

ESTABILIZADOR DE COLOR DERIVADO NATURALMENTE

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a la prevención de la
5 inestabilidad del color o el desvanecimiento del color en una
bebida o producto alimenticio coloreado. Está dirigida a un
estabilizador de color derivado naturalmente, así como a un
método para evitar la inestabilidad del color o el
desvanecimiento del color en un producto coloreado incluyendo
10 dicho estabilizador en dicho producto.

ANTECEDENTES

El color de un alimento o bebida o cualquier producto
de consumo a menudo determina si el consumidor acepta o
rechaza el producto. Agregar color a los alimentos puede
15 favorecer la aceptación por compensación de pérdida de color
causada por la exposición a la luz, aire, temperaturas
extremas, condiciones de humedad y/o almacenamiento.

Se cree que la oxidación y/o reducción es el principal
responsable de la inestabilidad del color o de el
20 desvanecimiento del color. La oxidación y/o la reducción
pueden ser inducidas química, ligera o biológicamente por
microbios o enzimas, aunque la luz es típicamente el
iniciador predominante. Se sabe que tanto los colores
naturales como los sintéticos (o artificiales) se degradan o

se decoloran, más típicamente a la exposición a la luz UV. Iniciadores de reducción química secundaria pueden estar presentes en algunas bebidas, tales como el ácido ascórbico, hidroximetilfurfural (HMF formado en HFCS) y metales. Por
5 otra parte, estos iniciadores trabajan con luz para desvanecer colores. Así, la presencia de un antioxidante, tal como el ácido ascórbico, en el producto de bebida puede promover el desvanecimiento de los colores.

Los colores pueden reaccionar con HMF y otros productos
10 de degradación de carbohidratos para formar compuestos dorados. El mecanismo de reacción, que es muy sensible en zumos de fruta, se sabe, y es muy dependiente de la temperatura y es acelerado por la presencia de oxígeno.

Cuando de bebidas se envasan en recipientes de vidrio o
15 polietileno tereftalato (PET), son aún más susceptibles a la inestabilidad problemática del color o la decoloración del color.

Se han descrito una serie de soluciones para prevenir la degradación del color. El documento W09714319A1 describe
20 la combinación de una antocianina y un agente de mejora de pigmento seleccionadas de glucuronides del flavonoide y sulfatos, galacturonides y derivados del ácido cafeico con el fin de profundizar y mejorar la intensidad de la pigmentación y para aumentar su estabilidad.

El documento JP 6-93199 divulga el uso de ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido ferúlico como agente antidecoloración para el color amarillo gardenia natural. El documento US 5,314,686 divulga que el romero, la salvia y el
5 tomillo tienen propiedades de ahorro de color con respecto a los colores naturales tales como el achiote, la bixina, el pimentón y los carotenoides.

El documento US 5,336,510 divulga el uso de la riboflavina (vitamina B2) como un estabilizador de color en
10 bebidas azo-coloreadas fortificadas con vitamina C. El documento US 6,379,729 divulga el uso de una combinación de ácido sulfuroso y ácido sórbico para obtener un efecto estabilizador de color en los alimentos o bebidas con una pigmentación de antocianina. El documento WO2013013014
15 divulga el uso de isoquercitrina enzimáticamente modificada (EMIQ), rutina y myricitrina y ácido fumárico como protectores de colores derivados de fuentes naturales.

El documento US 8,420,141 (US 2004/0091589) divulga que el desvanecimiento de bebidas coloreadas sintéticamente se
20 evita usando estabilizadores de color derivados botánicos que son compuestos carbonilo fenilpropenoicos C_6-C_3 que contienen tanto insaturación como oxidación en un átomo de carbono. Como se menciona un grupo de chalcones estabilizadores de color derivados botánicos, siendo la floretina una de las

chalconas específicamente mencionadas. Sin embargo, las chalconas son cetonas conjugadas insaturadas, mientras que la floretina es una dihidrochalcona y, por lo tanto, no posee un doble enlace conjugado con el grupo de las cetonas. Por lo tanto, se menciona erróneamente la floretina, aún más porque la importancia de dicho doble enlace se enfatiza en las columnas 3 a 6, entre otras cosas afirmando que la eliminación de la insaturación de estirilo da como resultado una pérdida de protección contra el desvanecimiento del color. Lo mismo aplica a US 2010/0075005 en la que los compuestos de carbonil fenilpropenóico C_6-C_3 son, además, utilizados para reducir la degradación de la monatina que es un edulcorante natural de alta intensidad.

