

Universidad Mayor de San Andrés
Fac. de Cs. Farmacéuticas y Bioquímica
Instituto Nacional de Laboratorios de Salud –INLASA
Maestría en Bromatología

**DETERMINACIÓN DE LA GENUINIDAD EN JUGOS DE
NARANJA COMERCIALIZADOS EN LOS
SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE LA PAZ DURANTE
LA GESTIÓN 2007**



Maestrante : Romina Segurondo Loza

Tutoras : MSc María Rosa Pantoja
MSc Eliana Rocha G.

Tesis para optar al Título de Magíster Scientiarum

La Paz – Bolivia
2008

DEDICATORIA:

*A Díos por darme fortaleza y
ser mi guía en todo momento
A mi amado esposo Fernando
por ser mi compañero incondicional.
A mi hijito José Ignacio
por ser mi fuente de inspiración.
A mis padres y mi hermana por
todo su apoyo y comprensión... Gracias*

AGRADECIMIENTOS

- Al Instituto Nacional de Laboratorios en Salud – INLASA por su apoyo para la realización del presente trabajo

- A mis asesoras y compañeras de trabajo, la Dra. María Rosa Pantoja y la Dra. Eliana Rocha por su paciencia, comprensión y desprendimiento de todos sus conocimientos para la realización de este trabajo y por su ejemplo de tenacidad y esfuerzo en la vida.

- A mis compañeras del Laboratorio de Química de Alimentos: Claudia Zenteno y Patricia Vacaflor por su constante aliento y apoyo profesional.

- A la Dra. Amelia Guzmán autora de la Maestría de Bromatología por haberme permitido ampliar mis conocimientos a nivel profesional.

- Al Dr. Daniel Wunderlin de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Córdoba Argentina por toda su guía profesional en la realización de este trabajo.

- Al Dr. Alberto Jiménez Director del Instituto de Investigaciones Fármaco – Bioquímicas (IIFB) de la Facultad de Cs. Farmacéuticas y Bioquímicas – UMSA por su valiosa colaboración.

RESUMEN

La producción mundial de jugos cítricos concentrados se estima en 2,6 millones de toneladas. El jugo de naranja representa el 88% del total. El mercado es liderizado por Brasil con el 50% del volumen elaborado, seguido por EEUU con el 40%. En Bolivia el mercado de frutas se encuentra en continuo crecimiento, tanto para importación como para consumo interno.

Actualmente se comercializan bebidas a base de jugo de frutas tanto de importación como de fabricación nacional, las mismas que son sometidas a control por los Organismos Oficiales (Ministerio de Salud y Deportes, y el Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidad Alimentaria - SENASAG) bajo la Normativa Nacional e Internacional reconocida como es la Norma Boliviana y el Codex Alimentarius, al igual que todos los productos alimenticios para garantizar su calidad e inocuidad.

El análisis laboratorial se basa principalmente en las determinaciones de parámetros fisicoquímicos que necesitan ser complementados con otros métodos analíticos (como: la Cuantificación de Prolina por Espectrofotometría, Índice de Formol y Cuantificación de Pectinas) propuestos en éste trabajo, capaces de determinar la genuinidad de jugos de naranja presentes en el comercio de la ciudad de La Paz, y así colaborar con los Organismos de Control para cumplir a cabalidad con la responsabilidad de garantizar que los productos consumidos por nuestra población cumplen con lo declarado.

Palabras clave: Jugo de naranja- Índice de Formol – Pectinas -Prolina -Genuinidad

INDICE

	PÁGINA
I. INTRODUCCIÓN _____	1
1. 1. ANTECEDENTES _____	1
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA _____	3
1.3. MARCO TEORICO _____	5
1.3.1. Definición de Jugo de Naranja _____	5
1.3.2. Composición de los Jugos _____	5
1.3.3. Características de los Jugos _____	8
1.3.3.1. Características organolépticas _____	8
1.3.3.2. Características fisicoquímicas _____	9
1.3.3.3. Características microbiológicas _____	11
1.3.4. Valor nutricional de las frutas _____	12
1.3.5. Maduración de las frutas _____	15
1.3.5.1. La Respiración _____	15
1.3.6. Elaboración del Jugo de Naranja _____	17
1.3.6.1. Análisis de la Contaminación durante el procesamiento____	20
1.3.6.1.1. Hesperidina _____	21
1.3.6.1.2. Escamas negras _____	22
1.3.6.1.3. Oxidación del zumo_____	23
1.3.6.1.3.1. Técnicas analíticas _____	26
1.3.7. Genuinidad _____	27
1.3.7.1. Verificación de la Composición, Calidad y Genuinidad _	27
1.3.7.1.1. Brix y Sólidos Solubles _____	28
1.3.7.1.2. Acidez _____	32
1.3.7.1.3. Pectinas _____	37

	PÁGINA
1.3.7.1.4. Detección del contenido de Nitrógeno Amínico total	
Total. Índice de Formol _____	46
1.3.7.1.5. Prolina. Aminoácido predominante en jugos de Naranja _____	48
1.4. JUSTIFICACIÓN _____	53
1.5. PREGUNTA DE INVESTIGACION _____	54
II. OBJETIVOS	
2.1 Objetivo General _____	54
2.2 Objetivos Específicos _____	54
III. MÉTODO _____	55
3.1 Clasificación de la Investigación _____	55
3.2 Universo y Muestra _____	56
3.3 Operacionalización de Variables _____	59
3.4. Técnicas y Procedimientos _____	59
3.4.1.1 Materiales y Equipos _____	59
3.4.1.2. Procedimiento _____	59
3.4.1.3. Expresión de Resultados _____	59
3.4.2 Acidez Titulable _____	60
3.4.2.1. Materiales _____	60
3.4.2.2. Reactivos _____	60
3.4.2.3 Preparación de la Muestra _____	60
3.4.2.4 Procedimiento _____	60
3.4.2.5 Expresión de Resultados _____	60
3.4.3. Índice de Formol _____	61
3.4.3.1. Materiales _____	61
3.4.3.2. Reactivos _____	61
3.4.3.3. Procedimiento _____	61
3.4.3.4. Expresión de Resultados _____	61

	PÁGINA
3.4.4. Determinación de Prolina _____	62
3.4.4.1. Equipos _____	62
3.4.4.2. Reactivos _____	62
3.4.4.3. Procedimiento _____	62
3.4.5. Determinación de Pectinas en Jugos _____	65
3.4.5.1. Método Cualitativo _____	65
3.4.5.1.1. Materiales _____	65
3.4.5.1.2. Reactivos _____	65
3.4.5.1.3. Procedimiento _____	65
3.4.5.1.4. Expresión de Resultados _____	65
3.4.5.2. Método Cuantitativo _____	66
3.4.5.2.1. Materiales _____	66
3.4.5.2.2. Reactivos _____	66
3.4.5.2.3. Procedimiento _____	66
3.4.5.2.4 Expresión de Resultados _____	66
3.4.6. Determinación de Prolina por Cromatografía en capa fina ____	67
3.4.6.1. Equipos _____	67
3.4.6.2. Reactivos _____	67
3.4.6.3. Procedimiento _____	67
IV. MUESTRAS _____	73
4.1. Pruebas Iniciales en muestras de jugo de naranja puro _____	73
4.2. Pruebas iniciales en muestras de jugo de naranja comercializadas _	73
V- RESULTADOS Y DISCUSIÓN _____	74
5.1. Parámetros físicoquímicos _____	74
5.1.1. Jugos de Naranja Naturales _____	74
5.2. Parámetros de genuinidad _____	76
5.2.1. Pectinas Totales _____	85

	PÁGINA
5.2.1.1. Jugos de Naranja Naturales _____	85
5.2.1.2. Jugos de Naranja Comercializados _____	86
5.2.2. Determinación de Nitrógeno Amínico Total (índice de Formol) _	88
5.2.2.1. Jugos de Naranja Naturales _____	88
5.2.2.2. Jugos de Naranja Comercializados _____	89
5.2.3. Estandarización del Método de Cromatografía en capa fina para la identificación de Prolina _____	93
5.2.4. Estandarización del Método por espectrofotometría para la determinación de Prolina _____	94
5.2.4.1. Jugos de Naranja Naturales _____	95
5.2.4.2. Jugos de Naranja Comercializados _____	97
VI. CONCLUSIONES _____	103
VII. RECOMENDACIONES _____	104
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____	105
ANEXOS	

1. INTRODUCCIÓN

1.1 ANTECEDENTES

La producción mundial de jugos cítricos concentrados se estima en 2,6 millones de toneladas. El jugo de naranja representa el 88% del total. El mercado es liderizado por Brasil con el 50% del volumen elaborado, seguido por EEUU con el 40%.¹

Existen dos mercados en el cultivo mundial de la naranja: el de frutas frescas y el de jugo concentrado. En el de las frutas frescas, destacan, por orden, como principales exportadores mundiales, España, Estados Unidos, Italia, Grecia y Turquía. El de jugo concentrado está prácticamente dominado por Brasil y Estados Unidos que, juntos, producen el 90% del total mundial. El mercado mundial de naranja presentó una fuerte volatilidad de precios en la década de los 70 y 80, en virtud de las fuertes heladas que alcanzaron las regiones productoras de Florida. Esos hechos constituyeron el más fuerte estímulo para el desarrollo del cultivo brasileño de naranjas. Y motivó a los Estados Unidos a plantar naranjas fuera de la región de mayor incidencia de heladas.¹

Las perspectivas del mercado están ahora dirigidas al potencial crecimiento del consumo de jugo en el mundo. Estudios del Departamento de Citrus de Florida indican un crecimiento del consumo del 1,5% al año para los Estados Unidos y Canadá, del 3% al año para Europa Occidental y del 4% al año para el resto del mundo, incluido Japón y los países del sudeste asiático.⁽¹⁾

¹ Secretaria de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. SAGP y A.FEDERCITRUS Republica Argentina
www.sagpya.mecon.gov.ar/publicaciones/notradic/citricos.php

Brasil es el mayor productor y exportador de jugo de naranja, con el 50% de la producción mundial, de los cuales sólo el 3% permanecen en el mercado interno. Los principales importadores de jugo brasileño son la Comunidad Europea (62%), Estados Unidos (20,5%) y Japón (9,2%).¹

En Bolivia se estima que la producción anual de naranjas es de 150 mil toneladas en el Chapare, 80 mil toneladas en los Yungas y 100 mil toneladas aproximadamente en el departamento de Santa Cruz, se ha establecido además que la demanda de bebidas refrescantes, para la gestión 2006 alcanzó a 179 millones de litros, de los cuales 65 millones de litros fueron destinados a la venta en algún tipo de envase industrial, la otra forma de consumo es la de los jugos al momento de consumir. Aproximadamente existen ocho plantas de elaboración de jugos y bebidas refrescantes ubicadas en La Paz, Santa Cruz y Cochabamba. En el mercado también se encuentran marcas de jugos y néctares de importación principalmente de EEUU y de Sudamericana de fabricación Argentina, Paraguaya y Brasileira.²

Los jugos cítricos concentrados se producen por concentración de jugos obtenidos por medios mecánicos adecuados a partir de naranjas (*Citrus sinensis*), pomelos (*Citrus paradisi*), limas (*Citrus aurantifolia*; *C. latifolia*), limones (*Citrus limon*) o mandarinas (*Citrus reticulata*); *C. unshiu*; *C. nobilis*), y pueden ser conservados por métodos físicos (refrigeración o congelación) o químicos (ácido benzoico, sórbico, o mezcla de ambos). La gran complejidad composicional natural de los jugos cítricos, así como los aditivos permitidos en cantidades limitadas, condicionan la necesidad de métodos analíticos que en algunos casos revisten una relativa sofisticación y requieren una cuidadosa realización.³

² ACDO/VOCA .Oferta de Demanda de cítricos en Bolivia con perspectivas de industrialización.USAID 2005-2006

³Guía de Trabajos Prácticos.Bromatología Aplicada. Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Químicas. Año 2005

La Norma Nacional que se aplica actualmente es muy poco estricta, ya que dentro de los requisitos que exige no contempla los parámetros de genuinidad que serían de mucha utilidad para realizar un análisis laboratorial mas completo y de esta forma apoyar a las acciones de control y vigilancia de los Organismos de Control y al consumidor.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los jugos de fruta que se consumen actualmente son cada vez más artificiales: hoy hay más química que naturaleza en la mayoría de los jugos que llevamos a nuestra mesa, lo que se convierte en un tema preocupante para la población que consume estos productos y mucho más sensible para los niños que se ven más afectados por no consumir las vitaminas y minerales que necesitan para su crecimiento y desarrollo intelectual.

La mayor proporción de jugo de fruta se sustituye por esencias y aditivos (saborizantes, colorantes y conservantes) lo que desencadena en un bajo aprovechamiento de la fruta producida por agricultores del país.

En Bolivia el mercado de frutas se encuentra en continuo crecimiento, tanto para importación como para consumo interno. Actualmente se comercializan bebidas a base de jugo de frutas tanto de importación como de fabricación nacional, las mismas que son sometidas a control por los Organismos Oficiales (Ministerio de Salud y Deportes, y el Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidad Alimentaria - SENASAG) bajo la Normativa Nacional e Internacional reconocida como es la Norma Boliviana y el Codex Alimentarius, al igual que todos los productos alimenticios para garantizar su calidad e inocuidad.

El análisis laboratorial se basa principalmente en las determinaciones de parámetros fisicoquímicos que necesitan ser complementados con otros métodos analíticos (como: la Cuantificación de Prolina por Espectrofotometría, Índice de Formol y Cuantificación de Pectinas) propuestos en éste trabajo, capaces de determinar la genuinidad de jugos de naranja presentes en el comercio de la ciudad de La Paz, y así colaborar con los Organismos de Control para cumplir a cabalidad con la responsabilidad de garantizar que los productos consumidos por nuestra población cumplen con lo declarado.

1.3. MARCO TEORICO

1.3.1 DEFINICION DE ZUMO (JUGO) DE FRUTA

Por **zumo (jugo) de fruta** se entiende el líquido sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras y frescas o frutas que se han mantenido en buen estado por procedimientos adecuados, inclusive por tratamientos de superficie aplicados después de la cosecha de conformidad con las disposiciones pertinentes de la Comisión del Codex Alimentarius⁴. Algunos zumos (jugos) podrán elaborarse junto con sus pepitas, semillas y pieles, que normalmente no se incorporan al zumo (jugo), aunque serán aceptables algunas partes o componentes de pepitas, semillas y pieles que no puedan eliminarse mediante las buenas prácticas de fabricación (BPF)⁵.

Los zumos (jugos) se preparan mediante procedimientos adecuados que mantienen las características físicas, químicas, organolépticas y nutricionales esenciales de los zumos (jugos) de la fruta de que proceden. Podrán ser turbios o claros y podrán contener componentes restablecidos de sustancias aromáticas y aromatizantes volátiles, elementos todos ellos que deberán obtenerse por procedimientos físicos adecuados y que deberán proceder del mismo tipo de fruta. Un zumo (jugo) de un solo tipo es el que se obtiene de un solo tipo de fruta. Un zumo (jugo) mixto es el que se obtiene mezclando dos o más zumos (jugos), o zumos (jugos) y purés de diferentes tipos de frutas.

Según el Codex Alimentarius el zumo (jugo) de fruta se obtiene como sigue:

Zumo (jugo) de fruta exprimido directamente por procedimientos de extracción mecánica.

Zumo (jugo) de fruta a partir de concentrados, mediante reconstitución del zumo (jugo) concentrado de fruta con agua potable.

⁴ NORMA GENERAL DEL CODEX PARA ZUMOS (JUGOS). CODEX STAN 247-2005

Por **zum (jugo) concentrado de fruta** se entiende el producto que se ajusta a la definición dada anteriormente, salvo que se ha eliminado físicamente el agua en una cantidad suficiente para elevar el nivel de grados Brix al menos en un 50% más que el valor Brix establecido para el zumo (jugo) reconstituido de la misma fruta.

Por **zum (jugo) de fruta extraído con agua** se entiende el producto que se obtiene por difusión con agua de:

- fruta pulposa entera cuyo zumo (jugo) no puede extraerse por procedimientos físicos, o
- fruta deshidratada entera.

Estos productos podrán ser concentrados y reconstituidos.

El contenido de sólidos del producto acabado deberá satisfacer el valor mínimo de grados Brix para el zumo (jugo).

1.3.2. COMPOSICIÓN DE LOS JUGOS

Los jugos se caracterizan por poseer una variada gama de compuestos nutricionales que les confieren un atractivo especial a los consumidores. Están compuestos de agua en un 70 a 95%, pero su mayor atractivo desde el punto de vista nutricional es su aporte a la dieta de principalmente vitaminas, minerales, enzimas, proteínas en general y carbohidratos como la fibra. La composición en pulpa también varía mucho entre el amplio número de frutas producidas, en particular la pulpa de cada especie posee compuestos que la hacen diferente en sus características de composición, organolépticas y rendimiento debidas a moléculas como fenoles, terpenos (isoprenos) etc.. Estas características varían de manera importante aún entre frutas de una misma especie. Obviamente lo mejor es conseguir frutas que posean alto rendimiento en pulpa, un elevado valor de sólidos solubles e intensas características sensoriales propias de la fruta ⁵.

Tabla N° 1 Composición de Jugo de Naranja (Cremer y col.,1987;Souci y col.,1994)

Nutriente	Cantidad en 100g de jugo	
Agua	87-92	g
Proteínas (N x 6,25)	0,4 -1,1	g
Grasa	0,08 – 0,1	g
Carbohidratos totales	10	g
Potasio	157	mg
Magnesio	12	mg
Fósforo	16	mg
Vitaminas		
Acido ascórbico	39,5	g
Tiamina	0,096	mg
Vitamina A	78	UI
Riboflavina	0,021	mg
Niacina	0,280	mg
Acido pantoténico	0,191	mg
Vitamina B6	0,054	mg
Acido fólico	29	µg
Compuestos volátiles	3,0 -4,5	mg

Fuente: Vollmer G, Josst G, Schenker D, Sturn W, Vreden N. Elementos de Bromatología Descriptiva. Edit. Acribia. España. 1995

Los jugos cítricos contienen una diversidad de compuestos químicos (Tabla N°1), pero ninguno tan importante como los azúcares y los carbohidratos. Estos últimos, constituyen más del 80% del material soluble de los jugos cítricos y, de este porcentaje, la mitad está presente bajo la forma de sacarosa, fructosa y glucosa (Tabla 2).

Tabla Nº 2 Composición promedio de azúcar en jugo de naranja. (Cremer y col.,1987;Souci y col.,1994)

Azucar	Contenido g/100g
Glucosa	1,3 – 2,9
Fructosa	1,6 – 3,4
Sacarosa	2,9 - 5,6
Pectinas totales	340 – 1096 mg/l

Fuente: Vollmer G, Josst G, Schenker D, Sturn W, Vreden N. Elementos de Bromatología Descriptiva. Edit. Acribia. España. 1995

1.3.3. CARACTERÍSTICAS DE LOS JUGOS

Las características de los jugos que se tienen más en cuenta son las organolépticas, las fisicoquímicas y las microbiológicas.

1.3.3.1. Características organolépticas

Las características organolépticas son las que se refieren a las propiedades detectables por los órganos de los sentidos, es decir la apariencia, color, aroma, sabor y consistencia. La apariencia de los jugos debe estar libre de materias extrañas, admitiéndose una separación en fases.

La mayor separación de fases se produce por la presencia de aire ocluido, por el tamaño grueso de las partículas que componen la pulpa y por reacciones enzimáticas en pulpas no pasteurizadas.

El atrapamiento de aire es inevitable cuando se emplean despulpadoras que provoquen esta incorporación. En relación con el tamaño de partícula, depende del diámetro del orificio del tamiz que se empleó para la separación de las semillas durante el despulpado. A mayor diámetro, partículas más gruesas se sostienen en la columna de fluido, tendiendo a caer por efectos de la fuerza de la gravedad. La separación de fases se presenta al dejar las pulpas en estado crudo, es decir sin aplicar un tratamiento térmico que inactive las enzimas, causantes de la hidrólisis

de pectinas y posterior formación de sales que precipitan. Esta precipitación es la que produce un líquido de apariencia más transparente en la parte superior y opaca en la inferior.

La pulpa debe estar libre de sabores extraños. Cualquier sabor a viejo o alcohol es señal de fermentación, que de inmediato es rechazado. El color y olor deben ser semejantes a los de la fruta fresca de la cual se ha obtenido. El producto puede tener un ligero cambio de color, pero no demasiado debido a alteración o elaboración defectuosa.⁵

1.3.3.2. Características fisicoquímicas

Otras características exigidas para los jugos son las fisicoquímicas. En el caso de la acidez titulable establece los niveles mínimos de ácido que deben poseer los jugos, expresados en porcentaje masa/masa de ácido cítrico anhidro. Con esta medida se puede deducir el grado de madurez de la fruta que se empleó o si el jugo ha sido diluido. En algunos países piden la presencia de iones (cationes y aniones) propios de determinada fruta, de proteína, y aún de aminoácidos específicos que se hallan en los jugos. También se exige un nivel mínimo de sólidos disueltos o solubles determinados por lectura refractométrica a 20 °C o grados Brix. El valor de este parámetro permite igualmente deducir el grado de madurez de la fruta o si ha sido diluida.⁶

Una relación muy utilizada para determinar el estado de madurez en que se encuentra la pulpa de las frutas es el valor que resulta de dividir los grados Brix entre la acidez; y se lo conoce como el Índice de Madurez (IM). Este valor se hace mayor cuando la fruta avanza en su proceso de maduración natural. Los azúcares aumentan porque llegan de diversas partes de la planta a la fruta y los ácidos disminuyen porque son gastados en la respiración de la planta, de tal forma que

⁵ [Revista.consumer.es/eroski/web/es/actualidad/análisis jugos](http://Revista.consumer.es/eroski/web/es/actualidad/análisis_jugos)

ocurre el natural aumento de sus grados ° Brix y disminución de su grado de acidez.⁶

Tabla Nº 3. CARACTERÍSTICAS DE JUGOS CÍTRICOS

Parámetro	Limón	Mandarina	Naranja	Pomelo	Lima
Grados Brix (min)	7	10	11	9	7
Acidez (ac.cítrico)(g/100ml)	4	-	-	-	-
°Brix/Acidez (min)	-	8:1	8:1	6:1	8:1
Nitróg.amínico mgN/100ml	16	16	16	16	16
Ac. Ascórbico mg/100ml	30	30	30	30	30
Aceite esencial %v/v (máx)	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Pectinas totales (como ac.galacturónico)mg/100ml (mín)	-	-	50	-	-
Pb mg/Kg (máx)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
As mg/Kg (máx)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Cu mg/Kg (máx)	5	5	5	5	-
Sn mg/Kg (máx)	150	150	150	150	150
Sn mg/Kg (máx env. lata)	250	250	250	250	250
Mohos y levaduras (máx)	100	100	100	100	100

FUENTE: Código Alimentario Argentino (CAA) Jugos vegetales Art 1040 Res 2067 11.10.88

⁶ Kimball Dan A, Citrus Processing: A Complete Guide. 2º Ed An Aspen Publication.USA 1999

1.3.3.3. Características microbiológicas

La composición del zumo puede ser seriamente alterada por el crecimiento microbiano. Recientemente, la publicidad dada a enfermedades y muertes causadas por el crecimiento bacteriano en los jugos de frutas, ha centrado su atención en esta parte del procesamiento de cítricos. Una de las mayores formas de contaminación de los productos cítricos es el crecimiento de microorganismos. Algunos microorganismos son patógenos en los humanos y son una constante preocupación para los procesadores de alimentos. Otros, si bien no son patógenos, destruyen la calidad del alimento y los hacen desabrido o desagradable. Los microorganismos encontrados en los productos cítricos usualmente caen dentro de la categoría no patogénica, pues, en general, el alto contenido ácido de los jugos cítricos evita el crecimiento de microorganismos patógenos, mientras que permite la proliferación de ciertas levaduras y mohos acidorresistente.⁶

En 1995, en un hotel de Nueva York fue reportada la muerte de un niño que consumió jugo de manzana sin pasteurizar contaminado con *E.coli* 0157:H7 (Teller 1993), un patógeno que puede crecer en jugos con un pH de hasta 4. Aunque nunca se ha detectado la presencia de este organismo en jugos cítricos, siempre existe la posibilidad de que esto ocurra. Se cree que la bacteria es depositada en la fruta que está en el suelo a través de excretas animales. Es común recoger manzanas que están en el suelo para su procesamiento, empero esta práctica es menos común en el procesamiento de jugos cítricos. Por otro lado, los cítricos son procesados de una forma tal que reduce las probabilidades de que la contaminación superficial ingrese en el jugo. La preocupación por la seguridad de los jugos frescos recién exprimidos de cualquier tipo ha llevado a la FDA (Food and Drugs Association) a emitir una normativa que exige un programa documentado de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control (Hazard Análisis of Critical Control Points- HACCP) que incluye pruebas para *Salmonella* y *E.coli* 0157:H7.⁶

Los residuos generados por la actividad biológica producen olores y sabores indeseables que degradan la calidad de los productos cítricos aunque no exista actividad patogénica. La comprensión de los factores que afectan el crecimiento de estos microorganismos (algunos de los cuales son luz, temperatura, presencia de oxígeno, pH, humedad y presión osmótica) posibilita el desarrollo de procedimientos para prevenirlos.

1.3.4. VALOR NUTRICIONAL DE LAS FRUTAS

La composición de las frutas difiere en gran medida en función del tipo de fruto y de su grado de maduración. El agua es el componente mayoritario en todos los casos. Constituye, en general, más del 80% del peso de la porción comestible, oscilando entre un 82% en las uvas, un 90% en las fresas y hasta un 93% en la sandía.

