



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

Extracción de flavonoides de la cáscara de naranja por métodos físicos y químicos, para su aplicación en una bebida saborizada.

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA
IZCHEL SAMPAYO RAMOS

ASESORA: Dra. Ma. Andrea Trejo Márquez
COASESORA: M. en C. Selene Pascual Bustamante

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN



ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Extracción de flavonoides de la cáscara de naranja por métodos físicos y químicos, para su aplicación en una bebida saborizada.

Que presenta la pasante: **Izchel Sampayo Ramos**

Con número de cuenta: **309225221** para obtener el Título de la carrera: Ingeniería en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 19 de Septiembre de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez	
VOCAL	Dra. Carolina Moreno Ramos	
SECRETARIO	Dra. María Andrea Trejo Márquez	
1er. SUPLENTE	I.A. Alberto Solís Díaz	
2do. SUPLENTE	I.Q. Daniel Mauricio Vicuña Gómez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga*

*Para Laura, Adán,
Nataly y Nailea
mi razón de ser.*

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por enseñarme que con los fundamentos de una profesión puedes lograr todo lo que te propongas, por darme los conocimientos necesarios para fortalecer mi espíritu y ejercer con orgullo mi carrera y dejarme conocer personas que hicieron de mi estancia en la universidad el mejor lugar.

A todas las personas que creyeron en mí e hicieron posible que se concluyera este trabajo así como que terminara la carrera, por compartir sus conocimientos y su tiempo con el fin de que comprendiera la esencia de los temas y la razón de ser de estos, convirtiéndose en personas importantes en mi vida.

A todas ellas mi **agradecimiento** por infundirme el deseo de ser una gran universitaria. Por mi raza hablara el espíritu.

*“Si quieres que tus hijos sean inteligentes,
léeles un cuento de hadas;
si quieres que tus hijos sean más inteligentes,
léeles muchos cuentos de hadas.”*

Albert Einstein



Índice

Contenido	Página
Índice	i
Índice de Figuras	ii
Índice de Tablas	iv
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	3
2. ANTECEDENTES	5
2.1 Generalidades de la naranja	5
2.1.1 Morfología de la naranja	5
2.1.2 Variedades de la naranja	7
2.1.3 Producción de la naranja	8
2.1.4 Comercialización de la naranja	9
2.1.5 Consumo de la naranja en México	10
2.1.6 Principales usos de la naranja	11
2.1.7 Composición Química	13
2.2 Flavonoides	15
2.2.1 Métodos de obtención de flavonoides	17
2.2.2 Aplicaciones de los flavonoides en la industria alimentaria	20
2.3 Alimentos Funcionales	21
2.3.1 Bebida Saborizada	21
2.3.2 Legislación	22
2.4 Evaluación Sensorial	23
3. OBJETIVOS	25
4. MATERIALES Y MÉTODOS	26
4.1 Cuadro Metodológico	26
4.2 Material biológico	27
4.3 Tratamiento de las muestras	27
4.4 Obtención de flavonoides por el método de extracción asistida por ultrasonido (EAU)	27
4.5 Obtención de flavonoides por el método de extracción químico	28
4.6 Formulación de una bebida funcional con extracto de la cáscara de naranja	29
4.9 Evaluación del tiempo de vida de anaquel de la bebida saborizada	31
4.10 Técnicas analíticas	32
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
6. CONCLUSIONES	68
7. RECOMENDACIONES	69
8. BIBLIOGRAFÍA	70





Índice de Figuras

Figura 1 Morfología de la naranja 6

Figura 2 Producción de naranja en el mundo 8

Figura 3 Producción de naranja en México en Toneladas 9

Figura 4. Países exportadores e importadores10

Figura 5 Consumo de la naranja11

Figura 6 Clasificación de los flavonoides basado en las modificaciones estructurales en el anillo C....16

Figura 7 Metodología de extracción asistida por ultrasonido27

Figura 8 Metodología de extracción por método químico28

Figura 9 Diagrama de proceso para la elaboración de una bebida saborizada enriquecida con flavonoides.30

Figura 10 Formato de realización de prueba de preferencia pareada30

Figura 11 Formato de realización de escala hedónica verbal31

Figura 12 Evaluación del contenido de fenoles totales33

Figura 13 Evaluación del contenido de flavonoides33

Figura 14 Determinación de capacidad antioxidante34

Figura 15 Evaluación de acidez.....35

Figura 16 Determinación de pH.....35

Figura 17 Determinación de color.....36

Figura 18 Representación del espacio cromático cilíndrico CIE-L*C*h°37

Figura 19 Preparación de muestras para cultivo.....38

Figura 20 Rendimiento de cada extracto de naranja obtenido con diferentes condiciones tiempo y concentración Etanol: Agua40

Figura 21 Concentración de fenoles totales de cada extracto de naranja obtenido con diferentes condiciones de tiempo y concentraciones Etanol: Agua42

Figura 22 Contenido de Flavonoides de cada extracto de naranja obtenido en diferentes condiciones de tiempo y concentraciones Etanol: Agua43

Figura 23 Porcentaje de inhibición de cada extracto de naranja obtenido en diferentes condiciones de tiempo y concentraciones Etanol: Agua45

Figura 24 Concentración de fenoles de cada extracto a diferentes pH.....47

Figura 25 Contenido de flavonoides de cada extracto a diferentes pH48

Figura 26 Porcentaje de inhibición de cada extracto a diferentes pH.....49

Figura 27 Contenido de flavonoides en las diferentes formulaciones de bebida saborizada51

Figura 28 Porcentaje de inhibición en las diferentes formulaciones de bebida saborizada52

Figura 29 Preferencia de la bebida saborizada en las diferentes formulaciones53

Figura 30 Cambio de luminosidad en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C56





Figura 31 Cambio de tono en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C	57
Figura 32 Cambio de croma en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C.....	58
Figura 33 Diferencial total del color en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C	59
Figura 34 Cambio de pH en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C.....	60
Figura 35 Cambio de acidez en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C.....	60
Figura 36 Cambio de contenido de flavonoides en la bebida saborizada almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C.....	62
Figura 37 Cambio de capacidad antioxidante en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C	63
Figura 38 Cambio de sabor en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C.....	64
Figura 39 Cambio de color en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C.....	64
Figura 40 Cambio de olor en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C.....	65
Figura 41 Datos cinéticos de luminosidad para una bebida saborizada enriquecida con flavonoides ...	66



Índice de Tablas

Tabla 1 Taxonomía de la naranja 5

Tabla 2 Descripción de la morfología de la naranja 6

Tabla 3 Variedades de naranja. 7

Tabla 4 Productos y Subproductos de la naranja.12

Tabla 5 Composición Química de la naranja en 100g de sustancia comestible.....13

Tabla 6 Concentración de flavonoides en flavedo, albedo y cáscara de naranja14

Tabla 7 Características de las subclases de flavonoides.16

Tabla 8 Estudios realizados en la extracción de fenoles en cáscara de naranja.18

Tabla 9 Estudios realizados en la extracción de flavonoides en cáscara de naranja.19

Tabla 10 Estudios realizados en la capacidad antioxidante de la cáscara de naranja.19

Tabla 11 Especificaciones microbiológicas para bebidas saborizadas no alcohólicas y bebidas
adicionadas con cafeína.....22

Tabla 12 Pruebas sensoriales utilizadas para el desarrollo de nuevos productos24

Tabla 13 Formulación teórica para una bebida saborizada.....29

Tabla 14 Formulaciones utilizadas para la realización de una bebida saborizada enriquecida con
flavonoides29

Tabla 15 Comparación entre método físico y método químico50

Tabla 16 Formulación utilizada para la realización de una bebida saborizada enriquecida con
flavonoides54

Tabla 17 Conteo de mesófilos aerobios y coliformes totales de las bebidas saborizadas
enriquecidas
con flavonoides sometidas a almacenamiento a 10°C, 20°C y 30°C.....55

Tabla 18 Resultados de Ea, t0 y días de vida de anaquel para acidez, luminosidad y olor67



RESUMEN

La naranja es un producto altamente consumido en México tanto en fresco como procesado, debido a que su consumo es normalmente en jugos, genera una gran cantidad de residuos. Por lo que el objetivo de este trabajo fue obtener un extracto de la cáscara de naranja rico en flavonoides y alta capacidad antioxidante para poder aplicar dicho extracto en el desarrollo de una bebida funcional. Las cáscaras fueron lavadas para proseguir con la obtención de los extractos, por dos métodos de extracción, el primero fue extracción asistida por ultrasonido (EAU) variando tiempos (30, 60 y 90 minutos) y proporciones de disolvente etanol: agua (80:20, 50:50 y 20:80), y el segundo método empleado fue químico, en el cual se variaron pH's (4, 6 y 8). Una vez obtenidos los extractos por ambos métodos, se analizó el contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, el contenido de flavonoides por el método espectrofotométrico y la capacidad antioxidante por el método de ABTS. Con el extracto obtenido se llevó a cabo la selección de formulaciones para la elaboración de la bebida saborizada con extracto, basándose en la evaluación sensorial, contenidos de flavonoides y capacidad antioxidante. Posteriormente se determinó el tiempo de la vida de anaquel a diferentes temperaturas (10, 20 y 30°C), donde se evaluaron los cambios durante el almacenamiento sobre los parámetros fisicoquímicos (acidez, pH), físicos (color), químicos (flavonoides y capacidad antioxidante), microbiológicos (Cuenta de Coliformes y Mesófilos) y evaluación sensorial. El extracto con mayor concentración de flavonoides fue el obtenido por el método de extracción asistida por ultrasonido con etanol:agua en una concentración de 80:20, obteniéndose una concentración de 149.94 mg/100g y un rendimiento de extracto de 80 % en 30 minutos.

En el caso de la extracción por el método químico se observó que los extractos obtenidos con pH 4 presentaron las concentraciones más altas de fenoles con 8.14 g/100g b.h. y flavonoides con 4882.87 mg/100g, mientras que en capacidad antioxidante los extractos obtenidos a pH 6 presentaron 45.25 % de Inhibición. Debido a que los flavonoides es el componente de interés en el presente trabajo, se utilizó para la extracción pH 4.

La aplicación del extracto de cáscara de naranja rico en flavonoides mostró que en diferentes proporciones en la bebida, provocó un cambio en las propiedades organolépticas, el contenido de flavonoides y la capacidad antioxidante. Los resultados demostraron que en cuanto a la evaluación sensorial la aceptada por los panelistas fue



50 % extracto: 50 % agua, con esta formulación se determinó la vida de anaquel la cual tuvo un tiempo de vida útil de 64 días.

Se concluyó que las cáscaras de naranja son una buena opción para su aprovechamiento en la extracción de extractos ricos en flavonoides y que una opción tecnológica de este ingrediente funcional es una bebida que proporcione al consumidor beneficios a su salud.



1. INTRODUCCIÓN.

México es líder en producción de cítricos, al ubicarse como el quinto productor a nivel mundial (4.400Tm) detrás de Brasil (16.850Tm), China (7.600Tm), Estados Unidos (6.783Tm) y la India (5.000Tm) (Comité de gestión de cítricos, 2016). El problema es que la mayoría de los consumidores lo único que consumen es su jugo y su pulpa, desaprovechando lo que contiene más compuestos benéficos para la salud que es la cáscara o aprovechándola solo para extraer ciertos compuestos como es la pectina y la fibra, o también son utilizados como alimento para ganado. Teniendo como desperdicio de esta fruta del 45-60 % de su total (Sotomayor-Guamán, 2015).

Pero la cáscara de la naranja tiene más compuestos destacados como serían los polifenoles, en especial los flavonoides; los cuales presentan diversas propiedades benéficas para la salud, como son la actividad anticancerígena, antiinflamatoria, antiviral, antialérgica, protección contra enfermedades del corazón, además de propiedades antioxidantes. Aunque en los cítricos destacan en especial tres tipos de flavonoides que son: flavanonas, flavonas y flavonoles que se diferencian porque las flavanonas tienen el anillo C saturado, mientras que las flavonas presentan una insaturación en los carbonos 2-3 (Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Londoño-Londoño *et al.*, 2012).

Algunos flavonoides ya se utilizan en la industria farmacéutica, solos o con algún otro componente, pero no se tiene un producto en la industria alimentaria que sea rico en estos, por lo que sería funcional que las personas que quieren los beneficios de los flavonoides puedan consumirlo en un alimento que sea accesible y con propiedades organolépticas agradables, a que deban tomarlo en medicamentos. Algunos de estos medicamentos son Venalex, Daflon, Accesum los cuales contienen hesperidina con diosmina, Rutin, Quercetin, entre otros. Pero estos medicamentos son de un precio elevado y se tienen que consumir cada cierto tiempo, además que su sabor no es agradable.

Aunque los flavonoides obtenidos de la cáscara dependerán de la variedad de naranja que se tenga, así como de los métodos de extracción. Ya que puede ser por método físico el cual es extracción asistida por ultrasonido, y en el cual las condiciones de extracción utilizadas en cuanto a temperatura y solvente, cambiarán los resultados de la extracción (Larreda-Posadas, 2012), o puede ser por método químico, (Geronazzo *et al.*, 2012) en el cual los diferentes pH's tiempos de reposo cambiarán los resultados. Los métodos



utilizados más frecuentemente son: EAU, Soxhlet, con fluidos supercríticos, medio alcalino, entre otros.

Por otra parte la población en México los últimos años ha tenido cambios en su estilo de vida, por lo que se ha detectado que la mitad de la población posee colesterol elevado (El Universal, 2016), que el 14 % de los adultos tiene diabetes y otro 14 % tiene un estado pre diabético (INSP, 2016), además el 19.4 % tiene cáncer de mama en el caso de las mujeres y 1 % en los hombres (INEGI, 2016) y hay 750000 personas que viven con insuficiencia cardiaca además que es la primera razón de muertes (European Society of Cardiology, 2015). Aunado a esto el aumento de la esperanza de vida es bajo, debido a que cada vez más gente muere por estas enfermedades, algunas causas son debido a la falta de ejercicio, mala alimentación o genética.

Por lo que en este trabajo se busca obtener un extracto con la mayor cantidad de flavonoides, para adicionarlo a una bebida saborizada con el fin de que esta contenga los compuestos funcionales característicos de los flavonoides siendo un producto con valor agregado, accesible para los consumidores que requieran de estos compuestos, además de un mejor sabor.



2. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades de la naranja

La naranja tiene su origen en el noreste de la India y China central. Se cree que su cultivo en estas regiones se remonta a 2400 a.C. La introducción de semillas de naranja en América se da en 1493 (Frutas-hortalizas, 2016).

La naranja como se observa en la Tabla 1 es del género *Citrus*, en donde también entra el limón, mandarina, lima y pomelo entre otros. Su característica es que son frutos con abundantes glándulas lisígenas repletas de aceites esenciales en su piel y una pulpa compuesta de largas células llenas de jugo (Universidad Politécnica de Valencia, 2016).

Tabla 1. Taxonomía de la naranja

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Sapindales
Familia	<i>Rutaceas</i>
Subfamilia	<i>Citroideae</i>
Tribu	Citreae
Género	<i>Citrus</i>
Especies	Naranja dulce: <i>Citrus sinensis</i> (L.) Osb Naranja amarga: <i>Citrus aurantium</i> (L.)