La química de los alimentos 141 (2013) 3451-3458 se refiere al uso de polifenoles como la floretina para aumentar la intensidad de dorado y capacidad antioxidante del caramelo. Se afirma que la producción de los pigmentos marrones en el sistema de azúcar y polifenoles deben ser un proceso de reacciones químicas entre polifenoles (o sus productos de transformación térmica) y productos y productos intermedios de la caramelización del azúcar.

El documento US 2010/0202996 se refiere a la utilización de compuestos fenólicos como la floretina en composiciones de ondas de cabello habiendo mejorado las

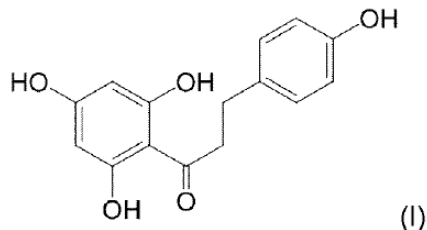
propiedades con respecto a los rizos, el desgaste y pérdida de color.

Hay una necesidad en la técnica de desarrollar a un agente estabilizador de color de origen natural que disminuya o evite eficazmente la inestabilidad de color, el desvanecimiento de color o la pérdida de color en productos de bebidas o alimentos coloreados, que han sido coloreados con colorantes naturales o artificiales.

RESUMEN DE LA INVENCION

Como se muestra en los Ejemplos que acompañan a la presente invención, los autores de la presente invención han encontrado que cuando un compuesto de fórmula (I), se añade a un producto de consumo como, por ejemplo, una bebida, dicho compuesto (I) sorprendentemente reduce o evita la inestabilidad del color o la decoloración o pérdida de color impartida por un color sintético o de origen natural a dicho producto.

En consecuencia en otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo.



para estabilizar el color, evitar la inestabilidad del color o desvanecimiento del color en un bebidas coloreadas o productos alimenticios.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

5 La figura 1 representa la absorbancia (465 nm) de una bebida en el tiempo con floretina (50 ppm) y sin floretina.

 La figura 2 representa la absorbancia (466 nm) de las muestras a diferentes concentraciones de β -caroteno variando el volumen de dilución (panel superior) o el peso de
10 Altratene (panel inferior).

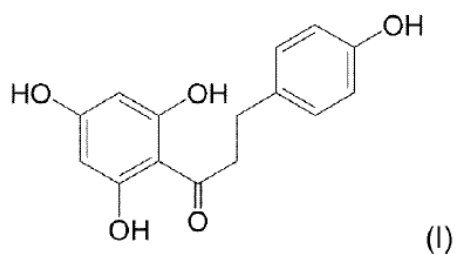
 La figura 3 representa la absorbancia (466 nm) de bebidas no carbonatadas (muestras A, B, C, D), con el tiempo.

 La figura 4 representa la absorbancia (466 nm) de bebidas carbonatadas (muestras A, B, C, D) con el tiempo.

15 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

 Como se mencionó anteriormente, los autores de la presente invención han encontrado que un compuesto de fórmula (I) que de manera sorprendente substancialmente puede aminorar o prevenir la inestabilidad de color o
20 desvanecimiento o pérdida de color impartida por un color sintético o de origen natural a dicho producto.

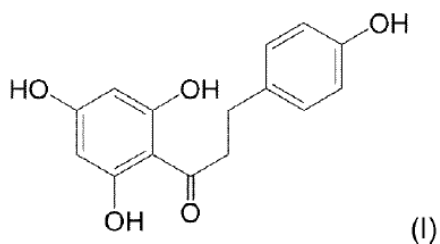
 Así en un primer aspecto, la invención se refiere a la utilización de un compuesto de fórmula (I) o derivado o sales del mismo



5

para estabilizar el color, evitar la inestabilidad del color o desvanecimiento del color en una bebida coloreada o producto alimenticio.

