por lo que se solubilizan o se enlazan a los lípidos o proteínas hidrofóbicas, haciéndolos menos disponibles. (Zeuthen y Bogh-Sarensen, 2003)

a. Influencia de factores del sustrato sobre la actividad de las sustancias conservadoras: La actividad de los conservantes se ve influida por factores físicos y químicos de los alimentos, sustratos en los que se aplican. Así, como la actividad de agua en el alimento ( $a_w$ ), el coeficiente de reparto (coeficiente de solubilidad agua/grasa) debido a que el aditivo disuelto en grasa es ineficaz, sustancias que modifican el pH, o la misma composición del alimento pueden alterar la funcionalidad de un conservante. (Cubero, *et al* 2002)

1) INFLUENCIA DEL pH: Los conservantes, por su estructura química, se disocian en una solución acuosa y su acción conservadora puede ser debida a lo siguiente:

- Los hidrogeniones ( $H^+$ ) liberados en una solución o un alimento que provocan la disminución del pH del medio y por tanto disminuye la viabilidad de microorganismos, especialmente bacterias. (Cubero, *et al* 2002)
- A la parte no disociada de la molécula de conservante, ya que es la sección que tiene la acción microbiana, atraviesa la membrana celular del organismo y desarrolla su acción a nivel enzimático. Este tipo de conservantes suelen utilizarse a concentraciones inferiores al 1%, como por ejemplo el ácido sórbico. Los conservantes que actúan en la forma no disociada son más activos cuanto menor es el valor de pH. Existe una clasificación de los ácidos según su constante de acidez ( $pK_a$ ). Se tiene interés de constantes de acidez baja para que el equilibrio de la reacción se desplace al lado no disociado de la molécula ya que es la parte funcional contra los microorganismos. La acción del conservante está estrechamente ligada al pH del medio en que se encuentra. (Cubero, *et al* 2002) El valor  $pK_a$  de ácidos débiles indica el pH en donde es 1:1 la razón de ácido: anión. Arriba de los valores  $pK$  estos compuestos son relativamente no tóxicos, pero debajo de pH 4.5 son efectivos como preservantes con efectos bacteriostáticos y bacteriocida. (Russell y

Gould, 2003) Se debe de considerar que las formas ácidas de los conservantes son activas pero son insolubles. Por esto generalmente se utilizan las sales sódicas o potásicas que son solubles en medios neutros o ligeramente ácidos. Sí el pH del medio es ácido, las sales se transforman en la forma ácida y se vuelven insolubles. (Cubero, *et al* 2002)

2) INFLUENCIA DEL COEFICIENTE DE REPARTO: El coeficiente de reparto se refiere a la relación entre la solubilidad en grasas y la solubilidad en agua de una sustancia. Este factor es importante en alimentos con alto contenido de grasa. (Cubero, *et al* 2002)

3) INFLUENCIA DE LA ACTIVIDAD DE AGUA: Cuando se añada sustancias que disminuyan la actividad de agua del alimento, la acción de los conservadores se favorece. (Cubero, *et al* 2002)

4) INFLUENCIA DE LAS SUSTANCIAS CONTENIDAS EN EL ALIMENTO: Las sustancias que más alteran la funcionalidad de los conservadores son la sal común, los hidratos de carbono y el alcohol. (Cubero, *et al* 2002)

b. ÁCIDO BENZOICO Y BENZOATOS: Se puede encontrar de forma natural en productos como la canela, el clavo, ciruales y otras frutas.

Presenta una solubilidad del 0.34% en agua a temperatura ambiente. Por su baja solubilidad en agua a temperatura ambiente, generalmente se utiliza la sal derivadas de este ácido como benzoato sódico (solubilidad alrededor del 63% en agua a temperatura ambiente). La constante de disociación del ácido benzoico es de  $6.4 \times 10^{-5}$ , lo que indica su uso en alimentos con pH ácidos menores de 4-4.5. (Cubero, *et al* 2002) En los Estados Unidos, el ácido benzoico y sus sales son reconocidos como seguros GRAS (Generalmente reconocidos como seguros, por sus siglas en inglés). Y se puede adicionar a los alimentos no mayor de 0.1% (Mahindru, 2008)(FDA, 2010b)

Actúa de varias maneras contra los microorganismos en su forma no disociada de la molécula:

- Agente micoestático: actúa sobre diversas enzimas de la célula microbiana, como las que regulan el metabolismo del ácido acético y la fosforilación oxidativa. (Cubero, *et al* 2002)
- Acción a nivel de membrana: interfiriendo la permeabilidad de la pared celular y dando lugar a una acidificación del contenido celular. (Cubero, *et al* 2002)

El ácido benzoico y sus sales actúan frente a hongos y levaduras y en menor grado frente a bacterias. (Cubero, *et al* 2002)

Las concentraciones de inhibición son del orden de 0.05-0.1% de ácido no disociado. No se considera su acción frente a bacterias esporulantes, que se inhibirán a concentraciones de 0.01-0.02%, pero las condiciones de pH a las que se utiliza no suelen crear problemas con este tipo de bacterias y las que podrían causarlo son resistentes al ácido benzoico y sus sales. (Cubero, *et al* 2002) Como algunos tienen una resistencia innata, porque pueden metabolizar el compuesto, mediante la vía en donde el ácido benzoico es convertido en ácido succínico y en acetil Coenzima A. (Davidson y Harrison, 2002)

La acción del ácido benzoico puede verse beneficiada cuando se utiliza en combinación con otros conservadores como los sorbatos y el cloruro de sodio. Suele utilizarse en alimentos y bebidas con un  $\text{pH} < 4 - 4.5$ . (Cubero, *et al* 2002)

El empleo de este conservante está limitado por la sensación que se percibe en las aplicaciones “picante y metálico”. Este problema se ve disminuido en productos ácidos ya que queda suavizado por la sensación de acidez. (Cubero, *et al* 2002)

c. **ÁCIDO SÓRBICO Y SORBATO DE POTASIO:** El ácido sórbico y las sales tienen una amplia actividad contra mohos y levaduras, pero muy poco contra las bacterias. El ácido sórbico es prácticamente no tóxico. (Shibamoto y Bjeldanes, 2009) Las bacterias son parcialmente inhibidas; catalasas positivas son más sensibles que catalasas negativas. La actividad inhibitoria de bacterias depende del pH y decrece

cuando se da un aumento de pH, sin embargo es más efectivo que propionatos y benzoatos. La actividad del ácido sórbico contra organismos que forman micotoxinas es importante, inclusive el sorbato de potasio en mezclas de curado previenen el crecimiento de *Clostridium* y la formación de la toxina *Botulinum*. (Mahindru, 2008)

La utilización de 0.02% de sorbato se ha encontrado efectivo contra el crecimiento de mohos en jaleas y mermeladas, como también efectivo contra el crecimiento de levaduras de bebidas saborizadas. El uso de ácido sórbico y sus sales es permitido en la mayoría de los países, en los Estados Unidos es considerado como GRAS (Reconocido Generalmente como Seguro, en sus siglas en inglés). La organización mundial de la Salud mediante estudios y basados en la seguridad de ésta materia, un IDA de 25 mg/kg peso humano. (Mahindru, 2008)

Según Salinas y La Rosa (2002) el ácido sórbico puede sufrir degradación por una serie de factores entre los cuales pueden ser: Metabolización de ácidos grasos por microorganismos, la auto-oxidación del ácido sórbico, esto puede suceder cuando se almacena con presencia de oxígeno dentro del empaque; otra causa de degradación puede deberse al oscurecimiento no enzimático; a altas temperaturas de procesamiento; tipo de empaque; acidez de la matriz alimenticia, valores cercanos al pKa del ácido sórbico, ya que se puede considerar que las moléculas no disociadas del sórbico son las más susceptibles a la degradación por vía oxidativa en soluciones acuosas.

### C. COLORANTES SINTÉTICOS:

Son los pigmentos obtenidos por medio de síntesis química. Pueden ser de dos tipos: síntesis de moléculas nuevas o síntesis de moléculas iguales a las que se encuentran en el medio natural. Se utilizan mayormente por su bajo precio, además de otras razones como, cubren la gama de colores, tienen más rendimiento con menos cantidad, son estables a cambios de condiciones del medio, entre otros. (Cubero, *et al* 2002)

Los colorantes se utilizan para aumentar el color de los alimentos, ya sea porque el alimento perdió su color por el tratamiento que ha llevado a cabo o para hacer el alimento más agradable y apetitoso para el consumidor. (Cubero, *et al* 2002)

#### D. SABORES ARTIFICIALES:

Los saborizantes es uno de los ingredientes que se adiciona intencionalmente al alimento. Se puede encontrar en concentraciones altas con su primer propósito es impartir sabor. Se adiciona en pequeñas cantidades al alimento por la concentración a la cual se encuentran.

Un saborizante puede ser sustancias saborizantes, preparaciones saborizantes, sabores ahumados, entre otros. Las sustancias saborizantes se comprende como sustancia que tiene propiedades saborizantes, entre este se encuentran las sustancias saborizantes artificiales. Estas sustancias son fundamentales para la aceptabilidad de un alimento. (Gunter, 2007)

#### E. EL pH:

El pH es el logaritmo negativo de la actividad del ion hidrogeno. El pH es un factor importante ya que afecta el crecimiento de los microorganismos porque afecta el metabolismo energético y la actividad enzimática y estabilidad celular. (Zeuthen y Bogh-Sarensen, 2003)

El crecimiento de microorganismos que deterioran o causan intoxicación ocurre en rangos de pH de 4 -8, pero se puede dar el crecimiento de mohos y levaduras fuera de este rango a pH más bajos. El efecto combinado de bajar el pH más la alta concentración de un ácido débil conduce la acidificación del citoplasma, lo que es suficiente para restringir el crecimiento de los microorganismos.

Los mohos y levaduras pueden crecer a pH bajos en soluciones formadas por ácidos fuertes, pero no en la de ácidos débiles, demostrando que los ácidos débiles tienen una acción inhibitoria adicional a la del pH. El *Zygosaccharomyces bailii* es una levadura muy resistente a prevantes de acido débil, pero relativamente sensible a pH bajos. (Russell, 2003)

#### F. CALIDAD DEL AGUA:

Se le conoce como agua dura, aquellas aguas que necesitan grandes cantidades de jabón para generar espuma y producen incrustaciones en las tuberías de agua caliente,

calentadores, calderas y otras unidades en las cuales se incrementa la temperatura del agua. (Romero, 2006)

La dureza del agua se puede clasificar de la siguiente manera:

- 0 – 75 mg/L                      Blanda
- 75 – 150 mg/L                  Moderadamente dura
- 150 -- 300 mg/L                Dura
- >300 mg/L                      Muy dura

La dureza se expresa en mg/L como  $\text{CaCO}_3$ .