Fuente: [orangeblue-naranja](#), (2008)

2.1.1 Morfología de la naranja

En la Figura 1 se observa gráficamente la morfología de la naranja y en la Tabla 2 se describen los componentes de la naranja tanto en la cantidad que están presentes en ella como de los compuestos que contiene y cómo se comportan durante la maduración del fruto.

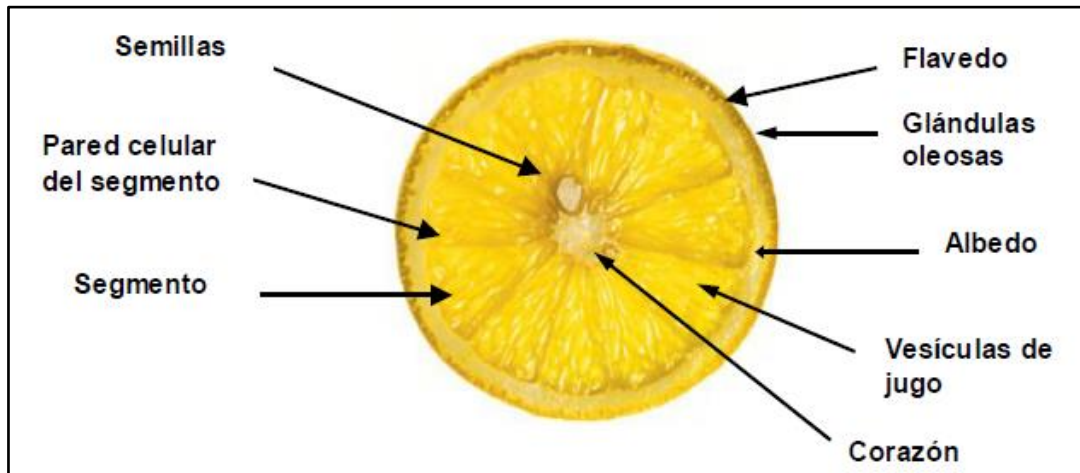


Figura 1. Morfología de la naranja
Fuente: Escobar-Blanco (2010).

Tabla 2. Descripción de la morfología de la naranja

Compuesto	Descripción
Epidermis	Es la piel y está constituida por una estructura epicuticular en forma de placas con células secretoras y esclerenquimáticas; su función es proteger mecánicamente y limitar la transpiración mediante la exudación de cera. En general, Alcanos, aldehídos y ácidos grasos son los componentes principales de la cera epicuticular, los alcoholes primarios y triterpenoides son constituyentes menores. El contenido de cera se incrementa durante la maduración del fruto alcanzando.
Flavedo (10%)	Aloja vesículas oleaginosas con paredes muy finas y frágiles. En el flavedo se encuentran los pigmentos y los aceites esenciales, dan su color amarillo o anaranjado a los frutos. Antes de madurar predomina el color verde de la clorofila, pero a medida que la fruta va madurando aparecen los carotenoides que le confieren el color amarillo-naranja.
Albedo (12-30%)	Compuesto por células de estructura tubular que forman una tela con la mayoría del volumen tisular comprimido en el espacio intercelular. La espesura del albedo varía según el tipo de cítricos y de cultivo. El albedo es rico en flavonoides, pectina, celulosa y lignina.
Endocarpio (50-80%)	Se encuentra dentro de la cáscara y es la parte comestible de los cítricos, está formada por muchos carpelos o segmentos, que a su vez están compuestos por vesículas que contienen el jugo y están separadas por las membranas intercapilares. Se encuentran azúcares, ácidos orgánicos y vitaminas.
Semilla	Las semillas de cítricos contienen cerca de 36 % de aceite. En cuanto a las sustancias con actividad biológica, se han encontrado antioxidantes en las semillas, además de la presencia de limonoides con actividad insecticida y antitumoral.





Fuente: Londoño-Londoño *et al.* (2012) y Santiago-Falcon (2006).



2.1.2 Variedades de la naranja

Existen gran variedad de naranjas en el mundo, algunas de las que se producen en México se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Variedades de naranja.

Variedad	Ejemplos
<p>Naranja común: : No tienen ombligo, ni colores antociánicos</p>	<p>Hamsin, Valencia, Piña, Parson Brown, Jaffa, Shamouti. La valencia se adapta a diferentes condiciones de suelo, clima y es excelente para la industria</p> 
<p>Naranjas sin acidez: Estas se caracterizan por tener baja acidez</p>	<p>Tenerife e imperial</p> 
<p>Naranjas sanguíneas o pigmentadas: Pueden desarrollar color rojo rosado en pulpa y cáscara. Este color es originado por pigmentos antociánicos, no se desarrolla en climas tropicales. Tienen un sabor agradable.</p>	<p>Moro, Doblefina, Ruby y Sanquinelli</p>  <p>Sanguina</p>
<p>Naranjas Navel o de ombligo: Tienen un ombligo que es un fruto rudimentario, secundario, inserto en el ápice del fruto primario, también se caracterizan por no tener semillas, son fáciles de pelar y son las que se consumen normalmente. En climas tropicales no se desarrollan bien y son menos vigorosas por lo que se afectan en climas desfavorables.</p>	<p>Bahia, Washington Navel, Navelina y Navel Tardía.</p>  <p>Navel</p>

Fuente: Baraona-Cockrell y Sancho-Barrantes (2000) e InfoAgro (2016).



2.1.3 Producción de la naranja

La naranja es uno de los frutales más extensamente cultivados en el mundo, principalmente en zonas subtropicales. De acuerdo a la FAO, para el año 2014 la superficie mundial plantada con cítricos fue de 8.3 millones de hectáreas, representando una producción mundial de cítricos para dicho año de 123.8 millones de toneladas, correspondiendo el 58 % a naranjas, 23 % a mandarinas, 12 % a limones y 7 % a toronjas. En el caso de los cítricos dulces (naranja, toronja y mandarina) se registra una superficie mundial de 7.3 millones de hectáreas que producen 108.6 millones de toneladas (FAO, 2014).

La producción global en el 2014 cayó un 4 % debido a menores rendimientos en Brasil, China y los EUA. Resultado de esta reducción se espera que la fruta disponible para el procesamiento baje en un 7 %. Aunque el consumo en los EUA va en aumento, su producción se ha visto muy afectada por el HLB en Florida, valiéndose de las importaciones para contrarrestar esto. Brasil ha sufrido una sequía que ha reducido en un 3% su producción con respecto del año pasado, además la Unión Europa sufre de olas de calor que afecta la floración de los cítricos y Rusia tiene problemas económicos que disminuyen sus importaciones en un 10 % (USDA, 2015).

México ocupa el quinto lugar, como se muestra en la Figura 2 y actualmente, la mayor parte de la cosecha de cítricos proviene de un pequeño grupo de 10 países que representan el 77 % de la producción, donde actualmente China y Brasil lideran (SAGARPA, 2015).

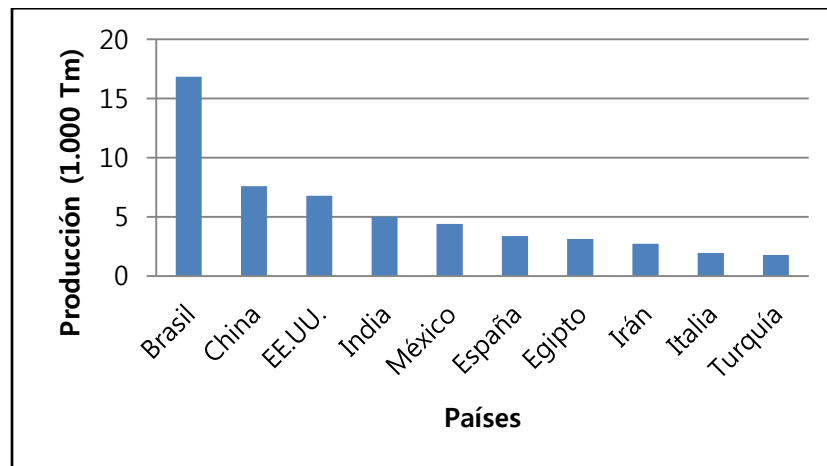


Figura 2. Producción de naranja en el mundo
Fuente: Comité de gestión de cítricos (2014)



En México la citricultura es una actividad de gran importancia económica y social, actualmente se encuentra entre los primeros cinco países productores de estas frutas y la superficie establecida para el cultivo de cítricos es de cerca de 550 mil hectáreas. La naranja ocupa el primer lugar de producción de cítricos en el país con un 63 %, le sigue el limón mexicano y el limón persa con un 23 %; el porcentaje restante se distribuye entre la toronja, mandarina y tangerina (SAGARPA, 2015).

La naranja es un cultivo de tipo perenne que se cultiva en 27 estados en una superficie de 335 mil hectáreas, y Veracruz es el principal productor al ocupar 167 mil hectáreas.

En la Figura 3 se observa que lo estados con mayor importancia en la producción son Veracruz (52 % del total nacional), Tamaulipas (15 % del total nacional), San Luis Potosí y Nuevo León (7 % del total nacional) y Puebla (5 % del total nacional). Los meses con mayor producción son entre Febrero y Abril, ya que se recolecta el 44 % del volumen anual (SIAP/SAGARPA, 2016).

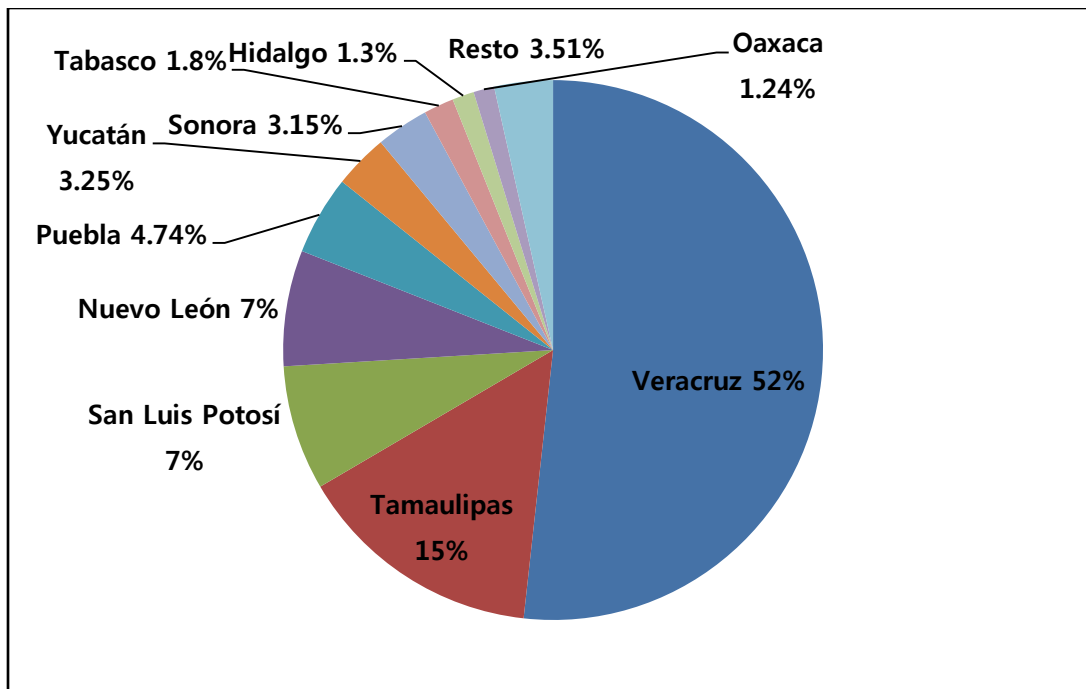


Figura 3. Producción de naranja en México
Fuente: SIAP/SAGARPA (2016).

2.1.4 Comercialización de la naranja

Las exportaciones en México son casi el doble de lo que se importa, con 49,289 Toneladas que se importan y 25,418 Toneladas que se exportan. Además que las importaciones del 2014 al 2015 han disminuido 2.9 % y las exportaciones han aumentado



0.6 % (SIAP/SAPARPA, 2016). Lo que refleja que la naranja mexicana está teniendo relevancia a nivel mundial y no se está necesitando traer de otros países este fruto, ya que el campo mexicano está abasteciendo suficiente el mercado.

Nueve de cada 10 toneladas producidas en México se exportan a Estados Unidos, mientras que todas las importaciones nacionales provienen de ese país. En la Figura 4 se observa que Reino Unido, Japón y Canadá son los principales consumidores de la naranja mexicana. Algunos otros países consumidores de la naranja mexicana son Alemania, Rusia, Francia y Arabia Saudita (SIAP/SAGARPA, 2016).

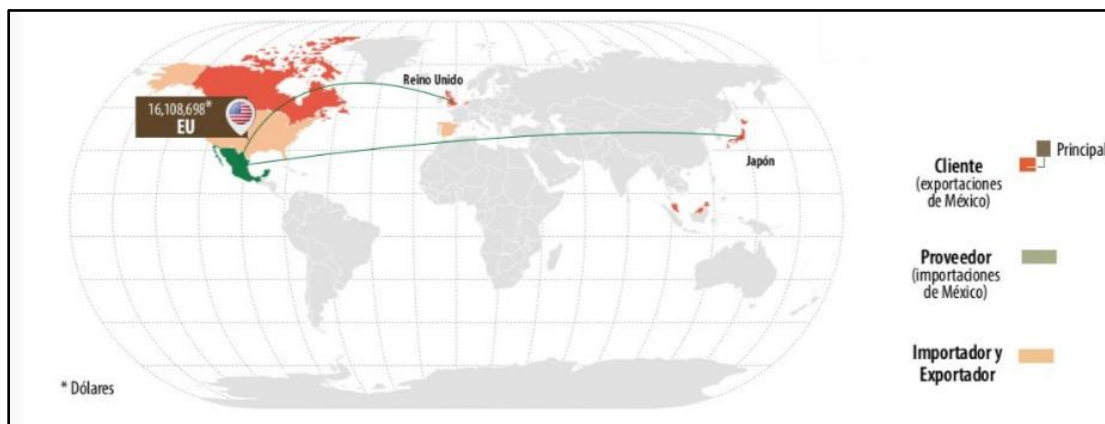


Figura 4. Países exportadores e importadores
Fuente: SIAP/SAGARPA (2016)

Estados Unidos y Reino Unido consumen casi en su totalidad la naranja mexicana de exportación (74.5 y 24.6 %, respectivamente).

2.1.5 Consumo de la naranja en México

Las naranjas producidas en México son principalmente destinadas al consumo del mercado doméstico. Los consumidores mexicanos prefieren consumir sus naranjas en jugo fresco (Figura 5). De la cosecha mexicana de naranjas, aproximadamente entre 85 y 95 %, es usualmente vendida fresca en el mercado doméstico. Una parte muy pequeña (< 1%) es vendida en forma de jugo procesado a los consumidores mexicanos. Los tres mayores mercados mayoristas se encuentran en la Ciudad de México, Guadalajara y Monterrey y participan con el 80 % de todas las ventas de cítricos en México (Consejo citrícola mexicano, 2007). El consumo de la naranja en México es de 37.1kg anual per cápita (SIAP/SAGARPA, 2016).