➤ Carbohidratos

Las calorías de la fruta dependen casi exclusivamente de su contenido de hidratos de carbono, a excepción de algunas frutas como el coco en el que el contenido graso determina su valor energético.⁷

Los azúcares o hidratos de carbono simples (fructosa, glucosa, sacarosa) confieren el sabor dulce a las frutas maduras y suponen un 5-18% del peso de la porción comestible.⁷

El jugo de naranja fresco contiene sacarosa, glucosa y fructosa, que en conjunto constituyen 75% de los sólidos solubles totales; durante los tratamientos térmicos la concentración de los dos últimos se incrementa a expensas de la hidrólisis del primero. El contenido de los distintos azúcares en las frutas varía con el grado de maduración.⁷

En la maduración de las frutas climatéricas, como el plátano, el etileno provoca la activación de diversas enzimas que catalizan la síntesis de fructosa, glucosa y

⁷ Baudi Salvador. Química de los Alimentos. Edit. Alambra Mexicana

sacarosa a partir del almidón; por su importancia destacan la sacarasa sintetasa y la invertasa.⁸

➤ **Proteínas**

Debido a su escasez y a la importancia que tienen como nutrimento, estos componentes se han convertido actualmente en el principal foco de atención de tecnólogos de alimentos en el mundo; a pesar de existir una gran cantidad de nitrógeno en el Tierra, éste se encuentra en forma elemental en la atmósfera y no es aprovechable para llenar las necesidades biológicas del ser humano, ya que para la síntesis de sus proteínas, de ácidos nucleicos y de otras sustancias nitrogenadas de gran interés sólo utiliza el nitrógeno orgánico proveniente de los polipéptidos que obtiene de su dieta. Por lo contrario, los vegetales pueden producir estos nutrimentos a partir de moléculas sencillas, como nitrógeno inorgánico, agua y anhídrido carbónico.⁷

A pesar de su complejidad e inmensa diversidad, todas las proteínas se componen básicamente de sólo 20 unidades estructurales llamados “aminoácidos” que contienen otros grupos adicionales como azúcares, lípidos, ácido fosfórico, ácidos nucleicos y otros.⁹ La mayoría de los aminoácidos presenta una estructura que contiene un carboxilo y un grupo amino primario, pero existen dos, la prolina y la hidroxiprolina, que son en realidad iminoácidos por tener un amino secundario que proviene de la ciclización de su amino primario.⁷

Las proteínas habitualmente representan menos del 1% del peso fresco de las frutas. En los cítricos y fresas abundan los aminoácidos como la asparagina y la glutamina y los ácidos aspártico y glutámico. En las manzanas y las peras abunda la asparagina y las *naranjas son ricas en prolina*.⁵

⁸ Terra, NN, García, E y Lajolo, FM. 1983. “Starch-sugar transformation during banana ripening, the behavior of UDP glucosa pyrophosphorylase, sucrose synthetase and invertase”, J. Food Sci., 48:1097

⁹ Braverman JBS. Introducción a la Bioquímica de los Alimentos. Edit. Manual Moderno. México 1980

➤ **Vitaminas y Minerales**

Las frutas son buena fuente de vitaminas y minerales.

Vitaminas: destaca el contenido de vitamina C (en cítricos, frutas tropicales, melón, fresas) y de provitamina A, ambas de acción antioxidante. En menor proporción se encuentran otras vitaminas del grupo B solubles en agua, biotina y ácido pantoténico. En general, son más ricas en vitaminas las variedades coloreadas, las de verano y las frutas expuestas al sol, se ha visto que dentro de un mismo árbol, los frutos orientados al sur son más ricos en vitaminas que los orientados al norte; los de la cúspide más ricos que los de las faldas y los exteriores más ricos que los interiores.⁵

Minerales: en las frutas abunda el potasio (necesario para la transmisión del impulso nervioso y para la actividad muscular normal, contribuye al equilibrio de agua dentro y fuera de la célula). Las frutas ricas en potasio son el plátano, kiwi, uva negra, cerezas y papaya entre otras. También aportan magnesio, relacionado con el funcionamiento del intestino, nervios y músculos, forma parte de huesos y dientes, mejora la inmunidad y la resistencia ante enfermedades degenerativas, posee un suave efecto laxante y es antiestrés.⁵

➤ **Fibra**

La fibra está constituida por los componentes estructurales de las paredes celulares de los vegetales, entre los que destacan la celulosa, la hemicelulosa y las pectinas.⁷

Como constituyente natural de los tejidos vegetales, las sustancias pécticas son responsables en buena medida de la firmeza y textura de los frutos y las hortalizas. El ablandamiento del tejido del fruto durante la maduración, la rotura de la estabilidad coloidal en los jugos de fruta, los cambios de consistencia en los purés y los concentrados de fruta pueden atribuirse a menudo a modificaciones en las sustancias pécticas. Como aditivos intencionales, las pectinas son valiosos agentes de espesamiento y de formación de geles.⁹

➤ **Ácidos**

Los ácidos de las frutas son de gran importancia para el sabor; deben armonizar principalmente con el contenido de azúcar. Se percibe como agradable una relación azúcar:ácido de 12:1. En las frutas de pepita y de hueso predomina el ácido málico, en las frutas de baya el ácido cítrico, y en las uvas el ácido tartárico. El ácido láctico se forma por acción de las bacterias como consecuencia de la falta de higiene. Los ácidos frutícolas, debido a su rápida degradación metabólica, no representan ninguna carga ácida para el organismo.⁷

➤ **Colorantes naturales**

Colorantes naturales como carotenoides, antocianos y flavonoides de las respectivas frutas confieren a las bebidas su color correspondiente. También este grupo de compuestos es susceptible frente a la acción del oxígeno del aire.⁷

1.3.5. MADURACIÓN DE LAS FRUTAS

La maduración de las frutas está ligada a complejos procesos de transformación de sus componentes. Las frutas, al ser recolectadas, quedan separadas de su fuente natural de nutrientes, pero sus tejidos todavía respiran y siguen activos. Los azúcares y otros componentes sufren importantes modificaciones, formándose anhídrido carbónico (CO₂) y agua. Todos estos procesos tienen gran importancia porque influyen en los cambios que se producen durante el almacenamiento, transporte y comercialización de las frutas, afectando también en cierta medida a su valor nutritivo. Fenómenos especialmente destacados que se producen durante la maduración son la respiración, el endulzamiento, el ablandamiento y los cambios en el aroma, la coloración y el valor nutritivo.⁶

1.3.5.1. Respiración de Frutas

Como sistema biológico independiente, la fruta cosechada exhibe considerable actividad química en la que los procesos respiratorios juegan un papel de importancia. Bajo condiciones aeróbicas, las frutas continúan respirando (absorbiendo O₂ y expeliendo CO₂), y oxidando sus reservas de carbohidratos. La mayor parte de la energía liberada se desprende como calor y puede determinarse por calorimetría. Se producen muchos cambios químicos y la mayoría de ellos

influyen directamente en la calidad. Algunos de estos cambios son: desaparición de la astringencia y sabor agrio, cambios en la acidez, desaparición de la clorofila y síntesis de algunos pigmentos (es decir, cambios de color), ablandamiento de los tejidos debido a la descomposición de las pectinas, desarrollo de algunos constituyentes del olor, destrucción de otros, etc. Muchos de estos cambios se hallan interrelacionados con la respiración o dependen de ella.⁹

Se puede medir fácilmente la tasa de respiración de las frutas cosechadas, mediante la determinación de la velocidad de emisión de CO₂ o de consumo de O₂ por la fruta colocada en un recipiente cerrado.⁹

En la Figura 1 pueden apreciarse curvas típicas de velocidad de respiración posterior a la cosecha. En el caso del aguacate, la actividad respiratoria cae a un mínimo, para luego crecer velozmente a un máximo. Kidd y West, que observaron este fenómeno en las manzanas denominaron a este tipo de curva de respiración como **“la climaterica”**. Muchas frutas exhiben un patrón de comportamiento climatérico; entre ellas se encuentran las manzanas, peras, duraznos, ciruelas, plátanos, tomates, mangos, papayas, granadillas, etc. El **madurado**, definido como un proceso de cambio de color, textura y sabor, se produce en el pico climatérico o poco después del mismo. En el caso de las frutas cítricas, sin embargo, no se observa el patrón climatérico. Biale clasificó a las frutas en dos grupos⁹:

- **Climatéricas**
- **No climatéricas**

El segundo grupo incluye, además de las frutas cítricas, las cerezas, los higos, las uvas, las fresas y las piñas. Esta clasificación posee valor práctico, aunque aparentemente no refleja una diferencia fundamental entre los dos grupos. Es así que los frutos cítricos, se los cosecha inmaduros, exhiben comportamiento climatérico. Dado que los cítricos suelen cosecharse maduros, muchos fisiólogos consideran que el carácter no climatérico de las frutas cítricas se debe al hecho de que la fruta ya se encuentra en la etapa postclimaterica cuando se la cosecha.⁹

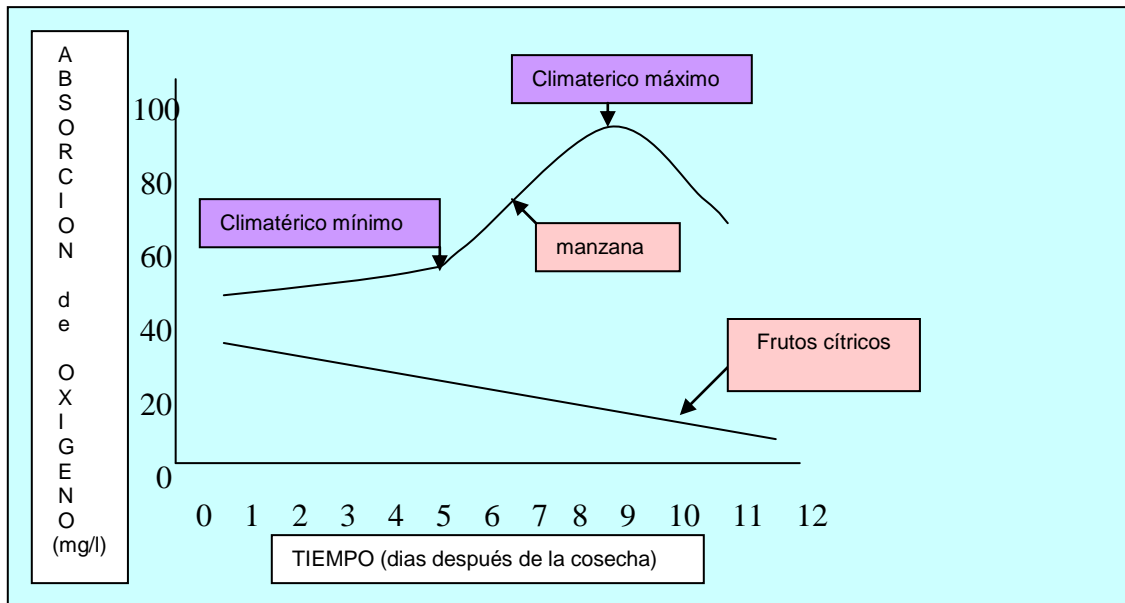


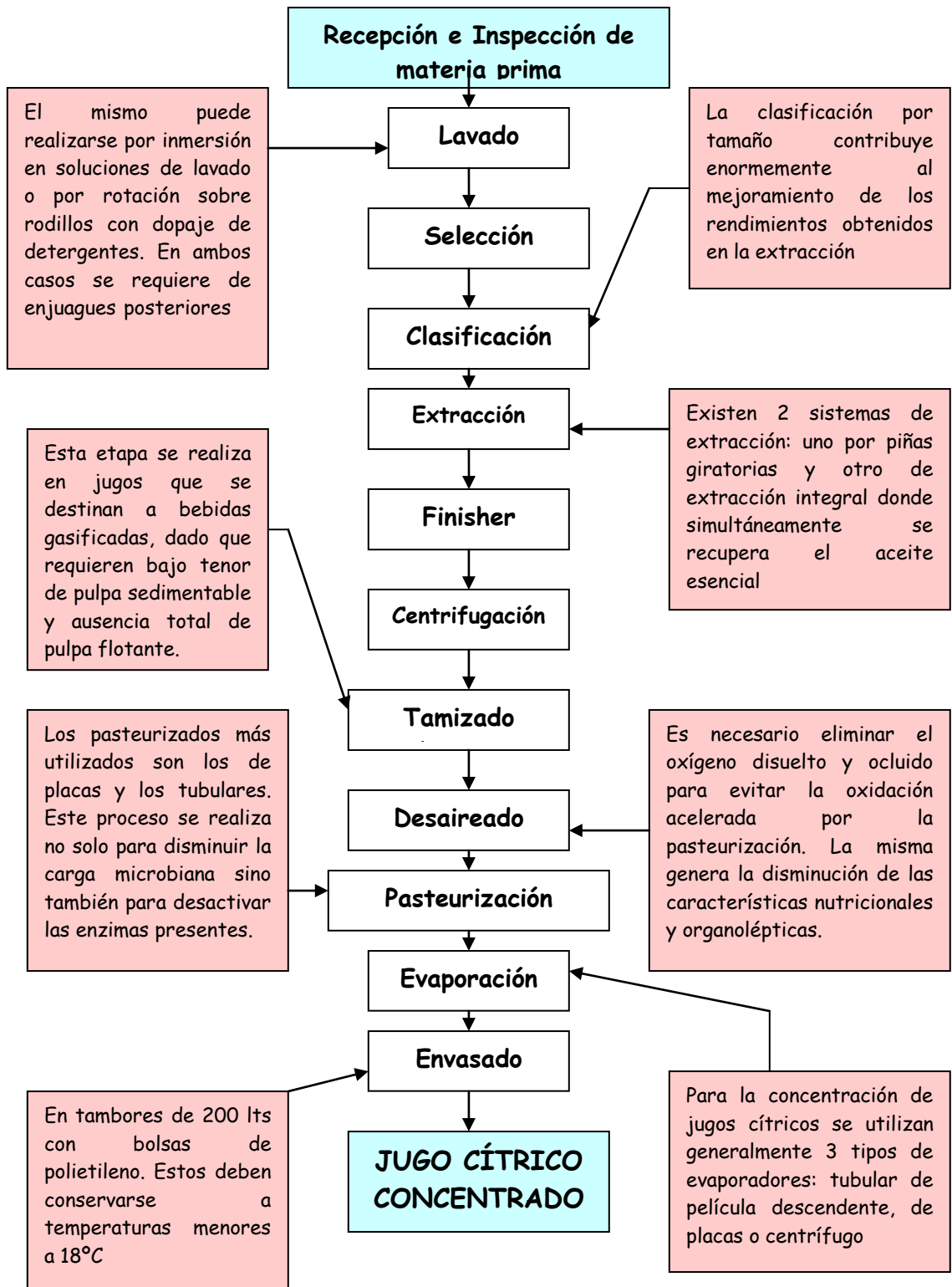
Fig. 1 Curvas típicas de respiración posterior a la cosecha de frutas

Fuente: Braverman JBS. Introducción a la Bioquímica de los Alimentos. Edit. Manual Moderno. México 1980

1.3.6. ELABORACION DE JUGO DE NARANJA

La materia prima básica en la elaboración de jugos de naranja son frutas frescas ó conservadas por cocción. El grado de madurez de la fruta juega un papel de igual importancia en el proceso de producción. Los frutos no maduros son inapropiados para la producción de jugos dado que son muy ácidos y que su contenido en azúcares es muy bajo. Por el contrario, el sabor de la fruta muy madura se degrada rápidamente y es descompuesta por patógenos.

PRODUCCIÓN DE JUGO DE NARANJA



Para lograr una calidad óptima en los jugos de naranja, se ha de controlar cuidadosamente tanto el grado de madurez como las variedades de naranja empleadas. Antes de extraer el jugo, se lavan las naranjas y se elimina el aceite de la cáscara mediante un proceso mecánico. En la fábrica, el jugo se extrae mediante extractores en línea. La fruta llega al extractor a través de una cinta transportadora y se ubica automáticamente en la parte inferior de la copa. Una cuchilla de acero inoxidable corta en círculo la parte superior del fruto y otra cuchilla en la parte inferior corta una porción de corteza. La copa superior y la inferior sujetan el fruto durante el proceso de exprimido para evitar su rotura. La fruta se estruja entera y se vierte su contenido a un colector. En algunas fábricas se centrifuga el jugo para eliminar la pulpa, que se utilizará como subproducto. Debido a que la acción del calor daña a las vitaminas y a los aromas, hoy en día se emplean **enzimas**, que disuelven en parte la pectina de la pared celular. Los enzimas descomponen la pectina altamente polimérica en ácido galacturónico y metanol, que no presenta riesgos para la salud en las cantidades presentes de 100 a 300 mg por litro (Wucherpfenning y col 1983).¹⁰

Modo de acción de los enzimas pectinolíticos

Las pectinas son polisacáridos. Están formadas por moléculas de ácido galacturónico, cuyo ácido (carboxilo) está esterificado con metanol. Las moléculas alargadas y filamentosas se entrecruzan dando lugar a una madeja esponjosa, que encierra y retiene agua, lo que le confiere a la pectina su propiedad gelificante.¹⁰

¹⁰ Vollmer G, Josst G, Schenker D, Sturn W, Vreden N. Elementos de Bromatología Descriptiva. Edit. Acibia. España. 1995

La pectina es un componente de las paredes celulares de las plantas que son las que retienen firmemente el jugo. La misión de los enzimas pectinolíticos es disolver en parte las paredes celulares y facilitar con ello la salida del jugo. Al mismo tiempo la degradación de la pectina reduce la viscosidad, por lo que los jugos son más líquidos y pueden exprimirse más fácilmente.¹⁰

Posteriormente, se aplica un tratamiento de conservación por calor. Así se obtiene el “jugo de naranja”. En los jugos de naranja a base de concentrado, este concentrado de jugo se obtiene en la mayoría de los casos por evaporación bajo vacío de una parte de agua en un intercambiador de calor. El concentrado se refrigera o congela y después, ya en la fábrica, se reconstituye. La concentración facilita el transporte el almacenamiento de estos jugos. En el envasado, y para evitar el riesgo de contaminación, los jugos se someten a un segundo tratamiento térmico y se obtiene así el “jugo de naranja a base de concentrado”. En el hogar, estos jugos se conservan durante meses a temperatura ambiente, pero una vez abiertos deben conservarse en el frigorífico.¹¹

1.3.6.1 Análisis de la Contaminación durante el Procesamiento.

Las características, la calidad y la contaminación de los jugos cítricos dependen no sólo de factores naturales, sino también de los métodos que se usan en su procesamiento. Es imposible evitar totalmente que la calidad del jugo sea afectada por el proceso. Ciertos efectos están interrelacionados con los atributos naturales del jugo, algunos de los cuales no se manifestarían sin la interferencia mecánica del hombre. Esta situación inducida por el hombre puede ser rectificada en gran parte.⁶

¹¹ www.Revista.consumer.es EROSKI

1.3.6.1.1. Hesperidina.

La hesperidina, como otros flavonoides, se encuentra principalmente en la membrana y la corteza de la fruta. La hesperidina no es soluble en soluciones acuosas neutras y sólo es ligeramente soluble en soluciones ácidas tales como los jugos cítricos. Tras la extracción del jugo de la fruta, la hesperidina toma contacto con el ácido del jugo y comienza a formar cristales. Bajo el microscopio, estos cristales son largos y puntiagudos. En los equipos de procesamiento, aparece como una superposición o película blanquecina que se agrega poco a poco hasta que se desprende en escamas blancas. La hesperidina también contribuye a la turbiedad del jugo en una proporción del 10 a 20. Estos cristales pueden obstruir los tamices de refinado, reduciendo así el rendimiento del jugo. También, durante la evaporación, la concentración de jugo acelera la cristalización de la hesperidina, causando la aparición de escamas blancas en el concentrado o en el jugo reconstituido.⁶

Los niveles de hesperidina en la fruta generalmente decrecen con la maduración. Esto se debe al hecho de que a medida que la fruta madura, se produce una acumulación de humedad que diluye la concentración de hesperidina en la fruta. A pesar de ello, la aparición de escamas de hesperidina en los jugos cítricos aumenta con la madurez de la fruta y puede llegar a niveles cítricos al final de la temporada, especialmente en el jugo de naranjas de la variedad Valencia. Esto probablemente se debe a los bajos niveles de ácido. Que reducen la solubilidad de la hesperidina. Del mismo modo, las mayores posibilidades de deterioro de la corteza en la fruta tardía pueden conducir a un incremento del nivel de hesperidina en el jugo.⁶

Si bien no se puede evitar la formación de hesperidina, la limpieza de rutina con sustancias caústicas calientes puede mantener a los tamices y el equipo de procesamiento libres de la acumulación de hesperidina. También en este caso, el procesamiento con fruta de estación tardía requiere una limpieza más frecuente con sustancias caústicas.⁶

1.3.6.1.2. Escamas negras

Siempre que se usa calor (como evaporación o pasteurización) durante el procesamiento, se corre el riesgo de recalentar o quemar el producto. La aparición de sabores y olores extraños es interrumpida por abuso de calor, la aplicación de un exceso de calor puede ocasionar que el producto se queme. Las placas de intercambio de calor usadas en la evaporación o pasteurización son especialmente sensibles porque tienen orificios muy pequeños que se obstruyen fácilmente. El principal objetivo de la operación de tamizado es remover la pulpa y otras partículas que podrían bloquear estos orificios y canales en el evaporador o adherirse a las superficies calientes. Una vez que una partícula de pulpa o de hesperidina queda atrapada y comienza a quemarse, otras partículas comienzan a agregarse, y el área quemada puede extenderse hasta que todo el flujo del jugo se bloquea. La superconcentración de jugo da lugar a la formación de azúcares solidificados o “caramelo”, y el evaporado debe ser apagado y limpiado. La primera evidencia de este problema es la aparición de escamas negras en el concentrado procesado. Cuando se observen escamas negras en el concentrado, los evaporadores con placa de intercambio de calor deben ser apagados y las placas separadas inmediatamente, pues el área quemada no solo podría ampliarse sino también incrementarse.⁶

La formación de escamas negras en las pruebas finales se puede atribuir al desgaste de agujeros de paso en los tamices o a la acumulación excesiva de hesperidina debido a limpieza insuficiente. Puesto que las escamas negras son altamente visibles en los colores brillantes de los jugos cítricos, pueden ser fácilmente reconocidos y quizás pueden ser removidos usando un cucharón. Si la contaminación no es muy severa, el problema se puede solucionar diluyendo a través de la mezcla con lotes de jugos no contaminados, pero debe recordarse que cuando se trata de escamas o partículas negras y a diferencia de lo que sucede con las escamas de hesperidina, la mayoría de las especificaciones piden niveles cero debido a su alta visibilidad.⁶

1.3.6.1.3. Oxidación del Zumo

Todos los alimentos que contienen componentes altamente oxidables tales como carbohidratos y ácido ascórbico, son susceptibles de oxidación. La oxidación puede producirse de muchas maneras, pero usualmente la más rápida es la oxidación catalítica y, por consiguiente, la que más preocupa a los procesadores de alimentos. La oxidación de los jugos cítricos genera sabores y olores anormales. Por lo general, los sabores anormales se desarrollan antes de los colores extraños y, por lo tanto, son de mayor preocupación.⁶

En la oxidación del sabor, hay tres tipos básicos de catalizadores, los cuales son las **enzimas** de aparición natural, catalizadores de la naturaleza, que causan cambios químicos en todos los seres vivos. Estas enzimas generalmente se desactivan a través del proceso de calor y no producen más cambios en el jugo. Los **ácidos orgánicos** presentes en el jugo cítrico son también catalizadores y puede mediar la ruptura de las cadenas de carbohidratos a través de hidrólisis ácida. Sin embargo la ruptura de carbohidratos mediada por aminas ha demostrado ser la principal causa del desarrollo de sabores de sobre cocción. El mecanismo de catálisis por aminas es similar al de catálisis ácida, excepto que se ha demostrado que ésta ocurre bajo condiciones más moderadas de calor y acidez. Asimismo, se ha visto que la oxidación del **ácido ascórbico** o vitamina C es un factor en el desarrollo de sabores anormales en zumos cítricos.⁶

Los jugos cítricos contienen mayores cantidades de aminoácidos que otros jugos, lo que los somete a una mayor vulnerabilidad a la oxidación por aminoácidos y carbohidratos totales. El primero en estudiar estas reacciones azúcar-aminoácido fue Luis – Camille Maillard (1878-1935), por lo que éstas son conocidas como reacciones no enzimáticas de Maillard. Las reacciones de Maillard implican la reacción del grupo aldehído del azúcar con el grupo amino de los aminoácidos, de acuerdo a la siguiente reacción de condensación:

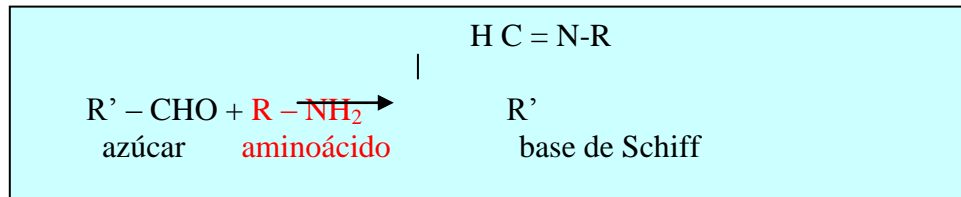
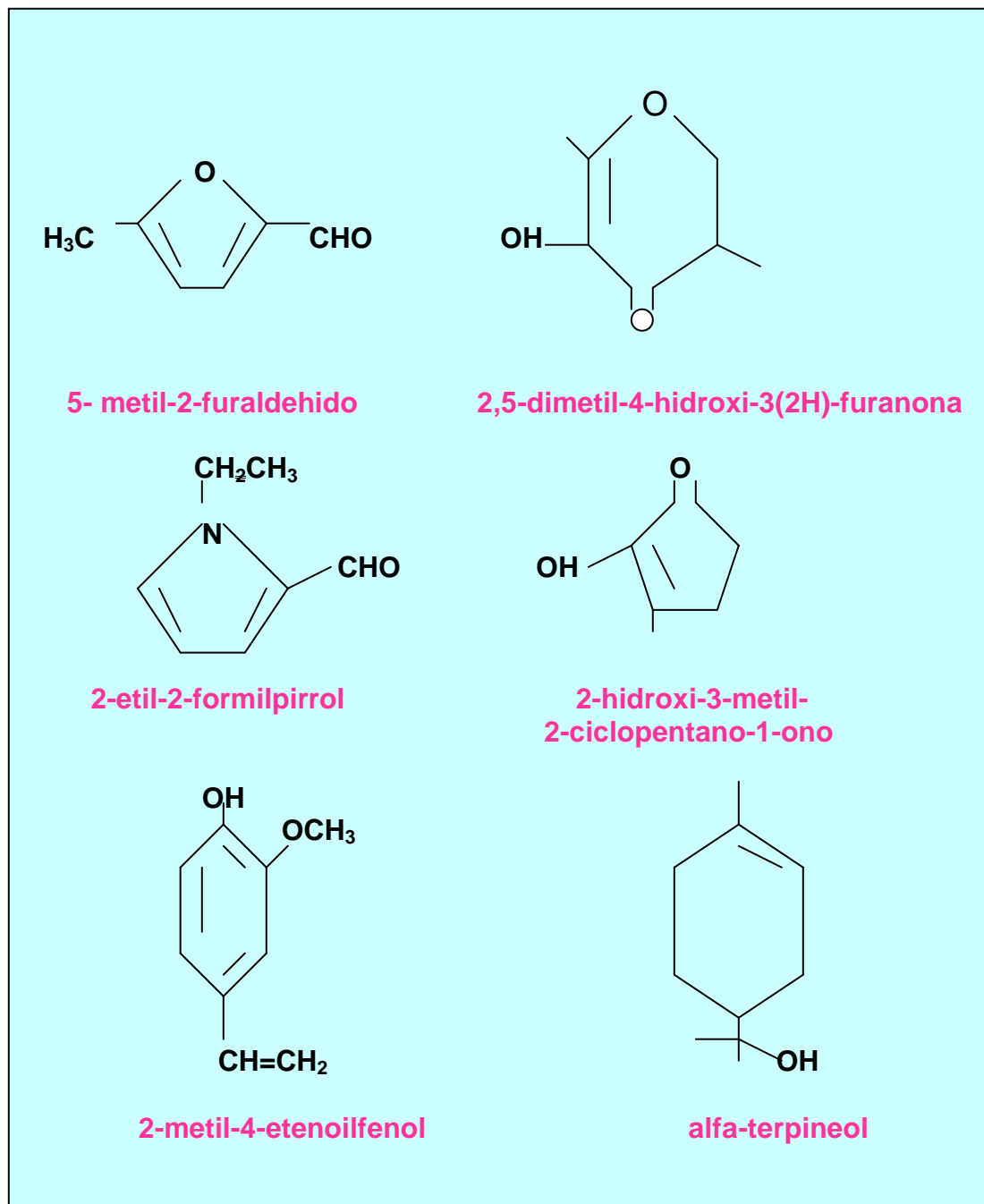


Fig. Nº 2 Reacción de Condensación

FUENTE: Kimball Dan A, Citrus Processing: A Complete Guide. 2º Ed An Aspen Publication.USA 1999

A partir de la base de Schiff, pueden presentarse más reacciones, entre ellas varias reacciones de condensación y degradación de Strecker. Se han aislado al menos 20 productos de oxidación de los jugos cítricos y existen muchos más, pero se ha demostrado que sólo seis (ver Fig2) contribuyen significativamente a la calidad del zumo cítrico sometido al abuso de calor (Handwerk y Coleman 1988).