El compuesto de fórmula (I) comúnmente se conocido como
10 floretina



15

es una dihidrochalcona, un tipo de fenoles naturales. Naturalmente, se puede encontrar en hojas de árbol de manzana y albaricoque de Manchuria. La floretina puede obtenerse de las manzanas, el jugo de manzana y la sidra. Además, este
20 compuesto está disponible comercialmente. El compuesto de fórmula (I) puede, además, sintetizarse adicionalmente según los procedimientos conocidos por el técnico en la materia. Por lo tanto, el compuesto de fórmula (I) como se usa en este documento también se refiere a cualquier equivalente

sintético. Como se mencionó anteriormente, el uso del compuesto de fórmula (I) según la presente invención también incluye el uso de un derivado o sal del mismo.

Como se utiliza en este documento, el término
5 "equivalente sintético" se refiere a floretina producida sintéticamente.

Como se usa en el presente documento, el término "derivado" se refiere a ésteres de floretina, en particular ésteres con mono o diácidos alcanoicos de C_2 a C_6 , cuyos
10 ácidos que pueden sustituirse con uno o más grupos hidroxilos. Ejemplos para tales ácidos son el ácido acético, el ácido málico, el ácido láctico o el ácido tartárico. Los grupos hidroxilo de la floretina 1, 2, 3 ó 4 pueden esterificarse con los mismos o diferentes ácidos alcanoicos.

15 Las sales del compuesto de fórmula (I) pueden formarse con bases inorgánicas tales como hidróxidos de metales alcalinos e hidróxidos de metales alcalinotérreos. Ejemplos de sales son las sales de sodio y potasio.

Como se utiliza en este documento, el término
20 "desvanecimiento del color" se refiere a pérdida de tono o intensidad de color. Como se mencionó anteriormente, el compuesto de fórmula (I) puede no sólo prevenir el desvanecimiento del color, sino también la inestabilidad del color o la pérdida de color. Por lo tanto, como se utiliza en

este documento, el término "estabilizador de color" se refiere a un compuesto capaz de prevenir o reducir la inestabilidad del color, desvanecimiento del color o la pérdida de color. Igual que el término "cantidad de
5 estabilizador del color", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una cantidad suficiente para disminuir o prevenir sustancialmente la inestabilidad del color o el desvanecimiento o la pérdida del color impartido por un color sintético o derivado naturalmente a un producto.

10 Una cantidad efectiva del compuesto (I) según la presente invención se agrega a o se combina con bebidas o productos alimenticios u otros productos de consumo según la presente invención. En consecuencia, una cantidad efectiva puede variar dependiendo del tipo de producto a tratar y la
15 duración de conservación de color deseada.

En una modalidad preferible, dicho compuesto estabilizador de color es capaz de estabilizar el color, prevenir la inestabilidad del color o el desvanecimiento o la pérdida de color durante un período de al menos un mes, más
20 preferiblemente durante un período de al menos dos meses, aún más preferiblemente durante un período de al menos tres meses y aún más preferiblemente durante un período de al menos seis meses.

Por lo general, el producto se conserva en condiciones

ambientales, que incluyen toda la gama de temperaturas que se experimentan durante el almacenamiento, transporte y exhibición (por ejemplo, de 0°C a 40°C, de 10°C a 30°C, de 20°C a 25°C) sin limitación a la duración de la exposición a
5 cualquier temperatura dada.

Como se utiliza en este documento, el término "bebida" se refiere a una bebida terminada, aunque el estabilizador de color de origen natural puede añadirse en cualquier momento en la fabricación de bebidas, es decir, jarabe, concentrado o
10 bebida terminada, que puede ser contenida en un recipiente de vidrio o de plástico (por ejemplo, PET). Como se utiliza en este documento, tales bebidas incluyen, pero no se limitan a una bebida carbonatada, una bebida no carbonatada, un refresco, un jugo de frutas, una bebida con sabor a jugo de
15 frutas, una bebida con sabor a fruta, una bebida energética, una bebida de hidratación, una bebida deportiva, una bebida de salud y bienestar, una bebida de la fuente, una bebida congelada lista-para-beber, una bebida carbonatada congelada, un concentrado líquido, una bebida de café , una bebida de
20 té, una bebida láctea, una bebida de soya, una bebida vegetal, agua saborizada, un agua enriquecida o una bebida alcohólica.