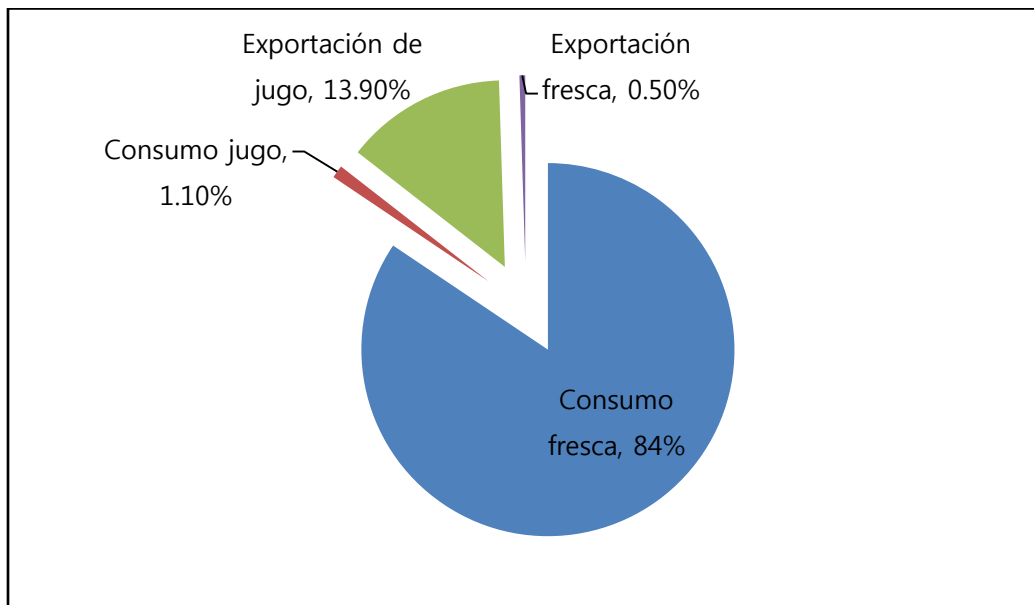


Figura 5. Consumo de la naranja en México
Fuente: Consejo citrícola mexicano (2007).

Esta producción de jugos genera muchos desperdicios que constituyen aproximadamente el 45-60 % del total de la fruta, representado un problema cada vez mayor debido a la elevada cantidad de desperdicio que es propensa al deterioro microbiológico y por lo mismo no son aprovechados (Sotomayor-Guamán, 2015).

2.1.6 Principales usos de la naranja

Dentro de la naranja se tienen diferentes usos para cada una de las partes, obteniendo tanto productos como subproductos, los cuales se describen en la Tabla 4.



Tabla 4. Productos y Subproductos de la naranja.

Producto	Descripción	Imagen
Jugo fresco	Es el jugo que se exprime e inmediatamente se consume	
Jugo concentrado	Se obtiene mediante la remoción del agua del Jugo y debe tener 50% más de °Brix que el jugo fresco.	
Jugo congelado	El jugo después de concentrarse o fresco, se pasteuriza y se conserva mediante congelación -18° C.	
Jugo envasado	Son los jugos que una vez extraídos de la fruta, llevados a pasteurización y mezclados con otros ingredientes, se envasan y distribuyen a diversos lugares.	
Jugo deshidratado	Producto que se obtiene por eliminación de la casi totalidad del agua de constitución del jugo fresco, máximo 3% de humedad.	
Subproductos		
Pectina	Hidrato de carbono purificado que se obtiene de la porción interna de la cáscara de los frutos cítricos exprimidas por extracción con ácidos diluidos. Confiere la textura.	
Aceites esenciales	Este aceite esencial se obtiene de las cáscaras de naranja por compresión en frío. En el plano alimentario, se utiliza para dar sabor a naranja en bebidas, postres y dulces.	
Pulpa de jugo		
Mermeladas	Producto pastoso obtenido por la cocción y concentración de pulpa o mezcla de pulpa y jugo, adecuadamente preparadas con edulcorantes, con la adición o no de agua y de aditivos permitidos.	
Ácido ascórbico (vitamina C)	Es un compuesto natural que se utiliza para controlar el pH, pardeamiento en las frutas, como acidulante y como estabilizante de azúcares en dulces.	
Alimento para ganado	Los productos cítricos proveen al ganado bovino una cantidad adecuada de fibra y vitaminas, y que los aceites esenciales en tales productos tienen un efecto antibiótico natural.	
Galletas	Para realizarlas se puede utilizar la cáscara o el jugo de naranja y se combina con otros ingredientes.	
Flavonoides	Son extraídos de diferentes frutas y de diferentes partes de la fruta, para agregarse a medicamentos.	

Fuente: Baraona-Cockrell y Sancho-Barrantes (2000), IQ citrus (2014), Rodríguez-Rodríguez y Román Henríquez (2004), Proceso de frutas (2008).



2.1.7 Composición Química

La dulzura que tienen las naranjas se debe principalmente a la presencia de glucosa, fructosa y sacarosa, estos pueden variar hasta un 9 %. Su acidez es debida principalmente al ácido cítrico. Su color es debido a los carotenoides y xantofilas, como la clorofila en la cáscara disminuye, los carotenoides aumentan. Además estos también funcionan como antioxidantes naturales al igual que los flavonoides (Barroto *et al.*, 1995). Los aceites esenciales representan la fracción aromática más importante del fruto aproximadamente contienen del 0.2-0.5 %, están constituidos por una mezcla compleja de compuestos principalmente alcoholes, fenoles, ácidos, aldehídos, cetonas y una alta cantidad de terpenos. La naranja tiene una concentración de grasa presente en la cáscara de 0.5-1.5 %, que pueden evitar la oxidación de los terpenos (Moreno *et al.*, 2004). Como se puede observar en la Tabla 5 las naranjas están principalmente constituidas de agua que es vital para la vida, vitamina A que ayuda con la visión, desarrollo embrionario y crecimiento entre otras funciones, ácido cítrico y potasio el cual promueve el desarrollo celular y la contracción muscular. Y aunque tiene contenido de vitamina C, no es tan considerable como en otras frutas como es la guayaba con 280mg.

Tabla 5. Composición Química de la naranja en 100g de sustancia comestible.

Componente	Cantidad	Componente	Cantidad
Agua	87.1 g	Ácido cítrico	980 mg
Proteínas	1 g	Ácido oxálico	24 mg
Lípidos	0.2 g	Sodio	0.3 mg
Carbohidratos	12.2 g	Potasio	170 mg
Calorías	49 kcal	Calcio	41 mg
Vitamina A	200 U.I.	Magnesio	10 mg
Vitamina B1	0.1 mg	Manganeso	0.02 mg
Vitamina B2	0.3 mg	Hierro	0.4 mg
Vitamina B6	0.3 mg	Cobre	0.07 mg
Ácido nicotínico	0.2 mg	Fósforo	23 mg
Ácido pantoténico	0.2 mg	Azufre	8 mg
Vitamina C	50 mg		

Fuente: Santiago-Falcon (2006).

Además con esto tienen beneficios a la salud como son (Baraona-Cockrell y Sancho-Barrantes, 2000):

- Ligero efecto laxante, ayudando a la digestión
- Las naranjas frescas son bajas en calorías y una buena fuente de fibra y potasio



- Contienen cantidades importantes de folato, una vitamina del complejo B que proporciona un efecto protector útil durante el embarazo.
- Tiene flavonoides, que son metabolitos secundarios de plantas y que poseen diversas propiedades como la actividad antialérgica y antiinflamatoria, actividad anticarcinogénica dado que mantienen la integridad celular y defienden contra la degeneración celular, también pueden ser antioxidantes debido a que ejercen un efecto protector mediante la inhibición de las reacciones de oxidación.

Como se observa en la Tabla 6 las naranjas tienen flavonoides dispersos en flavedo, albedo y cáscara. Estos flavonoides se dividen en flavanonas, flavonas y flavonas polimetoxiladas, esto debido a las modificaciones sobre su anillo pirano (C). De las cuales se tiene una mayor proporción de flavanonas, destacando la hesperidina como la que se encuentra en mayor cantidad con 1410 mg, seguida de narirutina en la cáscara.

Tabla 6. Concentración de flavonoides en flavedo, albedo y cáscara de naranja

Flavonoide	Flavedo	Albedo	Cáscara
Flavanonas (mg por 100g de peso fresco)			
Eriocitrina	8.2	3.6	5.9
Neeriocitrina	0	0	0
Narirutina	13.3	118	66.5
Naringina	0	0	0
Hesperidina	495	2300	1410
Neohesperidina	0	0	0
Poncirina	0	0	0
Neoponcirina	10.1	73	42.1
Flavonas (mg por 100g de peso fresco)			
Rutina	0	0	0
Isorroifolina	2.3	0	1.1
Roifolina	11.8	0	5.8
Diosmina	11.1	0	5.5
Neodiosmina	6	0	3
Flavonas Polimetoxiladas (mg por 100g de peso fresco)			
Sinensetina	64.6	4.5	34
Nobiletina	33.7	3.1	18.1
Heptametoxiflavona	4.1	0	2
Tangeretina	15.7	1.6	8.5

Fuente: Nogata *et al.* (2006).



Para que se tenga un aprovechamiento general de la naranja, se puede utilizar la cáscara como fuente de flavonoides. Ya que como se observa en el Tabla 6 se tiene una importante presencia de estos compuestos.

2.2 Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos vegetales no nitrogenados, polares, hidrofílicos, con bajo peso molecular y presentan una gran variedad estructural, con un esqueleto común de núcleo flavon (2-fenilbenzopirano) que contiene dos anillos bencénicos (A) y (B) combinados por un anillo pirano (C) con oxígeno como heteroátomo, donde las modificaciones sobre el anillo C generan una variedad de tipos de flavonoides como se muestra en la Figura 6. Estructuralmente, las flavanonas tienen el anillo C saturado, mientras que las flavonas presentan una insaturación en los carbonos 2–3. Por su parte, las chalconas y dihidrochalconas tienen una estructura abierta, y desaparece virtualmente el anillo C. Dependiendo de la acidez del medio, será el flavonoide que se tenga presente, en el caso de que se tenga un medio ácido se puede encontrar una Flavanona y si se tiene medio básico se encontrara una chalcona.

En los cítricos, los flavonoides más abundantes son aquellos pertenecientes a los grupos de las flavonas, flavanonas, chalconas y dihidrochalconas. Estos compuestos tienen una distribución restringida, lo cual hace que sean descritos como flavonoides minoritarios a pesar de estar presentes en concentraciones significativas en algunos alimentos de alto consumo (Londoño-Londoño *et al.*, 2012). Los flavonoides tienen más de 4000 compuestos identificados, y se dividen en dos grandes grupos que son: antocianinas y antoxantinas (Ochoa y Ayala, 2004). En la Figura 6 se pueden observar las subclases de antoxantinas, que tienen estructuras similares pero funciones diferentes. Algunos ejemplos de las subclases se muestran en la Tabla 7, así como que alimentos pueden llegar a contenerlos, que en el caso de los cítricos pueden contener flavona o flavanona.

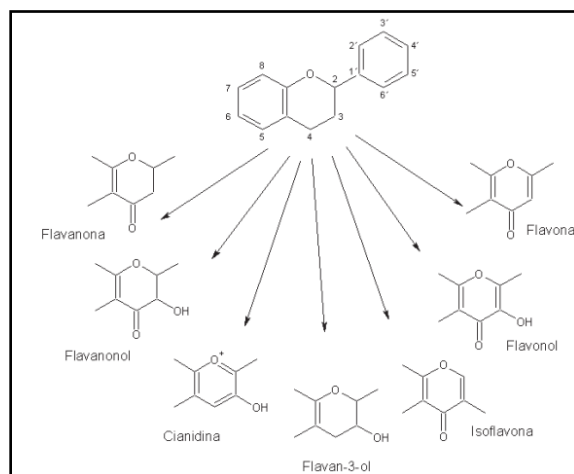


Figura 6. Clasificación de los flavonoides basado en las modificaciones estructurales en el anillo C

Fuente: Londoño-Londoño *et al.* (2012)

Tabla 7. Características de las subclases de flavonoides.

Subclase	Compuestos	Fuente
Flavona	Sinensetina, Apigenina, Diosmina y Luteolina	Hierbas, apio, pimentón, uva, naranja y limón
Flavonol	Quercetina, myricetina y kaempferol	Cebolla, vino, tomate, naranja, manzana, té y frutos rojos
Flavanona	Naringina, hesperidina e isoxanthohumol	Miel, cítricos, tomate, lúpulo y cerveza
Flavanol o Catequina	Catequina, epicatequina y galocatequina	Vino, chocolate, cocoa, té, uva, manzana y pera
Isoflavona	Genisteina, daidzeina y gliciteina	Soya y leguminosas

Fuente: Ochoa y Ayala (2004)

Los flavonoides presentan una alta estabilidad molecular, soportando bajas y altas temperaturas, hasta de 300°C. Pueden ser extraídos inicialmente con solventes orgánicos sin perder sus propiedades estructurales, y son muy estables al calor y a las reacciones de oxidación, resistiendo la mayoría de los tratamientos térmicos que se emplean en la manufactura de los alimentos enlatados (Badui, 2013).

Generalmente son incoloros y se exceptúan aquellos que tienen en su estructura algún grupo capaz de dotarles de coloración, por ejemplo el grupo nitro (-NO₂). A menudo se encuentran coloreados debido a su facilidad de oxidarse. Su oxidación depende del grado de exposición a la luz, al aire y a la presencia de impurezas metálicas (Camacho-Campos, 2009).



Los flavonoides tienen un papel importante en la calidad de algunos alimentos, debido a que les aportan diversas características como son (Escobar-Blanco, 2010):

- Causan astringencia indeseable en algunas frutas y deseable astringencia en sidras y vinos.
- En el desarrollo del color final, sabor y aroma en productos como cocoa, en donde la condensación de los productos de las catequinas juegan un papel importante.
- La formación de precipitados en jugos de manzana, cervezas y vinos se atribuye a la interacción de proteínas y polímeros fenólicos.
- El desarrollo de decoloración café debido a la oxidación de sustancias fenólicas mediante enzimas polifenolasas.
- La formación de compuestos oscuros con el hierro debido a la acción secuestrante de los fenoles dihidricos y trihidricos, lo que resulta en una apariencia indeseable en alimentos enlatados.

Debido a los aportes que tienen estos componentes se han ido estudiando cada vez más durante los últimos años y se ha estado experimentando la forma de extraerlos con mayor eficiencia, por lo que en la literatura se pueden encontrar diversos métodos.

2.2.1 Métodos de obtención de flavonoides

Existen diferentes métodos de extracción, sin embargo todos tienen en común dentro de su proceso la lixiviación, es decir, se ponen en contacto una fase sólida con una líquida, lo que permite una separación de los componentes iniciales del sólido. Algunos de los factores que pueden afectar o beneficiar la obtención de estos compuestos son: tamaño de partícula del sólido, concentración del disolvente, temperatura del medio, tiempo de contacto, número de extracciones, proporción sólido-disolvente, entre otros (Ochoa y Ayala, 2004 y Escobar-Blanco, 2010).