Fig. Nº 3 PRODUCTOS DE OXIDACIÓN DE ZUMOS CÍTRICOS



Fuente: Kimball Dan A, Citrus Processing: A Complete Guide. 2º Ed An Aspen Publication.USA 1999

1.3.6.1.3.1 Técnicas analíticas.

Los productos de oxidación de los jugos cítricos como la mayoría de los químicos, pueden ser medidos usando técnicas analíticas sofisticadas o que demandan mucho tiempo, entre las que se cuentan la espectrometría de masa y la cromatografía de gas. Generalmente estos métodos son muy costosos y no se encuentran en los laboratorios de control de calidad. Para fines de control de calidad, los principales factores de interés son el grado general de oxidación y la determinación de la vida de almacén. El método más simple para medir el abuso general de calor en los jugos es la **PRUEBA DE FORMOL** o **PRUEBA DE FORMALDEHÍDO**. La prueba de formol mide los niveles de aminoácidos totales pero cabe destacar que la **PROLINA** está presente en cantidades significativas en los jugos cítricos e inclusive constituye el aminoácido principal de muchas variedades. Ya que los aminoácidos se consumen durante la oxidación de Maillard, la pérdida de aminoácidos se puede usar como un indicador del abuso de calor. La prueba de formol implica la degradación de Strecker de los aminoácidos, generando acidez de acuerdo a la siguiente reacción:

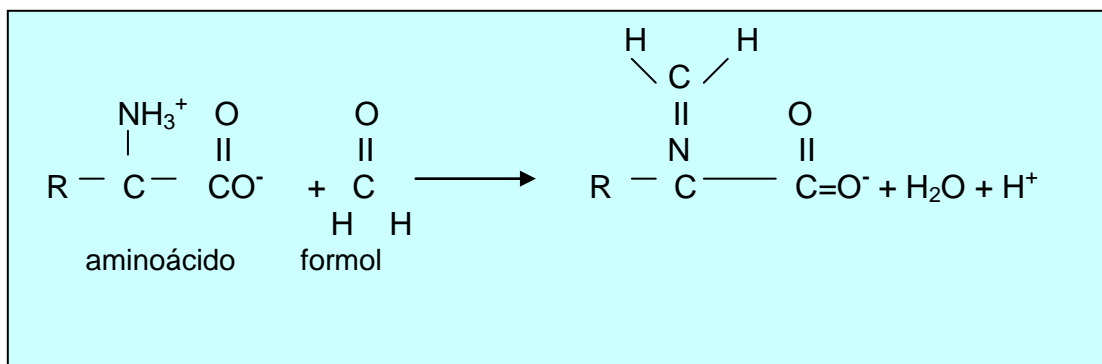


Fig. N° 4 Reacción del Índice de Formol

Fuente: Kimball Dan A, Citrus Processing: A Complete Guide. 2º Ed An Aspen Publication.USA 1999

La acidez generada puede ser titulada con una base estándar. Las ventajas de este método son su simplicidad, rapidez y conveniencia, puesto que puede ser realizado al mismo tiempo que la titulación ácida de rutina. Sus desventajas incluyen la falta de especificidad en cuanto a cuál es el aminoácido que está siendo medido y el hecho de que se puede producir oxidación sin consumo de ningún aminoácido. ⁶

1.3.7. GENUINIDAD

Se entiende por Genuinidad al mantenimiento en el producto de las características físicas, químicas, organolépticas y nutricionales esenciales de la fruta o frutas de que proceden, vale decir su calidad y composición original. ⁴

1.3.7.1. VERIFICACIÓN DE LA COMPOSICIÓN, CALIDAD Y GENUINIDAD

Los zumos (jugos) y néctares de frutas deberán someterse a pruebas para determinar su genuinidad, composición y calidad cuando sea pertinente y necesario. La verificación de la genuinidad /calidad de una muestra puede ser evaluada por comparación de datos de la muestra, generados usando métodos apropiados , con aquéllos producidos para la fruta del mismo tipo y de la misma región, permitiendo variaciones naturales, cambios estacionales y por variaciones ocurridas debido a la elaboración/procesamiento. ⁴

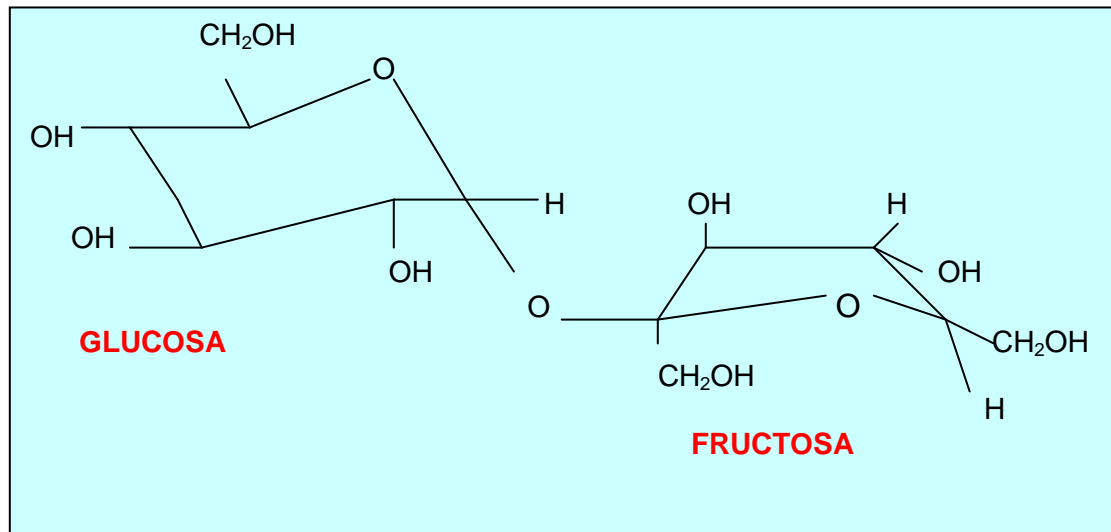
La gran complejidad en la composición de los jugos de fruta, así como los aditivos permitidos en cantidades limitadas y la existencia en el mercado de productos de muy baja calidad o adulterados, hacen necesario un control bromatológico riguroso de estos productos. El análisis de laboratorio puede incluir la determinación de: Grados Brix, Acidez y Nitrógeno Amínico Total (Índice de formol) entre otros. ³

1.3.7.1.1. BRIX Y SOLIDOS SOLUBLES

El valor de este parámetro permite deducir el grado de madurez de la fruta o si el jugo ha sido diluido. El sabor de los jugos de fruta se estima a partir del Índice de madurez, es decir la relación entre los sólidos solubles (grados Brix) y la acidez (% de ácido cítrico). Este índice determina el balance del sabor a dulce y la acidez, el cual aumenta con la maduración y varía a lo largo de la temporada para frutas con el mismo estado de madurez.⁶

Los jugos cítricos contienen una diversidad de compuestos químicos, pero ninguno tan importante como los azúcares y los carbohidratos. Estos últimos constituyen más del 80% del material soluble de los jugos cítricos y, de este porcentaje, la mitad está presente bajo la forma de sacarosa. La molécula de sacarosa está compuesta de una molécula de glucosa y una de fructosa. La otra mitad de los carbohidratos de los jugos cítricos consiste en cantidades relativamente regulares de glucosa y fructosa derivadas de la descomposición enzimática de la sacarosa. Dado que la sacarosa está compuesta de una molécula de glucosa y otra molécula de fructosa, las densidades de las soluciones acuosas de sacarosa mezcladas con iguales porciones de glucosa y fructosa son similares a las densidades de las soluciones de sacarosa al 100%.

Fig. N° 5 Una molécula de sacarosa, compuesta de una molécula de glucosa y una molécula de fructosa



Fuente: Kimball Dan A, Citrus Processing: A Complete Guide. 2º Ed An Aspen Publication.USA 1999

La densidad del jugo es uno de los parámetros de control de calidad más importantes en la industria de los jugos; se usa para las conversiones y reconversiones entre parámetros de volumen y peso de numerosos cálculos para la predicción de mezclas y fórmulas de jugos, así como para la concentración del jugo, la estandarización de resultados de laboratorio, y el manejo de inventarios y mercadeo. Puesto que los carbohidratos se encuentran en niveles tan altos en los jugos cítricos, la densidad del jugo se determina usando métodos y escalas que apliquen a soluciones de azúcar puro.⁶

Sin embargo, ya que todos los materiales solubles no se encuentran en la forma pura de los principales componentes de carbohidratos, el material soluble, incluyendo algunos no carbohidratos, es denominado **“sólidos solubles”** y no azúcares. Los sólidos solubles son tratados como azúcares en lo que respecta a la

densidad y otras medidas de control de calidad. Los sólidos solubles tales como el material turbio y la pulpa, contribuyen en poco a las mediciones de densidad. Los ácidos orgánicos y sus sales también están presentes en cantidades significativas en los jugos cítricos y contribuyen al contenido de sólidos solubles.⁶

Una de las escalas mejor conocidas que relaciona la concentración de las soluciones de sacarosa con la densidad de la solución fue la de Balling, la cual sirvió como base para el desarrollo de una tabla más completa y amplia establecida por el matemático alemán Adolf Ferdinand Wencesalus Brix (1798-1870) (Brix 1854). La tabla de densidad original fue usada exclusivamente para la industria azucarera durante muchos años y se basaba en la densidad de una solución de sacarosa a una temperatura estándar de 17,5 °C . Esta escala, basada en 17,5 °C todavía es usada en la industria de frutos cítricos frescos para las pruebas de madurez. Domke (1912) propuso una tabla de densidades de soluciones de sacarosa a 20°C que, desde entonces, se ha convertido en el estándar para la industria del jugo procesado. Ya en 1941, la escala Brix era usada por la industria de los jugos de fruta en la determinación del equivalente de los sólidos solubles en sacarosa; el término Brix o **grados Brix** pasaron a usarse indistintamente por *porcentaje de sacarosa* o *porcentaje de sólidos solubles* por peso en los jugos de frutas, y la determinación se hacía a través de mediciones de densidad. De este modo, la escala Brix se ha convertido en el estándar para la medición de concentración de los jugos en las industrias citrícolas y otras industrias relacionadas.⁶

Medición de Brix por Hidrómetro

El método comercial más económico para medir los grados Brix de los jugos cítricos utiliza un huso compensado o hidrómetro. La flotabilidad del hidrómetro es directamente proporcional a la densidad de la solución y el grado en el que el hidrómetro se sumerge en el jugo puede ser calibrado a una escala de Brix en el cuello del hidrómetro, la cual puede ser leída al nivel donde la superficie del jugo

coincide con el cuello del hidrómetro. Dado que los gases disueltos pueden afectar esta flotabilidad y la espuma de la superficie dificulta la lectura del hidrómetro, la desaeración del jugo puede ayudar en la determinación exacta de Brix por medio de un hidrómetro. El aire se incorpora al jugo a través de la agitación, el mezclado y el bombeado durante el procesamiento. La temperatura también afecta la densidad de la solución y, por este motivo, muchos hidrómetros de Brix tienen un termómetro incorporado que viene acompañado de una escala de corrección de temperatura que puede ser usada para corregir la lectura de Brix. Por lo general los hidrómetros se usan para medir los grados Brix de los jugos de concentración simple donde las correcciones de ácido son pequeñas, motivo por el cual, comúnmente no se estila hacer correcciones de ácido con hidrómetros.⁶

Mediciones de Brix por Refractómetro

Si bien los refractómetros son más caros que los hidrómetros, solo requieren de 2 a 3 ml de muestra, en comparación con los 200 ml o más que se utilizan para el hidrómetro. Además, generalmente puede prescindirse de la desaeración. Las mediciones de Brix pueden realizarse con mayor rapidez y el rango de Brix de los refractómetros puede ser mucho más amplio (de 0 a 70° Brix), lo cual resulta importante para las plantas de procesamiento que elaboran jugos concentrados.

1.3.7.1.2. ACIDEZ TITULABLE

La acidez titulable es un parámetro que establece los niveles mínimos de ácido que deben poseer los jugos, expresados en porcentaje masa/masa de ácido cítrico anhidro. Con esta medida se puede deducir el grado de madurez de la fruta que se emplea o si la pulpa ha sido diluida.

Los ácidos son una parte vital de la calidad de los jugos cítricos y se encuentran después del Brix en importancia. Los ácidos proporcionan esa acidez o agrura característica a los productos cítricos, que han sido aclamados como una de las bebidas que mejor calman la sed. Los ácidos y sus sales reemplazan muchos de los ácidos y sales que se pierden durante el ejercicio.⁶

En los frutos cítricos, los ácidos se forman a partir del ácido cítrico liberador de energía común a todas las formas de vida. Este proceso respiratorio, también conocido como **Ciclo de Krebs o Ciclo de los ácidos tricarbóxicos**, deriva los carbohidratos almacenados a dióxido de carbono en varios ácidos orgánicos. Este proceso generador de energía tiene lugar en las mitocondrias de la célula o celda del jugo. Dicha célula es elongada y cuando se agrupa con otras celdas del jugo, forma vesículas de jugo visibles en el fruto que pueden ser separadas manualmente una de otra. Las vesículas de jugo están organizadas en secciones dentro de la fruta. A medida que la celda de jugo crece, el fluido rico en carbohidratos de la savia del árbol, fluye hacia el fruto y se introduce en la celda de jugo. Las vacuolas de la célula, que tienen la función de almacenar alimento para ésta, absorben el fluido de carbohidratos acuosos. Mientras la fruta va madurando, las vacuolas crecen al punto en que dominan el volumen de la celda y el fluido presente en ellas se convierte en el jugo del fruto cítrico. A medida que esta acumulación tiene lugar, las mitocondrias (organelos adyacentes a las vacuolas), generan ácidos en el ciclo del ácido cítrico. Los carbohidratos son derivados en ácido pirúvico en la membrana de las mitocondrias. Una vez en el interior de éstas, el ácido pirúvico ingresa en el ciclo del ácido cítrico, generando diversos ácidos. El ácido cítrico es el primer ácido formado en el ciclo. Si bien, aún no se entiende bien como entra el ácido cítrico en la vacuola, una de las explicaciones más lógicas parece ser que tan pronto se elabora el ácido cítrico en el interior de la mitocondria, migra a través de las membranas de los organelos, hacia la vacuola de jugo antes de que se procese con el resto del ciclo del ácido cítrico. La evidencia existente sugiere que las mitocondrias son muy activas durante la vida de la fruta y que parte del ácido cítrico no escapa de ellas y sigue en el ciclo para proporcionar energía para el crecimiento y maduración del fruto. Algunos estudios sugieren que la enzima aconitasa, que convierte el ácido cítrico en ácido aconítico, puede estar inactiva en las primeras etapas de madurez de la fruta y que, como resultado de esta inactividad, se produce una acumulación temprana de ácido cítrico en el fruto. A medida que el fruto madura y la enzima aconitasa se hace más activa, el ácido cítrico continúa en el ciclo, proporcionando

la energía necesaria para el crecimiento del fruto y haciendo más lento o terminando la acumulación de ácido cítrico en la vacuola de la celda de jugo. Sin embargo, los carbohidratos y el agua siguen acumulándose en la vacuola, lo que deriva en una dilución de la concentración de ácido que genera decremento característico de acidez o agrura con la madurez del fruto.⁶

La función biológica de la acumulación de ácido cítrico en el fruto cítrico no sólo es interesante desde el punto de vista teórico, sino que puede tener una influencia directa en la predicción y comprensión de la calidad del jugo cítrico. Son dos los procesos que rigen el crecimiento de los cítricos o de cualquier planta: la fotosíntesis, que produce carbohidratos a partir de la luz solar, y la respiración en la mitocondria, como ya se mencionó. El primer proceso forma el combustible y el segundo, lo quema. No obstante, las velocidades de estos dos procesos no son las mismas. A temperaturas más frías, la fotosíntesis es más rápida que la respiración, lo que provoca un exceso de carbohidratos. A mayores temperaturas, la respiración es más alta que la fotosíntesis, lo que resulta en un consumo de las reservas de carbohidratos. El punto donde estas dos tasas se interceptan e igualan, se llama punto de compensación. La temperatura del punto de compensación varía según la fruta y las condiciones de crecimiento. Sin embargo, se ha sugerido que cuando se excede esta temperatura, la fruta hace uso no sólo de las reservas de carbohidratos, sino también de las reservas de ácido cítrico que se encuentra en las vacuolas de la celda de jugo, lo que genera un descenso en los niveles de ácido cítrico. Esta caída brusca del nivel de ácido es común en las naranjas de las variedades Valencia de California durante el verano, cuando hace calor y se cosecha la fruta. La tendencia a este fenómeno sugeriría que el punto de compensación de las naranjas Valencia de California estaría alrededor de los 100° F. Las naranjas de la variedad Washington Navel, que son cosechadas durante los meses de invierno, nunca muestran este mismo decremento agudo en los niveles de ácido pero experimentan un cambio en las características de la concentración de ácido del efecto de dilución mencionado anteriormente.

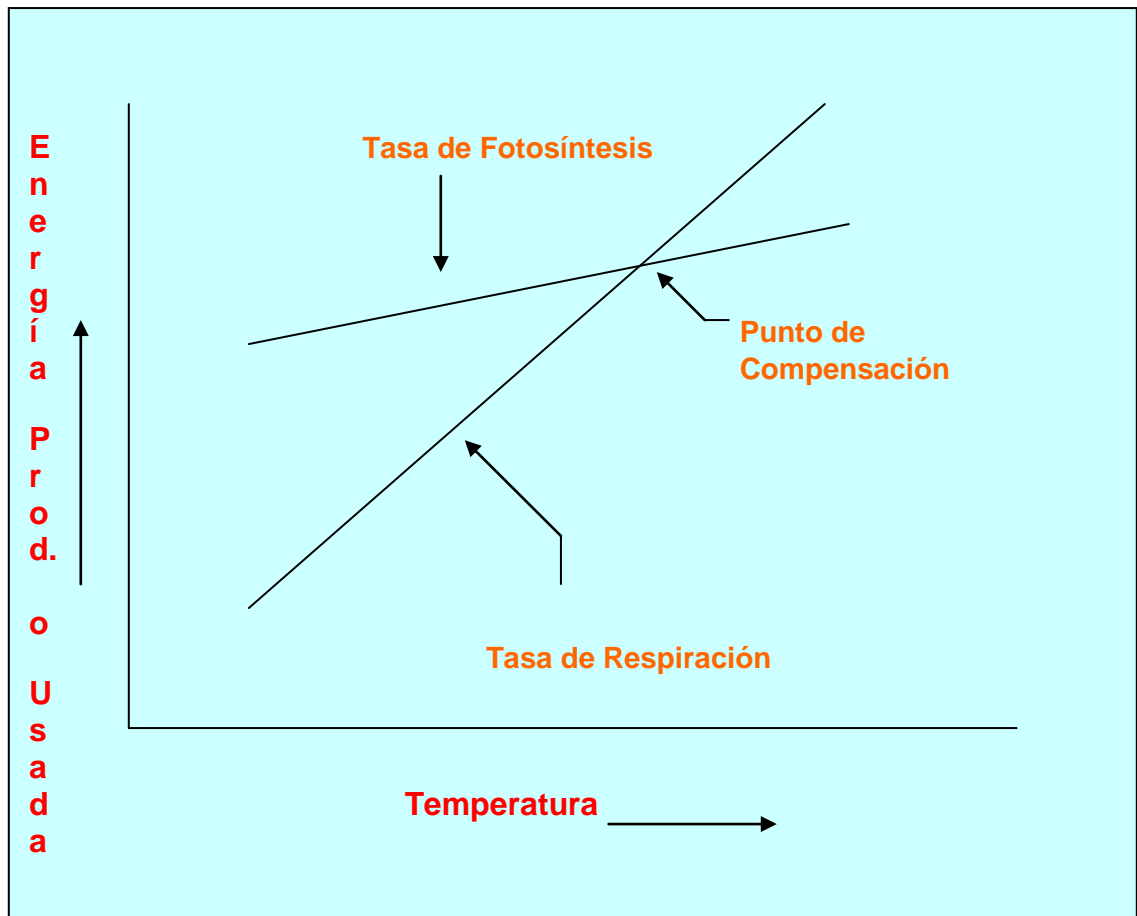


Fig. Nº 6 Las temperaturas por sobre el punto de compensación, donde la respiración excede la fotosíntesis, generan una alta demanda de ácido cítrico, que se obtiene a partir de las vacuolas de la celda de jugo. Esto causa una caída en la acidez del jugo

Fuente: Kimball Dan A, Citrus Processing: A Complete Guide. 2º Ed An Aspen Publication.USA 1999

Mediciones de Acido

El principal ácido de los jugos cítricos es el ácido cítrico o tricarbóxico. También se observa la presencia de ácido málico el cual constituye alrededor del 10% del contenido de ácido total. A diferencia de los niveles de ácido cítrico, los niveles de ácido málico son bastante constantes en el jugo durante la maduración del fruto. Además, como se ha señalado previamente, las sales de potasio y sodio del ácido cítrico forman aproximadamente el 20% de la composición total de sales de ácido. Estas sales actúan como amortiguadores de ácidos, previniendo así cambios repentinos en el pH durante la estación de cosecha. Por lo común, son ignorados en la industria cítrica, tal como lo son las diferencias entre los ácidos cítrico y málico. Generalmente se realiza una sola titulación de ácido y los resultados se calculan como si todo el ácido fuera ácido cítrico disociado, aunque en realidad, no todo el ácido es cítrico. Debido a la presencia de sales, el ácido cítrico en solución puede tomar una forma más parcialmente disociada, como el ácido cítrico dihidrógeno.⁶

Existen dos formas básicas para medir la acidez. Los métodos que miden el pH sólo miden los hidrógenos libres en la solución. Las titulaciones de ácido con medición de estándares de hidróxido de sodio miden el número total de hidrógenos de ácido, sea que éstos están libres o sin disociar. El sabor de los jugos cítricos está más asociado con las mediciones de pH ya que son los hidrógenos libres los que interactúan con las papilas gustativas de la lengua, especialmente bajo condiciones amortiguadas, lo cual probablemente da como resultado una falta de correlación precisa entre mediciones de pH y las sensaciones del gusto real. Además los valores de pH cambian muy poco en el rango de ácido de los jugos cítricos y su cuantificación y relación con las diferencias de gusto y madurez son difíciles. Las pruebas de madurez y las correcciones de Brix se determinan mejor usando las titulaciones de ácido puesto que dependen más del ácido cítrico realmente presente.