Así, productos de bebida según la presente invención incluyen tanto bebidas no carbonatadas como carbonatadas. En

este documento, el término "bebidas carbonatadas" incluye cualquier combinación de agua, jugo, sabor y edulcorante que está destinado a consumirse como un líquido libre de alcohol, el cual también está hecho para poseer una concentración de

5 dióxido de carbono de 0.2 volúmenes de CO₂ o mayor. El término "volumen de CO₂" se entiende como la cantidad de dióxido de carbono absorbido por el líquido en un volumen de CO₂ es igual a 1.96 gramos de dióxido de carbono (CO₂) por litro de producto (0.0455M) a 25°C. Ejemplos no limitativos

10 de bebidas carbonatadas incluyen aguas de seltz saborizadas, zumos, cola, lima-limón, ginger ale y bebidas de cerveza de raíz que son carbonatadas a modo de refrescos, así como bebidas que proporcionan beneficios a la salud o bienestar por la presencia de sustancias metabólicamente activas, tales

15 como vitaminas, aminoácidos, proteínas, carbohidratos, lípidos o polímeros de los mismos. Tales productos también pueden formularse para contener leche, café, o té u otros sólidos botánicos. También es posible formular tales bebidas para que contengan uno o más de nutraceuticos. Aquí, un

20 "nutracéutico" es una sustancia que ha demostrado poseer, como mínimo, ya sea general o particularmente un beneficio para la salud o sensación de bienestar como se documenta en revistas o textos profesionales. Los nutraceuticos, sin embargo, no necesariamente actúan para curar o prevenir tipos

específicos de afecciones médicas.

En este documento, el término "bebida no carbonatada" es cualquier combinación de agua y el ingrediente que está destinado a ser consumido en la forma de una bebida líquida libre de alcohol y que posee no más de 0.2 volúmenes de dióxido de carbono. Ejemplos no inclusivos de bebidas no alcohólicas incluyen aguas saborizadas, té, café, néctares, bebidas minerales, bebidas deportivas, aguas vitamínicas, bebidas que contienen jugo, ponches o las formas concentradas de estas bebidas, así como concentrados de bebidas que contienen al menos aproximadamente 45 por ciento en peso de jugo. Tales bebidas pueden complementarse con vitaminas, aminoácidos, sustancias basadas en proteínas, basadas en carbohidratos o basadas en lípidos. Como se señaló, la invención incluye productos que contienen jugos, ya sean carbonatadas o no carbonatadas. "Bebidas que contienen jugo" o "Bebidas de zumo", independientemente de si son no carbonatadas o carbonatadas, son productos que contienen algunos o todos los componentes de una fruta, vegetales o nueces o mezcla de los mismos que puede ser suspendido o hechos solubles en la fracción líquida natural de la fruta.

A modo de ejemplo, pueden obtenerse productos de jugo y bebidas de la fruta de manzana, arándano, pera, melocotón, ciruela, albaricoque, nectarina, uva, cereza, grosella,

frambuesa, ribes uva-crispa, zarzamora, mora azul, fresa, limón, naranja, pomelo, fruta de la pasión, mandarán, mirabel, tomate, lechuga, apio, espinacas, col, berro, diente de León, ruibarbo, zanahoria, remolacha, pepino, piña, 5 chirimoya, coco, granada, guayaba, kiwi, mango, papaya, sandía, Io han guo , melón, piña, plátano o puré de plátano, limón, mango, papaya, Lima, mandarina y mezclas de los mismos.

Pueden usarse diversos ácidos y combinaciones de ácidos 10 con sales del mismo o diferentes ácidos para administrar el pH o la capacidad tampón de la bebida a un pH o rango de pH especificado. El pH es, en general se ajusta a un pH en el rango de 2.5 a 6. Puede utilizarse prácticamente cualquier sal del ácido orgánica que es comestible y no presenta un 15 sabor. La elección de sal o la mezcla de sal se determinará por la solubilidad y el gusto. El citrato, el malato y el ascorbato producen complejos ingeribles cuyos sabores se consideran bastante aceptables, particularmente en bebidas de zumos de frutas. El ácido tartárico es aceptable, 20 particularmente en las bebidas de jugo de uva, como el ácido láctico. Los ácidos grasos de cadena más larga pueden usarse, pero pueden afectar la solubilidad en agua y el sabor.