La materia prima puede macerarse o molerse, también como actividad previa a la extracción se puede secar o congelar. Una alternativa para lograr una mayor extracción es la adición de enzimas a la materia prima macerada, con el objetivo de destruir los componentes de la pared celular y permitir la liberación de los compuestos (Ochoa y Ayala, 2004 y Escobar-Blanco, 2010). Si se realiza extracción con agua o solventes acuosos se puede tener la presencia de otros compuestos hidrosolubles como: azúcares,



péptidos o enzimas (Marcano y Hasegawa, 2002).

Varios autores han extraído fenoles y sus grupos, como son los flavonoides por diferentes métodos, (como se muestra en la Tabla 8 y 9), debido a los aportes que tienen a la salud, como es la capacidad antioxidante, la cual se muestran algunos métodos de extracción y resultados en la Tabla 10. Todos estos datos fueron para la cáscara de naranja.

En la Tabla 8 se puede observar que las variables más empleadas son la temperatura y el tiempo de reposo. Dando mejores resultados a tiempos de reposo cortos y temperaturas medianamente elevadas. Por lo que al modificar alguna variable se ven diferencias en los resultados.

Tabla 8. Estudios realizados en la extracción de fenoles en cáscara de naranja.

Referencia	Disolvente y concentración	Condiciones	Fenoles (g/100g b.h.)
Escobar-Blanco (2010)	Etanol 80%	T: 25°C t: una semana Variedad: Agria Valencia	1.68±0.06 0.92±0.02
Aguilar-Ahumada (2015)	Etanol 96%	Cáscara fresca Cáscara seca	0.14 0.207
Khan <i>et al.</i> (2009)	Etanol: Agua 80:20	Intensidad: 25kHz Potencia: 150 W Tiempo: 30 min Temperatura: 40°C Tamaño: 2cm ²	0.26
Londoño-Londoño <i>et al.</i> (2011)	Agua 1:10	Intensidad: 60kHz Tiempo: 30 min Temperatura: 40°C. Tamaño: 0.2mm	5.87

En la Tabla 9 se observa que las variables más empleadas son la temperatura y el tipo de disolvente. Dando mejores resultados a temperaturas medianamente elevadas y con disolvente metanol, pero debido a que éste es tóxico no se puede hacer una extracción para después agregarse a un alimento. Aunque también los resultados se ven influenciados si se seca o se mantiene fresca la cáscara.



Tabla 9. Estudios realizados en la extracción de flavonoides en cáscara de naranja.

Referencia	Disolvente y concentración	Condiciones	Flavonoides (mg/100g)
Huchin-Moo <i>et al.</i> (2012)	5g de residuo 50mL metanol	Agitar, 30h, 150rpm, 25°C	240.1±30
Huchin-Moo <i>et al.</i> (2012)	5g de residuo 50mL metanol	Agitar, 30h, 150rpm, 25°C	376.2±30
Tenorio-Domínguez (2016)	Éter etílico	Soxhlet Tamaño: 0.25mm Metanol 70% Evaporación: 50°C	956.14
Tenorio-Domínguez (2016)	Metanólico	Soxhlet Tamaño: 0.25mm Metanol 70% Evaporación: 50°C	6447.09

En la Tabla 10 se puede observar que las variables más empleadas son la temperatura, el tipo de disolvente y si la cáscara está fresca o seca. Dando mejores resultados a temperaturas bajas y con disolvente etanol a diferentes concentraciones, en cuanto a la cáscara en este caso se obtienen mejores resultados si se seca, al igual que en fenoles.

Tabla 10. Estudios realizados en la capacidad antioxidante de la cáscara de naranja.

Referencia	Disolvente y concentración	Condiciones	Capacidad Antioxidante (%)
Martínez-Quiroga (2014)	Etanol 50%	T: 75°C	4
		T: 80°C	2.7
Martínez-Quiroga (2014)	Etanol 100%	T: 75°C	5
		T: 80°C	3.1
Martínez-Quiroga (2014)	Agua 100%	T: 75°C	8.7
		T: 80°C	11.8
Aguilar-Ahumada (2015)	Etanol 96%	Cáscara fresca	62
		Cáscara seca	82.89
Ahumada- Aguilar (2015)	Éter de petróleo	Cáscara fresca	32
		Cáscara seca	39
Escobar-Blanco, (2010)	Etanol 80%	T: 25°C	55.28 ± 2
		Variedad: Agria Valencia	71.39 ± 2.37



Pero solo se queda en extracción, identificación y cuantificación. No se tiene una aplicación para estos extractos aún en la industria alimentaria, por lo que en este trabajo se busca comparar dos métodos de extracción para obtener un extracto con la mayor cantidad de flavonoides y agregarlo parcialmente a una bebida.

Después de conseguir la extracción de estos componentes se ocupan en diversas industrias, como son la farmacéutica, cosmética y de alimentos. Aunque también los flavonoides tienen funciones directas en el alimento que los contiene, como son en los cítricos.

2.2.2 Aplicaciones de los flavonoides en la industria alimentaria

Los flavonoides han sido muy bien aceptados en la industria alimentaria debido a que provienen de fuentes naturales, además que actúan efectivamente como un producto sintético y ofrecen beneficios significativos a la salud. Por lo que a los consumidores les agrada más. Algunos de sus usos en la industria son (Ochoa y Ayala, 2004):

- **Antioxidante:** Para alargar la vida útil de un alimento, ya que con antocianinas se puede lograr de un 93.5 a 100 % Inhibición. Un ejemplo es carne molida con tejidos de cereza, suprime la peroxidación lipídica, inhibe la formación de aminos aromáticas heterocíclicas y la oxidación del colesterol durante la cocción.
- **Pigmentos:** Se usan como colorantes en jugos de fruta, vino y otras bebidas. Además bajan el colesterol y tienen propiedades antitrombóticas, pero son inestables a cambios de pH, calor y luz
- **Saborizantes y edulcorantes:** Pueden usarse como sustituto de la sal, además de ser saborizante es antioxidante. Las chalconas y dihidrochalconas tienen un dulzor de aproximadamente 2000 veces el de la sacarosa. Actualmente se utilizan las catequinas para endulzar por más tiempo las gomas de mascar, dulces, mieles. Estos flavonoides mejoran el sabor y la dulzura pero no son sustitutos de endulzantes y saborizantes ya que no tienen sabor y son un poco astringentes. Parece ser que su efecto consiste en hacer más sensibles los receptores de la boca a los endulzantes lo que permite bajar los niveles de los endulzantes y saborizantes empleados.

Debido a que la mayoría de la gente consume agua, el producto que se podría realizar con el extracto obtenido de la cáscara de naranja rico en flavonoides, podría ser una bebida a base de este componente y uno de los productos que tiene en su mayoría agua



son las bebidas saborizadas; pero estas bebidas solo funcionan para quitar la sed, sin tener un aporte a la salud, lo cual con el aporte que tienen los flavonoides se puede lograr.

2.3 Alimentos Funcionales

Un alimento funcional es un producto alimenticio que contiene uno o varios componentes que ejercen uno o más efectos fisiológicos, no nutricionales, que se pueden cuantificar y que haya demostrado su eficacia con beneficios a la salud (Ochoa y Ayala, 2004).

En el caso de los flavonoides se ha detectado actividad antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena, antiviral, antialérgica, protección contra enfermedades del corazón, además de propiedades antioxidante (Martínez-Valverde *et al.*, 2000). Por lo que al tener estos componentes en un alimento se tienen beneficios a la salud y aparte se le da un valor agregado.

Uno de los alimentos funcionales son las bebidas estas ofrecen beneficios para la salud y el autocuidado; pueden ser funcionales naturalmente como el té (contiene antioxidantes en forma natural) o pueden adicionarse Nutracéuticos como el Calcio de Leche, Omegas, Proteína aislada de Soya, Fibras, Prebióticos, Probióticos, L. carnitina, Polifenoles, vitaminas, minerales y otros ingredientes que le confieren beneficios específicos que pueden ser declarados en el producto. El mercado mundial de las bebidas funcionales, está liderado por U.S.A, seguido por Francia (Naranjo-Gómez, 2016).

En la elaboración de nuevos productos funcionales se requiere encontrar la mezcla óptima de ingredientes que permita generar un nuevo producto cuya formulación ofrezca características de producto funcional con alto valor nutricional y en las que se mantengan propiedades organolépticas de aroma y sabor deseables (Salamanca, 2010).

Estas bebidas sin los aportes a la salud podrían ser solo bebidas saborizada, destinadas a quitar la sed.

2.3.1 Bebida Saborizada

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011, el producto Bebidas saborizadas no alcohólicas, se define como productos elaborados por la disolución en agua para uso y consumo humano, de edulcorantes e ingredientes opcionales, adicionados o no de aditivos, que pueden estar o no carbonatadas. Incluye bebidas para deportistas.

De acuerdo con la jarra del buen beber estas bebidas están en último lugar junto con los



refrescos (Revista del consumidor, 2013). Haciendo importante que se mejore su aporte nutricional o sus ventajas a la salud.

2.3.2 Legislación

En México no se tiene una norma para bebidas funcionales, pero si para alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. La cual es:

Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994, Bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Especificaciones nutrimentales.

En nuestros tiempos se elaboran en grandes cantidades alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición por disminución, eliminación o adición de nutrimentos con la finalidad de contribuir a evitar deficiencias y prevenir excesos perjudiciales para la salud. Por lo que se hace necesario establecer las especificaciones nutrimentales a que deben sujetarse dichos productos, unificando sus denominaciones y orientando al consumidor sobre sus características.

Los límites mínimos y máximos permitidos para la adición, fortificación y enriquecimiento de alimentos y bebidas no alcohólicas serán del 5 al 100% por porción de la ingestión diaria recomendada, siempre y cuando el aporte del nutrimento en las condiciones normales o usuales de consumo, no sobrepase la ingestión diaria recomendada.

También se toma en cuenta la NOM-218-SSA1-2011, Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones sanitarias. Métodos de prueba.

La cual especifica los límites microbiológicos, establecidos en la Tabla 11.

Tabla 11. Especificaciones microbiológicas para bebidas saborizadas no alcohólicas y bebidas adicionadas con cafeína.

Microorganismos	Límite máximo
Mesófilos aerobios UFC/g o mL	50
Coliformes totales NMP/mL o g	10
Coliformes fecales NMP/mL o g	n.a.
Salmonella spp en 25 mL o g	Ausente*
E. coli NMP/g o mL	n.a.*
V. cholerae O1 en 50 g o mL	Ausente
Enterotoxina estafilocócica	Negativa*

*Solo en casos de contingencia sanitaria

Fuente: NOM-218-SSA1-2011



2.4 Evaluación Sensorial

La evaluación sensorial surge como disciplina para medir la calidad de los alimentos, conocer la opinión y mejorar la aceptación de los productos por parte del consumidor. Además la evaluación sensorial no solamente se tiene en cuenta para el mejoramiento y optimización de los productos alimenticios existentes, sino también para realizar investigaciones en la elaboración e innovación de nuevos productos, en el aseguramiento de la calidad y para su promoción y venta (marketing). (Hernández-Alarcón, 2005).

Cualquiera puede ser panelista; no es necesario que seamos súper-sensitivos. Todos tenemos sensibilidades diferentes y sufrimos de alguna incapacidad sensorial, por eso se tiene un panel de evaluación sensorial, así lo que no puede oler uno lo huele el otro.

La importancia de la evaluación en las industrias de alimentos radica principalmente en varios aspectos como: (Hernández-Alarcón, 2005):

- Control del proceso de elaboración: En la producción, se usa si hay cambio de algún componente del alimento o por que se varié la formulación; cambio de una máquina.
- Control durante la elaboración del producto alimenticio: Se realiza a cada una de las materias primas que entran al proceso. Para evitar inconvenientes que puedan alterar las características del producto en cada etapa del proceso principalmente en los Puntos Críticos de Control (PCC).
- Vigilancia del producto: Es para la estandarización, la vida útil del producto y las condiciones que se deben tener en cuenta para la comercialización de los productos cuando se realizan a distancias alejadas de la planta de procesamiento o cuando son exportados, ya que se deben mantener las características sensoriales de los productos durante todo el trayecto hasta cuando es preparado y consumido.
- Sensación experimentada por el consumidor: se basa en el grado de aceptación o rechazo del producto por parte del consumidor, ya sea comparándolo con uno del mercado (competencia), con un producto nuevo con diferentes formulaciones o simplemente con un cambio en alguno de los componentes con el fin de mejorarlo.

Existen tres tipos de análisis sensorial, que son: descriptivo, discriminativo y afectivas. Las cuales se describen en la Tabla 12.



Tabla 12. Pruebas sensoriales utilizadas para el desarrollo de nuevos productos

Tipo de prueba	Descripción	Clasificación
Análisis discriminativo	Consisten en comparar dos o más muestras de un producto alimenticio, en donde el panelista indica si se percibe la diferencia o no, además se utilizan estas pruebas para describir la diferencia y para estimar su tamaño.	Pruebas de diferenciación y pruebas de sensibilidad.
Análisis descriptivas	Se realizan los cambios necesarios en las formulaciones hasta que el producto contenga los atributos para que el tenga mayor aceptación del consumidor. Describe las propiedades sensoriales (parte cualitativa) y su medición (parte cuantitativa).	Escala de clasificación por atributos y en pruebas de análisis descriptivo.
Análisis afectivas	Son pruebas en donde el panelista expresa el nivel de agrado, aceptación y preferencia de un producto alimenticio, puede ser frente a otro. Se trabaja con evaluadores no entrenados.	Prueba de preferencia, prueba de satisfacción y prueba de aceptación

Fuente: Calí (2012) y Hernández-Alarcón (2005).



3. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL. Obtener un extracto de las cáscaras de naranja rico en compuestos flavonoides por diversos métodos de extracción, para su aplicación en una bebida saborizada funcional.

Objetivo Particular 1. Evaluar el efecto de diferentes tiempos de extracción (30,60, 90 min) y proporción de disolventes Etanol: Agua (80:20, 50:50 y 20:80) en el contenido de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante de extractos de cáscara de naranja obtenidos por el método de extracción asistida por ultrasonido (método físico) que permita seleccionar las condiciones que proporcionen el mayor rendimiento.

Objetivo Particular 2. Evaluar el efecto en diferentes pH's (4, 6 y 8) de extracción en contenido de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante de extractos de cáscara de naranja obtenidos por el método químico para seleccionar las condiciones que obtengan los mayores rendimientos.