Desde el punto de vista sanitario, el agua dura es satisfactoria para el consumo humano como lo es el agua blanda. En la mayor parte de las aguas se considera que la dureza total es aproximadamente igual a la dureza producida por los iones calcio y magnesio. (Romero, 2009)

#### G. POLÍMEROS:

Las propiedades de los plásticos están determinadas por la naturaleza química y física de los polímeros usados en su manufactura. Las propiedades de los polímeros son determinadas por su estructura molecular, peso molecular, grado de cristalinidad y composición química. Estos factores afectan la densidad de los polímeros y las temperaturas a las que sufren transformaciones físicas. (Robertson, 2006)

Clasificación de los polímeros:

Los polímeros son materiales moleculares con la característica única que cada molécula es una larga cadena o una red de unidades repetitivas. Existen dos tipos de polímero en términos de composición química: los homopolímeros y los heteropolímeros. Los primeros se encuentran contruidos por la repetición de una misma unidad y los segundos están contruidos por dos o más diferentes unidades, distribuidas regular o irregularmente a través de la cadena. Además, los polímeros plásticos pueden ser divididos en dos categorías: los que se extienden en una sola dimensión y los que tienen enlaces entre cadenas de manera que el material es en realidad una molécula gigante. El primero grupo son los polímeros lineales y son termoplásticos, se caracterizan por tener moléculas extremadamente largas, como carbonos saturados. Estos polímeros pueden ser moldeados o extruidos y sí su tempertatura aumenta se vuelven muy flexibles y

pueden ser moldeados de cualquier forma. El segundo grupo son los polímeros con enlaces cruzados, son termoestables. Estos no pueden ser remodelados en una nueva forma. Si la temperatura aumenta al punto en que los enlaces cruzados se rompen, entonces también ocurren procesos químicos irreversibles, lo que destruye las propiedades útiles del plástico. Los polímeros termoestables no se derriten al calentarse, sino que se ampolan y revientan. (Robertson, 2006)

1. Los Poliolefinas: es un término común utilizado en la industria de plásticos y se refiere a la familia de plásticos basada en etileno y propileno. Las poliolefinas forman una clase importante de termoplásticos e incluyen polietilenos y polipropilenos de baja y alta densidad. La industria divide a los polietilenos en dos grandes categorías: HDPE (mayor o igual a  $940 \text{ kg/m}^3$ ) y LDPE ( $915$  a  $939 \text{ kg/m}^3$ ). (Robertson, 2006)

La densidad de los polímeros está en función de la composición química, es dependiente del peso individual de las moléculas y en la forma en que se empaquetan entre ellas. Los polímeros hidrocarbónicos no poseen átomos pesados, por lo tanto la masa molecular por unidad de volumen es relativamente baja, por ejemplo polímeros hidrocarbónicos amorfo generalmente tiene una densidad de  $0.86$  a  $1.05$ . (Robertson, 2006)

2. Polietileno de baja densidad, LDPE (low density polietilene): es un polímero de etileno que es un subproducto de la refinación del petróleo. La cristalinidad del LDPE varía entre  $50$  y  $70\%$ , el punto de reblandecimiento depende de la ramificación de la cadena. Regularmente el punto de reblandecimiento está debajo de los  $100^\circ\text{C}$  lo que excluye el uso de vapor para esterilizarlo en ciertas aplicaciones de empaque para alimentos. Tiene excelente resistencia química, particularmente a soluciones ácidas, alcalinas e inorgánicas, pero es sensible a hidrocarbónicos, hidrocarbónicos halogenados, aceites y grasas. Estos compuestos son absorbidos por el LDPE lo que causa que se hinche. (Robertson, 2006)

El LDPE tiene un uso amplio como material de empaque rígido, puede ser moldeado en botellas donde su flexibilidad permite que el contenido se pueda extraer hasta exprimir. También es utilizado en tapas resellables, tubos plegables y una extensa variedad de dispensadores. (Robertson, 2006)

3. Polietileno de alta densidad, HDPE (high density polietilene): es un termoplástico lineal, no polar, que posee una estructura mucho más lineal que LDPE. Tiene hasta 90% de cristalinidad. (Robertson, 2006)

El filme de HDPE es más firme y con dureza que el LDPE. Su punto de reblandecimiento es 121°C y su resistencia a temperaturas bajas es casi igual que el LDPE. La resistencia química del HDPE también es superior a la del LDPE y en particular tiene mejor resistencia a los aceites y grasas. El film ofrece excelente protección contra la humedad y significativamente menos permeabilidad a los gases que el LDPE. El sellado por calor es considerablemente más difícil comparado al LDPE.

La película de HDPE tiene una apariencia traslúcida y blanca y tiende más a competir con el papel que con las películas transparentes. Para ser competitivo contra el papel en términos de precio debe ser muy delgado y por consecuencia la mayoría de películas de HDPE se utilizan solo en grosor de 10 a 12 micras. (Robertson, 2006)

El HDPE es moldeado en botellas para una variedad de aplicaciones, aunque los usos en estas áreas han sido tomados por las botellas de PET que tienen mejores propiedades de barrera que el HDPE. (Robertson, 2006)

De acuerdo al estudio elaborado por M. Van Aardt, *et al*, 2001 utilizando diferentes tipos de envases incluyendo HDPE, evaluó el tipo de protección que este último ofrece. Según sus resultados la leche envasada en HDPE mostró altos niveles de sabores de oxidación al exponer la leche a luz fluorescente (1100 a 1300 Ix) por 18 días a 4°C encontrando que en muestra envasada en PET color ámbar, pero no tenía niveles tan altos como en la muestra envasada en PET claro como también en vidrio, debido a la opacidad del material.

4. Permeabilidad de los polímeros termoplásticos: empaques elaborados por polímeros termoplásticos son permeables en diversos niveles de moléculas pequeñas como los gases, agua de vapor, vapores orgánicos y a otros compuestos de bajo peso molecular.

Hay dos procesos por los cuales los gases y vapores pueden pasar a través de los materiales poliméricos: la primera por un efecto de poro, en donde los gases y vapores fluyen a través de los poros microscópicos, agujeros y grietas en el material. Y la segunda por efecto de solubilidad y difusión, en donde el gas y vapor se disuelven en una

superficie del polímero, se difunde a través del polímero por medio de la gradiente de concentración y se evapora en la otra superficie del polímero, este efecto es una permeabilidad verdadera y se le conoce también como difusión activada. (Robertson, 2006)

Entre los factores de afectan en la pérdida de vitamina C en los jugos, se encuentra la temperatura, oxígeno disuelto y la barrera al oxígeno del material del envase. La selección del material de empaque para jugos de frutas es un punto crucial para la vida de anaquel, pero igualmente aspectos relaciones a la calidad y el costo deben ser considerados. (Ros-Chumillas, *et al* 2007)

#### H. DETERMINACIÓN DE VIDA DE ANAQUEL:

La determinación de la calidad y vida de anaquel en una bebida, como en los jugos de naranja como por ejemplo, es mediante la evolución que tiene la vitamina C durante su almacenamiento. Se puede considerar otros parámetros de calidad como el color y el sabor que son características muy importantes. Por su naturaleza la vitamina C se oxida y se pierde en el jugo durante el periodo de almacenamiento. La razón de la degradación de la vitamina C depende de las condiciones de almacenamiento. (Ros-Chumillas, *et al* 2007)

En la Union Europea, la vida de anaquel de jugos y néctares de frutas y vegetales está establecida que llega a expiración cuando la vitamina C llega al límite de 20mg/100ml. Límites como esto permite tener un parámetro para determinar la vida de anaquel de productos. (Ros-Chumillas, *et al* 2007)

El término vida útil o vida de anaquel puede definirse como el período de tiempo en el que un alimento mantiene características organolépticas aceptables para el consumidor. Puesto que la calidad de cualquier producto alimenticio se ve afectada por los distintos factores ambientales a su alrededor, su vida útil también se verá influenciada por dichos factores. Estos factoes incluyen: temperatura, humedad, nivel de oxígeno y luz. La calidad de las materias primas, los distintos métodos de procesamiento de alimentos y los sistemas de empaque en que son colocados determinan en buena manera los periodos de vida útil de los mismos. (Man, 2002)

1. Métodos para determinación de la Vida de Anaquel: La metodología se basa en la aplicación de ciertos principios de cinética de reacciones respecto de una dependencia de temperatura, utilizando para ello las ecuaciones siguientes:

Orden de reacción (pérdida de calidad)

$$-dA/dt = k[A]^n ; n = 0,1,2,\dots,\infty$$

*Ecuación de Arrhenius:*  $K = K_0 e^{(E_a/RT)}$

2. Cinética de Reacción: La pérdida de calidad en la mayoría de los alimentos puede representarse por la ecuación matemática que sigue:

$$\frac{dA}{d\theta} = kA^n \quad (1)$$

Donde:  $A$  = el factor de calidad medido

$\theta$  = tiempo

$k$  = una constante que depende de la temperatura

$n$  = un factor de potencia llamado orden de reacción

$$\frac{dA}{d\theta} = \text{La razón de cambio de } A \text{ con el tiempo.}$$

Un signo negativo se utiliza si el deterioro es una pérdida de  $A$  y un signo positivo si es por la producción de un producto final indeseable.

Generalmente, los resultados de estudios de vida de anaquel no se obtienen como una razón sino como la cantidad de  $A$  como función con el tiempo. Debido a esto, para obtener la razón de deterioro, se debe transformar la información en un diagrama de cinética.

Basados en la ecuación (1), la mayoría de la literatura en productos alimenticios asume que el valor de  $n = 0$ . Esta suposición, llamada esquema de la reacción de cero orden, implica que la razón de pérdida a una temperatura y actividad de agua constantes, es constante como se muestra en la ecuación (2):

$$-\frac{dA}{d\theta} = k \quad (2)$$

La ecuación (2) indica que el porcentaje de pérdida en la vida de anaquel por día es constante a cierta temperatura constante. Matemáticamente, si la ecuación (2) se integrara como sigue:

$$-\int_{A_o}^{A_e} dA = \int_0^{\theta_s} k d\theta \quad (3)$$

Entonces  $A = A_o - k\theta$  (4)

Ó  $A_e = A_o - k\theta_s$  (5)

Donde  $A_o$  = valor inicial de calidad

$A$  = cantidad remanente después de un tiempo  $\theta$

$A_e$  = valor de  $A$  al final de la vida de anaquel (puede ser cero u otro valor definido)

$\theta_s$  = vida de anaquel en días, meses, años, etc.

En muchos casos,  $A$  no es un valor cuantificable o medible y se basa únicamente en un panel de evaluación sensorial. En este caso,  $A_o$  se asume ser 100% de calidad y  $A_e$  es la calidad justa aceptable. La razón de deterioro o la constante de reacción serían:

$$k = \frac{100\%}{\theta_s} = \% \text{ constante por día} \quad (6)$$

El mayor problema en la evaluación de la vida de anaquel es verificar que realmente  $n=0$ , para que las ecuaciones (4), (5) o (6) puedan utilizarse.

Se debe observar que la vida de anaquel no es una función del tiempo, sino que es función de las condiciones ambientales y de la cantidad de pérdida en la calidad que puede permitirse. El problema es que la distribución de los alimentos se lleva a cabo a temperaturas variables, por lo que la información se debe recolectar a diversas temperaturas para que sean útiles los datos. (Man, 2002)

La vida de anaquel, en muchos casos, no sigue una razón constante simple de degradación. De hecho, el valor de  $n$  puede ir, para muchas reacciones, desde cero hasta cualquier valor fraccional o valor entero hasta 2. Muchos alimentos que no se deterioran por una reacción de orden cero, siguen un patrón donde  $n=1$ , que resulta en una disminución en la razón de pérdida a medida que la calidad disminuye. Esto no significa que la vida de anaquel de alimentos que siguen este esquema es más prolongada que aquellos con una razón constante, debido a que el valor de la constante  $k$  es diferente. Matemáticamente, para  $n=1$  o una reacción de primer orden, la razón de pérdida es:

$$-\frac{dA}{d\theta} = kA^1 \quad (7)$$

Por lo tanto, la razón de pérdida de calidad depende directamente de la cantidad remanente. En otras palabras, a medida que la calidad ( $A$ ) disminuye, la razón de pérdida de calidad se retarda. La integración de la ecuación (7) nos da:

$$\int_{A_o}^A dA = -\int_0^{\theta_s} k d\theta \quad (8)$$

$$\ln \frac{A}{A_o} = -k\theta \quad (9)$$

$$\ln \frac{Ae}{A_o} = -k\theta_s \quad (10)$$

Donde  $A$  = cantidad restante a un tiempo  $\theta$   
 $Ae$  = cantidad restante al final de la vida de anaquel  $\theta_s$  ( $\theta_o = 0$ )  
 $k$  = constante de reacción en unidades de tiempo recíprocas

Un gráfico de la cantidad restante contra el tiempo no da una línea recta. Es por esto que es importante conocer el orden de reacción que se lleva a cabo durante la pérdida de calidad en los alimentos. (Man, 2002)

### III. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad existen muchas marcas y variedades de bebidas con sabor en el mercado, muchas de las cuales tienen una vida de anaquel muy cortas y otras que mencionan o declaran que contienen vitaminas, como la vitamina C, pero al realizar una evaluación de cumplimiento, de acuerdo a registros de una empresa de bebidas de 5 productos 1 producto cumple con lo que declara en la etiqueta.