Las titulaciones de ácido proporcionan una escala más confiable y consistente para dichas mediciones. No obstante, los resultados de pH y las titulaciones de

ácido están relacionadas y el método de titulación es el que más se usa en la industria.⁶

1.3.7.1.3. PECTINAS

Un grupo de sustancias de gran importancia, conocidas en tecnología de alimentos como *pectinas*, pertenece al segundo grupo de polisacáridos, los heteropolisacáridos. El nombre de pectina, originado en el término griego *πηχτοζ* (coagulado, duro) fue empleado para denominar a estas sustancias por Braconnot en 1825, en reconocimiento a su capacidad de formar geles. Se trata, en realidad, sólo de un nombre genérico que engloba a un grupo de sustancias estrechamente relacionadas, las sustancias pectínicas. Estas llenan los espacios intercelulares o sea, la laminilla central, en los tejidos vegetales. En los tejidos jóvenes especialmente en los frutos, las pectinas se encuentran presentes en cantidades tan abundantes que a menudo forman canales anchos, apartando entre sí a las células. Al ser coloide hidrofílico, la pectina tiene la capacidad de absorber grandes cantidades de agua. Por esta capacidad, las sustancias pécticas aparentemente juegan un papel importante en las primeras etapas de desarrollo de los tejidos vegetales, cuando las células se encuentran aún separadas y a una distancia relativamente grande de los vasos conductores de agua. Las sustancias pécticas absorben agua rápidamente y la transfieren a las células con mayor facilidad que la que podría lograrse por ósmosis en las células mismas. Como constituyente natural de los tejidos vegetales, las sustancias pécticas son responsables en buena medida de la firmeza y textura de los frutos y las hortalizas. El ablandamiento del tejido del fruto durante la maduración, la rotura de la estabilidad coloidal en los jugos de fruta, los cambios de consistencia en los purés y los concentrados de fruta pueden atribuirse a menudo a modificaciones en las sustancias pécticas. Como aditivos intencionales, las pectinas son valiosos agentes de espesamiento y de formación de geles.⁹

En tanto las sustancias pécticas se encuentran en las paredes celulares exteriores, en la región de la laminilla central de los vegetales, se las considera estrechamente vinculadas a la celulosa. En esta forma, como precursora de la verdadera pectina, la sustancia recibe el nombre de *protopectina*. La protopectina es insoluble en agua y, según Branfoot (Carré), puede observarse microscópicamente en el tejido vegetal mediante el empleo de rojo de rutenio como colorante. No se conoce bien la naturaleza exacta de la asociación entre las sustancias pécticas y otros constituyentes de la pared celular. Joslyn menciona varias posibilidades que van desde la cohesión molecular a la unión covalente. Henglein postuló la asociación entre grupos carboxílicos.⁹

Cuando se calientan en agua acidulada materiales vegetales ricos en pectinas, tales como el bagazo de manzana o la cáscara de frutas cítricas, se libera la protopectina, probablemente adherida hasta entonces a la celulosa, transformándose en pectina hidrosoluble. Se produce la misma transformación de la protopectina en los tejidos vegetales durante la maduración, aparentemente con la ayuda de una enzima desconocida a la que se ha denominado *protopectinasa*. Muchos químicos especializados en pectinas cuestionan la existencia de tal enzima. La liberación de pectina y el ablandamiento de los tejidos bien puede deberse a la degradación enzimática de la celulosa y la hemicelulosa, en vez de la despolimerización de la protopectina. Hasta que se alcance algún consenso sobre este tema, en base a evidencias concluyentes, puede resultar aconsejable la adopción del nombre no específico "*macerasa*" o *enzima macerante*, en vez de protopectina.

La pectina precipita fácilmente de las soluciones acuosas mediante el agregado de alcohol o acetona, con la formación de un coágulo gelatinoso, el cual se disolverá nuevamente en agua. Esta coagulación también puede lograrse mediante la acción de una mezcla de sales, tales como el sulfato de aluminio junto con hidróxido de amonio, formándose entonces hidróxido de aluminio, cuyas partículas coloidales poseen carga de signo opuesto a la de la pectina (la pectina es un coloide cargado negativamente).⁹

a) ESTRUCTURA DE LAS PECTINAS

La pectina es, entonces, un coloide hidrofílico reversible; sus soluciones son dextrógiras frente a la luz polarizada. La pectina cruda comercial contiene una cantidad de impurezas, tales como las hemicelulosas, pentosanos (arabano), galactosanos y otros compuestos, pero puede purificarse mediante sucesivas precipitaciones y redisoluciones.

Químicamente, la pectina consiste en cadenas largas y no ramificadas de *ácido poligalacturónico*, con los grupos carboxilo parcialmente esterificados con alcohol metílico. Las uniones entre las unidades de ácido galacturónico son (1 → 4). El peso molecular varía entre 20.000 y más de 400.000. En los preparados de pectinas pueden hallarse con frecuencia azúcares neutros y otros urónicos en proporciones que varían entre unos pocos percentilos y un máximo de 20%.⁹

Probablemente, estos no se hallen presentes como impurezas, sino como cadenas laterales, o aún como constituyentes de la cadena principal.

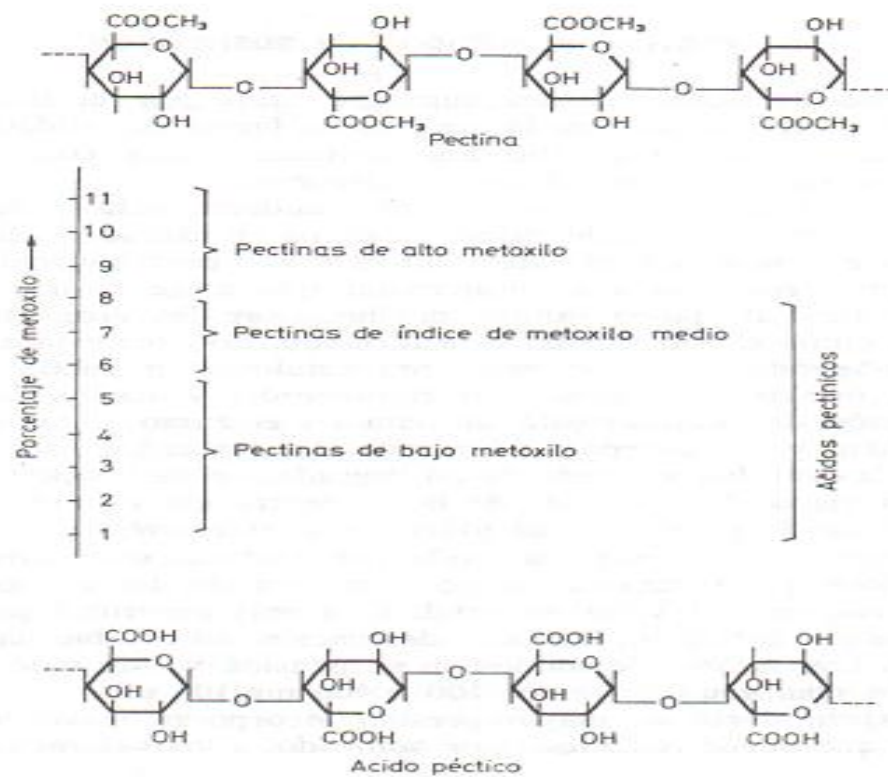


Fig. Nº 7 Porción de molécula de pectina

Fuente: Braverman JBS. Introducción a la Bioquímica de los Alimentos. Edit. Manual Moderno. México 1980

Las pectinas derivadas de distintas fuentes varían ampliamente en sus propiedades gelificantes debido a las diferentes longitudes de sus cadenas de ácido poligalacturónico y al distinto grado de esterificación con metanol de su carboxilo. También varían mucho según la técnica empleada en la extracción, y probablemente no haya dos preparaciones de pectinas idénticas en cuanto a sus respectivas estructuras se refiere.⁹

Las pectinas pueden sufrir hidrólisis por ácidos o álcali o por la acción de enzimas apropiadas. La primera etapa de dicha hidrólisis es la eliminación de un número variable de grupos metoxilo, que dando finalmente ácido poligalacturónico,

también llamado *ácido péctico*, completamente libre de metoxilo. Los numerosos compuestos intermedios, que aún poseen un número variable de estos grupos, dan origen a una gran cantidad de *ácidos pectínicos*. Es por esto que la palabra pectina solo puede considerarse como un nombre genérico que engloba una gran cantidad de ácidos pectínicos, que varían en su grado de polimerización y de esterificación. Nunca se ha encontrado en la naturaleza un ácido pectínico completamente esterificado; sin embargo, puede sintetizarse para fines de investigación. La hidrólisis completa del ácido péctico (ácido poligalacturónico) resulta en la formación de unidades de ácidos D – galacturónico.

Algunos de los grupos OH de los carbonos 2 y 3 de las unidades de ácido galacturónico pueden aparecer acetilados (pectina de la remolacha azucarera).

b) LA PECTINA COMO AGENTE GELIFICANTE

La utilización más importante de la pectina en los alimentos se basa en su capacidad para formar geles. Se la emplea, en consecuencia, ampliamente en la manufactura de jaleas, gelatinas, mermeladas y conservas. Para que la pectina forme un gel debe hallarse presente un agente deshidratante: el alcohol o la acetona son típicos agentes deshidratantes empleados para la precipitación de la pectina a partir de sus disoluciones. En la producción de jaleas y gelatinas es el azúcar el que cumple esta función como deshidratante.⁹ Para formar una buena gelatina deberá conservarse una adecuada proporción pectina – ácido - azúcar. Los resultados prácticos de numerosas investigaciones en este campo demuestran que resulta conveniente ajustar la cantidad de pectina y la acidez de tal forma que se ahorre azúcar. Un aumento de la acidez de 0,1 a 1,7 % resulta en un ahorro de casi 20% de azúcar. Lo mismo se cumple con la pectina. Dentro de ciertos límites (0,5 – 1,5% de contenido de pectina) cuanto mayor sea el porcentaje de pectina en el jugo o la pulpa de la fruta , menor será la cantidad de azúcar necesaria para formar la gelatina.^{9,12}

¹² Alais C., Linden . Manual de Bioquímica de los Alimentos. Ed. Masson .España 1990

Exhaustivas investigaciones llevadas a cabo por Tarr demostraron que no existe relación directa entre la acidez total y la formación de gelatina; sólo deberán conservarse límites estrictos de valores de pH. Este definido límite de concentración de ión hidrógeno es, según Tarr, el que corresponde a un valor de pH de 3,46, cuando se obtiene una gelatina suave y delicada. La gelatina aumenta su estabilidad a valores más bajos de pH (hasta 3.1 – 3.2); a valores aún mas bajos se produce sinéresis, es decir, la gelatina dejada en reposo exuda líquido.⁹

En lo referido a la pectina, algunos frutos ricos en ella, tales como la manzana, el membrillo y las frutas cítricas tiene, por si mismas excelente poder gelificante. En los casos de jaleas de otras frutas pobres en pectina, tales como las fresas, debe agregarse pectina comercial. Aparentemente, la cantidad de grupos metoxilo presentes en una sustancia péctica juega un papel importante en la capacidad de una pectina dada para formar una buena gelatina. Un ácido pectínico completamente esterificado (no hallado en la naturaleza) debería contener, teóricamente, 16% de grupos metoxilo. Las pectinas naturales contienen entre 9,5 y 11 % de grupos metoxilo y, si se las esterifica hasta el grado de 8% de éster, se obtendrán ácidos pectínicos muy adecuados para la preparación de gelatinas.

Dado que el grado de mutilación no es la única medida de la capacidad gelificantes de las pectinas, y debido a que otras cualidades tales como el tamaño de la molécula, etc., son de difícil determinación en la industria, las pectinas comerciales se evalúan según “*grados de pectina*” y se las expresa como el número de partes de azúcar que gelificará una parte de pectina para obtener una firmeza dada bajo condiciones establecidas. Estas condiciones son: pH de entre 3,2 y 3,5, 65 a 70 % de azúcar y pectina dentro de los límites de 0,2 y 1,5 %. En el comercio se expenden pectinas de grados entre 100 y 500. También difieren en su “*tiempo de establecimiento*”; un “*establecimiento rápido*” comienza alrededor de los 85 °C., mientras que un “*establecimiento lento*” forma gelatina por debajo de 55 °C. El establecimiento rápido se emplea en la manufacturas de conservas, a fin de evitar que frutas enteras o trozos se depositen en el fondo o se acumulen en la superficie del envase en lugar de distribuirse uniformemente en el seno de la jalea.⁹

Las pectinas comerciales se caracterizan según su poder gelificante (grado), su grado de metoxilación (pectinas de alto grado de metoxilación o de bajo grado de metoxilación) y la velocidad de solidificación de las gelatinas (pectinas rápidas, medianas y lentas). A igualdad de los demás factores, el poder gelificante aumenta con el peso molecular. El grado de metoxilación, de hecho, determinan el mecanismo de formación de gel. La velocidad y temperatura de establecimiento también se ven gobernadas por el grado de esterificación; las pectinas de establecimiento rápido son las de mayor grado de metoxilación. A un mismo grado de esterificación, las pectinas con mayor grado de polimerización requieren menos tiempos de establecimiento (Doésburg y Grevers).^{9,13}

c) CLARIFICACION DE JUGOS CON TURBIDEZ

Los fabricantes de jugos de fruta se enfrentan a menudo en dos problemas en conflicto. Por un lado, resulta a veces importante clarificar, es decir, eliminar las partículas suspendidas de productos tales como el vino y el jugo de manzana clarificado. Por otro lado, hay casos en los que conviene retener el aspecto turbio del producto y evitar esa separación (jugos cítricos, productos del tomate, algunas bebidas sin alcohol). Ambos problemas parecen vincularse estrechamente a las sustancias pécticas y a las enzimas pectolíticas.⁹

Los jugos turbios consisten en una suspensión de partículas muy finas (a menudo, menos de una micra de diámetro) en un medio transparente (suero). La composición química y las propiedades físicas tanto de la porción particulada como el suero pueden variar considerablemente de una fruta a otra, y cada sistema debe de estudiarse separadamente.

Uno de los factores estabilizantes en los jugos turbios puede ser la carga electrostática de las partículas suspendidas. La turbidez del jugo de naranja se

¹³ Garibay, Quintero G., Lopez M. Biotecnología Alimentaria. Edit Noriega. México 1998

encuentra cargada negativamente. El sitio de la carga negativa se cree que esta localizada en los carboxilos libres de la pectina presente en la superficie de las partículas (Mizrahi y Berk). Deuel y sus colaboradores aprovecharon el hecho de que tales coloides con carga negativa forman complejos insolubles con otros polielectrolitos de signo contrario, precipitando fácilmente. De acuerdo con esto sugirieron el empleo de polietilenamina para la clarificación de los vinos y jugos turbios.



El precipitado así formado pronto sedimentará arrastrando consigo todo el material suspendido, así como también los taninos, los cuales puede ser adsorbidos sobre moléculas de gran tamaño como éstas.

Otro método para lograr efectos similares consiste en el tratamiento de los líquidos turbios con preparados comerciales de enzimas peptolíticas, tales como el "Pectinol". Estos preparados se obtienen generalmente a partir de hongos y contienen la enzima pectina esterasa (PE) y la endo – poligalacturonasa (endo – PG).⁹

Sin embargo, cuando se requiere lo contrario, es decir, una turbidez estable, se torna entonces necesario evitar, en la medida de lo posible, la desesterificación de la pectina. Los jugos cítricos deben de tratarse térmicamente tan pronto como sea posible luego de su extracción, a fin de inactivar la enzima pectina esterasa (PE) y evitar la clarificación. En el caso del jugo de tomate, las enzimas peptolíticas actúan tan velozmente que se produce la destrucción de la estructura coloidal, a menos de que la fruta sea calentada rápidamente antes o durante la trituración (rotura en caliente).⁹

No se conoce el mecanismo de clarificación utilizado por las enzimas peptolíticas. Resulta interesante notar que la pectina esterasa (PE) por si sola es responsable de la clarificación de los jugos cítricos, ya que este material no exhibe actividad de poligalacturonasa. Algunas teorías más antiguas afirman que se requiere pectina soluble a fin de mantener la turbidez en suspensión. Baker y Bruemmer rechazan

este punto de vista, sobre la base de evidencias experimentales. Según estos autores, la turbidez del jugo de naranja se conservará en suspensión estable en medios sintéticos libres de pectina soluble o en suero de naranja despectinizado, aún en presencia de actividad de pectina esterasa (PE). Resultaría así que la pectina soluble sería una causa de inestabilidad en vez de un factor de estabilidad de la turbidez de los jugos de frutas. El mecanismo de clarificación sería entonces: **(a)** la desesterificación de la pectina soluble por acción de la pectina esterasa (PE); **(b)** la formación de pectatos insolubles en presencia de iones de calcio y magnesio; **(c)** la precipitación de estos complejos, los cuales arrastrarían todo el material suspendido.⁹

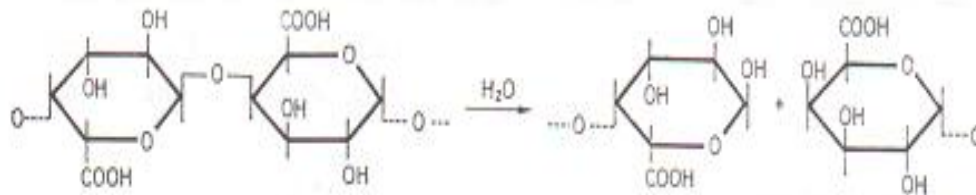


FIG. 109. Acción de la poligalacturonasa.

Fig. Nº 8 Acción de la poligalacturonasa

Fuente: Braverman JBS. Introducción a la Bioquímica de los Alimentos. Edit. Manual Moderno. México 1980

En resumen, las enzimas pectolíticas son las responsables de la clarificación de los jugos con turbidez. En el caso del jugo concentrado de frutas cítricas, la formación de pectato de calcio no provoca la clarificación sino gelatinización del producto. Queda aún por elucidarse el mecanismo de acción durante la clarificación.⁹

d) EMPLEO DE PECTINAS EN LOS ALIMENTOS

Las pectinas se emplean principalmente en la manufactura de jaleas, gelatinas, mermeladas y conservas de frutas de todo tipo, especialmente cuando se trata de frutas que poseen naturalmente un bajo contenido de pectina. En los preparados de jugos naturales, puede emplearse la pectina para aumentar la estabilidad de la turbidez, para aumentar la viscosidad de los productos a base de tomate y otros propósitos similares. La cantidad de pectina en la materia prima varía considerablemente para diferentes variedades. Así por ejemplo, entre las frutas cítricas, las variedades más ricas en pectina son la toronja y el limón.^{9,13}

Actualmente se emplean en gran medida las pectinas poco metoxiladas en la manufactura de frutas enlatadas, tales como tajadas de toronja, cerezas y duraznos. Cuando se agregan pectinas poco metoxiladas al jarabe utilizado en el enlatado, éstas aumentan la firmeza y el peso escurrido de la fruta.⁹

1.3.7.1.4. DETECCIÓN DEL CONTENIDO DE NITROGENO AMINICO TOTAL. INDICE DE FORMOL

El método de Formol o Índice de formol se basa en la reacción del formol con el grupo amino de los aminoácido (a un pH próximo a su Punto Isoeléctrico), dando un producto (oxima) que deja libre la función ácido (carboxilo). El carboxilo libre aumenta la acidez del medio. Se titula la acidez antes y después del agregado de formol, la diferencia se calcula como valor de nitrógeno amínico.

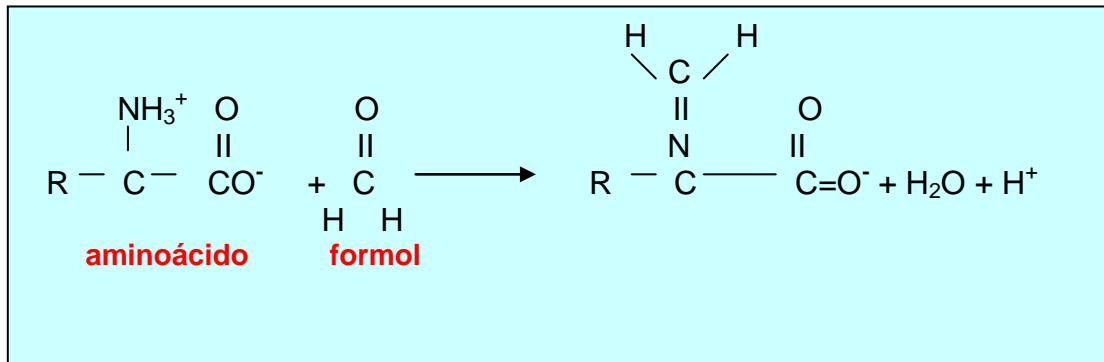


Fig.Nº 8 Reacción del Índice de Formol

Fuente: Kimball Dan A, Citrus Processing: A Complete Guide. 2º Ed An Aspen Publication.USA 1999

Con este procedimiento se determinan todos los grupos amino libres, el amoniaco y las aminas primarias y parcialmente las aminas secundarias y los grupos –OH alifáticos. Los ácidos débiles como el fosfórico, cítrico, málico y tartárico se neutralizan antes de la adición del formaldehído; mientras que, el ácido sulfuroso (o el sulfhídrico) se oxida por adición de unas gotas de peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) al volumen de muestra.

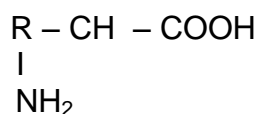
Con este método los problemas que se pueden encontrar son:

- Si se adultera con glicina (glicocola) o ácido aspártico no son detectados por este método.
- Los cremogenados usados como enturbiantes contienen aminoácidos que interfieren en la determinación.

1.3.7.1.5. PROLINA. AMINOÁCIDO PREDOMINANTE EN JUGOS DE NARANJA

Los aminoácidos, péptidos y proteínas son componentes importantes de los alimentos. Por un lado proporcionan los elementos necesarios para la síntesis proteica. Por otro lado, los aminoácidos y péptidos contribuyen directamente al sabor de los alimentos y son precursores de los componentes aromáticos y las sustancias coloreadas que se forman mediante las reacciones térmicas y /o enzimáticas que ocurren durante la obtención, preparación y almacenamiento de los mismos.¹⁴

Los aminoácidos son ácidos carboxílicos que contienen un grupo amino. Existen unos cien en la naturaleza. En el hidrolizado total de las proteínas existen veinte aminoácidos que tienen, con algunas excepciones, la fórmula general siguiente:



En el caso más sencillo, el radical R es un átomo de hidrógeno (ácido aminoacético o glicina), en los demás aminoácidos R es un resto alifático, aromático o heterocíclico, que puede ser portador de otros grupos funcionales. Existen diez aminoácidos, denominados aminoácidos esenciales que el organismo es incapaz de sintetizar y que deben ser aportados por la alimentación.

¹⁴ Jullier G., Miani C., Determinación de Adulteraciones por agregado de aminoácidos y por falta de jugo de fruta declarada en preparados comerciales en la Provincia de Santa Fe. X Seminario Latinoamérica y del Caribe, en Córdoba en el Encuentro Bromatológico Latinoamericano, Abril de 1998. Córdoba Argentina

El organismo no los puede sintetizar porque carece del mecanismo necesario para elaborar los cetoácidos correspondientes; se ha comprobado que si se le suministra éstos y sales de amonio es capaz de elaborarlos. Los aminoácidos constituyentes de las proteínas son, aproximadamente, veinte: alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisterna, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenialanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina. La mayoría de ellos presenta una estructura que contiene un carboxilo y un grupo amino primario, pero existen dos, la **prolina** y la **hidroxiprolina**, que son en realidad iminoácidos por tener un amino secundario que proviene de la ciclización de su amino primario.¹²

La prolina, (pirrolidin 5- carboxilo o alfa-aminoácido), es el aminoácido libre más importante de los jugos de naranja, se encuentra en un porcentaje medio del 60 a 75% con respecto a los demás aminoácidos.¹² Su contenido es un criterio de calidad referido a su autenticidad y en algunos casos permite detectar adulteraciones. Los jugos de naranja genuinos deben contener un mínimo de 62 a 397 mg prolina /100ml de jugo; sin embargo, es necesario considerar que existen grandes variaciones según el tipo de naranjas y la zona de producción.¹²

Tabla Nº 4. Composición de aminoácidos en Jugo de Naranja. Datos de jugos de California, Florida, Israel, Italia, Grecia y España

Aminoácido	Concentración mg por 100ml	Concentración/mmol l ⁻¹	
		Promedio	Rango
Alanina	2 – 18	1,1	0,7-1,5
γ-Acido aminobutirico	3 – 50	2,3	1,7-3,5
Arginina	5 – 95	4,0	2,5-6,0
Asparagina	11 – 93	3,0	1,7-1,5
Acido aspártico	2 – 19	2,1	1,7-3,0
Acido glutámico	1 – 22	0,8	0,3-1,1
Glutamina	1 – 9		ND-0,5
Glicina	1 – 6	0,20	0,15-0,30
Histidina	0,2 - 4,3	0,07	0,03-0,12
Isoleucina	0,1 - 0,9	0,045	0,025-0,065
Leucina	0,1- 1	0,04	0,02-0,06
Lisina	0,2 – 7	0,29	0,15-0,49
Metionina	0,1 – 4		Trazas-0,03
Ornitina	0,3 -10	0,06	0,025-0,10
Fenilalanina	0,1 – 3	0,18	0,08-0,30
Serina	4 – 30	1,3	1,3 – 1,8
Prolina	62 – 397	7	3,9 – 11,3
Treonina	1 – 5	0,16	0,10 – 0,30
Tirosina	0,1 – 3	0,05	0,025 – 0,10
Valina	0,2 – 6	0,15	0,07 – 0,23

Fuente: Jullier G., Miani C., Determinación de Adulteraciones por agregado de aminoácidos y por falta de jugo de fruta declarada en preparados comerciales en la Provincia de Santa Fe. X Seminario Latinoamérica y del Caribe, en Córdoba en el Encuentro Bromatológico Latinoamericano, Abril de 1998. Córdoba Argentina

El contenido total de aminoácidos (índice de formol) en un jugo de frutas es una herramienta para verificar la autenticidad del mismo. Sin embargo determinadas adulteraciones pueden enmascarse con el agregado de aminoácidos económicos (ej ácido glutámico) hasta alcanzar el nivel normal. En tales casos la adulteración puede ser detectada mediante el uso de la técnica de detección aminoácidos libres por Cromatografía en capa fina en una sola dirección, con la incorporación de jugos de fruta genuinos (jugo natural de naranja recién exprimido), que servirán como patrones.