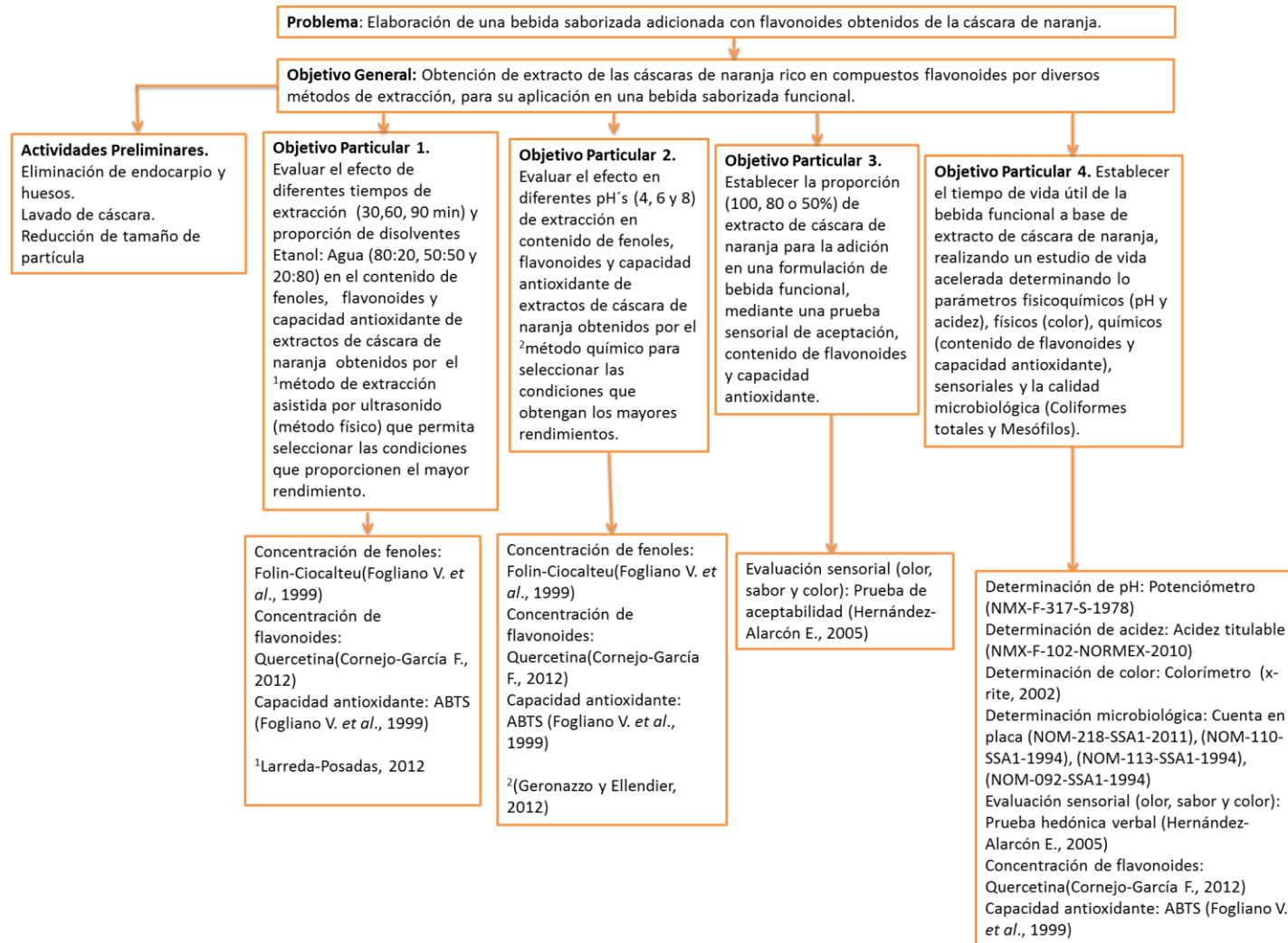
Objetivo Particular 3. Establecer la proporción (100, 80, 50 %) de extracto de cáscara de naranja para la adición en una formulación de bebida funcional, mediante una prueba sensorial de aceptación, contenido de flavonoides y capacidad antioxidante.

Objetivo Particular 4. Establecer el tiempo de vida útil de la bebida funcional a base de extracto de cáscara de naranja, realizando un estudio de vida acelerada determinando los parámetros fisicoquímicos (pH y acidez), físicos (color), químicos (contenido de flavonoides y capacidad antioxidante), sensoriales (color, sabor y olor) y la calidad microbiológica (Coliformes totales y Mesófilos).



4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Cuadro Metodológico





4.2 Material biológico

Las cáscaras de naranja empleadas para la obtención del extracto fueron adquiridas con un productor de jugo del mercado de Jamaica, se transportaron al Laboratorio de Postcosecha en bolsas de plástico a temperatura ambiente, para ser lavadas y después utilizadas.

4.3 Tratamiento de las muestras

A las muestras se les eliminaron manualmente el endocarpio y los huesos, para quedarse con la cáscara, el albedo y el flavedo, posteriormente se lavaron y almacenaron en refrigeración a 10°C para su conservación durante un tiempo máximo de tres días antes de ser utilizados para los diferentes tratamientos. Para ser usadas se molieron en licuadora, hasta obtener partículas reducidas con tamaño de 3mm aproximadamente.

4.4 Obtención de flavonoides por el método de extracción asistida por ultrasonido (EAU).

Para la extracción de flavonoides por el método físico se utilizó el ultrasonido de alta frecuencia (EAU) , para la obtención del compuesto buscado del material vegetal. Las partículas sólidas y líquidas vibran y se aceleran ante la acción ultrasónica, como resultado el soluto pasa rápidamente de la fase sólida al solvente, debido a la rotura de las paredes celulares (Larreda-Posadas, 2012). Para la extracción, se empleó como solvente etanol:agua en tres diferentes proporciones, considerando diferentes tiempos de residencia.

En la Figura 7 se muestra la metodología y las condiciones para la extracción por ultrasonido.

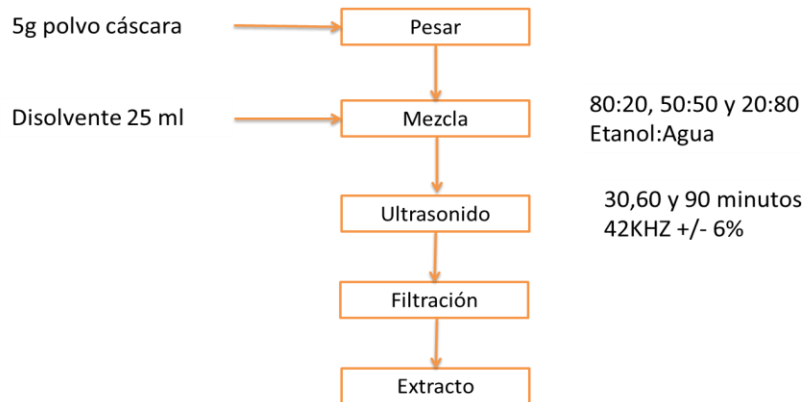


Figura 7. Metodología de extracción asistida por ultrasonido
 Fuente: Larreda-Posadas, (2012)



Una vez obtenido el extracto se determinó el rendimiento de cada condición, la concentración de flavonoides y fenoles, y la capacidad antioxidante (técnicas descritas en el apartado 4.10), y así poder determinar qué condiciones de extracción generaron los mejores resultados.

4.5 Obtención de flavonoides por el método de extracción químico

Para la extracción de flavonoides por el método químico se utilizó la técnica propuesta por Geronazzo et al. (2012) que se basa en una reacción ácido-base entre el producto a separar y el disolvente activo adecuado. Se emplea para separar mezclas de compuestos orgánicos en función de la acidez, basicidad o neutralidad de estos (Universidad Complutense de Madrid, 2014).

El procedimiento seguido se muestra en la Figura 8.

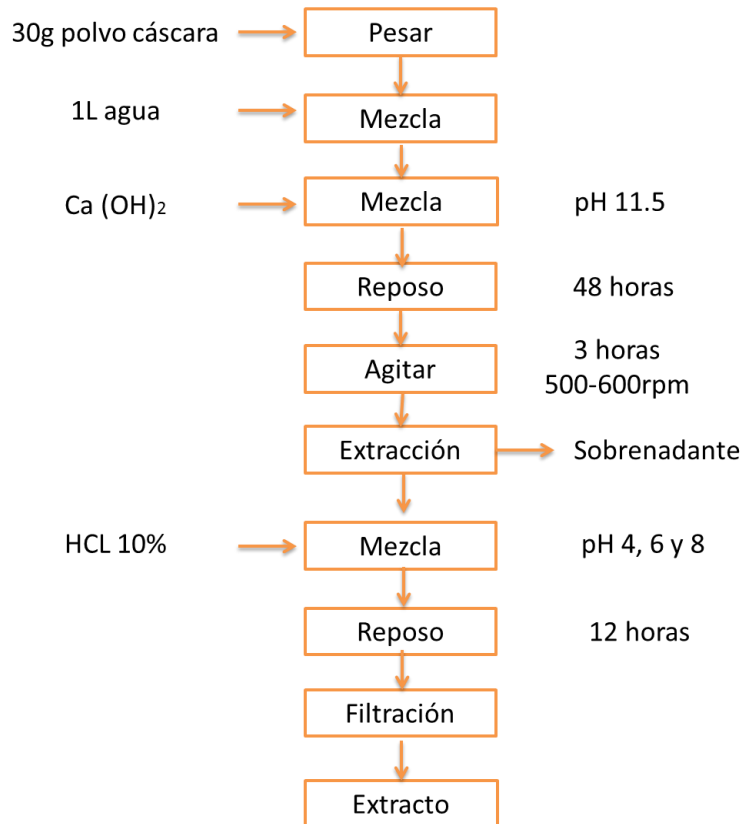


Figura 8. Metodología de extracción por método químico
Fuente: Geronazzo et al. (2012)



4.6 Formulación de una bebida funcional con extracto de la cáscara de naranja.

Después de la extracción se procedió a realizar la formulación de la bebida saborizada por lo que se tomó como base la propuesta en la Tabla 13.

Tabla 13. Formulación teórica para una bebida saborizada.

Ingredientes	Cantidad (%)
Agua	88.62
Azúcar	11
Ácido cítrico	0.15
Colorante	0.08
Citrato de potasio	0.02
Sorbato de potasio	0.02
Saborizante	0.1

Fuente: Salinas-Lobo (2002)

Posteriormente se establecieron diferentes concentraciones de extracto:agua, las cuales se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14. Formulaciones utilizadas para la realización de una bebida saborizada enriquecida con flavonoides

Formulación	1	2	3
Ingredientes	Cantidad (%)	Cantidad (%)	Cantidad (%)
Agua	44.23	70.89	17.72
Extracto	44.23	17.72	70.89
Azúcar	11.00	11.00	11.00
Ácido cítrico	0.15	0.15	0.15
Colorante	0.09	0.09	0.09
Citrato de potasio	0.04	0.04	0.04
Saborizante	0.25	0.25	0.25

El proceso que se llevó a cabo para la elaboración de la bebida saborizada enriquecida con flavonoides, es el que se muestra en la Figura 9.

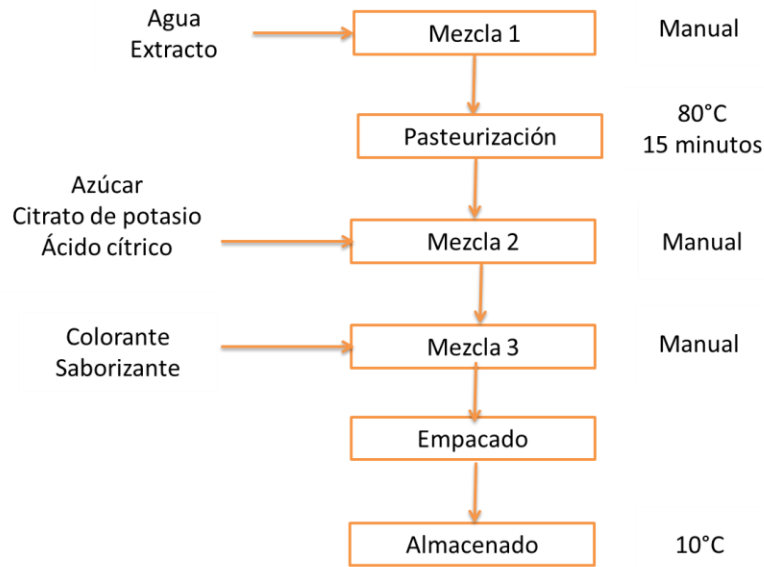


Figura 9. Diagrama de proceso para la elaboración de una bebida saborizada enriquecida con flavonoides.

4.7 Prueba de preferencia pareada

En esta prueba se le presenta al panelista dos o tres muestras codificadas y se le pide que elija cuál de las dos muestras prefiere y para que sea más representativa se le puede pedir que exponga sus razones sobre la decisión tomada. Para este tipo de pruebas se requiere de por lo menos cincuenta panelistas. Esta prueba se utiliza normalmente para desarrollo de productos, reformulación de un producto, monitorización de la competencia, control de calidad y relación proceso/ formulación/ análisis sensorial (Hernández-Alarcón, 2005; Liria-Domínguez, 2007).

NOMBRE: _____ FECHA: _____ NOMBRE DEL PRODUCTO: _____ Frente a usted se encuentran tres muestras diferentes de _____, indique con una X cual es la de su preferencia. 1814 _____ 5055 _____ 7593 _____ ¿Por qué? _____ _____

Figura 10. Formato de realización de prueba de preferencia pareada
Fuente: Hernández- Alarcón (2005)



Los resultados recabados se pueden plasmar de forma numérica o porcentual, dependiendo cual sea el gusto preferente de los panelistas.

4.8 Escala Hedónica Verbal.

Consiste en pedirle a los panelistas que den su informe sobre el grado de satisfacción que tienen de un producto, la escala verbal va desde me gusta muchísimo hasta me disgusta muchísimo, entonces las escalas deben ser impares con un punto intermedio de ni me gusta ni me disgusta (Hernández-Alarcón, 2005).

NOMBRE: _____		FECHA: _____	
NOMBRE DEL PRODUCTO: _____			
Frente a usted se encuentran tres muestras de _____, que usted deberá calificar tomando el número 1 como me disgusta mucho, 2 me disgusta, 3 me es indiferente, 4 me gusta y 5 me gusta mucho.			
PARÁMETROS	MUESTRAS		
	1814	5055	7593
Olor			
Color			
Sabor			
COMENTARIOS: _____			

Figura 11. Formato de realización de escala hedónica verbal
Fuente: Hernández- Alarcón (2005)

4.9 Evaluación del tiempo de vida de anaquel de la bebida saborizada

Después de establecer las formulaciones para la bebida, de acuerdo a la evaluación y aceptación sensorial; se llevó acabo el estudio de la vida de anaquel, en donde se prepararon 36 frascos de bebida y se midieron los parámetros que pueden afectar la calidad del producto los cuales son:

De acuerdo a la NOM-218-SSA1-2011, se determinó la calidad microbiológica (Cuenta de Mesófilos totales y Coliformes totales), parámetros fisicoquímicos (pH y acidez), parámetros físicos (color), parámetros químicos (contenido de flavonoides y capacidad antioxidante), propiedades sensoriales (color, sabor y olor) de acuerdo a las técnicas descritas en el apartado 4.10.

Se desarrolló un diseño de vida acelerada, utilizando temperaturas de almacenamiento de 20 y 30°C manteniendo el control a 10°C. El tiempo de duración del experimento fue de un mes y los tiempos de muestreo se realizaron cada 7 días.