Muchos de los productos o bebidas saborizadas envasadas en plástico de polietileno de alta densidad (HDPE por sus siglas en inglés), sufren cambios negativos. Entre estos cambios se encuentran: la pérdida de vitaminas, sabor, y color. Esto es causado por la permeabilidad a los gases que tiene este material. Los productores de bebidas, utilizan este material por su bajo costo, lo que permite tener productos de bajo precio que pueden ser adquiridos por la mayoría de la población. Además, el material utilizado como tapadera en este tipo de envases, en su mayoría, utilizan el plástico de polietileno de baja densidad (LDPE por sus siglas en inglés), que tiene mayor permeabilidad a los gases que el HDPE y que es un plástico ligeramente rígido lo que no permite un sello confiable como se desearía.

Actualmente se tiene una amplia gama de aditivos que se pueden utilizar en las bebidas saborizadas y que permiten darle mayor estabilidad. El uso efectivo de estos aditivos permite este objetivo. Por lo tanto se desarrollará una bebida con ingredientes similares a los utilizados en productos ya existentes en el mercado y evaluar qué ingredientes se deterioran en el tiempo mediante evaluaciones fisicoquímicas y así poder determinar qué aditivos son clave para lograr una mayor estabilidad en el producto.

Con esto se pretende mejorar la estabilidad de la bebida saborizada y poder dar al cliente, productos que cumplan con todas las características que él espera y que se declaran en la etiqueta.

## IV. OBJETIVOS

### A. GENERAL:

- Evaluación de la estabilidad de la bebida con sabor, utilizando diferentes tipos de aditivos para alcanzar una mayor estabilidad.

### B. ESPECÍFICOS:

- Establecer que ingredientes se ven afectados en la bebida saborizada envasada en plástico de polietileno de alta densidad (HDPE, por sus siglas en inglés).
- Evaluar que aditivo se adicionará, para mejorar la estabilidad de la bebida saborizada envasada en plástico HDPE.
- Evaluar la estabilidad fisicoquímica vs tiempo, de la bebida con sabor desarrollada, utilizando una línea de envasado industrial y determinar la vida de anaquel.

## **V. HIPÓTESIS:**

- El ácido ascórbico se puede utilizar como parámetro de calidad para la bebida con sabor envasada en polietileno de alta densidad HDPE.
- El uso de EDTA como agente quelante mejora la estabilidad en las bebidas con sabor, listas para consumir envasada en polietileno de alta densidad HDPE.

## VI. METODOLOGÍA Y MATERIALES

- A. Desarrollo de una bebida con sabor, utilizando ingredientes similares a los que se encuentran en las bebidas que actualmente se comercializan.
1. Bebida se envasó en plástico HDPE a temperatura ambiente en la línea de llenado o envasado industrial.
  2. Se almacenaron las muestras a temperatura ambiente 25°C.
  3. Se realizó análisis fisicoquímicos a las muestras, cada semana por 5 semanas.
- B. Evaluación de las propiedades fisicoquímicas versus el tiempo de la bebida, para determinar cuales se ven afectadas al utilizar envases permeables a los gases como el HDPE.
1. Se realizaron los siguientes análisis fisicoquímicos:
    - a. valor de pH,
    - b. porcentaje de acidez como % de ácido cítrico por titulación
    - c. sólidos solubles como °brix.
    - d. ácido ascórbico en mg/100 ml, por yodometría.
  2. Análisis de los resultados: Tabulación de datos versus tiempo en gráfica lineal para determinar qué parámetros se ven afectados o son los más susceptibles.
- C. Modificación de receta de la bebida con sabor utilizando ingredientes como HMP y EDTA, agentes quelantes, con el objetivo de mejorar el % de retención de ácido ascórbico.
- D. Se evaluó sí el tipo de agua utilizada afecta en el % de retención de ácido ascórbico. Se utilizará agua purificada por planta de tratamiento, agua embotellada y agua destilada. Al igual se evaluó la temperatura de pasteurización de 84°C y 94°C.
1. Se envasó en plástico HDPE y se almacenaron a 37°C.
  2. Se analizaron los datos por medio de análisis de varianza utilizando el programa Analisis Toolpak de Microsoft Office Excel 2003.
  3. Se graficaron los datos en gráfica de barras.
  4. La bebida con receta modificada, es decir, adicionando el agente secuestrante que mejor efecto en la estabilidad presentó, se envasó en la línea de llenado industrial con envase plástico HDPE.

- E. La bebida con sabor se hace pasar por un pasteurizador de placas y se calienta por 73 seg @ 91-94°C, se enfría de 23-27°C y se llena en los envases HDPE.
1. Las muestras se almacenaron a tres diferentes temperaturas -5°C, ambiente 25°C y 37°C.
  2. Se evaluó versus el tiempo el % de retención de ácido ascórbico, a las tres temperaturas
- F. Determinación del orden de reacción: para cada temperatura de almacenamiento: se graficó el % de retención de ácido ascórbico vrs el tiempo transcurrido, para las tres temperaturas estudiadas.
- G. Ecuación de Arrhenius: de las pendientes obtenidas en cada una de las gráficas anteriores se realizó un gráfico de Arrhenius en donde se relaciona la temperatura con la constante de velocidad de reacción.
- H. Evaluación del sabor:
1. Luego de 100 días de haberse llenado la bebida con sabor en la línea industrial, se evaluó con 22 panelistas entrenados si existe un cambio en el perfil de sabor mediante una prueba triangular.
    - a. Muestras almacenadas a temperatura ambiente 25°C, se utilizó como prueba.
    - b. Muestra almacenada a temperatura de congelación -5°C se utilizó como la muestra referencia, se colocó la muestra en los vasos a 25°C.
    - c. Entre cada muestra se le indicó al panelista enjuagar la boca con agua.
    - d. Se analizaron los datos utilizando la tabla # 12, Niveles de significancia de la prueba triangular, donde el conteo de resultados acertados debe ser mayor al número indicado para el total de los 22 panelistas, a un nivel de confianza del 95%.

I. Métodos de determinación de características fisicoquímicas:

1. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES COMO °BRIX:

a. Equipo y accesorios:

- Refractómetro digital, escala 0 a 80 (marca Mettler Toledo, modelo 30PX)
- Agua desmineralizada
- Pizeta plástica
- Papel limpia-lentes kimwipes
- Alcohol

2. DETERMINACIÓN DE PORCENTAJE DE ACIDEZ (AOAC, 940.15a)

a. Equipo y accesorios:

- Erlenmeyer
- Pipeta graduada de 5 ml
- Fenolftaleína 1%
- Bureta graduada de 25 ml
- Hidróxido de sodio 0.1 N.
- Alcohol etílico (etanol al 95%)
- Agua desmineralizada

b. Procedimiento:

- i. Pesar 5 ml de muestra en un vaso
- ii. Disolver con aproximadamente 50 ml de agua desmineralizada.
- iii. Adicionar 3 gotas de fenolftaleína al 1 %
- iv. Titular con hidróxido de sodio 0.1 N hasta que la solución incolora, vire a color rosado.
- v. Anotar resultado.

c. Cálculo de resultado:

- i. Para obtener el porcentaje de acidez, multiplicar los mililitros utilizados de hidróxido de sodio, por el factor

Porcentaje de ácido cítrico = mL utilizados de Hidróxido de sodio X factor (0.1280)

factor ácido cítrico (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>):

$$\frac{100}{100 \cdot 5 \text{ ml sol}} * \frac{0.1 \text{ mol NaOH}}{1000 \text{ ml sol NaOH}} * \frac{1 \text{ mol C}_6\text{H}_8\text{O}_7}{3 \text{ mol NaOH}} * \frac{192.13 \text{ g C}_6\text{H}_8\text{O}_7}{1 \text{ mol C}_6\text{H}_8\text{O}_7} = 0.128 \frac{\text{g C}_6\text{H}_8\text{O}_7}{100 \text{ ml sol} \cdot \text{ml sol NaOH}}$$

### 3. DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO POR YODOMETRÍA:

a. Equipo y accesorios:

- Erlenmeyer
- Probeta graduada de 50 ml
- Bureta graduada de 25 ml
- Pipeta graduada de 5 ml
- Magneto y agitar magnético
- Yodo 0.1 N
- Almidón 1%
- Ácido sulfúrico 10%
- Agua desmineralizada

b. Procedimiento:

- i. Medir 50 ml de muestra
- ii. Agregar 25 ml de ácido sulfúrico 10% y agitar con agitador magnético constantemente.
- iii. Agregarle 2 ml de almidón
- iv. Titular con yodo 0.1 N, hasta que el color torne a azul
- v. Anotar dato

c. Cálculo de resultado:

% de ácido ascórbico (C) = mililitros yodo utilizados \* factor 17.613 %

$$\frac{1 \text{ ml I}_2}{50 \text{ ml}} * \frac{0.1 \text{ eq I}_2}{1000 \text{ ml I}_2} * \frac{1 \text{ eq C}_6\text{H}_8\text{O}_6}{1 \text{ eq I}_2} * \frac{176.13 \text{ C}_6\text{H}_8\text{O}_6}{2 \text{ eq C}_6\text{H}_8\text{O}_6} * \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} * 100\% = 17.613 \%$$

% de retención de ácido ascórbico =  $\frac{C}{C_0} * 100 \%$

C<sub>0</sub>

### 4. DETERMINACIÓN DE PH:

- a. Medición de pH de la solución con potenciómetro (WTW SERIE INOLAB)

## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

El uso de envases de polietileno de alta densidad (HDPE) en la industria alimentaria, sigue siendo la opción número uno para el envasado mayormente de bebidas con sabor, leche e incluso jugos, estos últimos almacenados bajo refrigeración. Esto es debido a su bajo costo y alta disponibilidad. Pero, por las características propias del material, no permite que el producto o bebida permanezca mucho tiempo en el anaquel de venta. El material HDPE tiene alta permeabilidad a los gases, por lo que éste contenga estará susceptible a reacciones de degradación como la oxidación de los ingredientes que la componen.



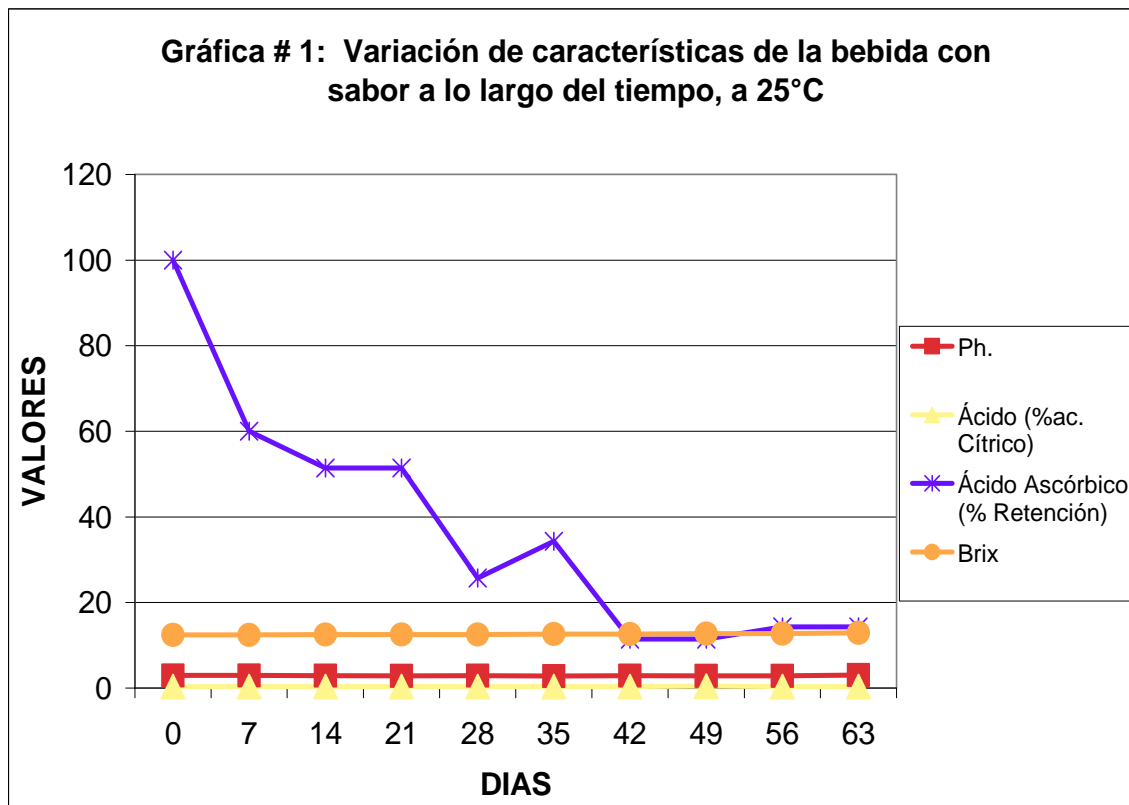
Envase de HDPE.