Para realizar una cuantificación individual de los aminoácidos se aconseja usar la Espectrofotometría. En el caso de la Prolina que es el aminoácido predominante en los jugos de naranja, una reacción de interés analítico es la que se da con la Ninhidrina con la cual forman un complejo coloreado que se extrae con el acetato de n-butilo y la intensidad del colorante se mide por fotometría. La máxima absorción ocurre a una longitud de onda de 509 nm. Antes de la extracción se acidifica el jugo con ácido fórmico para protonar los aminoácidos exceptuando la prolina que es un iminoácido, de esta forma es el único aminoácido que reacciona con la ninhidrina dando un compuesto de color amarillo (Fig.8) ¹²

REACCION DE PROLINA CON NINHIDRINA

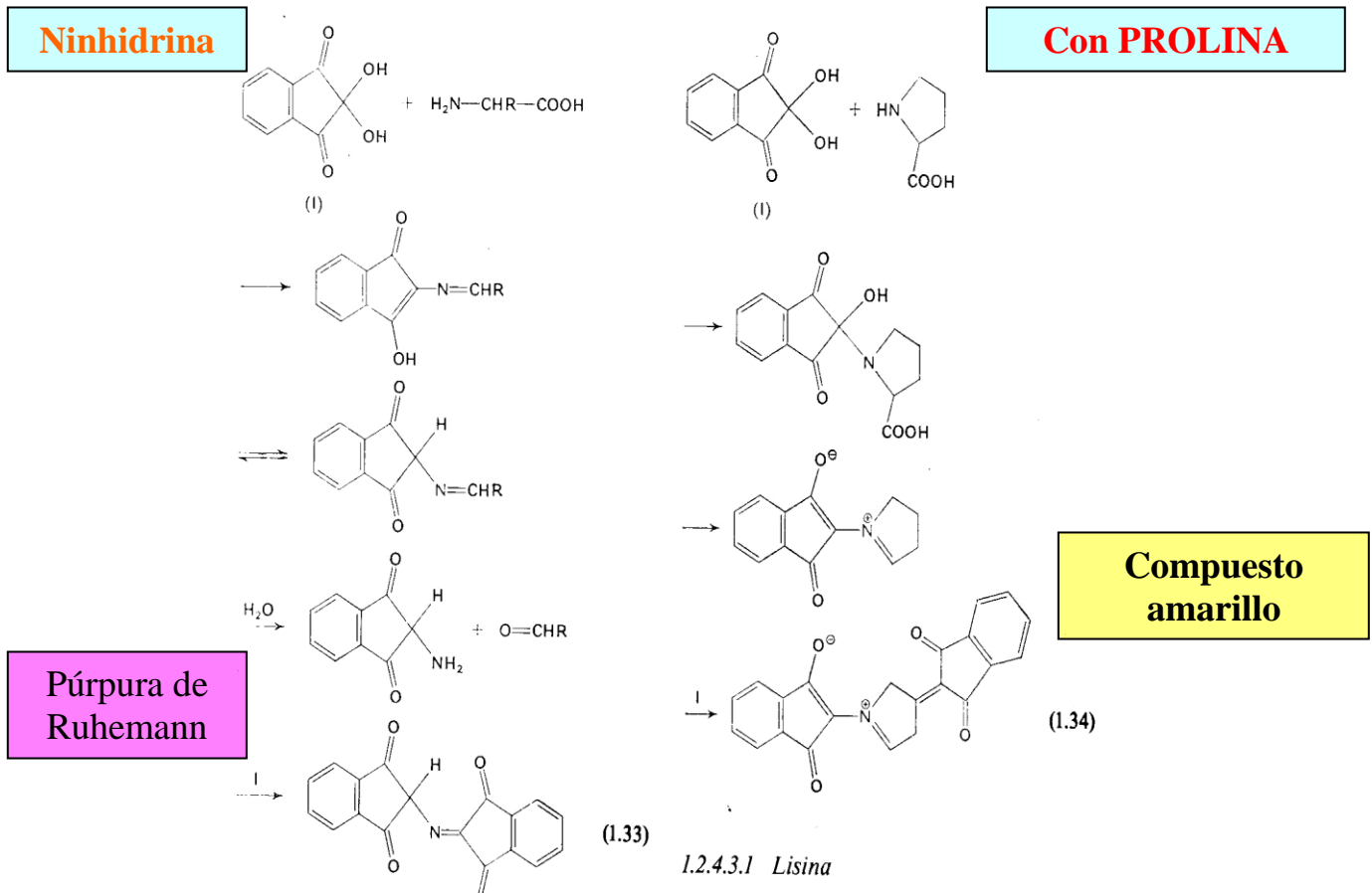


Fig. N° 9. Reacción de Prolina con Ninhidrina

Fuente: Guía de Trabajos Prácticos. Bromatología Aplicada. Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Químicas. Año 2005

1.4 JUSTIFICACIÓN

Los jugos de frutas (naranja) son productos que se comercializan en grandes cantidades en los supermercados de la ciudad de La Paz; y el consumo es masivo, especialmente por jóvenes y niños, los que consumen estos productos para agregar alimentos nutritivos a su dieta diaria como son: la vitamina C, minerales, ácido fólico, vitamina A y otros.

La venta de estos productos se la hace bajo la nominación de jugo y resaltando la fruta del que proviene, sin embargo estos no son controlados ya que muchas veces se usa esta denominación para productos que solo contienen espesantes y conservantes que no cumplen con los requisitos fisicoquímicos ni nutricionales del jugo de fruta.

El presente trabajo pretende dar instrumentos técnicos a los organismos oficiales de control como son: el Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidad Alimentaria – SENASAG, y la Unidad de Vigilancia y Control de Calidad de la Inocuidad Alimentaria – UVCCIA del Ministerio de Salud y Deportes para poder identificar los jugos de naranja que son genuinos de los que no, a través de pruebas como: Pectinas, Índice de Formol y Determinación de Prolina; para que el consumidor no sea engañado y consuma los productos con las condiciones que el requiere, además este aporte ayudará a los productores de cítricos del Chapare y Yungas para promocionar sus productos ya sea como materia prima o como producto terminado (jugo de fruta).

1.5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

En los supermercados de la ciudad de La Paz se comercializan jugos de naranja que no son genuinos en cuanto a la identidad de fruta declarada?

II. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar la genuinidad en jugos de naranja comercializados en supermercados de la ciudad de La Paz para establecer su calidad comercial.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Estandarizar el método por espectrofotometría para detectar y cuantificar la prolina, aminoácido predominante en el jugo de naranja.

2.2.2 Evaluar los parámetros de genuinidad: nitrógeno amínico (Índice de formol), Pectinas totales y Prolina en los jugos de naranja que se comercializan en los supermercados de la ciudad de La Paz

2.2.3. Evaluar los parámetros fisicoquímicos: Acidez, Grados Brix, Densidad y pH de los jugos de naranja que se comercializan en los supermercados de la ciudad de La Paz

III. METODO

3.1 CLASIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Tipo de Estudio: Experimental

3.2. UNIVERSO Y MUESTRA

Jugos de naranja: 9 de industria nacional y 7 de importación, entre estos:

- 3 marcas de jugos de naranja provenientes de Argentina
- 1 marca de jugo de naranja proveniente de Paraguay
- 1 marca de jugo de naranja proveniente de Estados Unidos
- 1 marca de jugo de naranja proveniente del Perú
- 1 marca de jugo de naranja proveniente de Brasil

Las muestras de jugos de naranja fueron adquiridas de 6 Supermercados de la ciudad de La Paz:

- Hipermaxi Miraflores
- Ketal Miraflores,
- ZATT Sopocachi,
- Multimás Miraflores,
- Gava Calacoto y
- Terranova San Miguel.

3.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Objetivo 1

Variable	Clasificación	Escala	Descripción	Indicador	Norma* Rango Aceptado
Aminoácido Prolina	Variable Cuantitativa	62 – 347 mg/l	Concentración de Prolina dentro del rango	Nº de jugos de naranja con presencia de prolina en el rango establecido/Total de jugos de naranja analizados	62 – 347 mg/l
		< 62 mg/l	Concentración de Prolina por debajo del rango establecido	Nº de jugos de naranja con un rango menor de prolina que lo establecido/ Total de jugos de naranja analizados	< 62 mg/l

* FUENTE: Jullier G., Miani C., Determinación de Adulteraciones por agregado de aminoácidos y por falta de jugo de fruta declarada en preparados comerciales en la Provincia de Santa Fe. X Seminario Latinoamérica y del Caribe, en Córdoba en el Encuentro Bromatológico Latinoamericano, Abril de 1998. Córdoba Argentina

Codigo Alimentario Argentino (CAA) Jugos vegetales Art 1040 Res 2067 11.10.88

Objetivo 2.

Variable	Clasificación	Escala	Descripción	Indicador	Norma* Rango Aceptado
Genuinidad	Variable Cuantitativa	Indice de Formol: Mayor a 16 mgN/100ml Pectinas totales Mayor a 50mg/100ml Prolina 62-397 mg/100ml	Jugo de naranja genuino: Que cumple con los límites establecidos en la Norma.	Nº de jugos de naranja genuinos/Total de jugos analizados	Indice de Formol: Mayor a 16 mgN/100ml Pectinas totales Mayor a 50mg/100ml Prolina 62-397 mg/100ml
		Indice de Formol: Menor a 16 mgN/100ml Pectinas totales Menor a 50mg/100ml Prolina Menor a 62 mg/100ml	Jugo adulterado: No cumple con los límites establecidos en la Norma	Nº de jugos adulterados/ Total de jugos de naranja analizados	Indice de Formol: Menor a 16 mgN/100ml Pectinas totales Menor a 50mg/100ml Prolina Menor a 62 mg/100ml

* FUENTE: Jullier G., Miani C., Determinación de Adulteraciones por agregado de aminoácidos y por falta de jugo de fruta declarada en preparados comerciales en la Provincia de Santa Fe. X Seminario Latinoamérica y del Caribe, en Córdoba en el Encuentro Bromatológico Latinoamericano, Abril de 1998. Córdoba Argentina

Codigo Alimentario Argentino (CAA) Jugos vegetales Art 1040 Res 2067 11.10.88

Objetivo 3.

Variable	Clasificación	Escala	Descripción	Indicador	Norma* Rango Aceptado
Parámetros fisicoquímicos	Variable Cuantitativa	Acidez (g ac.citrico/100ml) mín 0,8 – máx 1,4 Brix 20°C min 11 Densidad 20°C mín 1,040 pH mín 3 – máx 4	Jugo de naranja: Que cumple con los límites establecidos en la Norma.	Nº de jugos de naranja/Total de jugos de naranja analizados	Acidez (g ac.citrico/100ml) mín 0,8 – máx 1,4 Brix 20°C min 11 Densidad 20°C mín 1,040 pH mín 3 – máx 4
		Acidez menor a 0,8 ó mayor 1,4 Brix 20°C < 11 Densidad 20°C <1,040 pH menor a 3 – ó mayor 4	Jugo adulterado: No cumple con los límites establecidos en la Norma	Nº de jugos adulterados/ Total de jugos de naranja analizados	Acidez (g ac.citrico/100ml) mín 0,8 – máx 1,4 Brix 20°C min 11 Densidad 20°C mín 1,040 pH mín 3 – máx 4

*FUENTE :NB 372 -80 : Norma Boliviana 372-80

3.4. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

3.4.1. GRADOS BRIX¹⁵

3.4.1.1. Material y Equipos

- a) Hidrómetro Brix , con termómetro interior para corrección de temperatura
- b) Probeta de 250 ml de capacidad

3.4.1.2. PROCEDIMIENTO.

- a) Coloque en la probeta una cantidad suficiente de la muestra preparada, para que flote el hidrómetro.
- b) Introduzca lentamente el hidrómetro en la muestra, hasta que llegue a su posición de equilibrio. La lectura del Brix corresponde al punto en que la visual dirigida al punto más bajo del menisco corta la escala del hidrómetro cuando el ojo se coloca al mismo nivel.
- c) Tome la lectura de corrección del Brix en el termómetro interior del mismo, a la derecha de la escala. La lectura sobre cero se debe sumar a la del vástago y la lectura bajo cero se debe restar a la del vástago.

Nota

El vástago del hidrómetro que queda por encima de la superficie de la muestra debe conservarse limpio, ya que cualquier adherencia alteraría la lectura. Al introducir el hidrómetro en la muestra no se debe empujar hacia abajo, para que luego vuelva a su posición de equilibrio, al contrario se deja que se vaya introduciendo lentamente hasta que llegue a dicha posición.

Se recomienda mantener un paño limpio y seco para secar el hidrómetro antes de las lecturas.

3.4.1.3. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Los grados Brix en la muestra vienen dados directamente por la lectura tomada en el hidrómetro, con la correspondiente corrección de temperatura.

¹⁵ Norma Boliviana 325005-2002. Bebidas Alcohólicas - Métodos de Ensayo

3.4.2. ACIDEZ TITULABLE¹⁶

3.4.2.1. MATERIAL.

- a) Matraz Erlenmeyer de 500 ml de capacidad
- b) Probeta de 250 ml de capacidad
- c) Pipeta de 10 ml de capacidad
- d) Bureta graduada en décimas de ml
- e) Vaso de precipitados de 100 de capacidad

3.4.2.2. REACTIVOS.

- a) Solución alcohólica de fenofaleína 0.1% (m/v) (indicador). Se prepara disolviendo 0.1 gramos de fenofaleína en 100 ml de alcohol etílico neutro de 50 % (v/v).
- b) Solución 0.1 N de hidróxido de sodio preparada

3.4.2.3. PREPARACION DE LA MUESTRA

Homogenizar la muestra mediante agitación antes de usarla.

3.4.2.4. PROCEDIMIENTO.

- a) Se transfiere 50 ml de muestra a un matraz erlenmeyer de 100 ml
- b) Se transfiere 200 ml de agua destilada caliente reciente hervida a un matraz erlenmeyer de 500 ml y se agrega 1 ml de solución alcohólica de fenofaleína.
- c) Se neutraliza hasta obtener un ligero color rosado con solución 0.1 N de hidróxido de sodio, se añaden 20 ml de la muestra y se titula con solución de hidróxido de sodio al mismo punto final, se utiliza para ello un fondo blanco y buena iluminación para observar el cambio de coloración.

¹⁶ Norma Boliviana 325006-2002 Bebidas Analcoholicas - Determinación de la acidez total

3.4.2.5. EXPRESIÓN DE RESULTADOS.

La acidez total expresada en ácido cítrico se calcula utilizando la fórmula siguiente:

$$A_c = \frac{6.4 * V_1 * N}{V}$$

Donde:

A_c = Acidez expresada en gramos de ácido cítrico anhidro por 100 ml de muestra.

V_1 = Volumen de la solución de hidróxido de sodio, empleada en la titulación, en ml

V = Volumen de muestra empleada, en ml

N = Normalidad de la solución de hidróxido de sodio.

Para muestras oscuras, donde no es posible observar el viraje del indicador (fenoftaleína), es necesario realizar una titulación potenciométrica.

3.4.3. INDICE DE FORMOL¹⁷

3.4.3.1. MATERIAL

- a) pH metro
- b) Matraz Erlenmeyer

3.4.3.2. REACTIVOS

- a) Solución de NaOH 0,1 N.
- b) Solución de formol al 37% : neutralizar a pH 8.1 con NaOH diluido.

¹⁷

Guía de Trabajos Prácticos. Bromatología Aplicada. Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Químicas. Año 2005

3.4.3.3. PROCEDIMIENTO

Neutralizar 25 ml de muestra de jugo de naranja en un matraz Erlenmeyer con NaOH 0,1 N, hasta llegar a un pH igual a 8,1 controlando con pHmetro. Agregar 10 ml de formol previamente neutralizado. Después de un minuto se titula hasta un pH igual a 8,1 con NaOH. Sean “v” los ml de NaOH gastados

Si la muestra contiene anhídrido sulfuroso, se agregan unas gotas de agua oxigenada al 30% antes de neutralizar.

3.4.3.4. EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Nitrógeno de aminoácidos mg % = $v \times 1,4 \times 4$

Donde: v= ml de NaOH gastados

3.4.4. DETERMINACIÓN DE PROLINA¹⁴

3.4.4.1 EQUIPOS:

- a) Espectrofotómetro
- b) Baño maría
- c) Cubetas de vidrio de 10 mm.
- d) Pipetas de 1 ml
- e) Pipetas de 2 ml
- f) Pipeta de 10 ml
- g) Tubos de ensayo con tapón
- h) Probeta de 100 ml
- i) Papel filtro
- j) Cronómetro

3.4.4.2. REACTIVOS

- a) Solución de ninhidrina al 3% en éter monometílico de etilenglicol (Metilcellosolve) 3 g /100 ml.
- b) Acetato de n-butilo.
- c) Ácido Fórmico (98-100 %).
- d) Na₂SO₄ anhidro.
- e) L (-)Prolina para fines bioquímicos MERCK

3.4.4.3 PROCEDIMIENTO.

a) Preparación de la muestra: los jugos de fruta con tenores elevados de prolina deben ser diluídos con agua de forma que la concentración sea inferior a 50 mg / l. Los jugos demasiado coloreados se deben diluir con agua en las proporciones 1:2 o 1:5.

b) Construcción de la curva de calibración a partir de una solución acuosa que contenga 100 mg/l de prolina se preparan las siguientes diluciones:

5 mg / l (5 ml de solución madre se diluyen a 100 ml)

10 mg / l (10 ml de solución madre se diluyen a 100 ml)

25 mg / l (25 ml de solución madre se diluyen a 100 ml)

40 mg / l (40 ml de solución madre se diluyen a 100 ml)

50 mg / l (50 ml de solución madre se diluyen a 100 ml)

Debe usarse 1 ml de cada una de esas soluciones para construir la curva de calibración. Los valores de extinción obtenidos se grafican en función de los tenores de Prolina (mg / l), obteniéndose una recta que pasa por el origen. A partir de esta recta se puede obtener el coeficiente de extinción “e” correspondiente ($e = (\text{mg} / \text{l}) / E$, donde E = extinción medida).

c) Procedimiento :

c.1. Pipetear 1 ml de muestra dentro de un tubo con tapón ajustable.

c.2. Agregar sucesivamente 1 ml de ácido Fórmico (concentrado) y 2 ml de solución de ninhidrina al 3% .

c.3. Luego agitar vigorosamente y colocar el tubo en un baño a ebullición exactamente por 15 minutos y luego enfriar durante 5 minutos en agua a 20 °C.

c.4. Agregar a la solución coloreada 10 ml de acetato de n-butilo y agitar vigorosamente de forma que el colorante formado pasa a la fase orgánica.

c.5. La solución es filtrada a través de papel de filtro plegado que contiene un lecho Na_2SO_4 anhidro (punta de espátula).

c.6. La fase orgánica filtrada es medida antes de los 15 minutos a 509 nm usando un blanco preparado de la misma forma, pero en lugar de solución de ninhidrina se usa solamente el éter monometílico de etilenglicol.

d) Cálculo:

$$\text{Prolina en mg/l} = e \times E$$

Donde:

$$e = (\text{mg} / \text{l}) / E, \text{ donde } E = \text{extinción medida}$$

3.4.4.4 PRECISIÓN DEL MÉTODO

Repetibilidad :

No diluido (<50 mg/l)

r = 0.8 mg/l : Sr = +/- 0.3 mg/l

Diluido 1+9 (50 - 499 mg/l)

r = 5.5 mg/l : Sr = +/- 2.0 mg/l)

Diluido 1+19 (500 - 1000 mg/l)

r = 35 mg/l : Sr = +/- 12 mg/l

Reproducibilidad:

No diluido (<50 mg/l)

R = 1.9 mg/l : Sr = +/- 0.7 mg/l

Diluido 1 + 9 (50 - 499 mg/l)

R = 11 mg/l : Sr = +/- 4.0 mg/l

Diluido 1+19 (500-1000 mg/l)

R = 74 mg/l : Sr = +/- 26 mg/l.

3.4.5 DETERMINACIÓN DE PECTINAS EN JUGOS¹⁸

3.4.5.1. MÉTODO CUALITATIVO

3.4.5.1.1. MATERIAL

- a) Vaso de precipitado de 250 ml
- b) Embudo
- c) Papel filtro

3.4.5.1.2. REACTIVOS

- a) Solución de Permanganato de potasio al 0,25%

3.4.5.1.3. PROCEDIMIENTO

Adicione a 30g de muestra en un vaso precipitado de 250 ml de capacidad, 200 ml de agua y mezcle bien. Coloque en un baño maría hasta completa disolución, filtre si es necesario. Adicione a una alícuota del filtrado unas

¹⁸ Métodos Físicoquímicos para el Análisis de Alimentos. ed. IV Instituto Adolfo Lutz. Brasilia 2005

gotas de la solución de permanganato de potasio al 0,25%. Coloque a ebullición.

3.4.5.1.4. EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Un color intenso con fluorescencia verdosa indica la presencia de pectinas.

3.4.5.2. MÉTODO CUANTITATIVO

3.4.5.2.1. MATERIAL

- a) Pipetas de 10ml
- b) Vaso de precipitado de 250 ml
- c) Matraz Erlenmeyer
- d) Probeta de 50 ml
- e) Bureta de 25 ml

3.4.5.2.2. REACTIVOS

- a) Etanol absoluto
- b) Acido clorhídrico p.a.
- c) Fenolftaleína
- d) Solución de NaOH 0,1N
- e) Solución de NaOH 0,5N
- f) Solución de HCl 0,5N

3.4.5.2.3. PROCEDIMIENTO

- a) Agregar 50 ml de jugo, 75 ml de alcohol 96% y 6.25 ml de HCl (concentrado) en un erlenmeyer de 250 ml y agitar durante 10 minutos.
- b) Filtrar y lavar 6 veces con porciones de 15 ml de mezcla Etanol 60%/ HCl (concentrado).
- c) Lavar con 20 ml de etanol 96%.

- d) Colocar el filtro en un beacker. Agregar agua 100 ml de agua destilada decarbonatada. Agitar con una varilla de vidrio hasta disolución del material retenido en el filtro.
- e) Titular con NaOH (0,1 N) hasta viraje de fenolftaleína. Registrar el volumen como V1.
- f) Agregar 20 ml de NaOH (0,5 N). Tapar, agitar y dejar 15 minutos (hidrólisis de ester).
- g) Neutralizar el NaOH agregando 20 ml de HCL 0,5 N (exactos o determinar el volumen necesario para neutralizar los 20 ml de NaOH agregados)
- h) Titular con NaOH (0,1 N) hasta viraje de fenolftaleína. Registrar el volumen como V2

3.4.5.2.4. EXPRESIÓN DE RESULTADOS

mg. Ac. Galacturonico en 100 ml de jugos: $19.41.(V1+V2).2$

3.4.6. DETERMINACIÓN DE PROLINA POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA¹⁴

3.4.6.1. EQUIPOS.

- a) Rotaevaporador
- b) Estufa de secado
- c) Secador
- d) Bureta de 50 ml
- e) Ampolla de decantación de 250 ml
- f) Matraz Erlenmeyer de 500 ml
- g) Embudo
- h) Pipetas
- i) Capilares

3.4.6.2 REACTIVOS.

- a) Resina de intercambio iónico (Intercambiador de cationes fuertemente ácido Merck)
- b) Ac. Clorhídrico 6N
- c) Hidróxido de amonio 3N
- d) Hidróxido de amonio 1N
- e) Fenol
- f) Ninhidrina
- g) Acetona
- h) 2,4,6 – colidina
- i) Alcohol absoluto
- j) Placas de silicagel 60 Merck
- k) L (-)Prolina para fines bioquímicos MERCK

3.4.6.3. PROCEDIMIENTO.

a) Preparación de la muestra

a.1. Jugo de naranja puro

- Lavar las naranjas con una solución de lavandina al 0,5%
- Pelar las naranjas con cuidado de no dañar la pulpa.
- Partir en dos mitades.
- Exprimir la fruta, y el jugo obtenido filtrar con una gasa.
- Se toman de 150 a 200 ml de jugo y se filtra con papel filtro.

a.2. Muestras comerciales de jugo de naranja

- A 100 ml de muestra comercial se le añaden 50 ml de etanol al 80% y se filtra.

- Se elimina el alcohol con rotaevaporador.

b) Aclaración

Todas las muestras así preparadas se diluyen llevándolas a un volumen de 100 ml con agua destilada quedando listas para pasar por columna.

c) Preparación de la columna de intercambio iónico

c.1. Se lava primero la resina con hidróxido de amonio 3N en un matraz Erlenmeyer durante 30 minutos con agitación constante. Luego se enjuaga por decantación con agua hasta pH neutro.

c.2. Se prepara la columna colocando en la bureta 40 ml de la resina previamente lavada.

c.3. La columna es activada haciendo pasar 300 ml de Acido Clorhídrico 6N (velocidad 2gotas/8seg.). Se enjuaga con agua destilada hasta reacción negativa para cloruros.

d) Aislamiento del aminoácido Prolina de los jugos

d.1. Cada una de las muestras preparadas como se indica en a.2. se pasan por la columna de resina a una velocidad de 2 gotas cada 8 segundos.

d.2. Lavar luego con 300 ml de agua destilada tibia (60°C), a flujo rápido, desechando los eluidos.

d.3. Después de que el agua ha pasado por la columna, se eluyen los aminoácidos con 200 ml de hidróxido de amonio 1N a una velocidad de 2 gotas por segundo.

d.4. Lavar con 150 ml de agua destilada a la misma velocidad, recogiendo el eluido y el agua de lavado.

d.5. Concentrar en rotaevaporador al vacío a (65-70°C) hasta un volumen de 5 ml.

d.6. La muestra queda así preparada para la cromatografía en capa delgada.

e) Cromatografía en capa delgada

e.1. Siembra

e.1.1. Marcar en una placa de 7 x 3 cm como se muestra en la Figura N^o1

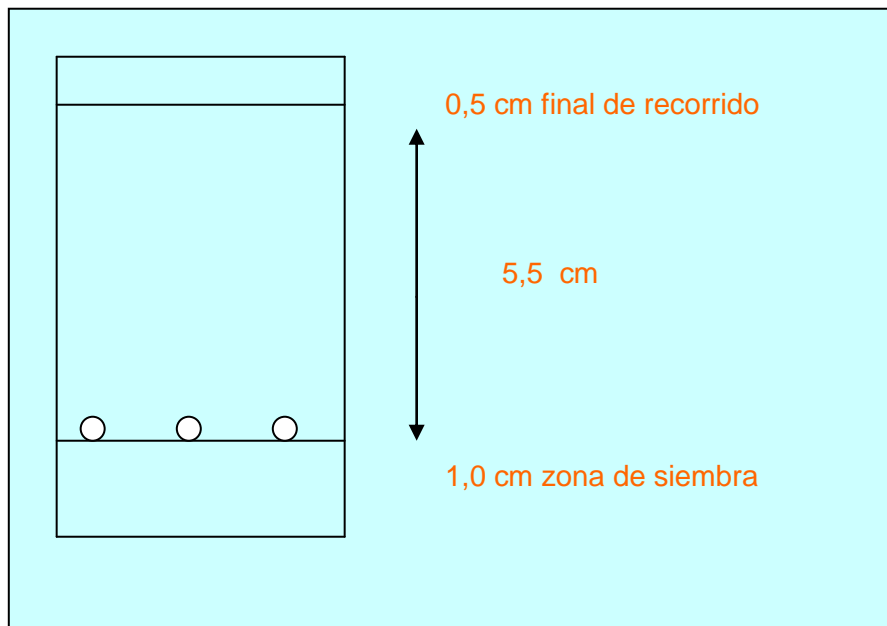


Figura N^o1

e.1.2. Con un capilar graduado se siembra 5 μ l de la muestra y 5 μ l del patrón que es el aminoácido prolina en banda sobre la placa de silicagel a 1,0 cm. del borde inferior. Se seca con corriente de aire tibio para fijar la siembra.

e.1.3. Preparación del patrón: a 2ml de hidróxido de amonio 1 N se le añaden 0,1 g de L(-) Prolina

e.2. Fase móvil

Se coloca la placa en un frasco de vidrio cerrado conteniendo el solvente de corrida o fase móvil:

Metanol	8 ml
Agua	1,8 ml
Acido acético glacial	0,2 ml

e.3. Tiempo de corrida

A los 15 minutos aproximadamente puede detectarse una buena separación de las bandas con un frente de solvente de 3,5 cm

e.4. Revelador

Una vez alcanzado el frente de solvente deseado se retira la placa, se seca bajo campana con corriente de aire frío y se revela con solución de ninhidrina modificada que se prepara de la siguiente

manera: 0,2 g. de ninhidrina; 0,7 ml de ácido acético glacial; 0,1 ml de 2,4,6 colidina y se llevan a 10 ml con acetona.

e.5. Secado

Si hay presencia de color amarillo no es necesario pasar aire caliente.