Esto debido a que la variable que más afecta la velocidad de las reacciones de deterioro es la temperatura; los métodos que aceleran el deterioro por efecto de ésta se basan en la ley de Arrhenius; la ecuación que se tiene para calcular el efecto de la temperatura sobre la vida de anaquel es:

$$t_s = t_0 * e^{\frac{-Ea}{R} [\frac{1}{T_0} - \frac{1}{T_s}]} \quad \text{Ec 1}$$

Dónde: t_s es el tiempo de vida de anaquel a la temperatura T_s , t_0 es el tiempo a la temperatura T_0 , R es la constante de los gases ideales y Ea es la energía de activación para la reacción de deterioro (Cardona-Chica y Saldarriaga-Osorio 2003).

Para la obtención de la Ea es necesario graficar el logaritmo natural de las variables químicas, sensoriales, fisicoquímicas y físicas a evaluar contra la temperatura o su inverso; así se conoce el efecto que tiene la temperatura sobre la calidad del alimento.

4.10 Técnicas analíticas

4.10.1 Determinación de fenoles

Los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu (SIGMA-ALDRICH), a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente, lo cual se realizó en un espectrofotómetro marca VELAB modelo VE-5600UV a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que medimos para evaluar el contenido en polifenoles (García- Martínez *et al.*, 2016). En cuanto más contenido de fenoles tenga una sustancia, los químicos harán que el color azul tenga una mayor intensidad, como se muestra en la Figura 12. Donde la curva patrón tiene diferentes concentraciones de ácido gálico, provocando las diferentes tonalidades de azul. Por esto los resultados se reportan en g o mg AG/ 100g b.h.

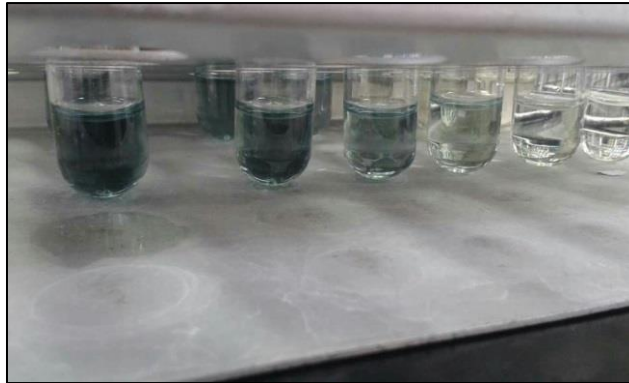


Figura 12. Curva patrón de empleada para la cuantificación de fenoles totales

4.10.2 Determinación de flavonoides

La quercetina, es un citroflavonoide que confiere una coloración amarillo-verdoso, dentro de este grupo se encuentran el kaempferol y mirecitrina. En este método el contenido total de flavonoides (CFT) de los extractos es establecido por este método espectrofotométrico (García-Nava, 2007).

En la cuantificación de flavonoides, el color amarillo se hace predominante en la sustancia si se tiene un contenido grande en este componente, como se puede observar en la Figura 13. Donde en la curva patrón se agrega Quercetina y conforme se va disminuyendo la concentración de esta el color amarillo va desapareciendo.

Los resultados de esta experimentación se reportaron en g o mg Quercetina/ g b.h. o como porcentaje.



Figura 13. Evaluación del contenido de flavonoides



4.10.3 Determinación de capacidad antioxidante.

La capacidad antioxidante se determina como capacidad antioxidante equivalente al TROLOX, que se basa en la decoloración del radical catiónico $ABTS^+$ como resultado de la transferencia de un átomo de hidrógeno en un compuesto antioxidante (Kuskoski-Marta *et al.*, 2005).

La determinación del potencial antioxidante de los extractos se realizó con ayuda de una curva patrón en donde se empleó el reactivo 6-Hidroxi- 2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico (TROLOX) como estándar en concentraciones de 60 a 300 μ M, calculando con ello el potencial inhibitorio de los extractos de naranja como se muestra en la Figura 14. Los resultados se expresaron en % de Inhibición o como mmoles equivalentes de Trolox.



Figura 14. Determinación de capacidad antioxidante

4.10.4 Determinación de acidez por acidez titulable

El método se basa en una titulación con una solución valorada de hidróxido de sodio en presencia de fenoftaleína como indicador (NMX-F-102-NORMEX-2010). La acidez se determinó por el método de titulación, usando fenoftaleína como indicador, en la Figura 15 se observa el proceso de titulación que se llevó a cabo, los resultados se expresan con los mg del ácido predominante sobre 100 g de la muestra.



Figura 15. Evaluación de acidez

4.10.5 Determinación de pH por potenciómetro.

El método se basa en la medición electrométrica de la actividad de los iones hidrógeno presentes en una muestra del producto mediante un aparato medidor de pH (potenciómetro) (NMX-F-317-S-1978).

La medición del pH se realizó con el potenciómetro HANNA modelo COMBO HI98129, el cual primero se calibra con buffer a pH 4 y 7, para posteriormente hacer las lecturas de las muestras, considerando entre cada acción enjuagar el electrodo.



Figura 16. Determinación de pH

El valor del pH de la muestra se lee directamente en la escala del potenciómetro como se observa en la Figura 16. La diferencia máxima permisible en el resultado de pruebas efectuadas por duplicado, no debe exceder de 0.1 unidades de pH, en caso contrario se debe repetir la determinación.



4.10.6 Determinación de color por colorímetro.

El color de las muestras se determinó con ayuda de un colorímetro Minolta Modelo CR300, el cual es un instrumento diseñado para dirigir un haz de luz paralela monocromática a través de una muestra y medir la intensidad del haz luminoso emergente. La fracción de luz incidente absorbida por la muestra a una longitud de onda está relacionada con el paso óptico y con la concentración de la especie absorbente (X-rite, 2002).

Para la determinación de color se colocó el colorímetro en la superficie del objeto al cual se le determinó éste parámetro, como se muestra en la Figura 17. Una vez realizada la medición, se obtendrán las coordenadas L, a y b con las cuales se calculó, luminosidad, tonalidad y croma, con la ecuaciones 2 y 3.



Figura 17. Determinación de color

La tonalidad del ángulo Hue ($^{\circ}$ Hue) se calcula con los valores a y b

$$H = \arctan(b/a) \quad \text{Ec 2}$$

En caso de que a sea negativa y b positiva se calcula de la siguiente forma:

$$H = 180 + \arctan(b^*/a^*) \quad \text{Ec 3}$$

El croma que indica la intensidad o saturación de color, se calcula mediante la ecuación:

$$C = (a^2 + b^2)^{1/2} \quad \text{Ec 4}$$

Con base a estos atributos del color se derivan varios indicadores que ayudan a conocer el deterioro o cambio de color en un material en particular teniendo como restricción las características del mismo y los procesos a los que se le han sometido. Para conocer el cambio total de diferencial de color o ΔE y se utilizó la siguiente ecuación:

$$\Delta E = ((\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2)^{1/2} \quad \text{Ec 5}$$

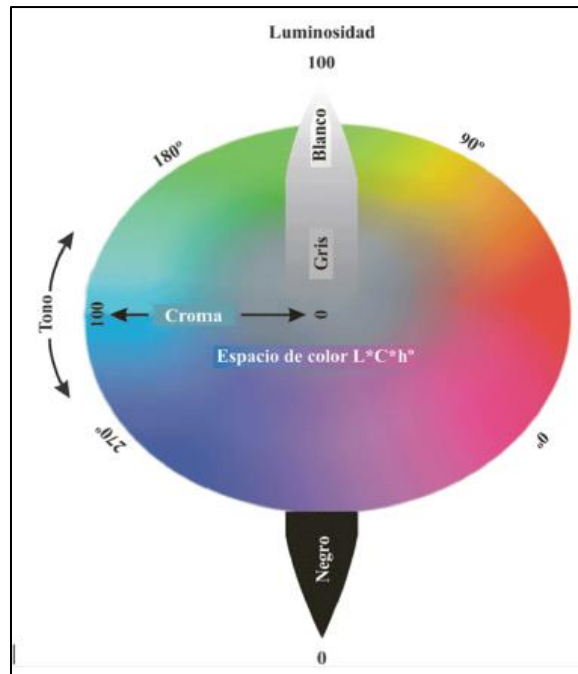


Figura 18. Representación del espacio cromático cilíndrico CIE-L*C*h°
Fuente: Padrón- Pereira *et al.* (2012)

4.10.7 Parámetros microbiológicos

Preparación de muestra: El método se basa en la preparación de diluciones primarias, para obtener una distribución lo más uniforme posible de los microorganismos presentes en la porción de muestra. (NOM-110-SSA1-1994).

En la Figura 19 se observa cómo se deben llevar a cabo las disoluciones de la muestra, especificando las cantidades de muestra y agua que se deben mezclar, así como la concentración a la que se tiene. Posteriormente 100µL de esta sustancia serán vertidos en las cajas de cultivo.

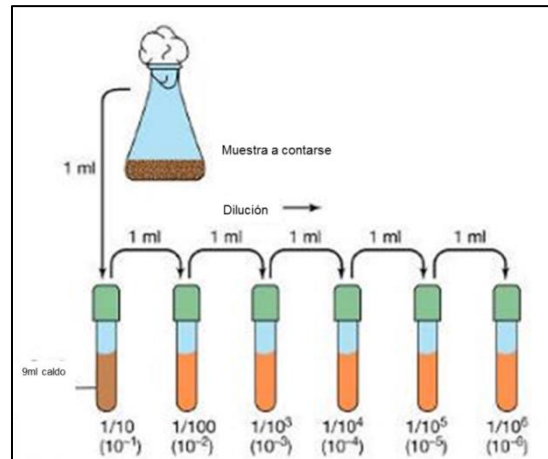


Figura 19. Preparación de muestras para cultivo

Cuenta de Coliformes: El método permite determinar el número de microorganismos Coliformes presentes en una muestra, utilizando un medio selectivo (agar rojo violeta bilis) en el que se desarrollan bacterias a 35°C en aproximadamente 24 h, dando como resultado la producción de gas y ácidos orgánicos, los cuales viran el indicador de pH y precipitan las sales biliares (NOM-113-SSA1-1994).

De acuerdo a la NOM-218-SSA1-2011, en la bebida no es admisible la presencia de Coliformes.

Cuenta de Mesófilos: Consiste en contar las colonias, que se desarrollan en el medio de elección después de un cierto tiempo y temperatura de incubación, presuponiendo que cada colonia proviene de un microorganismo de la muestra bajo estudio. El método admite numerosas fuentes de variación, algunas de ellas controlables, pero sujetas a la influencia de varios factores (NOM-092-SSA1-1994). La temperatura con la que se incubó fue 35°C a 48 h, que son las condiciones requeridas para estos microorganismos.

De acuerdo a la NOM-218-SSA1-2011, en la bebida se permite la presencia de Mesófilos con un máximo de 50UFC/mL.

Para reportar los resultados se utilizan Unidades formadoras de colonias, __UFC/g o ml, de bacterias aerobias en placa en agar triptona extracto de levadura o agar para cuenta estándar, incubadas _____ horas a _____°C.

Pero si se tienen más de 300UFC se reportan como incontables.



4.11 Tratamientos estadísticos.

Los resultados obtenidos se analizaron con un paquete estadístico IBM SPSS Statistics versión 20, donde se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias mediante pruebas de rango múltiple (Tukey y Duncan) aplicando un nivel de significancia del $p \leq 0.05\%$, para determinar si existe diferencia significativa entre los tratamientos de estudio.



5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Método físico, extracción asistida por ultrasonido

La obtención de un extracto rico en flavonoides provenientes de la cáscara de naranja se realizó con extracción asistida por ultrasonido. Para establecer las mejores condiciones de extracción se determinó el rendimiento.

En la Figura 20 se puede observar que en el rendimiento obtenido de los extractos a los diferentes tiempos de extracción por ultrasonido presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) observándose que a los 90 minutos el rendimiento fue aproximadamente 30 % menor, mientras que entre los tiempos de 30 y 60 minutos los rendimientos fueron más altos aproximadamente del 80 %, lo que indicó que para tener un buen aprovechamiento de las cáscaras se requieren tiempos cortos de extracción.

En cuanto a la eficiencia de la extracción relacionada con la proporción del disolvente se observó que con la mezcla etanol-agua 20:80 se obtuvo un rendimiento 30 % menor a las demás mezclas de solvente, mientras que con proporciones 80:20 se registró un mayor rendimiento cercano al 80 %. Por lo que la mezcla etanol-agua que se empleó para las posteriores extracciones fue 80:20 por 30 minutos en un baño de ultrasonido.

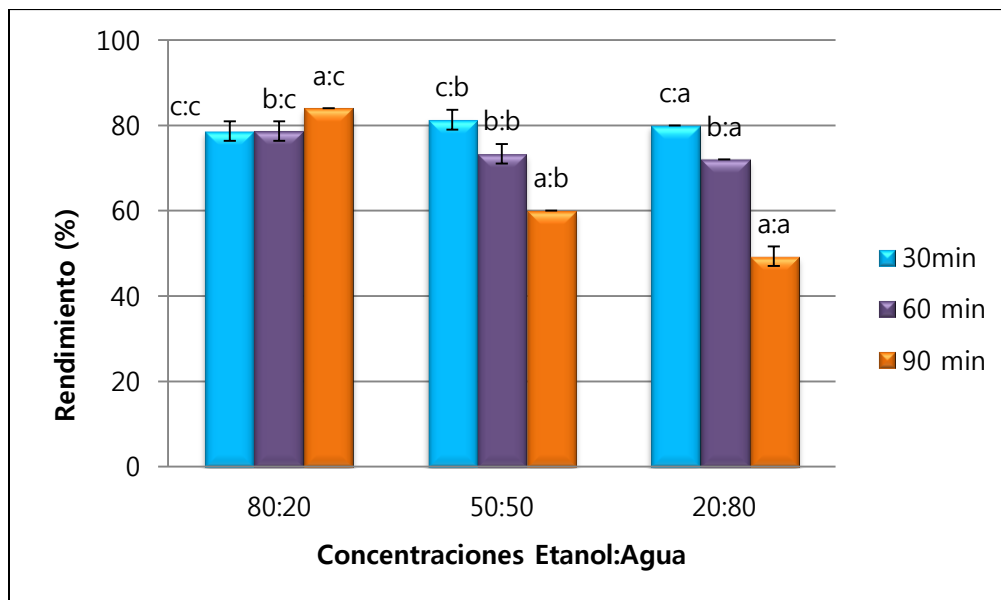


Figura 20. Rendimiento de cada extracto de naranja obtenido con diferentes condiciones tiempo y concentración Etanol: Agua en una extracción asistida por ultrasonido. Las letras diferentes en cada barra indican si existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$), siendo la primera letra con respecto al tiempo de extracción y la segunda letra con respecto a las proporciones del disolvente.



Aguilar-Ahumada (2015) menciona que se obtiene mayor rendimiento con mayor cantidad de etanol, teniendo resultados de 76% con etanol al 96% y de 50% con etanol al 75%. Lo que coincide con los trabajos de Guntero *et al.* (2015) quienes mencionan que a mayor proporción de etanol se obtiene más extracto, esto puede ser debido a que el etanol es una sustancia que aumenta la solubilidad del material orgánico con menor polaridad, los tiempos para obtener mayor extracto van de 30 a 40 minutos. Lo cual se ve confirmado con lo obtenido en este estudio, puesto que a mayor concentración en la mezcla de solvente mayor rendimiento del extracto.