Con la bebida desarrollada y envasada en la línea de producción, se pretende envasar en una línea de llenado de envases HDPE, en donde el llenado se realiza en frío temperaturas entre 23-25°C, lo cual en el espacio libre entre la tapa y la bebida llamado espacio de cabeza se queda aire atrapado y este no es reemplazado con ningún tipo de gas inerte. En este tipo de bebidas listas para beber se tiene el riesgo de crecimiento microbiano por la alta actividad acuosa de acuerdo a Alyce *et al*, 2005. Teniendo en cuenta esto, en la formulación de la bebida se utilizaron ingredientes como ácidos orgánicos con función acidificante y reguladores de acidez, preservantes químicos como sorbato de potasio y benzoato de sodio cumpliendo con el límite permitido de uso de acuerdo al CODEX STAN 192-1995 de aditivos, además se utilizó el azúcar como

edulcorante, todos estos ingredientes ayudan en la preservación de la bebida, como tecnología de obstáculos, además de impartir características propias al producto como dulzor y acidez. La dosificación utilizada de los aditivos como los preservantes en esta bebida, es de acuerdo a lo utilizado en otras bebidas desarrolladas por la empresa, en donde se realizó el llenado de la bebida con sabor, y que según su historial de control de crecimiento de microorganismos, no se ha detectado crecimiento durante el periodo de 90 días de vida que se le da en el anaquel a sus bebidas. Además se puede observar en la Tabla # 1 Apéndice, que los valores de °Brix, pH y la acidez total no tienen variación en el tiempo lo que puede indicar que no hay crecimiento de microorganismos.

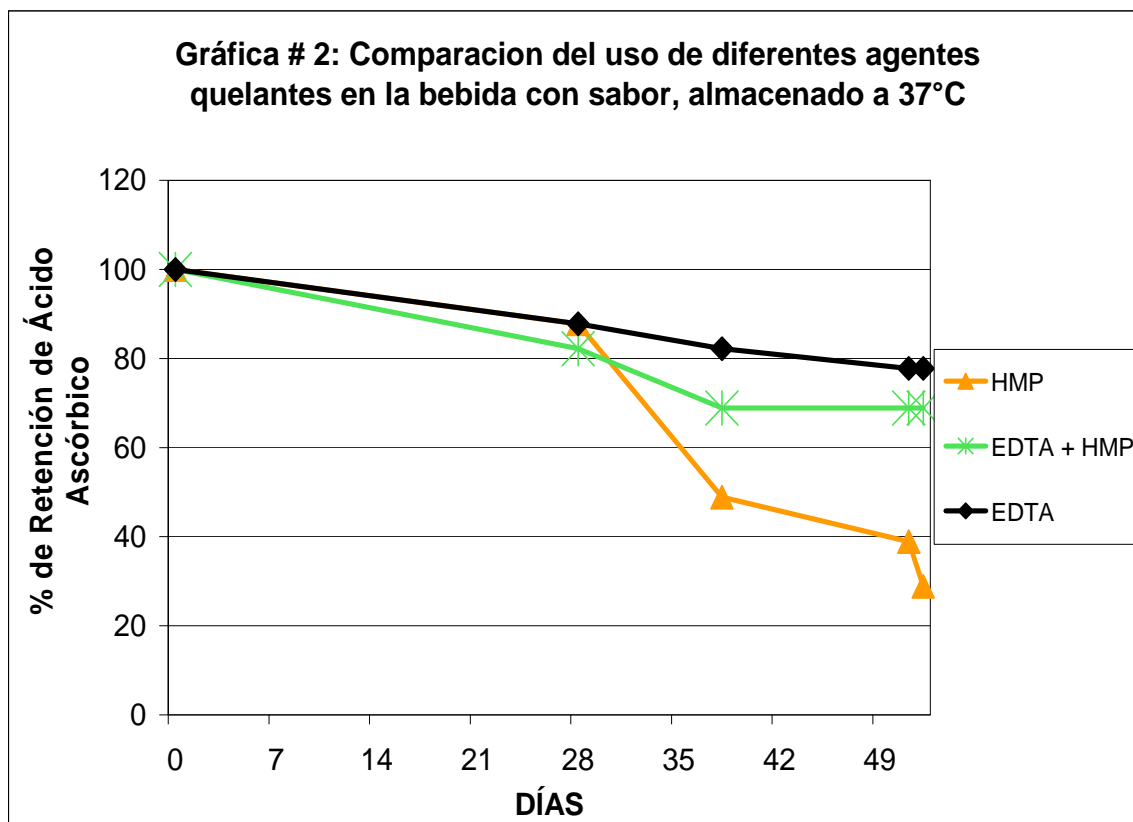
Con el desarrollo de la bebida, se consideró que debía cumplir un mínimo de 90 días de vida en el anaquel. Como primer punto de partida se realizó la formulación de la bebida y se envasó en la línea de llenado industrial. Se evaluaron las características fisicoquímicas semanalmente, para conocer su comportamiento en el tiempo y conocer cual es que tiene una variación relativamente alta.

De acuerdo a los resultados obtenidos de la medición de las características fisicoquímicas de la bebida con sabor, el ingrediente que tuvo más variación en el tiempo fue el ácido ascórbico, reduciendo su concentración rápidamente como se puede observar en la Gráfica #1. Mediante este análisis se determinó que el ácido ascórbico es el parámetro de calidad a evaluar y mejorar en este estudio. La intención de utilizar ácido ascórbico en la formulación de la bebida con sabor es para que desempeñe dos funciones, la función como Vitamina C y poder declararlo en la etiqueta nutricional y la de antioxidante que proteja a los ingredientes contra la oxidación, permitiéndose oxidar primero que otros ingredientes susceptibles como colorantes y saborizantes. Para poder cumplir con la primera función, la cantidad de ácido ascórbico en el producto envasado debe ser igual o mayor al 100% de la ingesta diaria recomendada por la FAO/OMS durante toda su vida en el anaquel. Y debido a que es el ingrediente que se degrada rápidamente, y según los resultados obtenidos de este primer muestreo, se decidió aumentar la dosificación de ácido ascórbico en un 100% más.

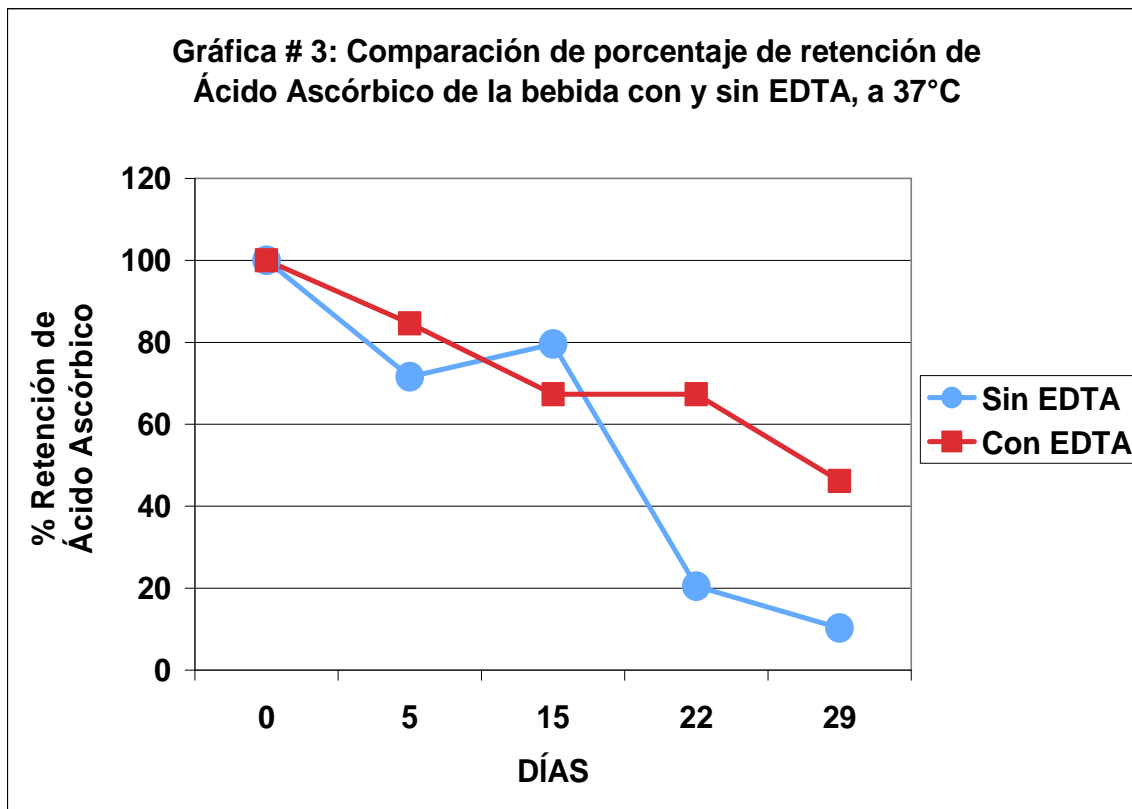


Para determinar qué aditivo es más efectivo para proteger a la bebida contra la oxidación, se consideró que las reacciones de oxidación se aceleran cuando hay presencia de iones metálicos, por lo que se evaluó el uso de agentes quelantes EDTA y HMP, que secuestran a los iones metálicos que pueden estar en el sistema, lo que no les permite participar y acelerar la degradación. Como segundo punto, se formularon tres bebidas, una con adición de HMP, otra con una mezcla de EDTA y HMP y la última con EDTA adicionado. La cantidad de EDTA y HMP adicionados a la bebida se encuentra dentro del límite permitido del Codex Alimentarius CODEX STAN 192-1995, del renglón 14.1.4 de bebidas con sabor. Las muestras se almacenaron a 37°C, para acelerar las reacciones. De acuerdo a la Gráfica # 2, se puede observar que el agente quelante que mejor desempeño tiene es el EDTA, ya que se obtuvo mayor retención de ácido ascórbico. En la evaluación de la mezcla de los agentes quelantes, no presentó un mejor efecto o efecto sinérgico que la aplicación del EDTA solamente. Según la referencia esto se puede deber a que el agente quelante HMP, ejerce mayor función contra los microorganismos (Kearney *et al*, 2007). Por lo que la aplicación del agente quelante

HMP no presentó buenos resultados comparados a la muestra con EDTA. Y como la bebida se le aplicó otro tipo de preservantes la adición de este aditivo no tendría objetivo. De acuerdo con estos resultados el aditivo que mejora la estabilidad fisicoquímica en la bebida es el agente quelante EDTA.