Como se muestra en los Ejemplos que acompañan a la presente invención, los autores de la presente invención han

encontrado, además, que cuando se agrega floretina en combinación con ácido ascórbico, el efecto estabilizador del color observado se aumenta sorprendentemente, es decir, la bebida mantiene un color más estable durante el tiempo que
5 cuando se compara con floretina o ácido ascórbico añadidos solos. Así, en una modalidad particular de la invención, la floretina se agrega al producto en combinación con otro estabilizador. En una modalidad preferible dicho estabilizador es ácido ascórbico.

10 En otra modalidad particular de la invención, dicha bebida o producto alimenticio coloreado comprende un color de origen natural o su equivalente sintético o un color sintético.

Ejemplos no limitativos de dichos colores de origen
15 natural según la presente invención son el extracto de Annatto, astaxantina, remolacha deshidratada, cantaxantina, caramelo, beta-apo-8'-carotenal, betacaroteno, extracto de cochinilla, carmín, clorofilina de cobre sódico, gluconato ferroso, lactato ferroso, extracto de color de uva,
20 enocianina, harina de algas Haematococcus, jugo de frutas, jugo de verduras, aceite de zanahoria, aceite de endospermo de maíz, paprika, oleorresina de paprika, levadura de Phaffia, riboflavina, azafrán, dióxido de titanio, oleorresina de cúrcuma, bixina y combinaciones de los mismos.

En otra modalidad, el producto coloreado contiene un producto colorante sintético. Ejemplos no limitativos de dicho color sintético son FD&C Azul No. 1, FD&C Azul No. 2, FD&C Verde No. 3, Naranja B, Rojo Cítrico No.2, FD&C Rojo No. 3, FD&C Rojo No. 40, FD&C Amarillo No .5, FD&C Amarillo No.6, Rojo Cítrico No. 2, D&C Rojp No. 28, D & C Amarillo No. 10, óxido de hierro sintético, gluconato ferroso, azul ultramarino, verde ultramarino, violeta ultramarino, rojo ultramarino y combinaciones de los mismos.

10 Tales colores naturales o sintéticos están disponibles en el mercado; alternativamente, estos colores pueden ser sintetizados según procedimientos conocidos por el técnico en la materia Un técnico de habilidad ordinaria en la materia reconocerá que la cantidad óptima de color presente en un
15 determinado producto está determinada por factores como el color general deseado, la solubilidad, la aprobación regulatoria, etc. Un técnico de habilidad ordinaria en la materia puede determinar fácilmente la cantidad óptima de color para un producto determinado con base en esos factores.

20 La bebida coloreada puede colorearse en virtud de la presencia de uno o más de los colores antes mencionados.

En una modalidad particular de la invención dicho compuesto (I) está presente en dicha bebida o producto alimenticio en una cantidad desde aproximadamente 0.1 ppm

hasta aproximadamente 500 ppm. En una modalidad preferible, dicho compuesto (I) está presente en una cantidad desde aproximadamente 1 ppm a aproximadamente 100 ppm. En una modalidad más preferible de la invención dicho compuesto (I) está presente en una cantidad desde aproximadamente 10 ppm hasta aproximadamente 50 ppm.

En otra modalidad particular de la invención, el ácido ascórbico está presente en una cantidad desde aproximadamente 0.1 a aproximadamente 500 ppm. En una modalidad preferible, el ácido ascórbico está presente en una cantidad desde aproximadamente 1 a aproximadamente 300 ppm. En una modalidad más preferible, el ácido ascórbico está presente en una cantidad desde aproximadamente 20 hasta aproximadamente 200 ppm.

El estabilizador de color de origen natural según la presente invención puede proporcionarse al producto de consumo en la forma de una composición de coloración. Dicha composición de coloración puede incluirse en cualquier etapa de la fabricación del producto. Por ejemplo, cuando dicho producto es una bebida, dicha composición de coloración puede añadirse a un jarabe, concentrado, o a la bebida terminada.