Si no hay presencia de color amarillo se seca la placa con aire caliente, hasta la aparición del color amarillo que es el indicativo de la presencia de L(-) Prolina

IV. MUESTRAS

4.1 PRUEBAS INICIALES EN MUESTRAS DE JUGO DE NARANJA PURO

Para comenzar el análisis de genuinidad de los 16 productos a estudiar, se realizaron pruebas iniciales de referencia con jugos de naranja natural preparados en el laboratorio (ver Tabla N°1), estos jugos se prepararon con 3 variedades de naranjas: Valencia, Cuter y Natal procedentes de la zona del Chapare – Cochabamba – Bolivia.

4.2 PRUEBAS INICIALES EN MUESTRAS DE JUGO DE NARANJA COMERCIALIZADOS

Se realizó un recorrido por los 6 principales Supermercados de la ciudad de La Paz: *Hipermaxi Miraflores, Ketal Miraflores, ZATT Sopocachi, Multimás Miraflores, Gava Calacoto y Terranova San Miguel* para hacer un análisis de cuantos productos están a la venta declarados en etiqueta como jugos de naranja.

MUESTREO:

Se realizó en 6 Supermercados de la ciudad de La Paz distribuidos de la siguiente forma:

- a)** 9 marcas de jugos de naranja de Industria Nacional y
- b)** 7 marcas de jugos de naranja importados.

Origen: las muestras analizadas provenían

- 3 marcas de jugos de naranja provenientes de Argentina
- 1 marca de jugo de naranja proveniente de Paraguay
- 1 marca de jugo de naranja proveniente de Estados Unidos
- 1 marca de jugo de naranja proveniente del Perú
- 1 marca de jugo de naranja proveniente del Brasil.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 PARAMETROS FISICOQUIMICOS

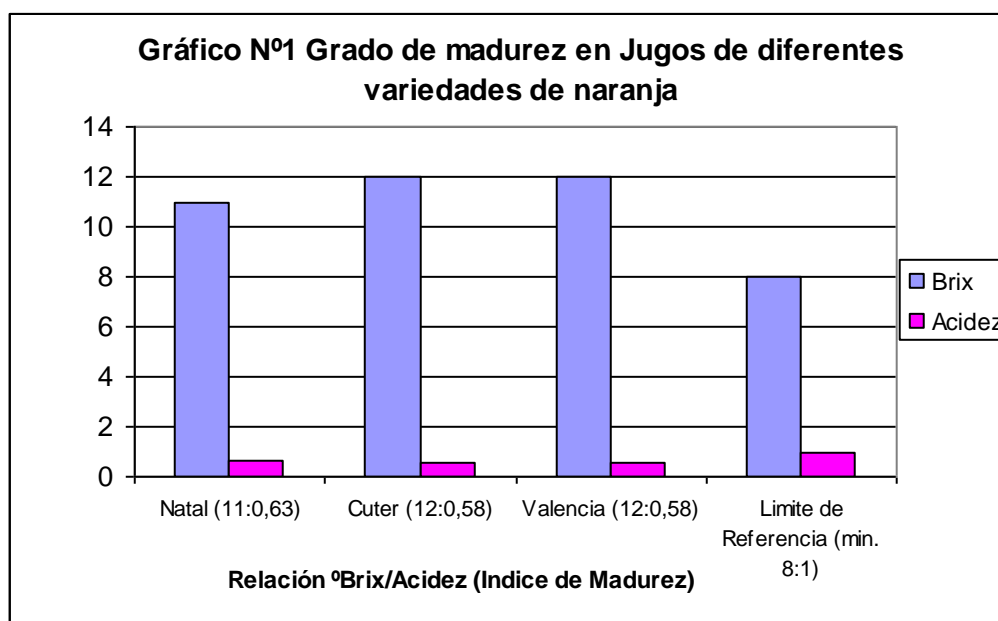
5.1.1 JUGOS DE NARANJA NATURAL

En una primera parte se realizaron ensayos en muestras de jugo de naranja natural preparados en el laboratorio (ver Tabla N° 1) a fin de contar con parámetros de referencia de un jugo natural.

Tabla N° 1 PRUEBAS INICIALES EN JUGOS DE NARANJA NATURAL

Requisitos	Unidad	Jugo de Naranja Valencia	Jugo de Naranja Cuter	Jugo de Naranja Natal
Sólidos solubles	° Brix	12	12	11
Acidez titulable (ácido cítrico)	%	0,58	0,58	0,63
Densidad relativa 20°C/20°C	g/ml	1,0514	1,0593	1,0492
Acidez iónica	pH	3,82	3,73	3,71

Fuente: Ensayos realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos-INLASA



Fuente: Ensayos realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos -INLASA

Una relación muy utilizada para determinar el estado de madurez en que se encuentra la pulpa de las frutas antes de la cosecha es el valor que resulta de dividir los grados Brix entre el porcentaje de acidez; y se lo conoce como el Índice de Madurez (IM). Este valor se hace mayor cuando la fruta avanza en su proceso de maduración natural. Los azúcares aumentan porque llegan de diversas partes de la planta a la fruta y los ácidos disminuyen porque son gastados en la respiración de la planta, de tal forma que ocurre el natural aumento de sus grados ° Brix y disminución de su grado de acidez.¹⁹

En los resultados obtenidos (Gráfico N°1) podemos observar que las tres variedades de naranjas estudiadas (Natal, Cuter y Valencia) presentan un Índice de madurez que está dentro de los valores permitidos, lo que nos sugiere que las naranjas recolectadas para la preparación de estos jugos presentaban la madurez mínima comercial requerida para este propósito. En las industrias se aceptan rangos de 8 a 10 para señalar la mejor relación del Índice de madurez de los cítricos, garantizando de esta forma la calidad del jugo, además la duración de su almacenamiento. Cuando los cítricos se cosechan inmaduros, aunque reciban los más adecuados manejos postcosecha la calidad comestible y de presentación será inferior que la que se cosecha con la madurez óptima y es, además, muy susceptible a desordenes fisiológicos en los consumidores que disminuyen considerablemente el periodo de almacenamiento y la aptitud comercial debido a que son frutos con escaso desarrollo de color, serán ácidos, y más propensos a deshidrataciones durante su almacenamiento.²⁰

¹⁹ Kimball Dan A, Citrus Processing: A Complete Guide. 2º Ed An Aspen Publication.USA 1999

²⁰ Albrigo,L.G 1977 Rootstocks effect”Valencia”orange fruit quality and water balance. Orlando USA.International Society of Citriculture:62-65

5.1.2 JUGOS DE NARANJA COMERCIALIZADOS

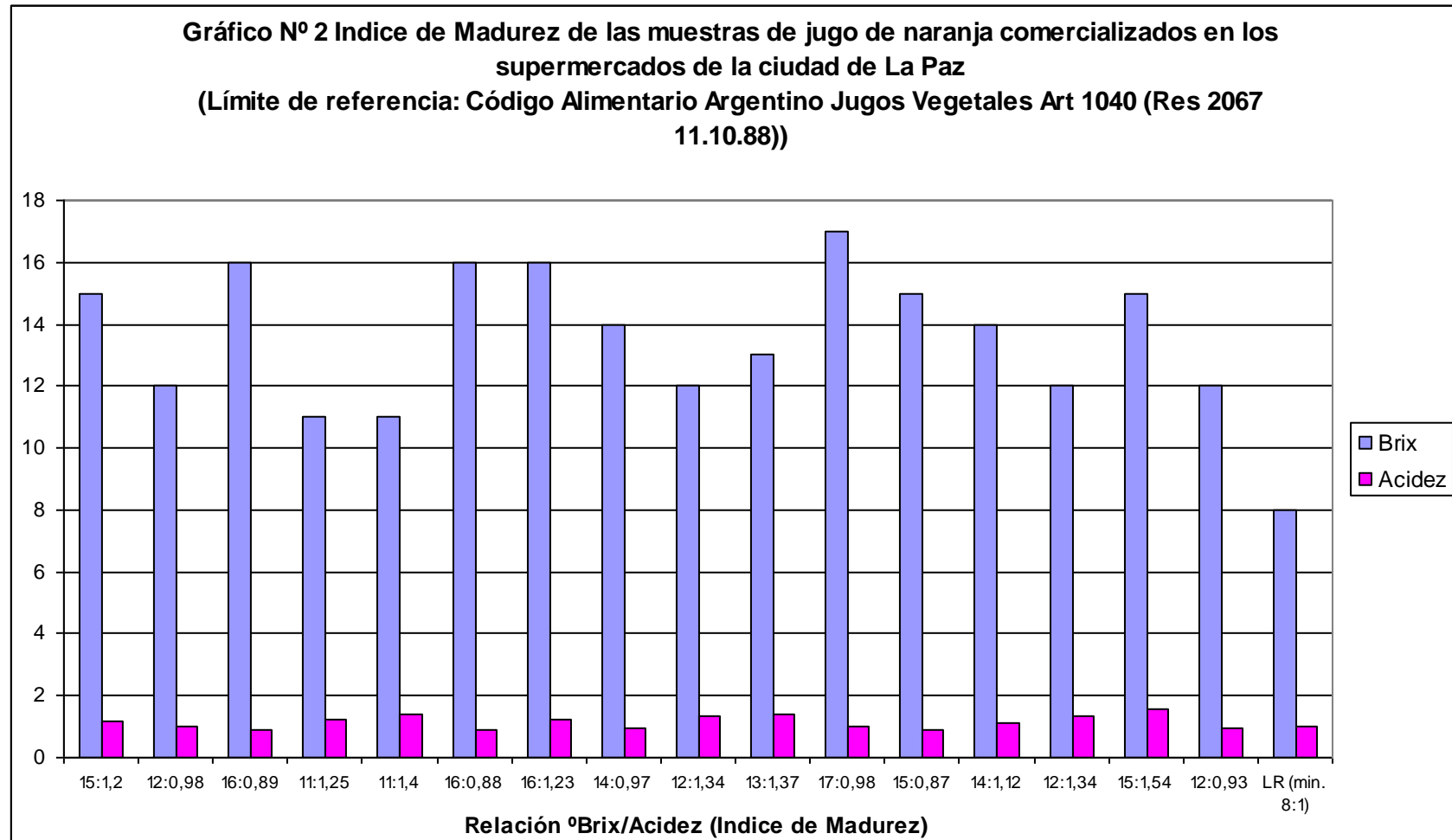
En una segunda parte se analizaron los parámetros fisicoquímicos de un total de 16 muestras de jugo de naranja comercializados en los supermercados de la ciudad de La Paz, cuya etiqueta declaraba “jugo de naranja”.

TABLA N° 2. PARAMETROS FISICOQUIMICOS EN MUESTRAS DE JUGO DE NARANJA COMERCIALIZADOS EN SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE LA PAZ

MUESTRA	Acidez (%ac.cítrico)	Acidez iónica (pH)	° Brix 20°C	Densidad relativa 20°C/20°C (g/ml)
1	1,2	3,2	15	1,056
2	0,98	3,5	12	1,046
3	0,89	3,3	16	1,065
4	1,25	4,0	11	1,043
5	1,40	3,8	11	1,089
6	0,88	4,0	16	1,098
7	1,23	3,5	16	1,048
8	0,97	3,2	14	1,067
9	1,34	3,05	12	1,076
10	1,37	4,0	13	1,099
11	0,98	3,5	17	1,046
12	0,87	3,9	15	1,075
13	1,12	4,0	14	1,089
14	1,34	3,76	12	1,045
15	1,54	3,98	15	1,040
16	0.93	3,40	12	1,045

Fuente: Ensayos realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos. – INLASA, Norma Boliviana 372-80

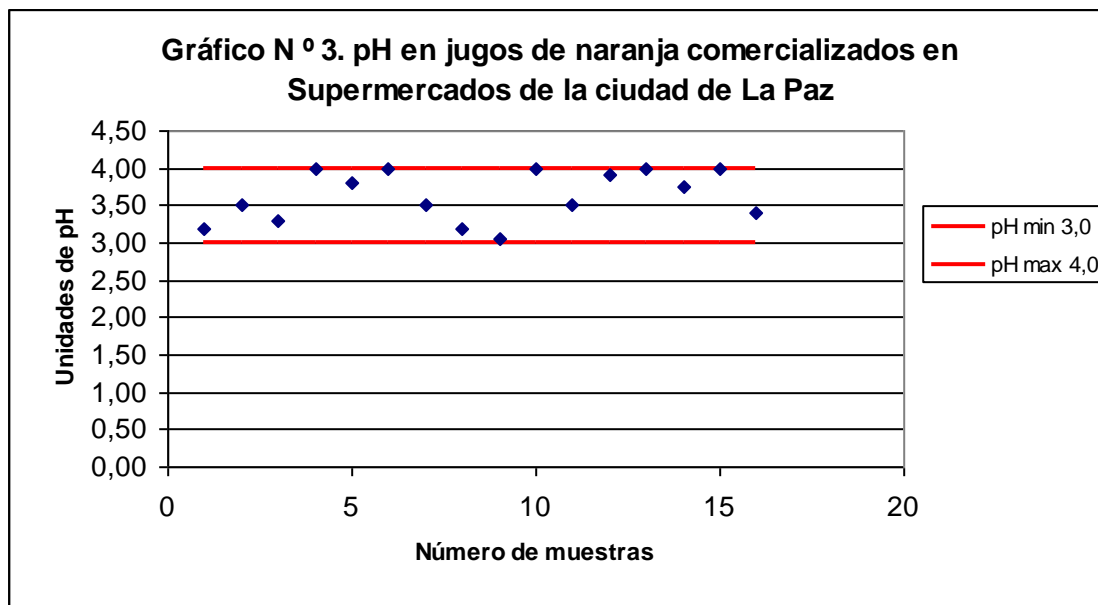
A partir de los datos de la Tabla N°2 se realizó un análisis de los resultados de cada uno de los parámetros fisicoquímicos.



Fuente: Ensayos realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos-INLASA

Nota: La Norma Boliviana no toma en cuenta este parámetro

Con los datos de grados Brix y Acidez (Tabla N° 2) se pudo determinar el Índice de Madurez (IM) de las 16 muestras y es así que en el Gráfico N° 2 podemos observar que todos los resultados de jugos de naranja comercializados en los supermercados de la ciudad de La Paz están dentro del rango permitido en lo que se refiere al Índice de madurez lo que nos indica que a nivel industrial se utilizaron frutos cítricos (naranjas) en óptimo estado de madurez para ser cosechados y utilizados para la preparación de estos jugos.



Fuente: Ensayos realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos -INLASA

Existen dos formas básicas de medir la acidez. Los métodos que miden el pH sólo miden los hidrógenos libres en la solución. Las titulaciones de ácido con mediciones de estándares de NaOH (Hidróxido de sodio) miden el número total de hidrógenos de ácidos, sea que éstos estén libres o sin disociar.

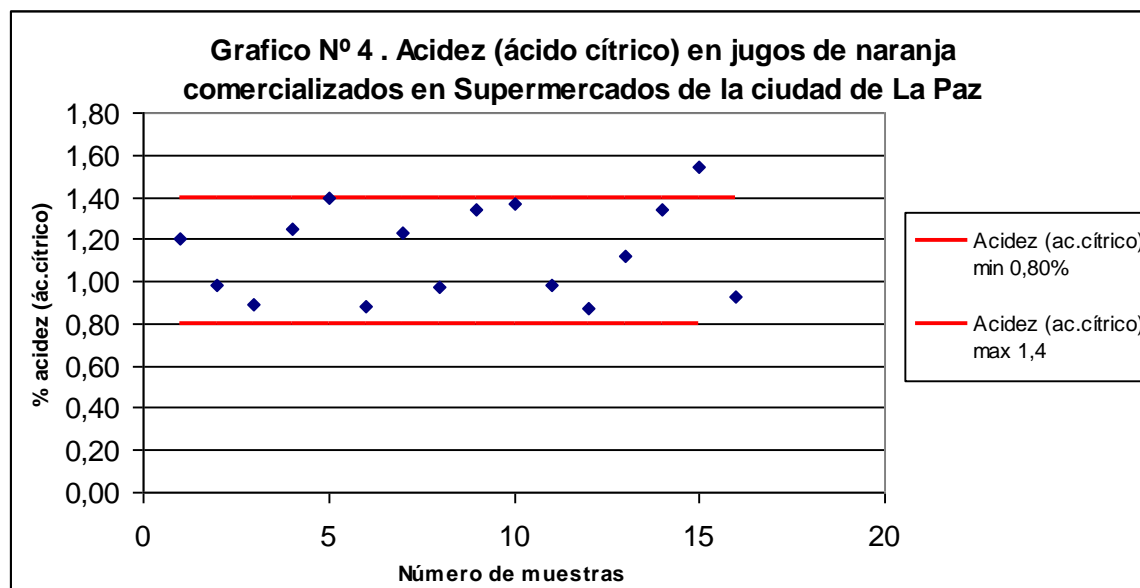
El sabor de los jugos cítricos está mas asociado con las mediciones de pH ya que son los hidrógenos libres los que interactúan con las papilas gustativas de la lengua. Sin embargo, puede esperarse que el equilibrio de los iones hidrógeno cambie en la lengua, especialmente bajo condiciones amortiguadas, lo cual probablemente da como

resultado una falta de correlación precisa entre las mediciones de pH y las sensaciones de gusto real. Además, los valores de pH cambian muy poco en el rango ácido de los jugos cítricos y su cuantificación y relacionar con las diferencias de gusto y madurez son difíciles. Las titulaciones de ácido proporcionan una escala más confiable y consistente para dichas mediciones. No obstante, los resultados de pH y las titulaciones de ácido están relacionadas y el método de titulación es el que más se usa en la industria.¹⁹

El pH del jugo varía, generalmente, entre valores de 2, para limones y otros frutos ácidos, y 5, para mandarinas y naranjas. Tanto en naranjas, y pomelos, los ácidos libres aumentan en el fruto durante los primeros estados de desarrollo y permanecen, aproximadamente, constantes en su concentración hasta la maduración en que descienden como consecuencia, fundamentalmente, de la dilución provocada por el aumento de tamaño del fruto.²¹

Los cítricos son frutos que contienen una gran cantidad y variedad de ácidos como se comentó en párrafos anteriores. Estos ácidos le confieren al jugo un pH entre 3,0 y 4,0. En los resultados obtenidos de la determinación de pH en jugos de naranja comercializados en supermercados de la ciudad de La Paz (Gráfico N° 3) podemos observar que las 16 muestras presentan valores de pH dentro de los límites permitidos por la Norma Boliviana (NB 372-80) lo que nos sugiere que en la Industria se utilizaron naranjas en óptimas condiciones de pH para la preparación de los jugos, y además nos muestran que aparentemente no hubo una adición de ácidos (ácido cítrico, málico o vitamina C) que muchas veces se utilizan para ajustar la acidez iónica o pH

²¹ 1º Simposio Internacional de Fruticultura. Producción y Calidad de Frutos cítricos. Marzo 15-18 1999. Botucatu-Sao Paulo- Brazil

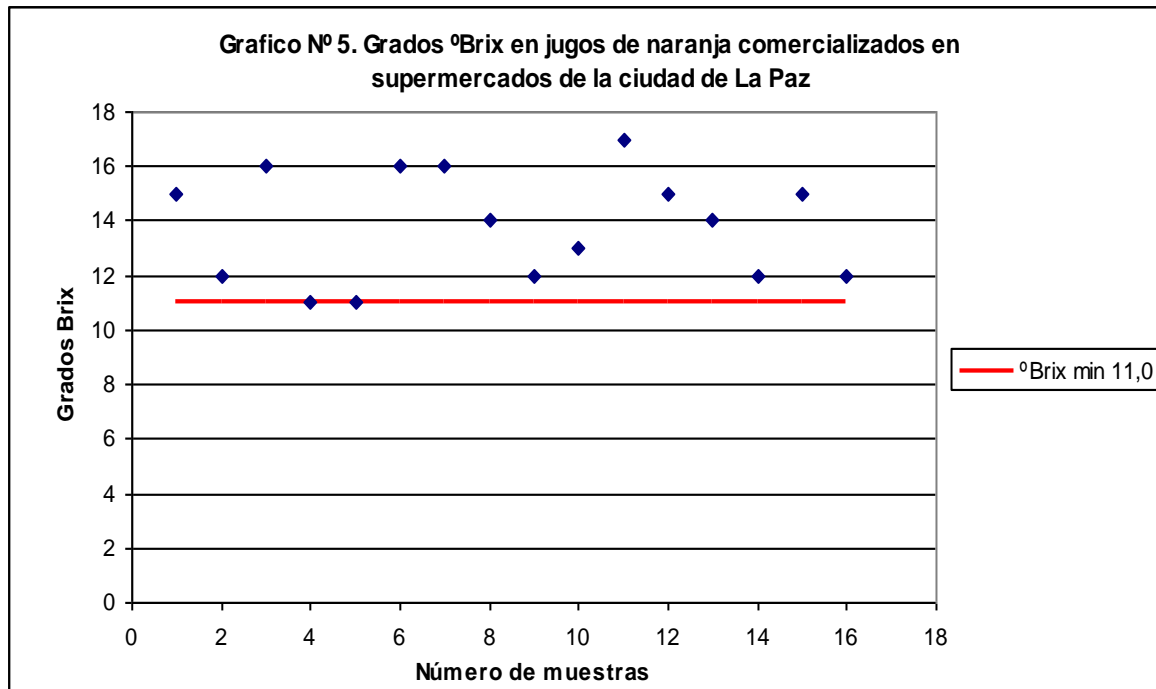


Fuente: Ensayos realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos -INLASA
Límite de referencia NB-372-80

La acidez de los jugos de la mayor parte de los frutos cítricos se debe, en gran medida, al ácido cítrico, y en menor proporción al ácido málico y al ácido galacturónico, que aparece como producto de degradación de las pectinas. La acidez es un indicativo claro de calidad del jugo. Y sus valores estarán comprendidos entre 0,80 y 1,4 g ácido cítrico /100ml de jugo. La acidez de los jugos cambia considerablemente, dependiendo de la variedad, la zona, cultivo y la maduración de las naranjas entre límites amplios.

En los resultados obtenidos de acidez (Gráfico N° 4) de las muestras de jugo de naranja comercializados en los supermercados de la ciudad de La Paz podemos observar que todas las muestras excepto la muestra 15 están dentro de los valores permitidos. Los valores de acidez que se encuentran dentro de los valores permitidos nos sugieren una importante estabilidad química de los jugos de naranja y además un adecuado proceso de pasteurización.

La muestra 15 presenta un valor de acidez de 1,54 % que está por encima del valor permitido (1,40 %) , lo que puede reflejar el uso de aditivos que muchas veces son utilizados en la industria para dar color o ajustar la acidez (como el ácido cítrico, málico o tartárico), además de antioxidantes como la vitamina C.



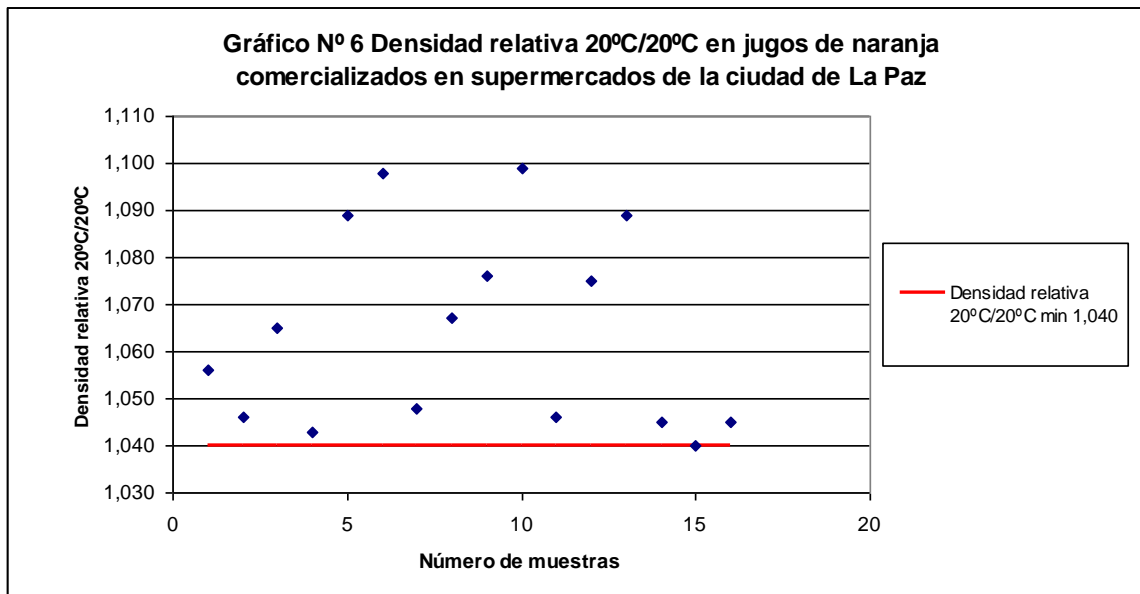
Fuente: Ensayos realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos -INLASA
Limite de referencia Código Alimentario Argentino Jugos vegetales Art 1040 (Res 2067 11.10.88)

Del 75 al 85% de los sólidos solubles totales del jugo de naranja son azúcares. Entre ellos, la sacarosa, la glucosa y fructosa son los más abundantes y se encuentran en proporciones 2:1:1. Dependiendo de la variedad el contenido en azúcares aumenta rápidamente a medida que el fruto madura, debido sobre todo a la acumulación de sacarosa.²¹

Para establecer si los jugos analizados eran de la fruta declarada (naranja), o si fueron adicionados con azúcares de origen diferente al de la propia fruta se midió el contenido de sólidos solubles de fruta. Este contenido se mide en grados Brix: un jugo con 11 grados Brix contiene el 11% de sólidos de la fruta de la que proviene; este porcentaje disminuye cuando al jugo se le agregan azúcares de otro origen.