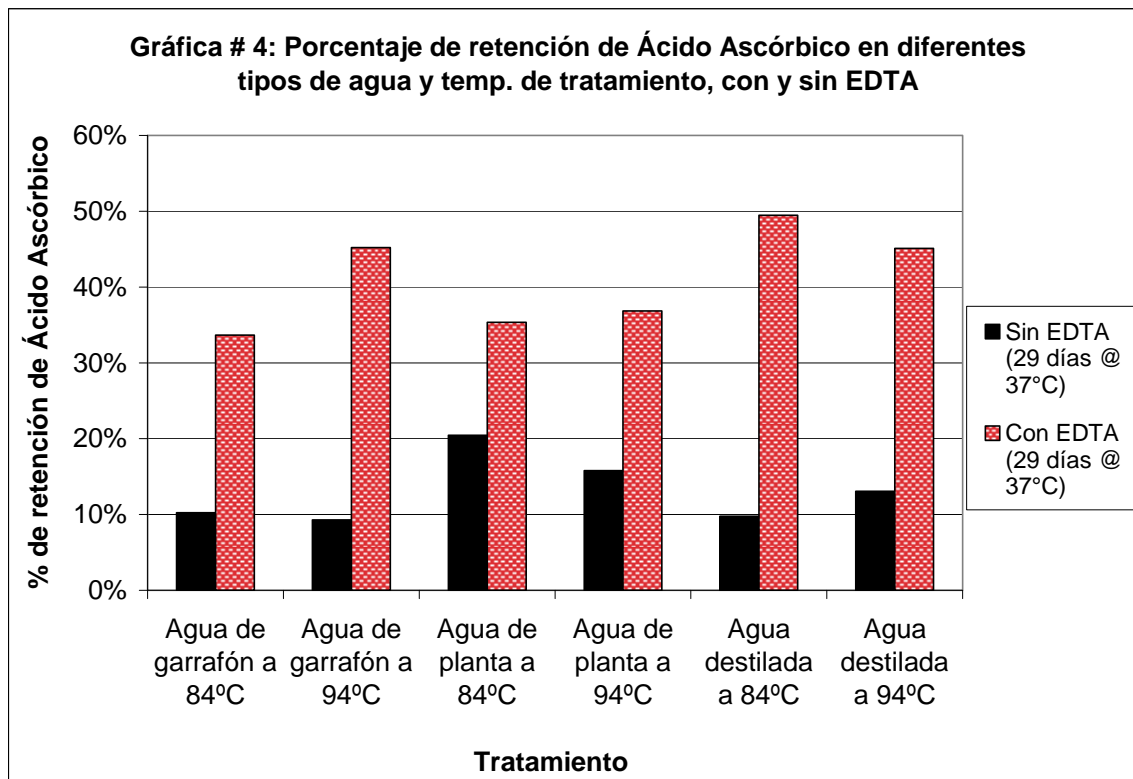


Para confirmar si existe diferencia en la retención de ácido ascórbico cuando se utiliza EDTA, se realizó una preparación con y sin EDTA, y de acuerdo a los resultados obtenidos y aplicando el análisis de varianza (Tabla# 4, Apéndice), sí se tiene una mejora en la estabilidad del ácido ascórbico en la bebida con el uso de este aditivo, como se puede observar en la Gráfica # 3, pero de igual forma se tiene una constante pérdida de ácido ascórbico.



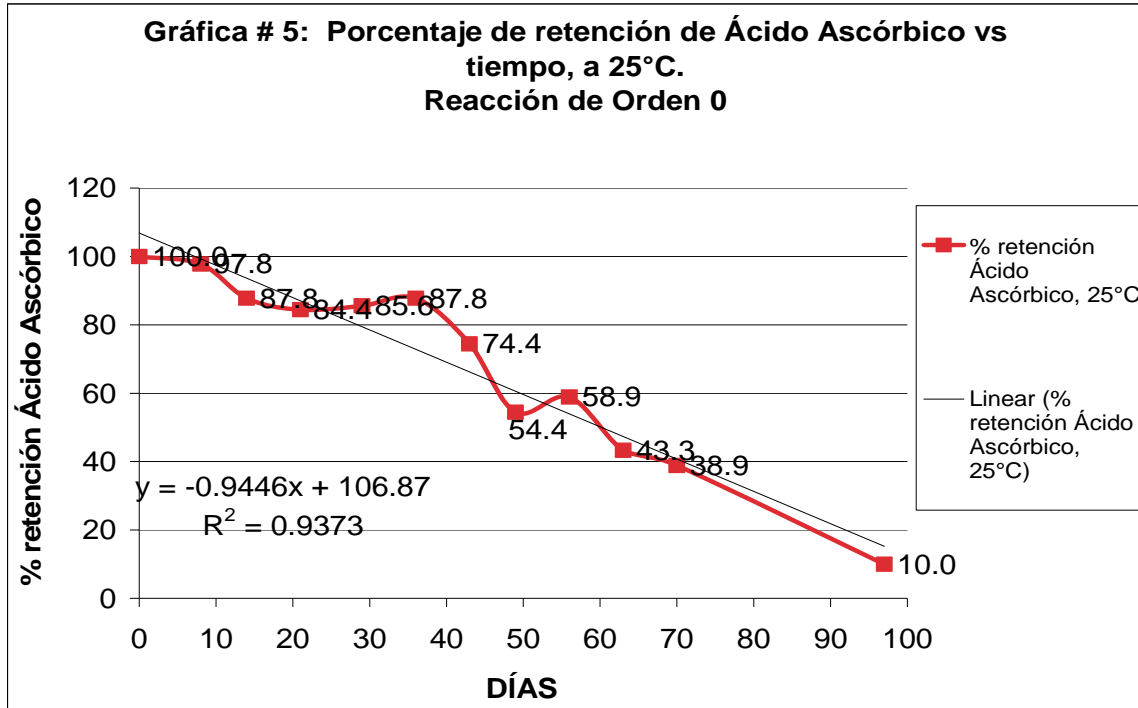
Luego se procedió a realizar una tercera evaluación, utilizando diferentes tipos de agua pura para la formulación de la bebida, para evaluar si el agua utilizada en la planta de proceso afectaría luego en los resultados sobre lo realizado a nivel de laboratorio y con agua embotellada, como también se evaluó la temperatura de procesamiento térmico. Ya que cualquier aumento de temperatura afecta en la degradación del ácido ascórbico. Según los resultados obtenidos en la Gráfica # 4, se puede observar que sí se tiene un % de retención del ácido ascórbico mayor utilizando EDTA en la bebida.

Aplicando análisis de varianza (Tabla #6, Apéndice) a los resultados obtenidos, se tiene que no hay diferencia en los resultados en el tipo de agua utilizada, ni por la temperatura de procesamiento térmico. Pero sí existe diferencia en los resultados con el uso de EDTA en la estabilidad de la bebida.

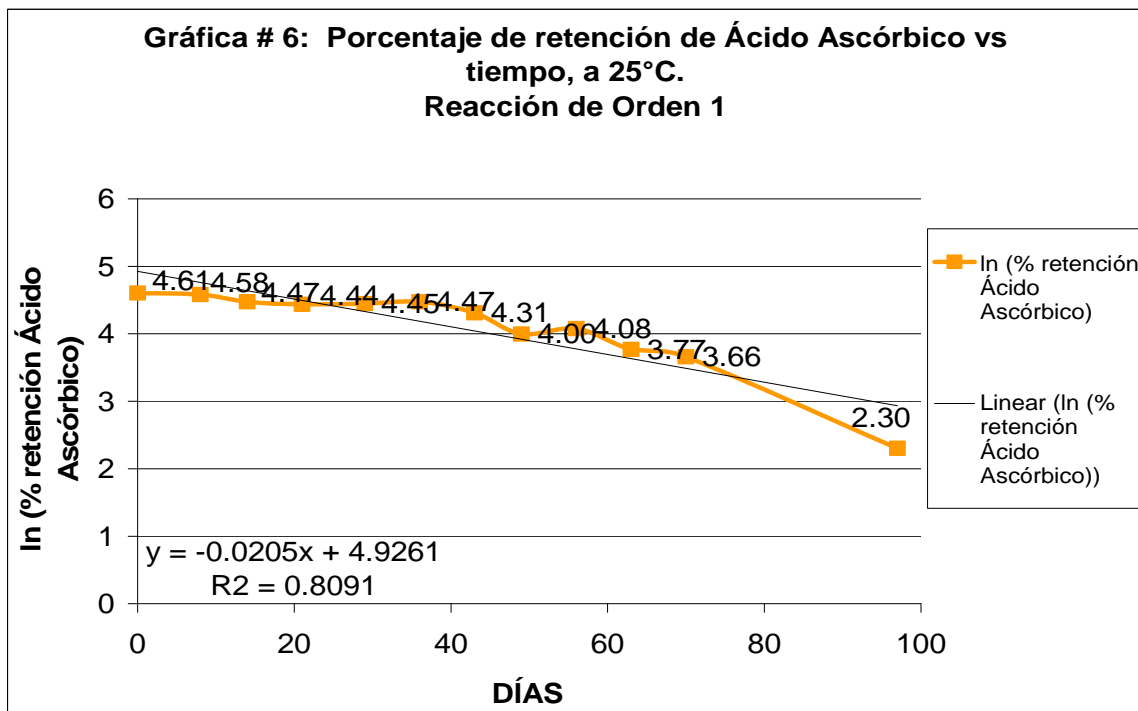


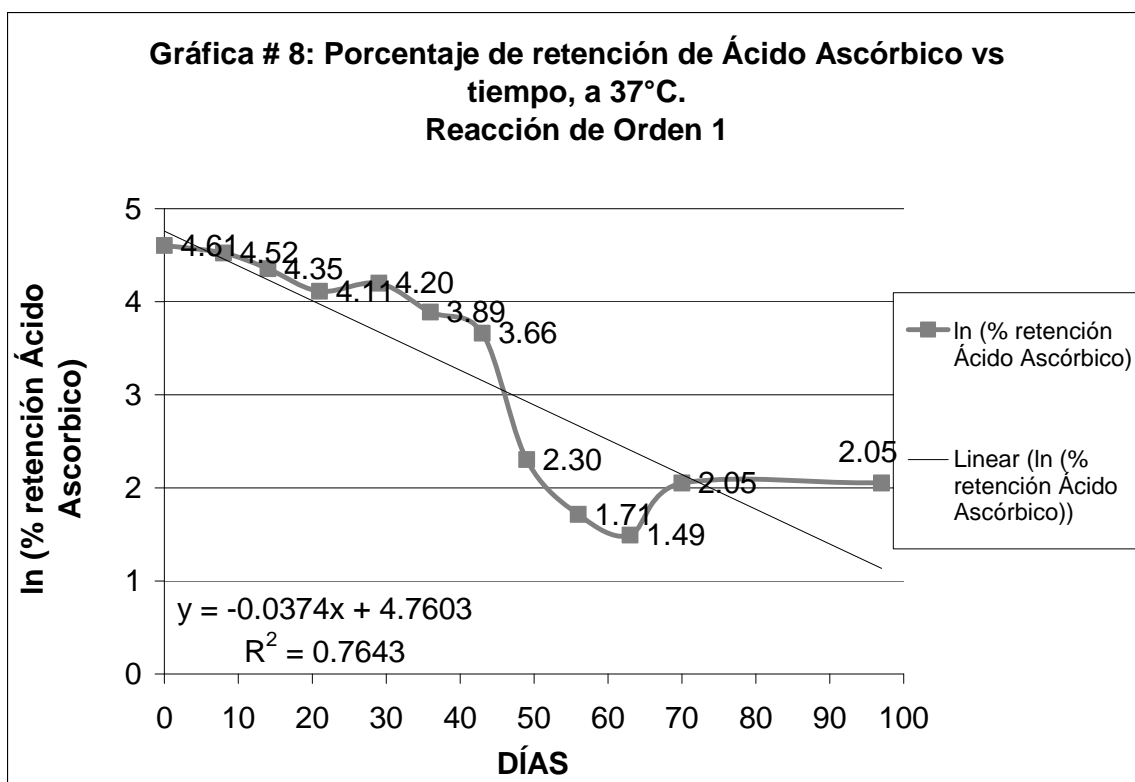
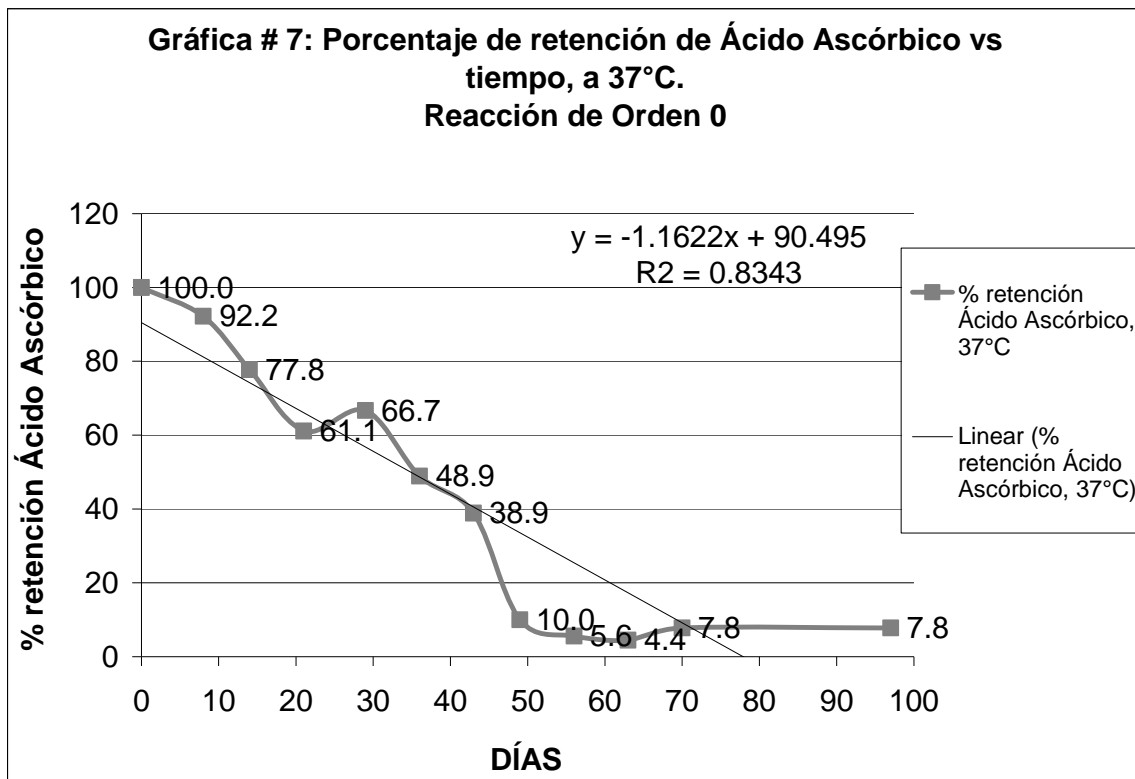
Con estos resultados obtenidos, se procedió a realizar el llenado a nivel industrial. Las muestras obtenidas fueron almacenadas a tres temperaturas, primero para conocer si la bebida puede alcanzar el tiempo de vida esperado como mínimo 90 días y máximo 100 días de vida en el anaquel y segundo para determinar el orden de reacción de la degradación del ácido ascórbico y determinar la vida de anaquel. Ya que el ácido ascórbico es el parámetro de calidad que se está considerando en la bebida, el porcentaje de retención no debía ser menor del 28%. Las tres temperaturas diferentes a las que se almacenaron son  $-5^{\circ}\text{C}$ ,  $25^{\circ}\text{C}$  y  $37^{\circ}\text{C}$ .