A continuación, la presente invención se describirá con más detalle haciendo referencia a los siguientes Ejemplos, los cuales no deben considerarse limitantes del alcance de la

presente invención.

EJEMPLOS

Materiales y métodos

Materiales y Reactivos

5 La floretina (lote número 03K080) lo suministró Interquim, S.A. en Beniel (Murcia - España). El β -caroteno (Altratene 10% WSC número de lote FEX1011004-5) lo suministró Allied Biotech Corp. (Taipei, Taiwán, R.O.C.). El ácido L-ascórbico (número de lote 0000224398) y el ácido
10 cítrico (número de lote 0000128079) fueron de Panreac Química S.L.U. (Castellar del Vallès - Barcelona - España). El color caramelo E150D polvo (ref No MDC/2892/15) y polvo de jugo de Remolacha Roja (ref No MDC/2893/15) los suministró Magnil Dye Chem (Bombay - India).

15 Para la preparación de bebidas se utilizó agua mineral (son gas y con gas). Para fines analíticos, el agua se sometió a doble destilado y se purificó a través de un sistema Millipore (Milli-Q).

Formulación de la bebida en un primer estudio con β -caroteno

20 Las bebidas se prepararon acidificando el medio (agua osmotizada) con ácido cítrico a pH 3.3 y añadiendo β -caroteno a partir de una solución stock. El estudio se realizó a temperatura ambiente y en presencia de luz.

La composición de las muestras se muestra en la

siguiente tabla:

Tabla 1

	Muestra	Composición
5	1	5 ppm β -caroteno
	2	5 ppm β -caroteno + 50 ppm floretina

Las muestras se analizaron inicialmente y después de 25 y 31 días de almacenamiento.

10 *La formulación de la bebida en el estudio con β -caroteno*

Las bebidas se elaboraron por acidificación del medio (agua mineral si gas para bebidas no carbonatadas y con gas para las bebidas carbonatadas) con ácido cítrico a pH 3.3 y adición de β -caroteno a partir de una solución *stock*.

15 Se preparó la solución *stock* de floretina disolviendo 400 mg de floretina en 10 ml de propilenglicol. Se diluyeron 87.5 μ l o 25 μ l de esa solución a 100 ml con agua acidificada dependiendo de la concentración de floretina deseada.

La solución *stock* de Altratene se preparó disolviendo
20 100 mg Altratene 10% WSC en 20 ml de agua. Se diluyó 1 ml de esa solución a 100 ml con agua acidificada.

El estudio se realizó a temperatura ambiente y en presencia de luz.

La composición de las muestras se muestra en la

siguiente tabla:

Tabla 2.

	Muestra	Composición
5	A	5 ppm β -caroteno + 200 ppm vit C
	B	5 ppm β -caroteno + 10 ppm floretina
	C	5 ppm β -caroteno + 35 ppm floretina
	D	5 ppm β -caroteno + 200 ppm vit C + 35 ppm floretina

Las muestras (5 botellas no carbonatada y 5 botellas de
 10 agua carbonatada) se prepararon, embotellaron, pasteurizaron
 y cerraron. Se analizaron muestras no carbonatadas
 inicialmente y después de 7, 28, 47, 60 y 90 días de
 almacenamiento. Se analizaron muestras carbonatadas
 inicialmente y después de 7, 28, 60, 75 y 114 días de
 15 almacenamiento.

Estudio de la formulación de bebidas con colorantes naturales

En una serie de experimentos, se prepararon bebidas por
 acidificación del medio (agua desionizada) con ácido cítrico
 a pH 3.3 y la adición de caramelo solo de una solución *stock*.

20 Se preparó la solución *stock* de floretina disolviendo
 400 mg de floretina en 10 ml de propilenglicol. Se diluyó 125
 o 250 μ l de esta solución a 100 ml con agua acidificada
 dependiendo de la concentración de floretina deseada.