Otros factores que se consideran en trabajos reportados es la temperatura y el tamaño de partícula, normalmente a una temperatura de 40°C se obtiene más extracto; sin embargo no se observó efecto por el tamaño de partícula (Escobar-Blanco, 2010).

Para el proyecto fue importante conocer la cantidad de fenoles contenidos en el extracto obtenido de la cáscara de naranja, debido a que estos componentes son los que nos permitirán saber si hay una parte de flavonoides y a su vez nos darán parte del aporte funcional a la bebida.

En la Figura 21 se observa que conforme a la concentración de fenoles el resultado mayoritario se tiene en 60 minutos, teniendo una diferencia de 3% con 30 minutos y 11.8% en un tiempo de 90 minutos, por lo que a 90 minutos de extracción fue la condición que proporcionó menor contenido de estos compuestos. Esto se debe a que con mayor tiempo de exposición las paredes celulares se ven afectadas, provocando posiblemente un menor contenido de estos compuestos.

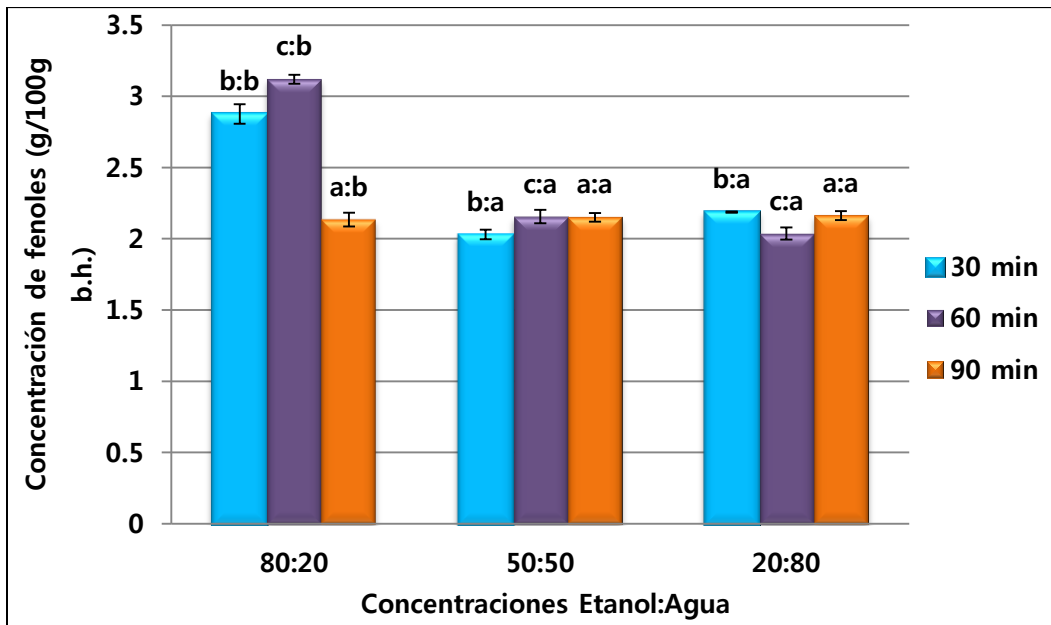


Figura 21. Concentración de fenoles totales de cada extracto de naranja obtenido con diferentes condiciones de tiempo y concentraciones Etanol: Agua en una extracción asistida por ultrasonido. Las letras diferentes en cada barra indican si existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$), siendo la primera letra con respecto al tiempo de extracción y la segunda letra con respecto a las proporciones del disolvente.

En cuanto a las proporciones de disolvente se registró que a 50:50 y 20:80 no presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el contenido de fenoles. En cambio con concentraciones 80:20 y tiempo 60 minutos se obtuvo mayor contenido, teniendo una diferencia de 7.83 % con 30 minutos y 31.58 % con 90 minutos. Esto se debe a que en las disoluciones etanol: agua se tienen diferentes polaridades, el agua y el etanol son solventes polares en los que son solubles diferentes solutos polares e iónicos, como proteínas, carbohidratos y sales minerales.

Las condiciones con el mayor contenido de fenoles fueron con un tiempo de 60 minutos y concentración etanol: agua 80:20, dando un resultado de 3.11g/100g b.h. De acuerdo a lo reportado por Escobar-Blanco (2010) el resultado de este estudio fue mayor, ya que este autor reporta 1.68 ± 0.06 g/100g b.h., por otra parte los autores Khan *et al.* (2009) reportan 0.26 g/100g b.h., estos resultados a las mismas concentraciones de etanol pero diferente método de extracción y condiciones, como tiempo y temperatura.

La solubilidad en agua y alcohol de los compuestos fenólicos, generalmente es mayor para los compuestos difenoles y polifenoles (Muñoz *et al.*, 2015), indicando que este tipo de compuestos pueden estar presentes en el extracto de cáscara de naranja. Entonces los flavonoides se caracterizan por ser compuestos polifenólicos y solubles en agua, por



ende podrían estar presentes. Aunque se debe considerar que también se encuentran otros compuestos fenólicos, por lo que para asegurar que se tenga la presencia de flavonoides se cuantificaron también.

De acuerdo a lo observado en la Figura 22 se observa que la extracción a 30 y 90 minutos los extractos no presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el contenido de flavonoides, observándose que los extractos obtenidos con un tiempo de 60 min presentaron menor concentración de los compuestos, siendo alrededor del 8 % menor comparado con las otras dos condiciones. Conforme a las proporciones de disolvente se obtuvo que el mayor contenido de flavonoides fue con una mezcla de 80:20, teniendo una diferencia de 0.75 % con la concentración 20:80 y de 15.74 % con 50:50. Con un tiempo de 30 minutos y concentración 80:20 se obtuvo una concentración de 149.96mg/100g.

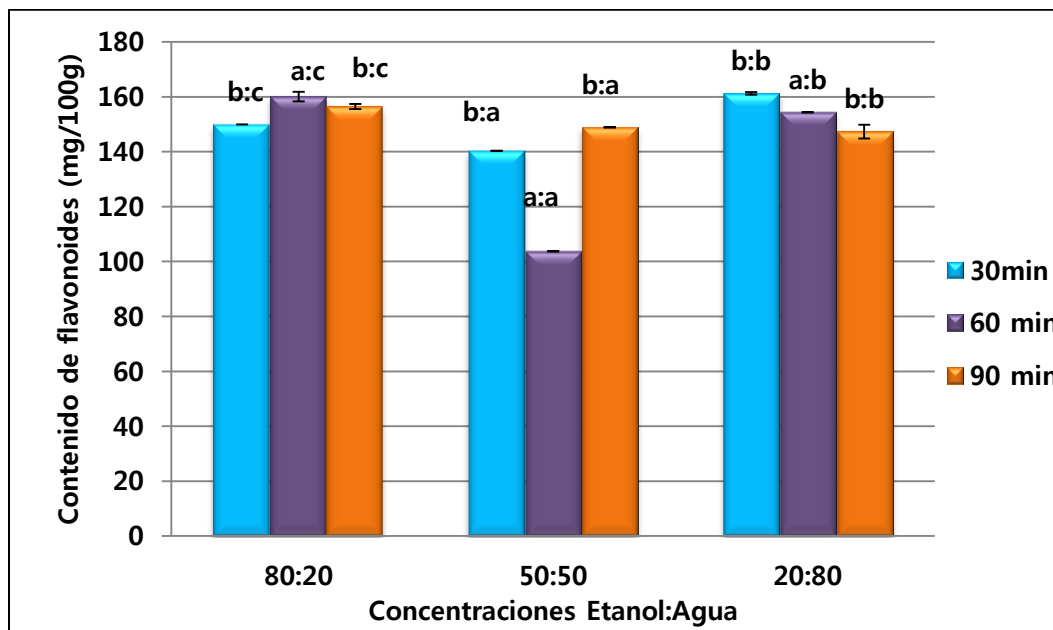


Figura 22 Contenido de Flavonoides de cada extracto de naranja obtenido en diferentes condiciones de tiempo y concentraciones Etanol: Agua en una extracción asistida por ultrasonido. Las letras diferentes en cada barra indican si existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$), siendo la primera letra con respecto al tiempo de extracción y la segunda letra con respecto a las proporciones del disolvente.



Huchin-Moo *et al.*, (2012) reportó que por extracción con 5g de residuo, 50mL de metanol, 25°C, con reposo de 30 horas y 150 rpm se tiene resultado de 240.1mg/100g, por lo que comparando con los resultados obtenidos en experimentación se concluye que fueron 37.45% más bajos, esto puede ser debido a la que la polaridad del metanol es mayor pero debido a que no es para consumo humano, no se puede utilizar este solvente para la extracción.

Además se puede observar que comparando el contenido de flavonoides con el de fenoles totales, los resultados disminuyen, comprobando que puede haber presencia de otros compuestos fenólicos en el extracto.

Los compuestos fenólicos, en especial los flavonoides tienen la funcionalidad de actuar como compuestos antioxidantes, entre otros beneficios a la salud. Actualmente se ha dado un auge al uso o consumo de productos que tengan esta propiedad ya que varios estudios mencionan que la dicha propiedad puede ayudar a disminuir o prevenir ciertos padecimientos crónicos degenerativos, por lo cual otro parámetro a evaluar fue la actividad antioxidante de los extractos de naranja obtenidos.

En la Figura 23 se observa que con respecto al tiempo de extracción la capacidad antioxidante fue mayor a 90 minutos, teniendo una diferencia de 21.63 % con 30 minutos y 5.7 % con 60 minutos, siendo por lo tanto a 30 minutos la capacidad de antioxidantes más baja. Con respecto a las concentraciones se observó que con la concentración 80:20 se tiene la mayor capacidad antioxidante, por lo que este dato se comparó con las concentraciones 50:50 y 20:80 teniendo una diferencia de 55.54 % y 16.21 % respectivamente. Entonces se establecen las condiciones de 90 minutos y concentración de 80:20, teniendo un 26.09 % de inhibición.

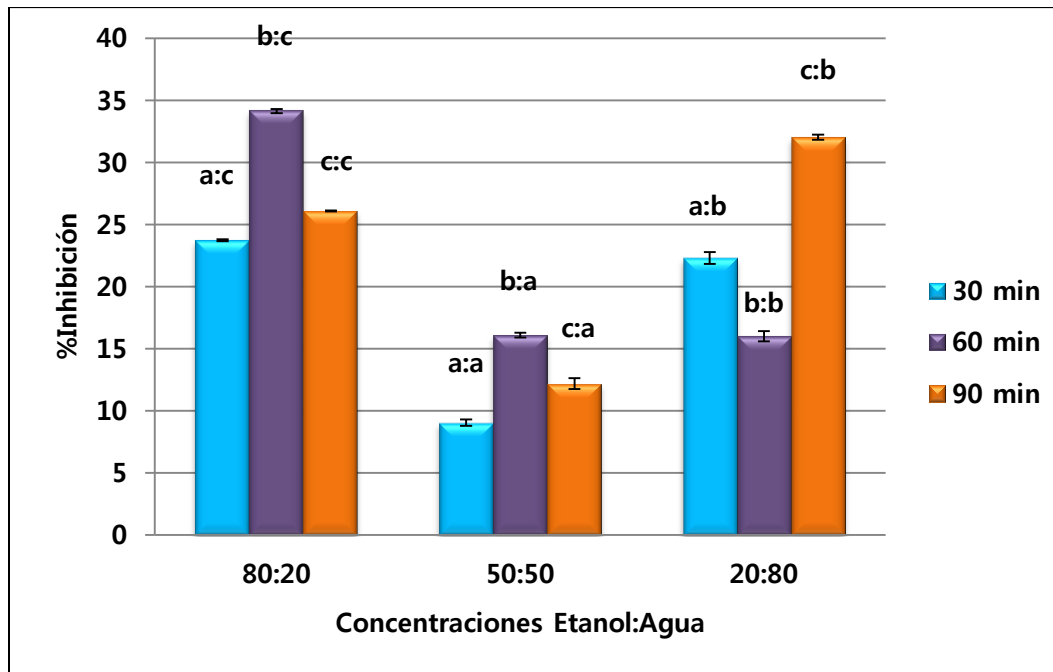


Figura 23 Porcentaje de inhibición de cada extracto de naranja obtenido en diferentes condiciones de tiempo y concentraciones Etanol: Agua en la extracción asistida por ultrasonido. Las letras diferentes en cada barra indican si existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$), siendo la primera letra con respecto al tiempo de extracción y la segunda letra con respecto a las proporciones del disolvente.

Escobar-Blanco (2010) reporta que la extracción con etanol al 80% se tiene resultado de 55.28 % de inhibición, que comparándolo con el dato obtenido experimentalmente esta 29.19 % por debajo, pero Martínez-Quiroga, (2014) reporta que con etanol al 50% y temperatura de 75°C se tiene 4% de inhibición, estos resultados junto con los encontrados en la Tabla 10 indican que dependiendo el disolvente que se utilice, la temperatura y el tratamiento previo a la extracción que se le dé a la materia prima, entre otros factores, provocaran que los resultados de %inhibición en el extracto tengan diferencia, esto puede ser debido a que se modifiquen las estructuras de los compuestos causando que ya no tengan actividad antioxidante.

La propiedad antioxidante de algunos flavonoides es determinada por la estructura o-dihidroxi en el anillo B, el 2,3 doble enlace en conjunción con la función 4-oxo y la presencia de ambos grupos hidroxilados en posición 3 y 5, además también depende de la interacción que exista entre ellos, esto puede provocar sinergismo o antagonismo.

El contenido fenólico no necesariamente está en su totalidad relacionado con la actividad antioxidante, debido a que los compuestos fenólicos tienen diferente capacidad



antioxidante unos de otros, además que la actividad antioxidante la pueden dar otros factores como son los compuestos fitoquímicos, que en la cáscara de naranja se encuentran alrededor de 170, como son los terpenos, un ejemplo son los carotenoides y la lignina, además de la vitamina C. Provocando que los resultados de contenido de fenoles o flavonoides y capacidad antioxidante no sean directamente proporcionales (Bocco *et al.*, 1998).

De acuerdo a los resultados se concluye que en cuanto a los tiempos se tiene una variación debido a que para cada factor se tiene tiempo diferente, pero lo que interesa en el proyecto es que el extracto contenga flavonoides, debido a que estos compuestos dan diferentes beneficios a la salud, entre los que se encuentra la capacidad antioxidante. Por lo que el tiempo que se selecciono fue de 30 minutos y la proporción de disolvente fue 80:20.

5.2 Método Químico

La extracción por el método químico para obtener extracto rico en flavonoides provenientes de la cáscara de naranja, se realizó cambiando el pH de extracción primero a pH 11 y luego a ácido con pH 4, 6 y 8. A los extractos obtenidos se les determinó el contenido de fenoles, entre otros parámetros, para establecer las mejores condiciones de extracción.

Conforme a la concentración de fenoles en la extracción por método químico, se observa en la Figura 24 que a pH 4 se tiene un mayor contenido de estos compuestos teniendo diferencia de 7.42 % con respecto a pH 6 y 28.79 % con pH 8, por lo que se determina que con pH 8 se tiene el resultado más bajo. Entonces el pH seleccionado es pH 4, el cual tiene como resultado 8.14g/100g b.h.