El Código Alimentario Argentino Jugos vegetales Art 1040 (Res 2067 11.10.88) establece que los jugos de naranja deben contener al menos el 11 % de sólidos de la fruta correspondiente(o sea, 11 grados Brix) y como podemos observar en el Gráfico N° 5 todas las muestras de jugo de naranja cumplen con lo establecido, con lo que se sugiere que todos los jugos contienen el porcentaje adecuado de azúcares (sacarosa, glucosa y fructosa) propios de la naranja.

Cabe recalcar que muchas veces, las industrias sustituyen una porción importante de la fruta correspondiente al jugo, por azúcares más baratos (como azúcar de caña o maíz).



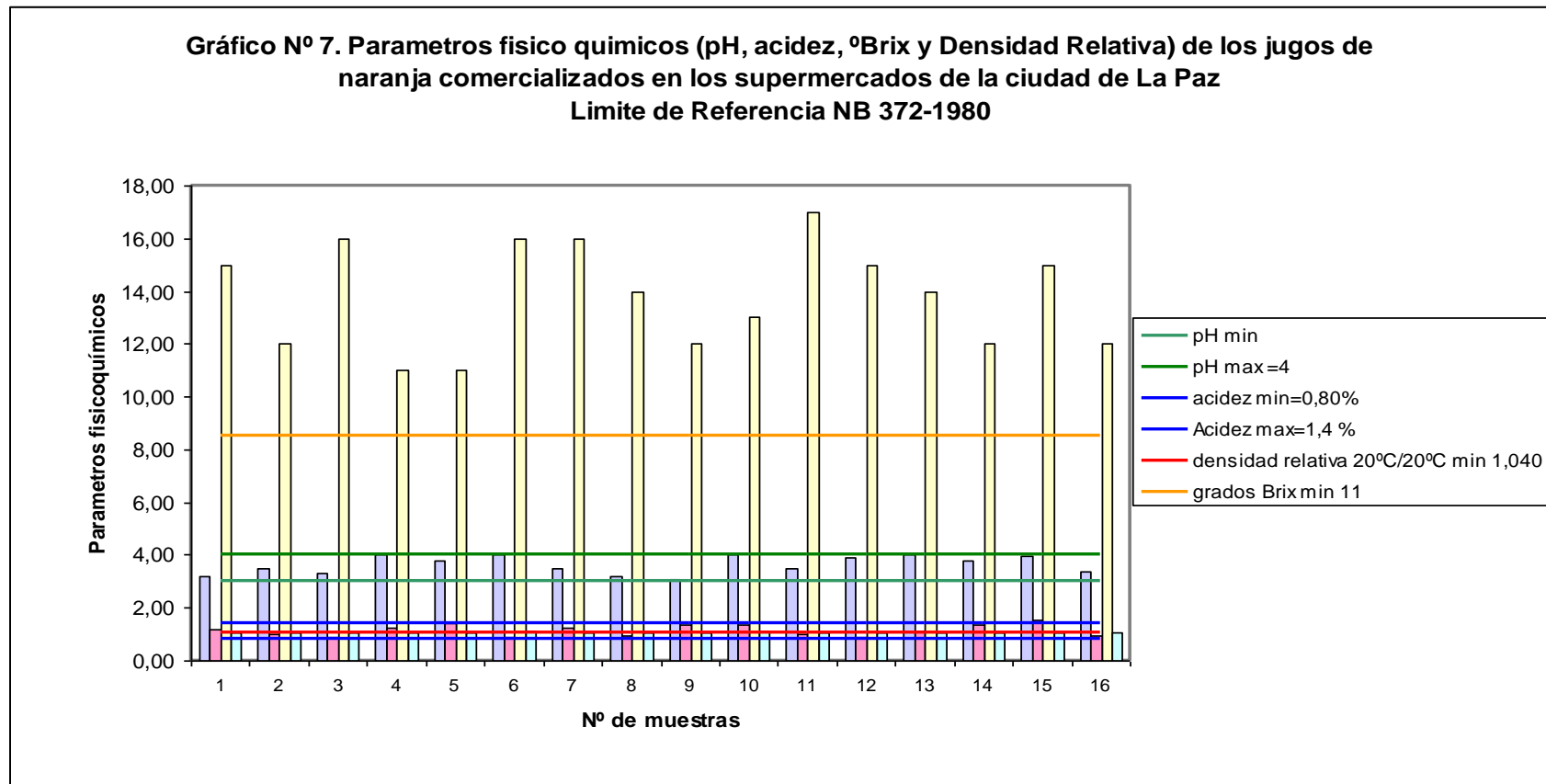
Fuente: Ensayos realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos -INLASA
Limite de referencia NB-372-80

La densidad relativa se define como la relación de la masa de un volumen concreto de una muestra de jugo con la masa de un volumen igual de agua. Pero la densidad puede depender también de las partículas disueltas y en suspensión en un determinado líquido.

La densidad del jugo es uno de los parámetros de control de calidad más importantes en la industria de los jugos, se usa para las conversiones y reconversiones entre parámetros de volumen y peso de numerosos cálculos para la predicción de mezclas y fórmulas de jugos, así como para la concentración del jugo.

En el jugo existe una estrecha relación entre la densidad y los sólidos solubles debido a que, la densidad del jugo es densidad relativa, comparando la masa de la muestra con la masa de un volumen igual de agua. Y además esta densidad varía según varíen el resto de componentes del jugo, así como ácidos, aminoácidos, enzimas, metales disueltos, sales, etc. Con lo cual, la densidad, aquí ya no solo depende de la masa que tenga un volumen de jugo, sino de las sustancias que hay disueltas en él.

En los resultados de la determinación de la densidad relativa 20°C/20°C del gráfico N° 6 podemos observar que todas las muestras de jugo de naranja comercializados en los supermercados de la ciudad de La Paz están dentro de los valores permitidos por la Normativa boliviana. Este parámetro no solo puede ser un indicio de la calidad de los jugos, sino que, si se produce una discordancia en esta determinación, podemos sospechar que la muestra ha sido adulterada.



Fuente: Ensayos realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos -INLASA
Limite de referencia NB-372-80

En el Gráfico N° 7 podemos observar los resultados de los parámetros fisicoquímicos realizados en las 16 muestras de jugo de naranja comercializados en los supermercados de la ciudad de La Paz. Los datos obtenidos nos sugieren que todas las muestras cumplen a cabalidad con lo exigido con la Norma Boliviana (NB-372-80) y con el Código Alimentario Argentino Jugos vegetales Art 1040 (Res 2067 11.10.88). De todas las muestras solo la muestra 15 mostró un valor por encima de lo exigido en lo que se refiere al nivel de acidez (ver Gráfico N° 4), por lo demás se podría suponer que todos los jugos han sido elaborados cumpliendo todos los parámetros fisicoquímicos exigidos por la Normativa.

5.2. PARAMETROS DE GENUINIDAD

5.2.1 PECTINAS TOTALES

5.2.1.1 JUGOS DE NARANJA NATURAL

En una primera parte se realizó el ensayo de determinación de Pectinas Totales en muestras de jugo de naranja natural preparados en el Laboratorio. Se prepararon jugos puros y también en diferentes diluciones (ver Tabla N° 3) para determinar el Límite de Cuantificación del método.

TABLA N° 3. DETERMINACION DE PECTINAS TOTALES EN MUESTRAS DE JUGO DE NARANJA PURO NATURAL Y PREPARADOS EN DIFERENTES DILUCIONES

MUESTRA	PECTINAS TOTALES (como acido galacturónico mg/100 ml)
Jugo de naranja al 5%	867,98
Jugo de naranja al 10%	877,32
Jugo de naranja al 20%	898,56
Jugo de naranja al 30%	904,78
Jugo de naranja al 40%	976,34
Jugo de naranja al 50%	980,76
Jugo de naranja al 75%	2050,00
Jugo de naranja puro	2213,00

Fuente: Ensayos realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos.

Por los resultados obtenidos se puede determinar que la cantidad de pectina que se puede detectar con este método es de concentraciones iguales o menores a 867,98 de ácido galacturónico mg/100 ml, en jugos preparados que contengan al menos 5% de jugo natural.

5.2.1.2 JUGOS DE NARANJA COMERCIALIZADOS

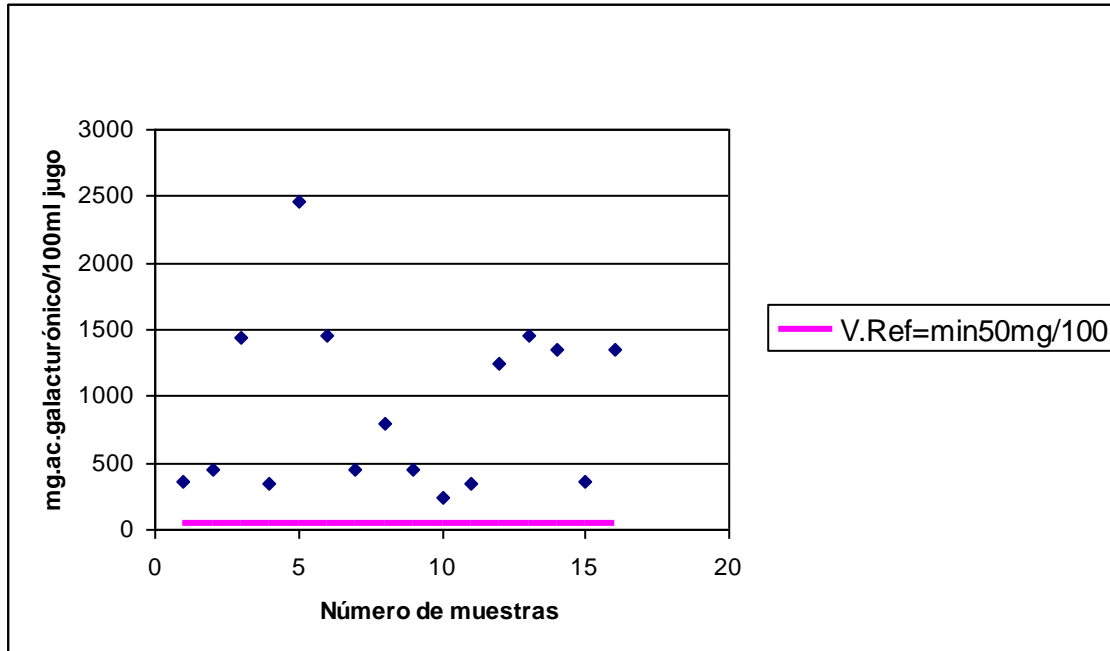
En una segunda parte analizaron un total de 16 muestras de jugo de naranja comercializados en los supermercados de la ciudad de La Paz, cuya etiqueta declaraba “jugo de naranja”, (ver Tabla 3.1.2).

TABLA Nº 4. PECTINAS TOTALES EN MUESTRAS DE JUGO DE NARANJA COMERCIALIZADOS

MUESTRA	PECTINAS TOTALES (como ácido galacturónico mg/100 ml)
1	356
2	456
3	1439
4	345
5	2456
6	1456
7	456
8	789
9	456
10	245
11	345
12	1243
13	1456
14	1356
15	356
16	1345

Fuente: Ensayos realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos-INLASA

GRAFICO N° 8. PECTINAS TOTALES EN JUGOS DE NARANJA COMERCIALIZADOS EN SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE LA PAZ (LIMITE DE REFERENCIA: Código Alimentario Argentino Jugos vegetales Art 1040 (Res 2067 11.10.88)



Fuente: Ensayos realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos- INLASA

La determinación de pectinas totales nos muestra que las 16 muestras de jugo de naranja comercializadas cumplen con lo establecido en el Código Alimentario Argentino (Jugos vegetales Art 1040 Res 2067 11.10.88) puesto que la Norma Boliviana no hace referencia a este parámetro, es decir que la concentración de ácido galacturónico está por encima de 50 mg/100 ml.

La concentración encontrada en la muestra 5 (Tabla N° 4) está por encima del mínimo establecido (50mg de ac.galacturónico/100ml de jugo) y respecto al jugo natural al 100%, esto puede deberse a que en la industria suele utilizarse pectina cítrica comercial para evitar el uso de frutas naturales. Por otro lado en la elaboración de jugos existen industrias que agregan espesantes naturales como la pulpa de zapallo o artificiales como ser polímeros, situación que explicaría los valores encontrados en los jugos: 3,5,6,13,15, y 16.(Tabla N°4)

5.2.2 DETERMINACION DE NITROGENO AMINICO TOTAL (INDICE DE FORMOL)

5.2.2.1 JUGOS DE NARANJA NATURAL

Para la determinación de Nitrógeno Amínico total primero se realizaron ensayos en muestras de jugo de naranja natural puro y preparados en diferentes diluciones. (ver Tabla N° 5) para determinar el Limite de Cuantificación del Método.

TABLA N° 5. INDICE DE FORMOL EN MUESTRAS DE JUGO DE NARANJA NATURAL PURO Y PREPARADOS EN DIFERENTES DILUCIONES

MUESTRA	Volumen gastado	RESULTADO (mgN/100ml)
Jugo de naranja al 1%	0,50 ml	2,8
Jugo de naranja al 2%	0,56 ml	2,14
Jugo de naranja al 10%	0,65 ml	3,64
Jugo de naranja al 20%	1,03 ml	5,78
Jugo de naranja al 40%	1,75 ml	9,8
Jugo de naranja al 50%	1,98 ml	11,08
Jugo de naranja al 70%	2,95 ml	16,52
Jugo de naranja al 80%	3,35 ml	18,76
Jugo de naranja puro	3,62 ml	20,27

Fuente: En base a ensayos realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos

El Código Alimentario Argentino (Jugos vegetales Art 1040 Res 2067 11.10.88) exige un mínimo de 16 mg N/100ml de jugo en el Índice de Formol, y en los resultados obtenidos podemos observar que con el método utilizado se puede cuantificar desde 2,8 mg N/100ml en un jugo de naranja preparado al 1%, lo que nos permitió realizar la determinación en todas las muestras y de esta forma establecer el contenido de jugo de fruta natural exigido por el Código Alimentario Argentino.

5.2.2.2 JUGOS DE NARANJA COMERCIALIZADOS

Posteriormente se determinó el Nitrógeno amínico presente en las 16 muestras de jugo de naranja en estudio (ver Tabla N° 6).

Para esta determinación se utilizó el método de Índice de Formol, que se basa en el clásico Método Sörensen. Este consiste en agregar formaldehído a la muestra previamente neutralizada, valorando luego con hidróxido de sodio el catión hidrógeno liberado en la reacción.

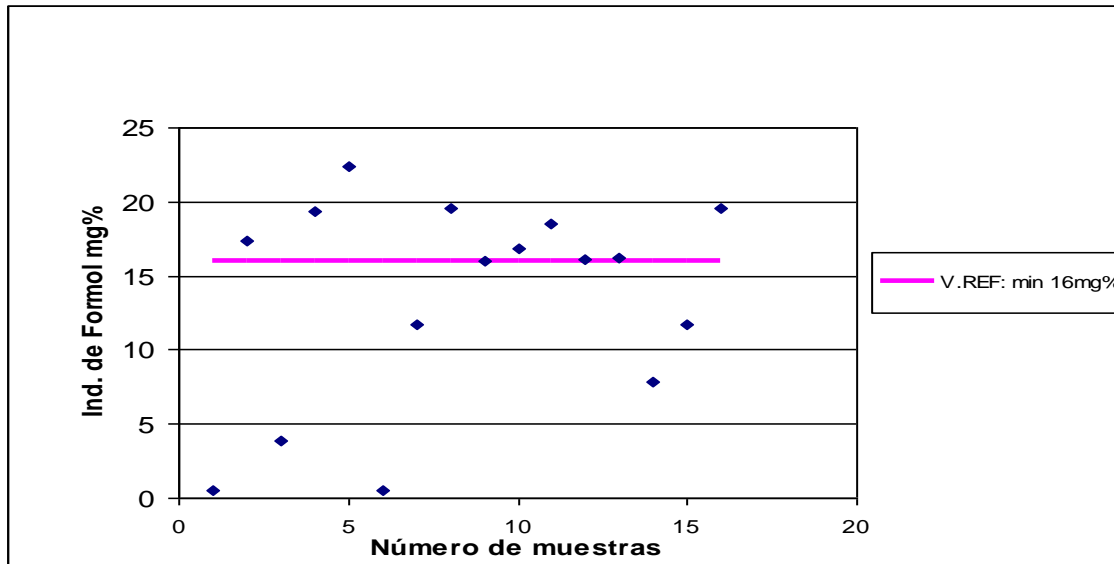
Este es el parámetro que se utiliza habitualmente para establecer el contenido de jugo de fruta natural exigido por el Código Alimentario Argentino (Jugos vegetales Art 1040 Res 2067 11.10.88); nos indica el contenido total de aminoácidos en un jugo de frutas y es una herramienta para verificar la autenticidad del mismo. Sin embargo, para alcanzar el nivel normal del Índice de formol se suelen enmascarar determinadas adulteraciones con el agregado de aminoácidos económicos (ej ácido glutámico) o muchas veces con cremogenados cítricos que están permitidos como enturbiantes pero no como reemplazante de los componentes nutritivos de un jugo genuino.

TABLA Nº 6. INDICE DE FORMOL EN MUESTRAS DE JUGO DE NARANJA COMERCIALIZADOS EN LOS SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE LA PAZ

MUESTRA	Volumen gastado (ml)	RESULTADO IF=$Vg \times 1,4 \times 4$ (mg%)
10	0,1	0,56
2	3,1	17,36
3	0,7	3,92
4	3,45	19,32
5	4,0	22,4
6	0,1	0,56
7	2,1	11,76
8	3,5	19,6
9	2,86	16,01
10	3,0	16,8
11	3,3	18,48
12	2,88	16,12
13	2,90	16,24
14	1,4	7,84
15	2,1	11,76
16	3,5	19,6

Fuente: Ensayos realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos.-INLASA

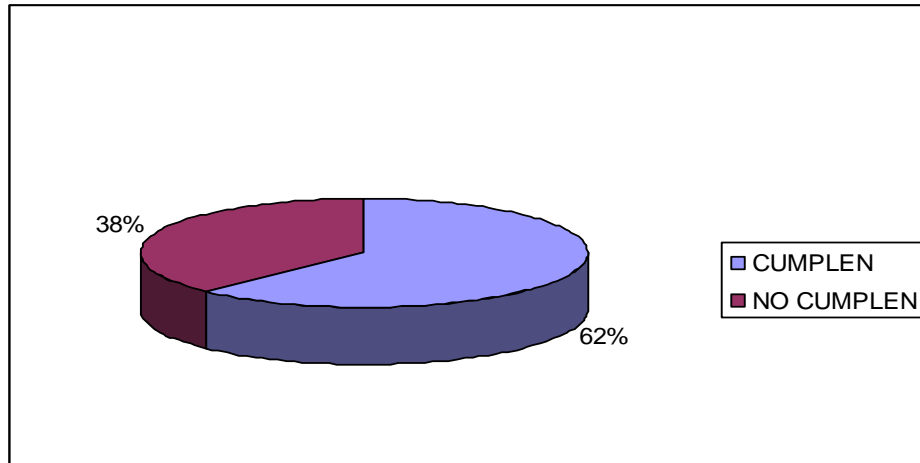
GRAFICO Nº 9. INDICE DE FORMOL DE LOS JUGOS DE NARANJA COMERCIALIZADOS EN SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE LA PAZ (LIMITE DE REFERENCIA: Codigo Alimentario Argentino Jugos vegetales Art 1040 (Res 2067 11.10.88)



Fuente: En base a ensayos realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos.- INLASA

La Normativa Boliviana no hace referencia al valor mínimo establecido del Índice de formol, y es por esta razón que se cita el Código Alimentario Argentino por ser una fuente bibliográfica utilizada para los demás países, teniendo así que de 16 muestras 6 jugos de naranja presentan rangos inferiores al límite establecido y 10 jugos de naranja que presentan rangos iguales o superiores al límite establecido, lo que nos sugiere que estos últimos aparentemente estarían preparados en base a fruta natural.

Gráfico Nº 10. PORCENTAJE DE MUESTRAS DE JUGOS DE NARANJA COMERCIALIZADOS EN SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE LA PAZ QUE NO CUMPLEN CON EL LIMITE DE REFERENCIA DE NITROGENO AMINICO TOTAL



En un total de 16 muestras analizadas, el 38% no alcanza el valor mínimo de Nitrógeno Amínico Total exigido por el Código Alimentario Argentino, el 62% si lo cumple.

Cabe resaltar que el porcentaje hallado de las muestras que cumplen con lo establecido (62%) es elevado lo que nos indicaría según este parámetro que en los supermercados de la ciudad de La Paz se comercializan en su mayoría jugos genuinos de naranja. Sin embargo es importante indicar que en el Índice de Formol, el formaldehído reacciona con todos los grupos amino presente en los componentes presentes en los jugos como ser ácido glutámico ⁽⁶⁾ que es muy usado en la industria como adulterante en jugos de fruta o con los aminoácidos de cremogenados que en este caso pueden o no corresponder a la fruta declarada. Lo que nos muestra que el Índice de Formol no es una prueba específica para aminoácidos naturales de la fruta ya que la reacción se puede dar con cualquier grupo amino libre.¹⁴

5.2.3 ESTANDARIZACIÓN DEL METODO DE CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE PROLINA

El método utilizado para verificar la presencia de Prolina en muestras de jugo de naranja nos mostró buenos resultados, pero con el fin de mejorar el tiempo de corrida y el desempeño del método se optó por cambiar la Fase Móvil que inicialmente estaba constituida por: Fenol - Agua (75:25), para esto se hicieron pruebas con diferentes solventes y en diferentes cantidades. (ver Tabla N°7).

TABLA N° 7. VOLÚMENES IDEALES DE SOLVENTES PARA LA FASE MOVIL

Fase Movil	Diclorometano	Metanol	Agua	Ac. Acético glacial	Observación
1	5ml	5ml	-----	-----	Corrida muy baja
2	-----	8ml	2ml	-----	Presencia de colas
3	-----	8 ml	1,5 ml	0,5 ml	Mala resolución
4	-----	8 ml	1,8 ml	0,2 ml	Buena Resolución
5	-----	9 ml	----	1 ml	Mala resolución
6	-----	9,5 ml	---	0,5 ml	Mala resolución
7	-----	7 ml	2 ml	0,5 ml	Mala resolución
8	-----	7 ml	2,5 ml	0,5 ml	Mala resolución
9	-----	7 ml	2 ml	0,5 ml	Mala resolución

Luego de realizar corridas con las mezclas de solvente descritas, se llegó a la conclusión que la mejor mezcla para la fase móvil es:

Metanol	8 ml
Agua	1,8 ml
Acido acético glacial	0,2 ml

Con esta fase móvil se logró disminuir el tiempo de corrida de 3 horas a 15 minutos y además de mejorar el desempeño del método se logró mejor especificidad y separación de las moléculas (resolución).

5.2.4. ESTANDARIZACIÓN DEL METODO POR ESPECTROFOTOMETRIA PARA LA DETERMINACION DE PROLINA

Debido al alto contenido de prolina en jugos cítricos naturales, se utilizó su determinación por el método de espectrofotometría.

La prolina es un aminoácido que forma un complejo amarillo con la ninhidrina, a diferencia de los formados con el resto de los aminoácidos de color azul violáceo. Esta particularidad, permite la valoración de prolina midiendo la absorbancia del complejo coloreado, extraído con acetato de n-butilo a 509 nm.