La solución *stock* de caramelo se preparó disolviendo

250 mg de Caramelo en 50 ml de agua. Se diluyó 18 ml de esa solución a 500 ml con agua acidificada. La solución de ensayo fue 90 ml de la solución anterior más 10 ml de metanol para evitar la contaminación microbiológica (control). Por lo tanto, la concentración de Caramelo en la solución de ensayo fue de 162 ppm.

En otra serie de experimentos, se preparó solución en polvo de jugo de Remolacha Roja disolviendo 1250 mg de jugo de Remolacha Roja en polvo en 500 ml de agua acidificada. La solución se preparó con 90 mL de la solución anterior con 10 mL de metanol para evitar la contaminación microbiológica (control). Por lo tanto, la concentración de Remolacha Roja en la solución de ensayo fue 2250 ppm.

El estudio se realizó a temperatura ambiente y en presencia de luz.

La composición de las muestras puede verse en la siguiente tabla:

Tabla 3

Muestra	Composición
A	Control (90 mL + 10 mL MeOH)
B	Control + 50 ppm floretina
C	Control + 100 ppm floretina
D	Control + 200 ppm vit C
E	Control + 200 ppm vit C + 50 ppm floretina

Las muestras se prepararon sin pasteurización en

Interquim S.A. Beniel (Murcia).

Las muestras se analizaron inicialmente y después de 28 días de almacenamiento. En el caso del estudio de la remolacha roja, el análisis se realizó después de 15 días de almacenamiento debido a la degradación evidente de color.

Análisis

Se utilizó el espectrofotómetro de doble haz Shimadzu 1650PC con un ancho de banda espectral inferior a 2 nm y conectado a una computadora cargada con Shimadzu UVProbe 2.21 para todas las mediciones espectrofotométricas.

El espectro de la muestra se realizó entre 200 nm y 600 nm para determinar los máximos de absorción máxima en la que se registró la absorbancia. La absorbancia se utilizó como parámetro de indicación del color.

Para cada máximo, se realizó un estudio de la linealidad de la absorbancia versus la concentración de β -caroteno (1-10 ppm con cuatro puntos) obtenido por diferentes pesos Altratene o por otra dilución de la solución *stock* de Altratene.

Además, de una solución *stock* se prepararon cinco muestras y la absorbancia se registró para estudiar la repetibilidad del método.

El cambio de color se estudió midiendo la absorbancia a dos longitudes de onda diferentes. Las muestras carbonatadas

se desgasificaron en vasos de precipitados utilizando un baño de ultrasonido durante 5 minutos y se analizaron. Se analizaron muestras no carbonatadas directamente sin tratamiento adicional. Cada muestra se analizó por triplicado.

Las mediciones de pH se realizaron utilizando un medidor de pH GLP21(Crison).

En el caso de los colorantes naturales, se utilizó el mismo equipo de medición. Los espectros de la muestra se realizaron entre 200 nm y 600 nm para determinar los máximos de absorción máxima en la que se registró la absorbancia. En el caso de la Remolacha Roja, se eligió la maxima 532 nm como la longitud de onda para medir. En el caso del Caramelo, el máximo (270 nm) fue interferido no sólo por el ácido ascórbico, sino también por la floretina; por esa razón, y con base en datos bibliográficos, se seleccionó 390 nm con fines de medición.

Resultados

β -caroteno

20 *Estudio Inicial*

La siguiente tabla muestra los resultados de absorbancia de las muestras a 465 nm para los diferentes tiempos de muestreo:

Tabla 4

	absorbancia a 465 nm	
	1	2
tiempo (días)	(control)	(+Floretina)
0	0,583	0,592
25	0	0,492
31	0	0,391

en donde 1 es la bebida de control y 2 la bebida estabilizada con 50 ppm de floretina.

Como puede verse en la Tabla 4 y la figura 1, la absorbancia de la bebida sin floretina disminuyó drásticamente después de 25 días de almacenamiento mientras que la muestra enriquecida con 50 ppm floretina mostró una reducción en el decaimiento de la absorbancia, es decir, que el color de la muestra se mantuvo por un largo periodo.