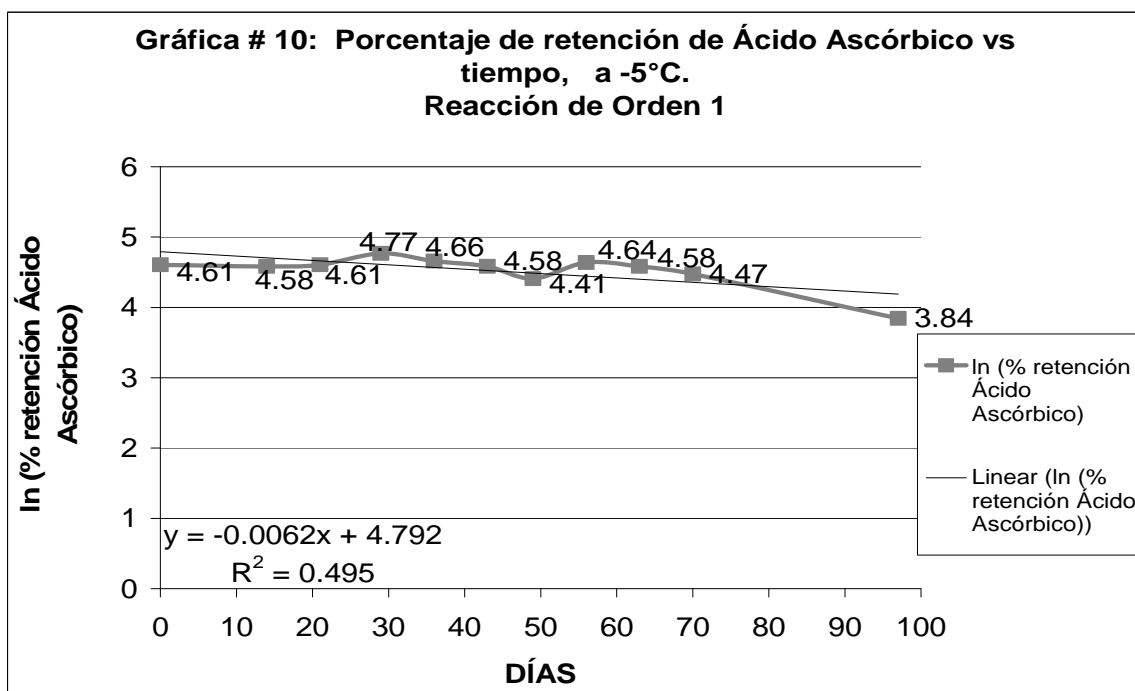
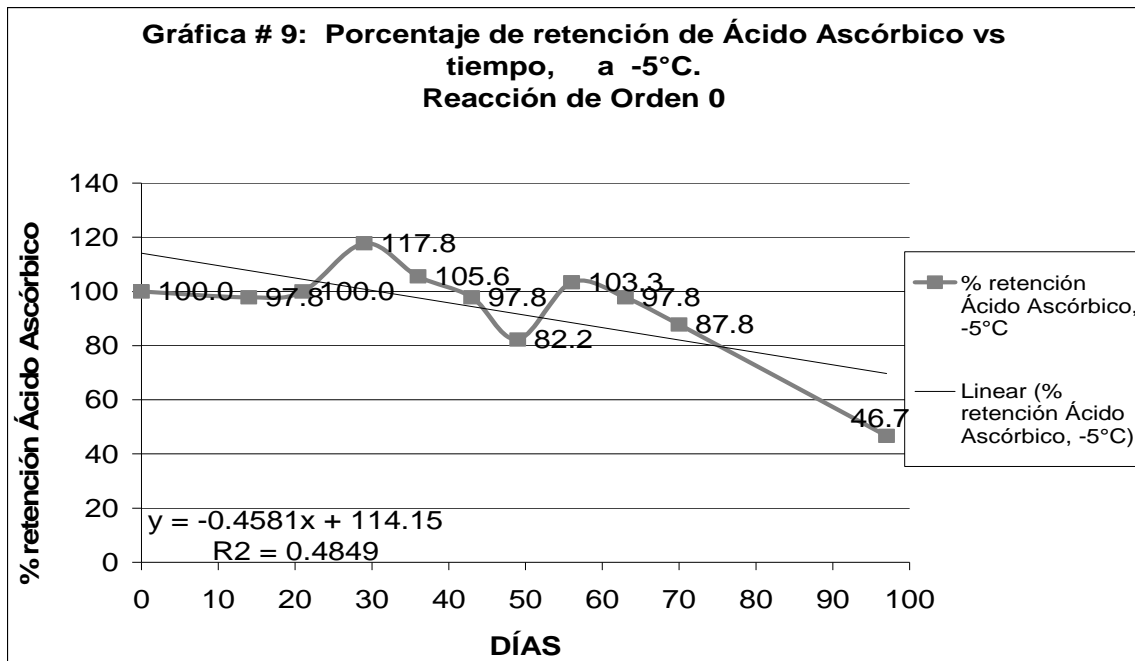
En la Gráficas # 5, 7 y 9 muestran la tendencia del porcentaje de retención de ácido ascórbico para la bebida con sabor envasada en HDPE, utilizando una línea industrial de llenado para este tipo de envase. Se puede observar en la Gráfica # 5 y teniendo en consideración que el límite de ácido ascórbico en la bebida antes mencionado de 28% de retención, se puede decir que la muestra puede tener una vida de anaquel entre 80 a 85 días.



Para poder determinar el orden de la reacción, es necesario primero graficar los resultados del porcentaje de retención del ácido ascórbico vrs tiempo para cada temperatura y obtener logaritmos naturales de los valores del porcentaje de retención para ver qué gráfica se ajusta mejor a los datos. Estas gráficas se muestran a continuación.







De las gráficas anteriores se puede observar que el coeficiente de correlación es mayor para las gráficas en donde se graficó directamente el % de retención vs el tiempo. El ajuste de las gráficas a una línea recta es mejor que las logarítmicas. De la teoría se conoce que este tipo de comportamiento de reacción es del orden cero

$$C = -kt. \quad (11)$$

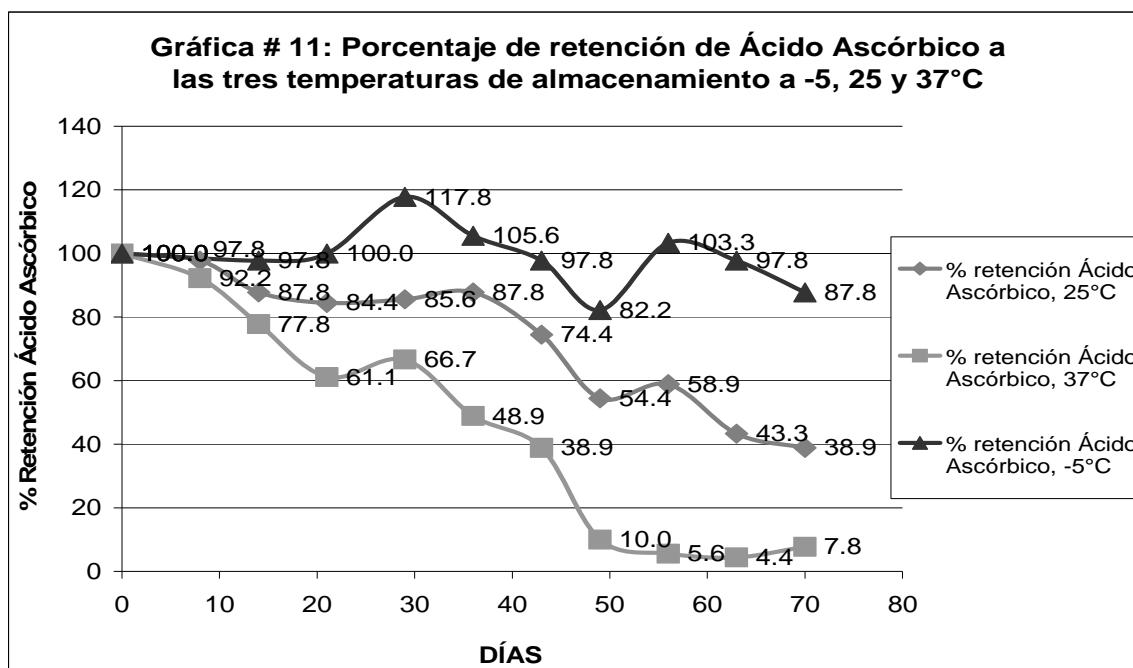
Donde C es el porcentaje de retención, k es la constante de velocidad de reacción y t es el tiempo de vida de anaquel, quedando de la siguiente forma:

$$C=106.87-0.9446(t) \quad (12)$$

Con lo cual al ingresar datos a la ecuación de la regresión lineal de la Gráfica # 5, se obtiene como resultado que la bebida debe de tener 83 días de vida de anaquel.

Habiendo determinado el orden de reacción, en la siguiente Gráfica # 11 se observan los datos obtenidos ya resumidos para las tres temperaturas de almacenamiento.

En la gráfica se puede observar que existe una mayor reducción del ácido ascórbico a la temperatura de 37°C que a las otras dos temperaturas. A medida que aumenta la temperatura, aumenta la pendiente de la recta obtenida, esto significa que crece la velocidad de la reacción. De esto, se puede decir que la bebida presenta mayor pérdida o menor % de retención de ácido ascórbico al incrementar la temperatura de almacenamiento.