Gráfico N° 11. CURVA DE CALIBRACION PROLINA

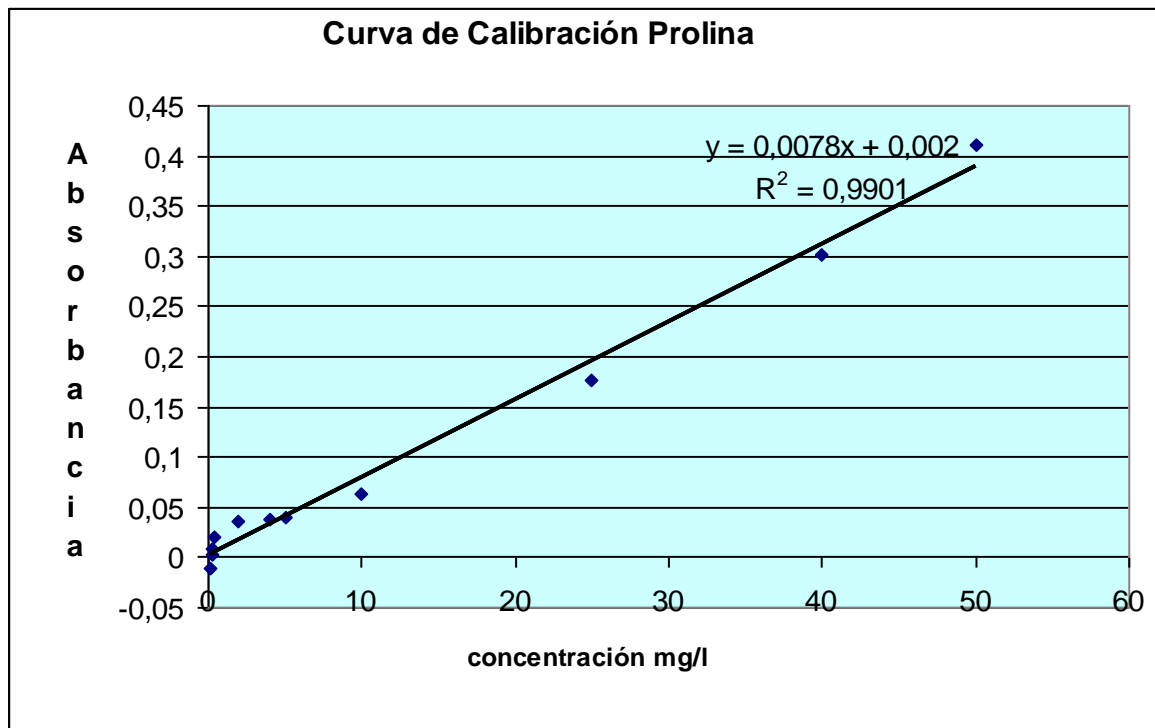


Tabla N° 8 Lecturas de D.O. de la curva de calibración a partir de una solución acuosa que contiene 100 mg/l de Prolina

CONCENTRACION mg/l	Absorbancia
blanco	0,013
0,1	-0,01
0,2	0,003
0,3	0,008
0,4	0,02
2	0,036
4	0,037
5	0,039
10	0,063
25	0,177
40	0,302
50	0,41

5.2.4.1. JUGOS DE NARANJA NATURAL

Se determinaron las concentraciones de Prolina en 16 muestras de jugos de naranja natural preparados en el laboratorio en diferentes diluciones a partir de 0,1 % con agua (Tabla 9) extrapolando en una curva de calibración (Gráfico 2.3) en la cual se usó la L-Prolina como patrón, esta prueba se realizó para determinar el Límite de Detección del Método.

TABLA Nº 9 CONCENTRACION DE PROLINA EN JUGO DE NARANJA NATURAL PREPARADO EN DIFERENTES DILUCIONES

MUESTRA	DILUCIÓN	LECTURA EN ABSORBANCIA	CONCENTRACION DE PROLINA mg/l
1	Jugo puro al 0,1 %	0,016	1,79
2	Jugo puro al 0,25 %	0,017	1,92
3	Jugo puro al 0,50 %	0,023	2,69
4	Jugo puro al 1 %	0,199	25,25
5	Jugo puro al 5 %	0,345	43,97
6	Jugo puro al 10 %	0,679	86,79
7	Jugo puro al 20 %	0,786	100,51
8	Jugo puro al 30 %	0,867	110,90
9	Jugo puro al 40 %	0,957	122,43
10	Jugo puro al 50 %	0,985	126,02
11	Jugo puro al 70 %	0,998	127,69
12	Jugo puro al 80 %	1,098	140,51
13	Jugo puro al 90 %	1,541	197,30
14	Jugo puro sin diluir	1,741	222,94

Fuente: En base a ensayos realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos. Calidad acreditada de acuerdo a Norma ISO/IEC 17025:2005

En los resultados de la Tabla Nº 10 podemos observar que a partir de la muestra 6 es decir en una dilución al 10% la concentración de prolina se encuentra dentro de los rangos permitidos

Con el método de Espectrofotometria se puede determinar concentraciones de prolina a partir del rango de 1,79 mg/l en jugos preparados al 0,1%

5.2.4.2. MUESTRAS DE JUGOS DE NARANJA COMERCIALIZADOS

Se determinaron las concentraciones de Prolina en las 16 muestras de jugos de naranja comercializados (Tabla 10) extrapolando en una curva de calibración (Tabla 8) en la cual se usó la L-Prolina como patrón.

TABLA Nº 10 CONCENTRACION DE PROLINA EN JUGOS DE NARANJA COMERCIALIZADOS EN LA CIUDAD DE LA PAZ

MUESTRA	LECTURA EN ABSORBANCIA	CONCENTRACION DE PROLINA mg/l
1	0,014	1,53
2	0,980	125,38
3	0,450	57,43
4	0,256	32,56
5	0,879	112,43
6	0,345	43,97
7	0,287	36,53
8	0,976	124,87
9	0,475	60,64
10	0,511	65,25
11	0,178	22,56
12	0,897	114,74
13	1,034	132,31
14	0,098	12,30
15	0,879	112,43
16	1,008	128,97

Fuente: En base a ensayos realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos-INLASA

GRAFICO Nº 12. CONCENTRACION DE PROLINA EN JUGOS DE NARANJA COMERCIALIZADOS EN SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE LA PAZ

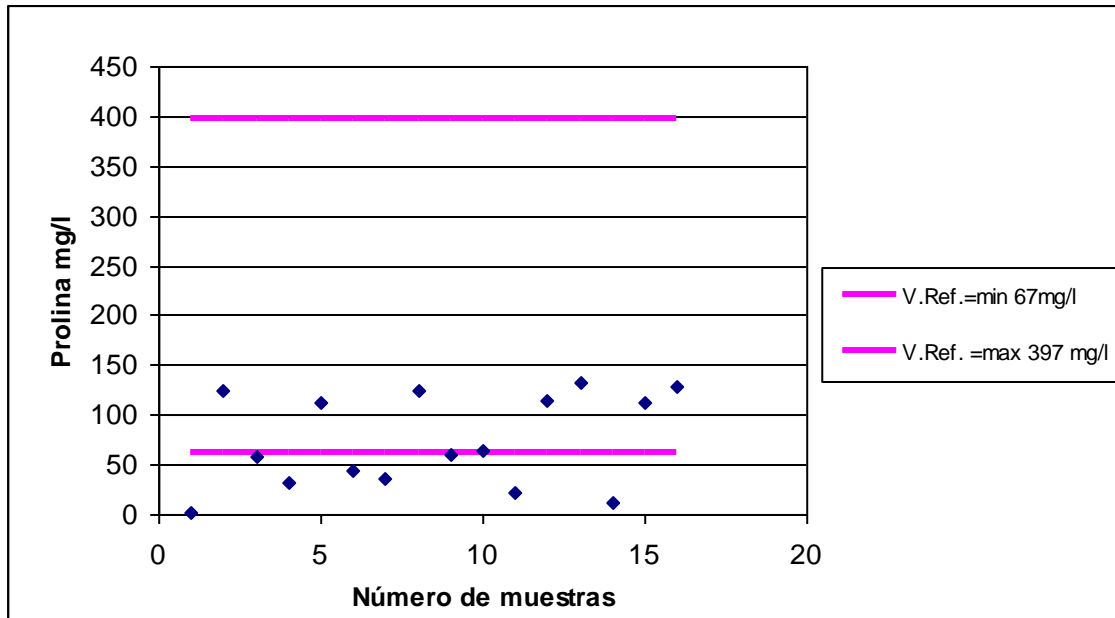
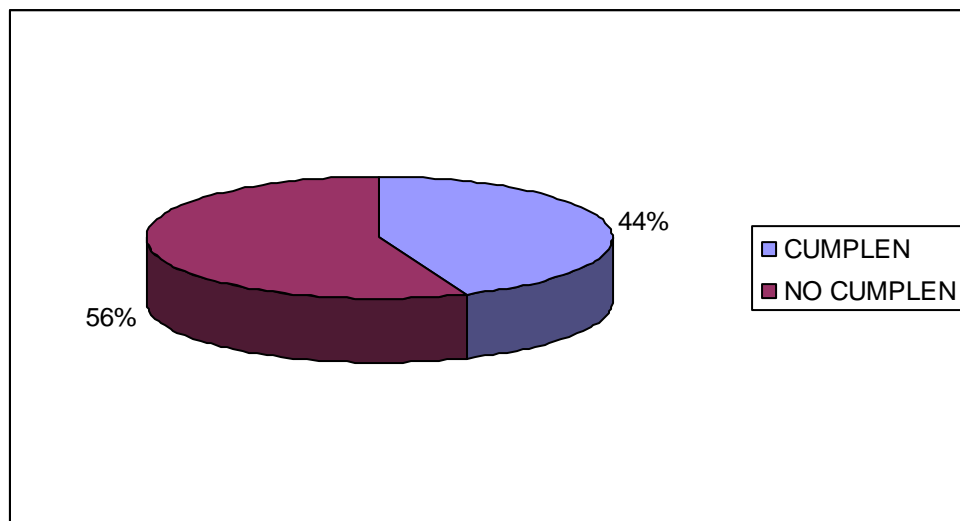


Grafico Nº 13 PORCENTAJE DE DE JUGOS DE NARANJA COMERCIALIZADOS EN SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE LA PAZ QUE CUMPLEN CON EL LIMITE DE REFERENCIA DE PROLINA



En un total de 16 muestras analizadas de jugos de naranja comercializados en los Supermercados de la ciudad de La Paz, el 56 % no alcanza el valor mínimo de Prolina, el 44% si lo cumple.

Este método tiene la ventaja de detectar solo el aminoácido de interés para este estudio: la prolina, que es el aminoácido predominante en los jugos de naranja lo que nos indica la genuinidad de los mismos.

TABLA Nº 11 . EVALUACIÓN DE LAS 16 MUESTRAS DE JUGO DE NARANJA COMERCIALIZADAS EN LOS SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE LA PAZ SEGÚN LOS PARÁMETROS DE GENUINIDAD

Nº	PECTINAS TOTALES (como ácido galacturónico mg/100ml) min 50		INDICE DE FORMOL min 16 mg %		PROLINA 62 – 397 mg %	
1	356	Cumple	0,56	No cumple	1,53	No cumple
2	456	Cumple	17,36	Cumple	125,38	Cumple
3	1439	Cumple	3,92	No cumple	57,43	No cumple
4	345	Cumple	19,32	Cumple	32,56	No cumple
5	2456	Cumple	22,4	Cumple	112,43	Cumple
6	1456	Cumple	0,56	No cumple	43,97	No cumple
7	456	Cumple	11,76	No cumple	36,53	No cumple
8	789	Cumple	19,6	Cumple	124,87	Cumple
9	456	Cumple	16,01	Cumple	60,64	No cumple
10	254	Cumple	16,8	Cumple	65,25	No cumple
11	345	Cumple	18,48	Cumple	22,56	No cumple
12	1243	Cumple	16,12	Cumple	114,74	Cumple
13	1456	Cumple	16,24	Cumple	132,31	Cumple
14	1356	Cumple	7,84	No cumple	12,30	No cumple
15	356	Cumple	11,76	No cumple	112,43	Cumple
16	1345	Cumple	19,6	cumple	128,97	Cumple

Gráfico N° 14. PARAMETROS DE GENUINIDAD: INDICE DE FORMOL Y PROLINA EN JUGOS DE NARANJA COMERCIALIZADOS EN SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE LA PAZ

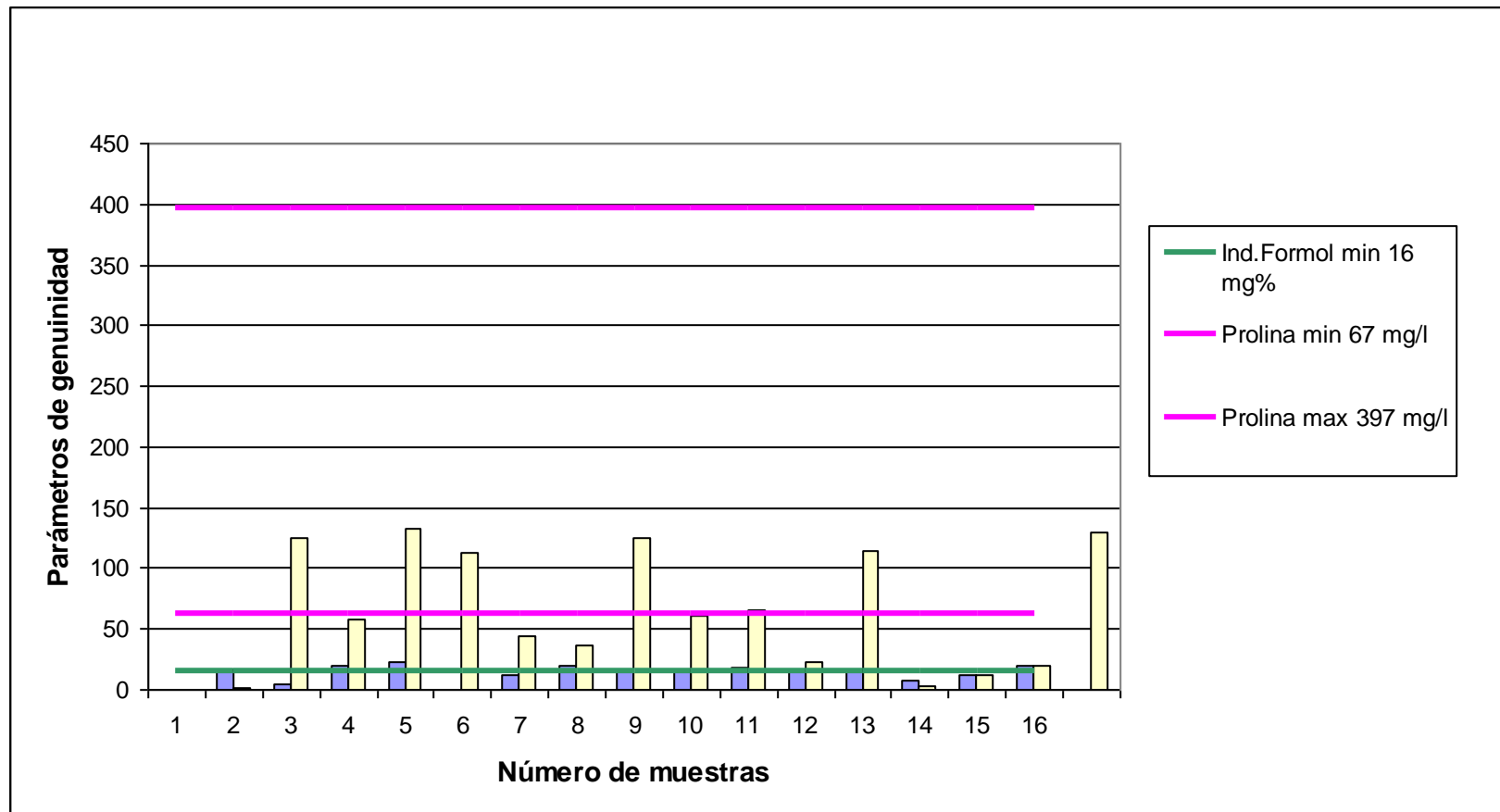
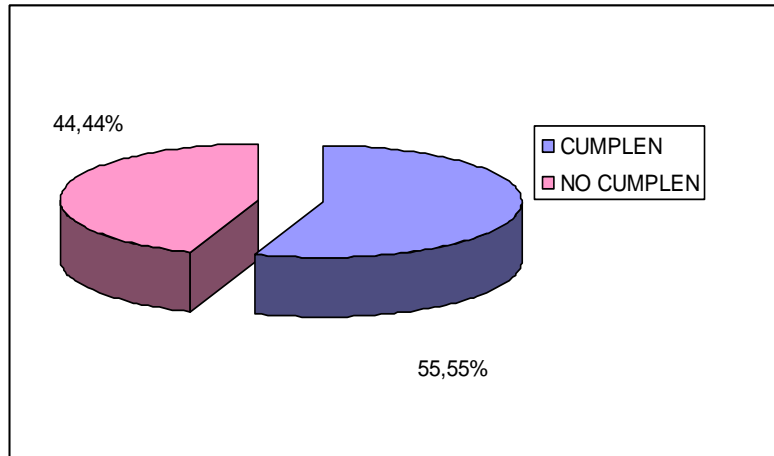
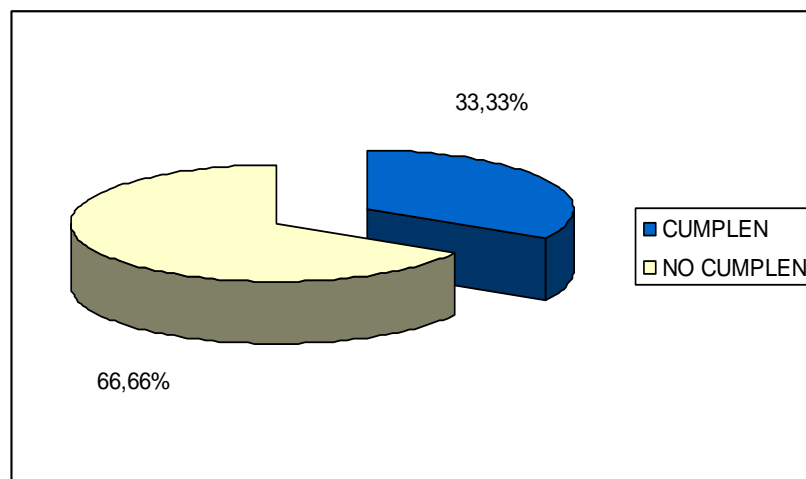


GRAFICO Nº 15 PORCENTAJE DE JUGOS DE NARANJA DE INDUSTRIA NACIONAL COMERCIALIZADOS EN LOS SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE LA PAZ QUE CUMPLEN CON EL INDICE DE FORMOL



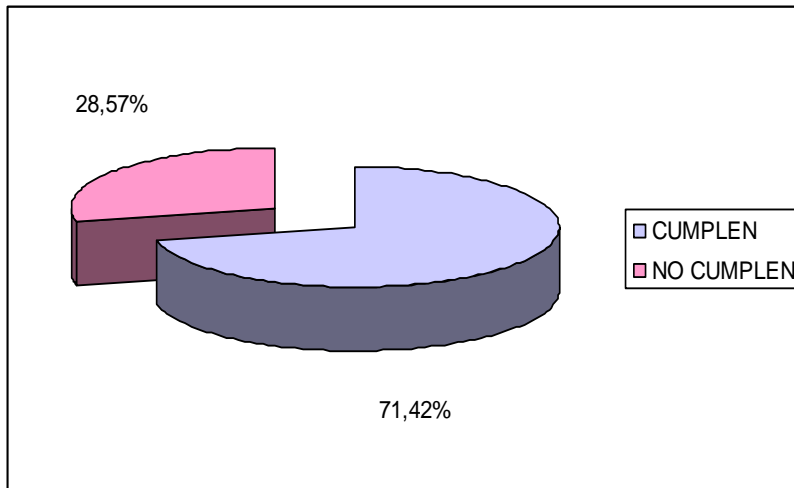
Sobre un total de 9 muestras de jugos de naranja de industria nacional, 5 muestras cumplen con el valor de referencia del Índice de Formol, es decir un 55,55% está dentro del valor permitido.

GRAFICO Nº 16 PORCENTAJE DE JUGOS DE NARANJA DE INDUSTRIA NACIONAL COMERCIALIZADOS EN LOS SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE LA PAZ QUE CUMPLEN CON EL LIMITE DE REFERENCIA DE PROLINA



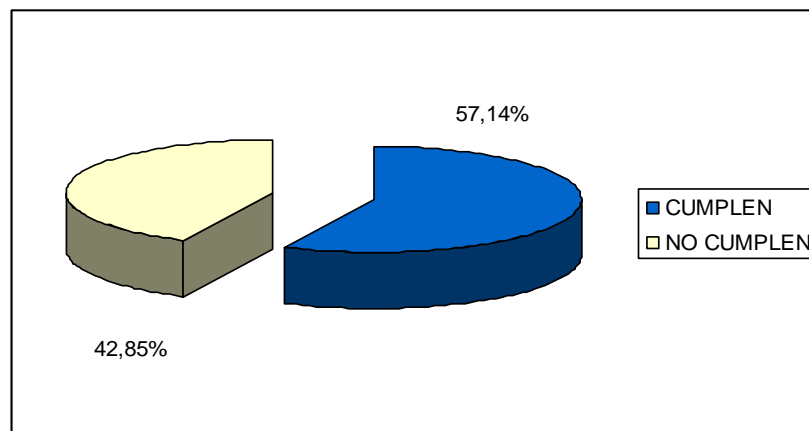
De 9 muestras de jugos de naranja nacionales, 3 muestras cumplen con el valor de referencia del parámetro de prolina, es decir un 33,33% está dentro del valor permitido.

GRAFICO N° 17 PORCENTAJE DE JUGOS DE NARANJA DE IMPORTADOS QUE SE COMERCIALIZAN EN LOS SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE LA PAZ QUE CUMPLEN CON EL INDICE DE FORMOL



Sobre un total de 7 muestras de jugos de naranja importados, 5 muestras cumplen con el valor de referencia del Índice de Formol, es decir un 71,42% está dentro del valor permitido

GRAFICO N° 18 PORCENTAJE DE JUGOS DE NARANJA DE IMPORTADOS QUE SE COMERCIALIZAN EN LOS SUPERMERCADOS DE LA CIUDAD DE LA PAZ QUE CUMPLEN CON EL LIMITE DE REFERENCIA DE PROLINA



De 7 muestras de jugos de naranja importados, 4 muestras cumplen con el valor de referencia del parámetro de prolina, es decir un 57,14% está dentro del valor permitido

VI. CONCLUSIONES

6.1. El método de espectrofotometría utilizado para la cuantificación de prolina tiene la sensibilidad y especificidad requerida para diferenciar jugos naturales de artificiales. Puede detectar la presencia de prolina a partir de una concentración de 0,5mg/l. Por otro lado esta metodología permite la cuantificación del aminoácido prolina en jugos preparados en una concentración de 0,1 de jugo natural en 100 ml de producto terminado.

6.2. Los jugos de naranja comercializados en los supermercados de la ciudad de La Paz cumplen con los parámetros fisicoquímicos exigidos por la Normativa Boliviana, pero estos no son lo suficientemente específicos para establecer la genuinidad en los jugos de naranja, es por ello que se debe incluir parámetros como: Pectinas, Índice de Formol y la Determinación de Prolina para verificar si estos productos cumplen con lo declarado en su etiqueta y evitar de esta forma el fraude.

6.3. El método de Índice de Formol no es específico porque detecta el nitrógeno amínico total presente en las muestras; estos grupos amino libres pueden ser de adulterantes como el ácido glutámico u otros que suelen usar en la industria para elevar el valor de este parámetro. Es por ello que se puede sugerir como mejor parámetro de genuinidad al método por Espectrofotometría el cual permite realizar una cuantificación individual del aminoácido predominante en los jugos de naranja: la prolina y de esta forma confirmar con certeza la genuinidad del jugo.

6.4. Por los resultados obtenidos los ensayos fisicoquímicos solamente permiten tener una idea aproximada de la genuinidad de los jugos naturales. Por lo que es necesario realizar los otros parámetros (pectinas totales, índice de formol y concentración de prolina) para establecer si el jugo contiene o es preparado a base de fruta, siendo éstos los únicos que permiten evaluar la calidad y genuinidad de jugos.

VII. RECOMENDACIONES

7.1. Los parámetros fisicoquímicos exigidos por la Normativa Nacional no son lo suficientemente específicos para establecer la genuinidad en los jugos de naranja es por ello que se sugiere incluir estos parámetros en la Norma Boliviana de Requisitos de Jugos Naturales.

7.2. Se recomienda a los Organismos Oficiales de Control exigir la declaración de porcentaje de jugo natural presente en estos productos haciendo cumplir la Norma Boliviana de Etiquetado.

7.3. Se recomienda ampliar el estudio para verificar la genuinidad en jugos provenientes de otras frutas como por ejemplo: manzana, pera, maracuya, durazno y tumbo que son productos de consumo masivo.

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Secretaria de Agricultura,Ganaderia,Pesca yAlimentos. SAGP y A.FEDERCITRUS Republica Argentina
www.sagpya.mecon.gov.ar/publicaciones/notradic/citricos.php
2. ACDO/VOCA .Oferta de Demanda de cítricos en Bolivia con perspectivas de industrialización.USAID 2005-2006
3. Guia de Trabajos Prácticos.Bromatología Aplicada. Universidad Nacional de Cordoba. Facultad de Ciencias Químicas. Año 2005
4. NORMA GENERAL DEL CODEX PARA ZUMOS (JUGOS). CODEX STAN 247-2005
5. Revista.consumer.es/eroski/web/es//actualidad/análisis jugos
6. Kimball Dan A, Citrus Processing: A Complete Guide. 2º Ed An Aspen Publication.USA 1999
7. Baudi Salvador. Química de los Alimentos. Edit. Alambra Mexicana
8. Terra,NN,García,E y Lajolo, FM.1983. "Starch-sugar transformation during banana ripening, the behavior of UDP glucosa pyrohosphorylase, sucrose synthetase and invertase",J.Food Sci.,48:1097
9. Braverman JBS. Introducción a la Bioquímica de los Alimentos. Edit. Manual Moderno. México 1980
10. Vollmer G, Josst G,Schenker D, Sturn W, Vreden N. Elementos de Bromatología Descriptiva. Edit. Acribia. España.1995
11. www. Revista consumer.es EROSKI
- 12.Alais C., Linden . Manual de Bioquímica de los Alimentos. Ed. Masson .España 1990
13. Garibay,Quintero G.,Lopez M. Biotecnología Alimentaria. Edit Noriega. México 1998

- 14.** Jullier G., Miani C., Determinación de Adulteraciones por agregado de aminoácidos y por falta de jugo de fruta declarada en preparados comerciales en la Provincia de Santa Fe. X Seminario Latinoamérica y del Caribe, en Córdoba en el Encuentro Bromatológico Latinoamericano, Abril de 1998. Córdoba Argentina

- 15.** Norma Boliviana 325005-2002. Bebidas Analcoholicas - Métodos de Ensayo

- 16.** Norma Boliviana 325006-2002 Bebidas Analcoholicas - Determinación de la acidez total

- 17.** Guia de Trabajos Prácticos.Bromatologia Aplicada. Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Químicas. Año 2005

- 18.** Métodos Fisicoquímicos para el Análisis de Alimentos. ed. IV Instituto Adolfo Lutz. Brasilia 2005

- 19.** Kimball Dan A, Citrus Processing: A Complete Guide. 2º Ed An Aspen Publication.USA 1999

- 20.** Albrigo,L.G 1977 Rootstocks effect"Valencia"orange fruit quality and water balance. Orlando USA.International Society of Citriculture:62-65

- 21.** 1º Simposio Internacional de Fruticultura. Producción y Calidad de Frutos cítricos. Marzo 15-18 1999. Botucatu-Sao Paulo- Brazil