Estudio de linealidad

La siguiente tabla muestra los resultados de absorbancia de las muestras a 466 nm para la concentración de β -caroteno diferentes variando el volumen o el peso de

Altratene:

Tabla 5

concentración (ppm)	absorbancia a 466 nm	
	volumen variable	pesos variables
1	0.103	0.104
2	0.207	0.211
5	0.538	0.535
10	1.094	1.054

Como puede verse en la Tabla 5 y la figura 2, existe una respuesta lineal con la concentración de β -caroteno en la bebida, obteniendo un parámetro r^2 de 0.9999.

Estudio de repetibilidad

La siguiente tabla muestra la absorbancia a 466nm resultados nm de cinco diluciones de la misma muestra:

Tabla 6.

	Número de muestra	absorbancia
10	1	0.525
	2	0.526
15	3	0.527
	4	0.526
	5	0.529
	promedio	0.527
	STD	0.0015
20	RSD (%)	0.29

STD: Desviación estándar

RSD: Desviación estándar relativa

El bajo valor de la RSD muestra que la repetibilidad del método ha sido satisfactoria.

Estudio de bebidas no carbonatadas

La siguiente tabla muestra los resultados de absorbancia de las muestras a 466 nm para los diferentes tiempos de muestreo:

5 Tabla 7.

absorbancia a 466 nm				
tiempo (días)	A	B	C	D
0	0,490	0,463	0,467	0,478
7	0,460	0,451	0,472	0,481
10 28	0,404	0,322	0,375	0,428
47		0,126	0,304	0,432
60		0,092	0,126	
90	0,375			0,407

15

Como se muestra en la Tabla 7, ver las muestras B y C, la bebida que contiene floretina se ha protegido por más tiempo que en el caso de la bebida sin nada añadido (datos extrapolados del estudio inicial). Aún más interesante es el caso de las muestras A y D, donde en la muestra D puede verse que la floretina ha actuado sinérgicamente con el ácido ascórbico proporcionando una mayor absorbancia, es decir, un color más estable en el tiempo (figura 3).

20

Estudio de bebidas carbonatadas

La siguiente tabla muestra los resultados de absorbancia de las muestras a 466 nm para los diferentes tiempos de muestreo:

5 Tabla 8.

tiempo (días)	466,2 nm			
	A	B	C	D
0	0,454	0,467	0,474	0,457
7	0,427	0,497	0,482	0,483
10 28	0,416	0,408	0,410	0,439
60	0,406	0,271	0,337	0,446
75		0,101	0,217	
114	0,372			0,435

15

En la Tabla 8 se muestra que el color de la bebida carbonatada es más estable en el tiempo que en las no carbonatadas debido a la reducción de oxígeno en el medio.

Como en el caso anterior, como puede verse en las muestras B y C, el color de la bebida se ha protegido por más tiempo que en el caso de la bebida sin nada añadido (datos extrapolados del estudio inicial). Aún más interesante es el caso de las muestras A y D, donde en la muestra D la floretina ha actuado sinérgicamente con el ácido ascórbico

proporcionando una mayor absorbancia, es decir, un color más estable en el tiempo (figura 4).

Colorantes naturales

Polvo de jugo de remolacha roja

5 La siguiente tabla muestra los resultados de absorbancia de las muestras a 532 nm para los diferentes tiempos de muestreo:

Tabla 9.

10 tiempo (días)	A	B	C	D	E
0	0.987	0.984	0.985	0.979	0.977
15	0.327	0.349	0.538	0.408	0.412
28	0.118	0.193	0.281	0.156	0.180

15 En la figura 5 se muestran los valores de las muestras A y C.

20 Como se mencionó anteriormente, en el caso del polvo de jugo de remolacha roja, la absorbancia se midió después de 15 días de almacenamiento debido a que la degradación del color fue muy evidente y rápida.

Los resultados muestran que la floretina protege la degradación del color y es dependiente de la concentración.

Caramelo

La siguiente tabla muestra los resultados de absorbancia de las muestras a 390 nm para los diferentes tiempos de muestreo:

5 Tabla 10.

10

tiempo (días)	A	B	C	D	E
0	0.397	0.405	0.416	0.398	0.406
28	0.298	0.302	0.343	0.272	0.268

Los datos de absorbancia indican que floretina protege este colorante natural de degradación (Tabla 10).