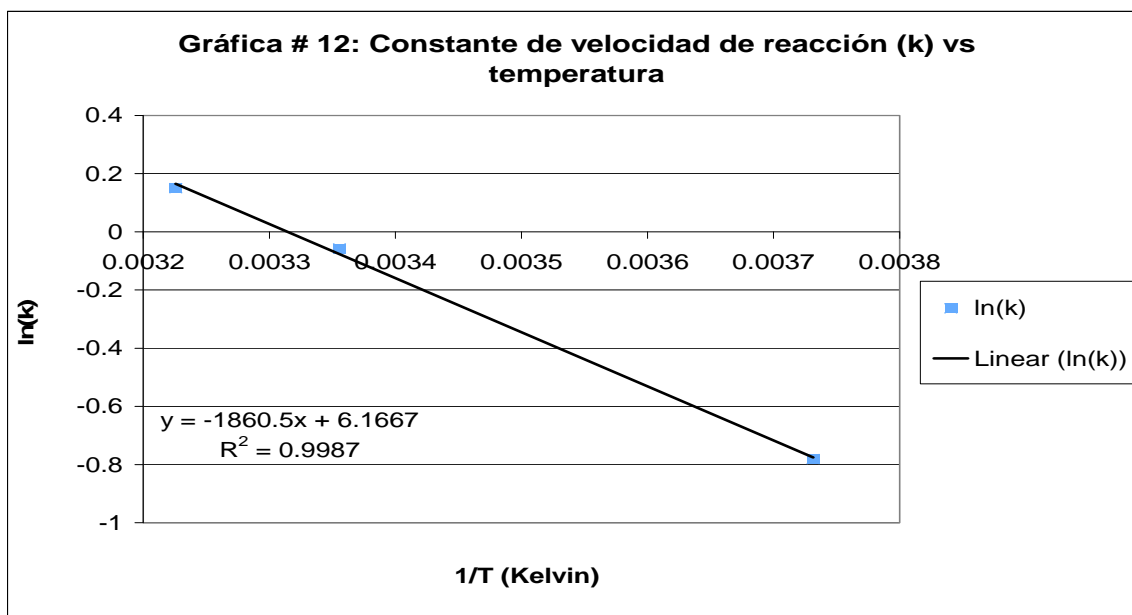


Se puede observar también que la degradación del ácido ascórbico continúa en el tiempo y no llega nunca a un punto o límite, por lo que se podría inferir que la oxidación se puede dar por: el oxígeno disuelto en la bebida, el que se encuentra en el espacio de cabeza y el que pasa a través de las paredes por la alta permeabilidad a los gases del envase, ya que la degradación puede continuar y afectar ingredientes como los colorantes y saborizantes.

Ahora tomando en cuenta los valores de las pendientes de las rectas correspondientes a cada una de las temperaturas, se realizó una gráfica de Arrhenius (Gráfica # 12), donde se obtuvo que la ecuación que relaciona la temperatura con la constante de velocidad de reacción es:

$$\ln(k) = -1860.5(1/T) + 6.1667 \quad (13)$$

Con estas ecuaciones se puede predecir el tiempo máximo de almacenamiento de la bebida a una temperatura en Kelvin determinada.



Como último punto se realizó una evaluación sensorial de la muestra cuando cumplió los 100 días de almacenamiento a 25°C versus la muestra que estaba almacenada a -5°C, ya que esta presentó menor degradación. Se presentó una prueba triangular a 22 panelistas entrenados. Según los resultados obtenidos 8 panelistas detectaron una diferencia. De acuerdo a la Tabla # 12, de niveles de significancia de la prueba triangular, para 22 panelistas que realizaron la evaluación, 12 panelistas o más debieron de haber encontrado la muestra diferente, por lo tanto a un nivel de significancia del 95%, no existe diferencia significativa entre las muestras. Esto quiere decir que la bebida mantiene el sabor característico luego de los 100 días de vida de anaquel cuando se comparó con la muestra que presentó menor degradación, pero el porcentaje de ácido ascórbico en la bebida no se cumple. De igual forma se observó una mejora en la estabilidad fisicoquímica de la bebida cuando se adiciona el agente quelante EDTA con respecto a la primera evaluación realizada.

## VIII. CONCLUSIÓN

1. La pérdida de ácido ascórbico en la bebida con sabor lista para consumir envasada en recipiente plástico de polietileno de alta densidad (HDPE por sus siglas en inglés), es un indicador del grado de degradación y el factor principal para la determinación de la vida de anaquel.
2. La adición del aditivo agente quelante etilen diamino tetra acetatos (EDTA) en la bebida, sí mejora la estabilidad de la bebida con sabor envasada en envase de material HDPE.
3. El orden de reacción que se lleva a cabo durante la degradación del ácido ascórbico en la bebida con sabor lista para consumir, es de orden cero,  $C = -kt$ , donde C, es el porcentaje de retención de ácido ascórbico, k la constante de velocidad de reacción y t el tiempo de vida de anaquel.
4. La vida de anaquel para la bebida con sabor lista para consumir, encuentra definida por la ecuación  $C = 106.87 - 0.9446(t)$  donde t son los días de almacenamiento y C es el porcentaje de retención de ácido ascórbico.
5. La vida de anaquel estimada para la bebida envasada en HDPE con sabor, almacenada a 25°C es de 83 días.

## **IX. RECOMENDACIONES**

1. Para mejorar la estabilidad de la bebida con sabor es aconsejable seguir las siguientes recomendaciones:
  - a. Evaluar la cantidad de EDTA que se debe de adicionar para un mejor efecto en la estabilidad fisicoquímica de las bebidas con sabor.
  - b. Evaluar el uso de otros aditivos antioxidantes que mejoren la estabilidad de la bebida.
  - c. Realizar pruebas con envase de HDPE sellando con linear (tapa flexible aluminizado) y la adición de gas inerte en el espacio de cabeza.

## X BIBLIOGRAFÍA:

- AOAC. 2006. *Official Methods of Analysis*. 18th Ed. Gaithersburg, MD.
- Ashurst, P.R. 1999. *Packaging of Non-carbonated fruit juices and fruit beverages*. 2da edición. Gran Bretaña UK. Aspen Publishers, Inc.. 431pp.
- Ashurst, P.R. 2005. *Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices*. 2da edición. Oxford, UK. Blackwell Publishing Ltd. 374pp.
- Codex Stan 192.1995. *Norma General del Codex para los aditivos alimentarios*.
- Cubero, N., A. Monferrer y J. Villalta.2002. *Tecnología de alimentos: Aditivos alimentarios*. España. Ediciones Mundi-Prensa. 214 pp.
- Davidson, M. Y M. Harrison. 2002. *Resistance and Adaptation to Food Antimicrobials, Sanitizers, and Other Process Controls*. Food Technology.Volumen 56 No. 11. 69-78 pp.
- Fennema, O. 2000. *Química de los alimentos*. España. Editorial Acribia, S.A. 1258pp.
- [FDA]Food and Drug Administration. 2010<sup>a</sup>. *U.S.Code of Federal Regulations*. Parte 184, Sección 184.1021, título 21.
- [FDA]Food and Drug Administration. 2010<sup>a</sup>. *U.S.Code of Federal Regulations*. Parte 184, Sección 184.3013, título 21.
- Glowaky, R.C., C. Sklavounos y A. Torres. 1995. *Prevención del mal sabor en ciertas bebidas edulcoradas con alitame*. Oficina Española de Patentes y marcas. No. De publicación ES 2 065 479, España. 8 pp.
- Gunter, R. 2007. *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*. Germany, Springer-Verlag Berlin. 648 pp.
- Kearney, D. R. Kisksey y T. Sanford. 2007. *Productos de bebida que tienen mayor estabilidad de vitaminas*. Oficina Española de Patentes y marcas. No. de publicación ES 2 280 206, España. 11 pp.
- Mahindru, S.N. 2008. *Food Additives: Characteristics, Detection and Estimation*. New Delhi. APH Publishing Corporation. 343pp.
- Man, D. 2002. *Shelf life*. Great Britain. Blackwell Science Ltd. 113pp.
- Matsuoka, A., M. Tsutsumi y T. Watanabe.1995. *Inhibitory Effect of hexametaphosphate*

- on the Growth of Staphylococcus aureus*. Journal of Food Hygiene, Japan. Vol. 36, No. 5. Extraído del Internet en Agosto 2010:  
<http://rms1.agsearch.agropedia.affrc.go.jp/contents/JASI/pdf/society/52-2140.pdf>
- Métodos Sensoriales Aplicables al Control de Calidad en la Industria*, 2004. 2do Seminario Nacional y 6to Centroamericano de Análisis Sensorial de Alimentos, impartido por Dra. Elvira Costello Ibañez.
- Multon, J.L. 2000. *Aditivos y auxiliares de fabricación en las industrias agroindustriales*. 2da edición. España, Zaragoza. Acribia. 806 pp.
- Palomino, M., E. Guija y N. Lozano. 2009. *Propiedades antioxidantes de la guayaba (Psidium guajava L.)*. Revista de la Sociedad Química del Perú. Vol 75. No. 2. 228-234pp. Extraída del Internet en agosto de 2010:  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php/script\\_sci\\_serial/pid\\_1810-634X/Ing\\_es/nrm\\_iso](http://www.scielo.org.pe/scielo.php/script_sci_serial/pid_1810-634X/Ing_es/nrm_iso)
- Pirone, B.N., M.R. Ochoa, A.G. Kessler y A. De Michelis. 2002. *Evolución de la Concentración de Ácido Ascórbico Durante el Proceso de Deshidratación de Frutos de la Rosa Mosqueta (Rosa Eglanteria L.)*. Revista de Investigaciones Agropecuarias, Argentina, volumen 31, No 1. 85-98 pp.
- Pokorny, J., N. Yanishlieva y M. Gordon. 2005. *Antioxidantes de los alimentos: aplicaciones prácticas*. Zaragoza, Acribia. 364 pp.
- Robertson, G.L. 2006. *Food Packaging: Principales and Practice*. 2da edición. USA, CRC Press Taylor & Francis Group. 550pp.
- Romero, J. 2009. *Calidad del agua*. 3era edición. Colombia, Editorial Escuela Colombiana de Ingeniería. 484pp.
- Ros-Chumillas, M., Y. Belissario, A. Iguaz y A. López. 2007. *Quality and shelf life of orange juice aseptically packaged in PET bottles*. Journal of Food Engineering, Vol 79, No. 1: 234-242.
- Russell, N.J. y G.W. Gould. 2003. *Food Preservatives*. 2da edición, USA, Kluwer Academic/Plenum Publisher. 387 pp.
- Salinas, N.C. e Y.M. La Roca. 2002. *Estudio sobre algunos cambios químicos y fisicoquímicos en un alimento de origen cárnico a base de pollo*. Información Tecnológica. Vol. 13 No. 3. 69-75 pp.

- Shibamoto, T. y L.F. Bjeldanes. 2009. *Introduction to food Toxicology*. 2da edición. USA. Academic Press publications. 309 pp.
- Van Aardt, M. S.E. Duncan, J.E. Marcy, T.E. Long y C.R. Hackney. 2001. *Effectiveness of Poly(ethylene terephthalate) and High-Density Polyethylene in Protection of Milk Flavor*. Journal of Dairy Science. Volumen 84, No. 6. 1341-1347 pp.
- Zeuthen P. y L. Bogh-Sorensen. 2003. *Food preservation techniques*. Inglaterra, Woodhead Publishing Limited. 585pp.

## XI APÉNDICE

### DATOS:

**Tabla # 1: Resultado de análisis fisicoquímico de bebida con sabor en el tiempo.**

| Días | pH   | Acidez total (%ácido Cítrico) | Ácido Ascórbico (retención) (%) | °Brix |
|------|------|-------------------------------|---------------------------------|-------|
| 0    | 2.92 | 0.34                          | 100.00                          | 12.4  |
| 7    | 2.92 | 0.32                          | 60.00                           | 12.4  |
| 14   | 2.88 | 0.35                          | 51.43                           | 12.5  |
| 21   | 2.86 | 0.34                          | 51.43                           | 12.5  |
| 28   | 2.87 | 0.33                          | 25.71                           | 12.5  |
| 35   | 2.82 | 0.34                          | 34.29                           | 12.6  |
| 42   | 2.9  | 0.34                          | 11.43                           | 12.6  |
| 49   | 2.86 | 0.46                          | 11.43                           | 12.7  |
| 56   | 2.86 | 0.33                          | 14.23                           | 12.7  |
| 63   | 3.05 | 0.35                          | 14.23                           | 12.9  |

**Tabla #2: Porcentaje de retención del Ácido Ascórbico según el agente quelante utilizado en la bebida:**

| Días | HMP     | EDTA + HMP | EDTA    |
|------|---------|------------|---------|
| 0    | 100.00% | 100.00%    | 100.00% |
| 28   | 87.78%  | 82.22%     | 87.78%  |
| 38   | 48.89%  | 68.89%     | 82.22%  |
| 51   | 38.89%  | 68.89%     | 77.78%  |
| 52   | 28.89%  | 68.89%     | 77.78%  |

**Tabla #3: Porcentaje de retención del Ácido Ascórbico con y sin EDTA en la bebida, almacenado a 37°C:**

| Días | Sin EDTA | Con EDTA |
|------|----------|----------|
| 0    | 100%     | 100%     |
| 5    | 71.59%   | 84.62%   |
| 15   | 79.55%   | 67.31%   |
| 22   | 20.45%   | 67.31%   |
| 29   | 10.23%   | 46.15%   |

**Tabla # 4: Datos de análisis de varianza para el porcentaje de retención de Ácido Ascórbico en la bebida, con y sin EDTA, almacenados a 37°C**

| Correlaciones | Grados de libertad | Anova SS  | Media cuadrada | Valor de F | F crítico |
|---------------|--------------------|-----------|----------------|------------|-----------|
| Tiempo        | 4                  | 2786.4016 | 696.6004067    | 1.0092457  | 3.837853  |
| USO DE EDTA   | 2                  | 9206.2993 | 4603.149647    | 6.6691164  | 4.45897   |

**Tabla # 5: Porcentaje de retención del Ácido Ascórbico con y sin EDTA evaluando el tipo de agua y tratamiento térmico.**

| <b>Tratamiento</b>      | <b>Sin EDTA (29 días @ 37°C)</b> | <b>Con EDTA (29 días @ 37°C)</b> |
|-------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Agua de garrafón a 84°C | 10.23%                           | 33.65%                           |
| Agua de garrafón a 94°C | 9.28%                            | 45.19%                           |
| Agua de planta a 84°C   | 20.45%                           | 35.35%                           |
| Agua de planta a 94°C   | 15.79%                           | 36.84%                           |
| Agua destilada a 84°C   | 9.78%                            | 49.48%                           |
| Agua destilada a 94°C   | 13.04%                           | 45.10%                           |

**Tabla # 6: Análisis de Varianza para el cambio de Ácido Ascórbico en diferentes tipos de agua, con y sin EDTA**

| <b>Correlaciones</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Anova SS</b> | <b>Media cuadrada</b> | <b>Valor de F</b> | <b>F crítico</b> |
|----------------------|---------------------------|-----------------|-----------------------|-------------------|------------------|
| <b>Tratamiento</b>   | 5                         | 0.007626        | 0.001525              | 0.333988          | 5.050329         |
| <b>EDTA</b>          | 1                         | 0.23256         | 0.23256               | 50.9272           | 6.607891         |

**Tabla # 7: Resultados del porcentaje de retención de Ácido Ascórbico en bebida con sabor, llenada en envasadora industrial, utilizados para determinar el orden de reacción, almacenado a 25°C**

| <b>Días</b> | <b>Porcentaje de retención Ácido Ascórbico, 25°C</b> | <b>ln (porcentaje de retención Ácido Ascórbico)</b> |
|-------------|--|---|
| 0           | 100.0  | 4.61  |
| 8           | 97.8   | 4.58  |
| 14          | 87.8   | 4.47  |
| 21          | 84.4   | 4.44  |
| 29          | 85.6   | 4.45  |
| 36          | 87.8   | 4.47  |
| 43          | 74.4   | 4.31  |
| 49          | 54.4   | 4.00  |
| 56          | 58.9   | 4.08  |
| 63          | 43.3   | 3.77  |
| 70          | 38.9   | 3.66  |
| 97          | 10.0   | 2.30  |

**Tabla #8 : Resultados del porcentaje de retención de Ácido Ascórbico en bebida con sabor, llenada en envasadora industrial, utilizados para determinar el orden de reacción, almacenado a 37°C**

| Días | Porcentaje de retención Ácido Ascórbico, 37°C | ln (porcentaje de retención Ácido Ascórbico), 37° C |
|------|---|---|
| 0    | 100.0   | 4.61  |
| 8    | 92.2  | 4.52  |
| 14   | 77.8  | 4.35  |
| 21   | 61.1  | 4.11  |
| 29   | 66.7  | 4.20  |
| 36   | 48.9  | 3.89  |
| 43   | 38.9  | 3.66  |
| 49   | 10.0  | 2.30  |
| 56   | 5.6   | 1.71  |
| 63   | 4.4   | 1.49  |
| 70   | 7.8   | 2.05  |
| 97   | 7.8   | 2.05  |

**Tabla # 9 : Resultados del porcentaje de retención de Ácido Ascórbico en bebida con sabor, llenada en envasadora industrial, utilizados para determinar el orden de reacción, almacenado a -5°C**

| Días | Porcentaje de retención Ácido Ascórbico, -5°C | ln (porcentaje de retención Ácido Ascórbico), -5°C |
|------|---|--|
| 0    | 100.0   | 4.61   |
| 14   | 97.8  | 4.58   |
| 21   | 100.0   | 4.61   |
| 29   | 117.8   | 4.77   |
| 36   | 105.6   | 4.66   |
| 43   | 97.8  | 4.58   |
| 49   | 82.2  | 4.41   |
| 56   | 103.3   | 4.64   |
| 63   | 97.8  | 4.58   |
| 70   | 87.8  | 4.47   |
| 97   | 46.7  | 3.84   |

**Tabla # 10: Datos utilizados para la determinación de la ecuación de Arrhenius:**

|                     | Ecuaciones de orden cero | k      | 1/T         | ln(k)        |
|---------------------|--------------------------|--------|-------------|--------------|
| Para °T ambiente    | $y = -0.9446x + 106.87$  | 0.9446 | 0.003355705 | -0.056993722 |
| Para °T incubadora  | $y = -1.1622x + 90.495$  | 1.1622 | 0.003225806 | 0.150314761  |
| Para °T congelación | $y = -0.4581x + 114.15$  | 0.4581 | 0.003731343 | -0.780667778 |

Cálculo de la vida de anaquel de la bebida con sabor al límite permitido de % de Retención de ácido ascórbico:

$$C = 106.87 - 0.9446 (t)$$

$$C = 28, \text{ para conocer el tiempo en el anaquel se tiene}$$

$$t = (28 - 106.87) / -0.9446$$

$$t = 83.49 \Rightarrow 83 \text{ días}$$

### RESULTADOS DE EVALUACIÓN SENSORIAL:

Hipótesis Nula ( $H_0$ ) cuando no exista diferencia en la percepción entre las muestras.

Hipótesis Alternativa ( $H_a$ ), hay diferencia perceptible entre las muestras. ( $p < 0.05$ ).

**Tabla # 11: Resultado de la evaluación sensorial de prueba triangular en bebida con sabor con 100 d de almacenamiento.**

|  |  |
|--|--|
| PANELISTAS   | 22   |
| JUICIOS CORRECTOS                                  | 8  |
| JUICIOS INCORRECTOS                                | 14   |
| TOTAL  | 22   |
| <b>RESULTADO</b>                                   | <b>Hipótesis nula es aceptada:<br/>NO HAY DIFERENCIA SIGNIFICATIVA</b> |
| NIVEL DE SIGNIFICANCIA EN PRUEBA TRIANGULAR AL 95% |  |
| PANELISTAS   | 22   |
| VALOR  | 12   |

**Tabla # 12: Niveles de significancia de la prueba triangular**

| Número de respuestas | Número mínimo de respuestas necesarias para alcanzar un nivel de significación de |    |      | Número de respuestas | Número mínimo de respuestas necesarias para alcanzar un nivel de significación de |    |      | Número de respuestas | Número mínimo de respuestas necesarias para alcanzar un nivel de significación de |    |      |
|----------------------|---|----|------|----------------------|---|----|------|----------------------|---|----|------|
|                      | 5%  | 1% | 0,1% |                      | 5%  | 1% | 0,1% |                      | 5%  | 1% | 0,1% |
| 5                    | 4   | 5  | —    | 37                   | 18  | 20 | 22   | 69                   | 31  | 33 | 36   |
| 6                    | 5   | 6  | —    | 38                   | 19  | 21 | 23   | 70                   | 31  | 34 | 37   |
| 7                    | 5   | 6  | 7    | 39                   | 19  | 21 | 23   | 71                   | 31  | 34 | 37   |
| 8                    | 6   | 7  | 8    | 40                   | 19  | 21 | 24   | 72                   | 32  | 34 | 38   |
| 9                    | 6   | 7  | 8    | 41                   | 20  | 22 | 24   | 73                   | 32  | 35 | 38   |
| 10                   | 7   | 8  | 9    | 42                   | 20  | 22 | 25   | 74                   | 32  | 35 | 39   |
| 11                   | 7   | 8  | 10   | 43                   | 20  | 23 | 25   | 75                   | 33  | 36 | 39   |
| 12                   | 8   | 9  | 10   | 44                   | 21  | 23 | 26   | 76                   | 33  | 36 | 39   |
| 13                   | 8   | 9  | 11   | 45                   | 21  | 24 | 26   | 77                   | 34  | 36 | 40   |
| 14                   | 9   | 10 | 11   | 46                   | 22  | 24 | 27   | 78                   | 34  | 37 | 40   |
| 15                   | 9   | 10 | 12   | 47                   | 22  | 24 | 27   | 79                   | 34  | 37 | 41   |
| 16                   | 9   | 11 | 12   | 48                   | 22  | 25 | 27   | 80                   | 35  | 38 | 41   |
| 17                   | 10  | 11 | 13   | 49                   | 23  | 25 | 28   | 81                   | 35  | 38 | 41   |
| 18                   | 10  | 12 | 13   | 50                   | 23  | 26 | 28   | 82                   | 35  | 38 | 42   |
| 19                   | 11  | 12 | 14   | 51                   | 24  | 26 | 29   | 83                   | 36  | 39 | 42   |
| 20                   | 11  | 13 | 14   | 52                   | 24  | 26 | 29   | 84                   | 36  | 39 | 43   |
| 21                   | 12  | 13 | 15   | 53                   | 24  | 27 | 30   | 85                   | 37  | 40 | 43   |
| 22                   | 12  | 14 | 15   | 54                   | 25  | 27 | 30   | 86                   | 37  | 40 | 44   |
| 23                   | 12  | 14 | 16   | 55                   | 25  | 28 | 30   | 87                   | 37  | 40 | 44   |
| 24                   | 13  | 15 | 16   | 56                   | 26  | 28 | 31   | 88                   | 38  | 41 | 44   |

(CONCYT)

## NOTAS

- 1 Los valores dados en la tabla han sido calculados a partir de la fórmula exacta de la distribución binomial de parámetro  $p = 1/3$  con  $n$  respuestas.
- 2 Cuando el número de respuestas es superior a 100 ( $n > 100$ ) es necesario utilizar la fórmula siguiente, basada en la aproximación de la distribución binomial a la normal y que proporciona el número real de juicios a obtener con un error como máximo de 1 unidad.

El número mínimo de respuestas ( $X$ ) es el valor entero más próximo a: 
$$X = 0,4174 z \cdot \sqrt{n} + \frac{(2n+3)}{6}$$

donde

$z = 1,64$ , para  $\alpha < 0,05$

$z = 2,33$ , para  $\alpha < 0,01$

$z = 3,10$ , para  $\alpha < 0,001$

### Boleta utilizada para la Prueba triangular en la evaluación sensorial:

| <b>PRUEBA TRIANGULAR</b>  |                         |
|---|-------------------------|
| <b>INSTRUCCIONES:</b> A continuación se presentan tres muestras de <b>bebida con sabor</b> . Dos de estas muestras son iguales y una es diferente. Evalúe las muestras (sabor) de izquierda a derecha, ponga una marca (X) al lado del código de la muestra que es diferente. |                         |
| Código  | La muestra diferente es |
| _____   | _____                   |
| _____   | _____                   |
| _____   | _____                   |
| <b>¿Por qué cree es diferente?:</b> _____   |                         |
| _____   |                         |
| _____   |                         |
| _____   |                         |
| _____   |                         |