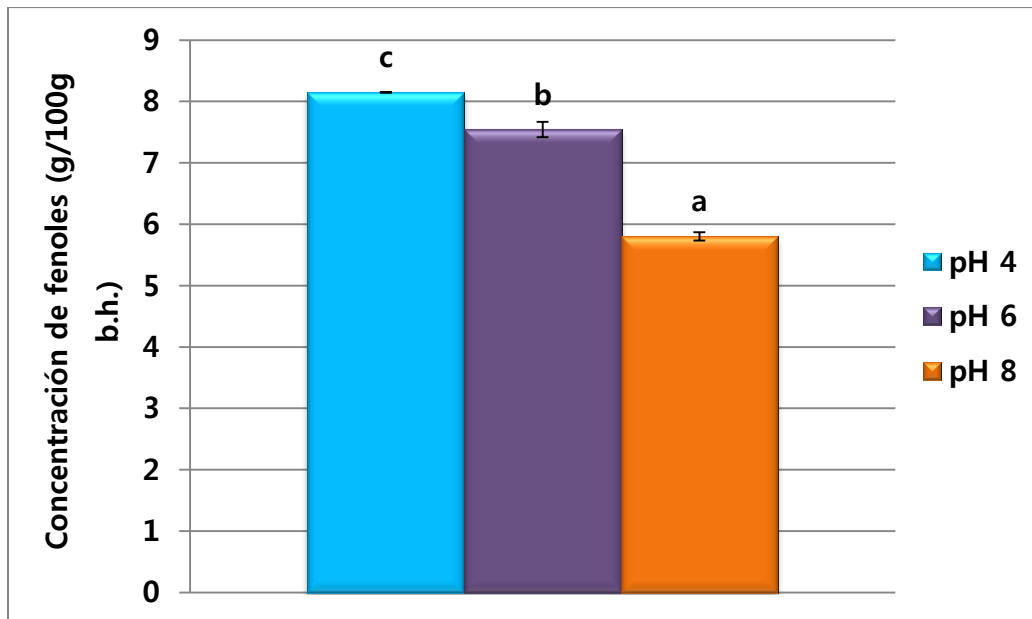


Figura 24 Concentración de fenoles de cada extracto a diferentes pH. Las letras diferentes en cada barra indican si existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Londoño-Londoño *et al.* (2011), reportan 5.87g/100g b.h. con las condiciones de extracción siguientes: Agua 1:10, Intensidad: 60 kHz, tiempo: 30 min, temperatura: 40°C y tamaño de materia prima: 0.2mm. Por lo que el dato obtenido experimentalmente esta 27.88% por arriba de lo reportado en la literatura, esto puede ser debido a la diferencia en el método de extracción utilizado ya que en el presente trabajo se manejaron diferentes pH's 4,6 y 8 y tiempo de reposo de 48 horas, debido a que en primera instancia la mezcla de cáscara de naranja con agua se lleva un pH básico crece la relación fenóxido-fenol, esto a pH 11, en donde aproximadamente el 99.9 % es fenóxido, éste a su vez forma puentes de hidrógeno que son los responsables de la solubilidad en agua, teniendo la solución por mayor tiempo con pH básico provoca que exista más transferencia de fenoles a la parte acuosa, y una vez que se encuentran en esta se regresa a su acidez.

Se tienen diferentes componentes fenólicos, pero el objetivo de este trabajo son los flavonoides y sus beneficios a la salud, como antiinflamatorio, anti cancerígeno, capacidad antioxidante, entre otras, por lo que se realizó la determinación de este último parámetro.

En la Figura 25 se observa que el contenido de flavonoides en los extractos de naranja obtenidos con pH de 6 y pH 8 no presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$), sin embargo el extracto obtenido a pH 4 presento mayor concentración de estos compuestos



siendo aproximadamente 4% mayor en comparación a los extractos obtenidos con las otras dos condiciones.

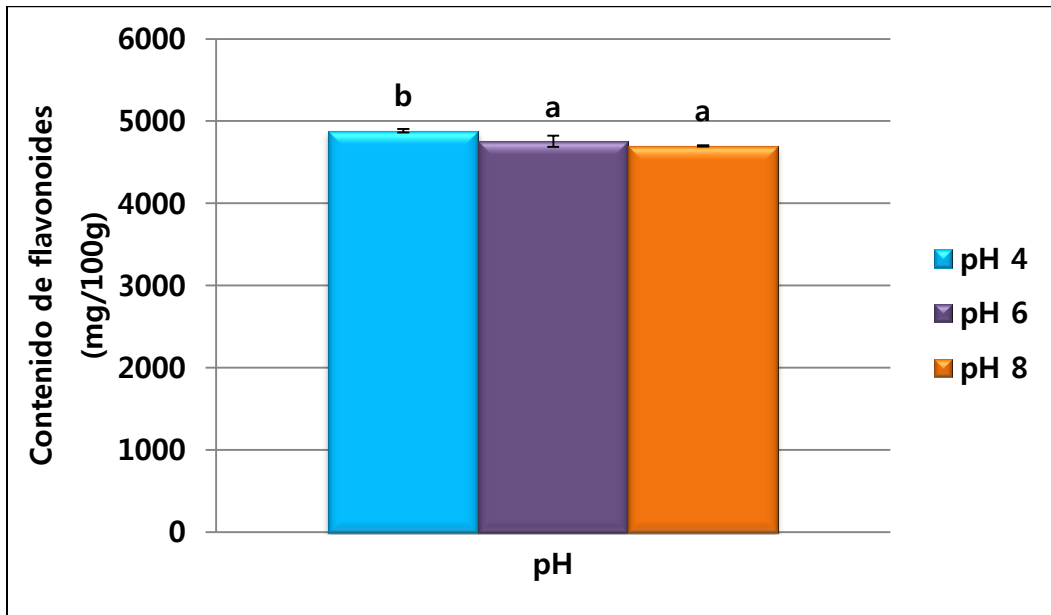


Figura 25 Contenido de flavonoides de cada extracto a diferentes pH. Las letras diferentes en cada barra indican si existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$)

Tenorio-Domínguez (2016) reportó con condiciones Soxhlet, tamaño: 0.25mm, Metanol 70%, evaporación: 50°C un resultado de 6447.09 mg/100g, por lo cual el resultado experimental fue 24.26 % más bajo, pero por otro lado reportó con las mismas condiciones solo cambiando el disolvente por éter etílico 956.14 mg/100g y con éste se tiene que el resultado experimental es 80.41 % mayor, lo que denota que los resultados pueden variar dependiendo el método de extracción y los disolventes utilizados.

Ya que durante este proceso un anillo de la flavonona se abre pasando a chalcona soluble para luego reconstruirse al acidificar la solución, haciendo posible que más flavonoides puedan ser extraídos.

Debido a que estos compuestos dan la capacidad antioxidante al extracto, ésta será medida, aunque se debe considerar que no son los únicos compuestos presentes que contribuyen a esta característica que tiene el extracto, también están presentes otros compuestos Fitoquímicos, por lo que los resultados entre flavonoides y la capacidad antioxidante pueden no ser directamente proporcionales.



En cuanto a la actividad antioxidante se observa en la Figura 26 que los extractos obtenidos a pH de 6 presentaron mayor porcentaje de inhibición del radical alrededor de 45.25 % siendo 23.71 % mayor en comparación con los extractos a pH 4 y 8.27 % con los extractos a pH 8. Comparando los datos obtenidos en fenoles y flavonoides podemos decir que dentro de los extractos hay más compuestos disueltos que también tienen la propiedad de ser antioxidantes.

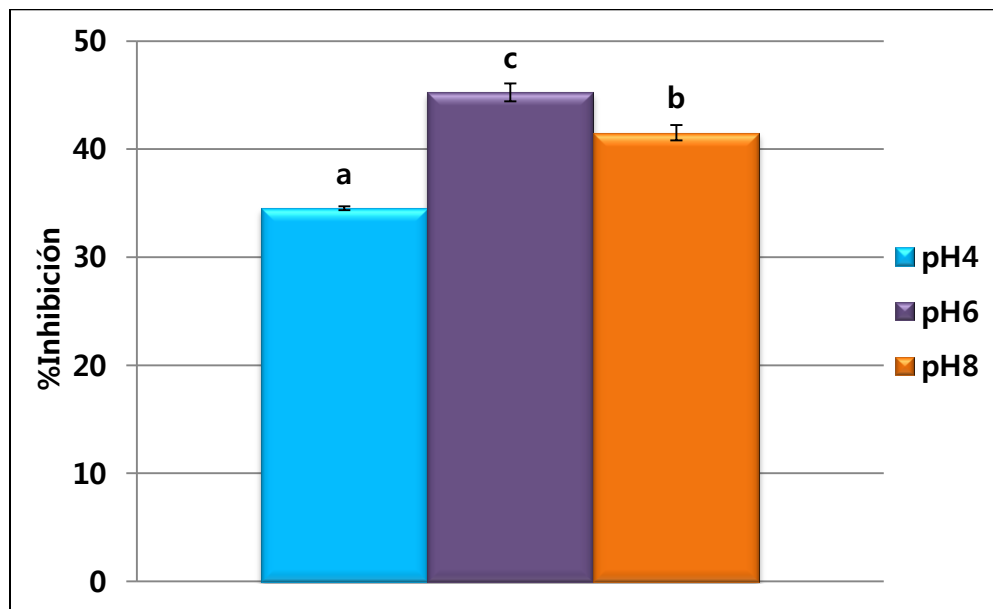


Figura 26 Capacidad antioxidante de cada extracto a diferentes pH. Las letras diferentes en cada barra indican si existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$)

Martínez-Quiroga (2014) reportó 11.8 % de inhibición con agua a una temperatura de 80°C, lo cual comparado con los resultados de este estudio presentaron 33.45 % menor inhibición. Lo cual puede estar relacionado con la variedad de la naranja así como a los métodos de cultivo, ya que estos son factores que influyen en la composición de los frutos así como en la presencia de ciertos compuestos, principalmente los fenoles. Además que el cambio de pH en el agua pudo provocar que los compuestos fenólicos, como son los flavonoides se transportaran con mayor facilidad a la fase acuosa.

Con los resultados obtenidos se observó que los extractos de naranja obtenidos a pH 4 fueron los que mayor concentración de compuestos fenólicos y flavonoides tuvieron, mientras que el extracto obtenido a pH 6 presentó mayor actividad antioxidante, sin embargo debido a que el objetivo principal es la obtención de los compuestos fenólicos, se consideró que las mejores condiciones de extracción serían a un pH de 4 para obtener



el extracto de naranja.

Determinando las condiciones idóneas para el método físico y el método químico se evaluó cuál de los dos métodos permitía obtener mayor concentración de compuestos así como actividad antioxidante en la Tabla 16 se muestran los resultados de los diferentes parámetros evaluados a las condiciones establecidas de extracción para cada método, observándose que con el método químico se obtuvo un extracto con mayor concentración de fenoles y flavonoides. Por lo que el extracto utilizado para la elaboración de la bebida saborizada será obtenido por este método.

Tabla 15. Comparación entre método físico y método químico

Parámetros	Método Físico (EAU)	Método Químico
Fenoles	2.87g/100g b.h.	8.14g/100 g b.h.
Flavonoides	149.94 mg/100g	4882.87 mg/100g
Capacidad antioxidante	23.74% inhibición	34.52% inhibición

5.3 Formulación de una bebida funcional con extracto de la cáscara de naranja

Una vez obtenido el extracto se prosiguió a formular la bebida saborizada, se propusieron tres sustituciones de agua por extracto basándose en la Tabla 13, utilizando las siguientes concentraciones de extracto 100, 80 y 50 %. A las bebidas saborizadas preparadas con las diferentes formulaciones se les determino contenido de flavonoides, capacidad antioxidante y se realizó evaluación sensorial, utilizando la prueba de preferencia pareada.

En la Figura 27 se puede observar que la formulación con mayor contenido de flavonoides es la que contiene el 100 % del extracto, esto es lógico debido a que el agua no contiene flavonoides, por lo tanto al tener una porción de agua en la bebida, los flavonoides se verán disminuidos. Aunque esta disminución es considerable, ya que con el 100 % se obtuvo 1943.81mg/100g y presentó una diferencia de 21.77 % con respecto a la 80 % y 34.54 % con respecto a la de 50 %.

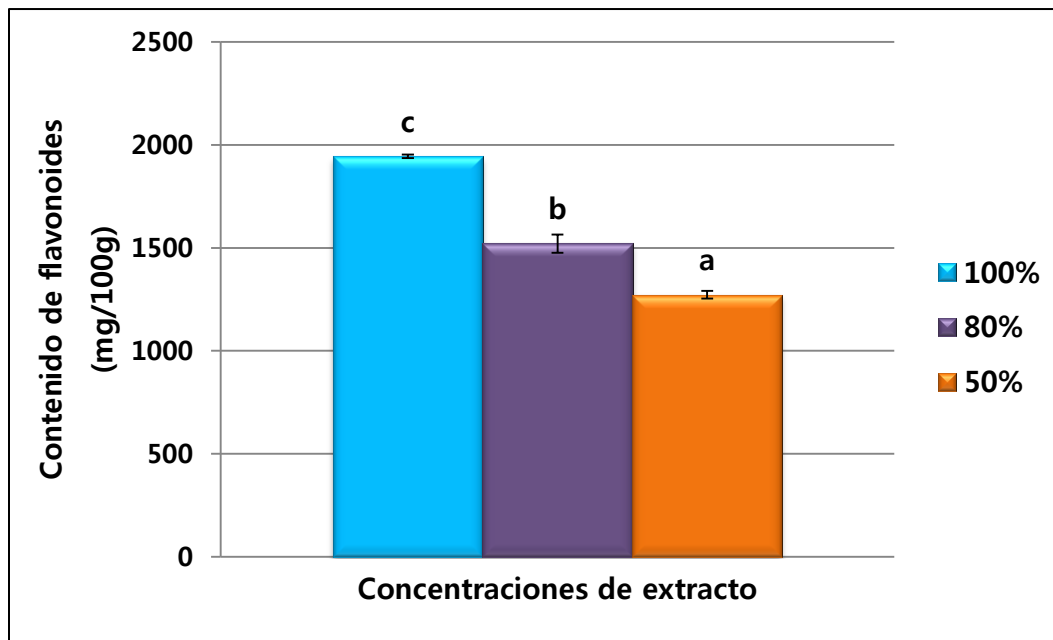


Figura 27. Contenido de flavonoides en las diferentes formulaciones de bebida saborizada. Las letras diferentes en cada barra indican si existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$)

Debido a que otro de los factores que se puede ver afectado por la disminución de extracto es la capacidad antioxidante, se determinó en cada formulación.

En la Figura 28 se observa, que al igual que en la Figura 27, el mayor contenido en la bebida se obtuvo con extracto al 100 %, lo que indicó que están relacionadas la capacidad antioxidante y el contenido de flavonoides, así como a menor contenido de extracto y mayor contenido de agua estos fueron disminuyendo. Teniendo como resultado a un 100 % de contenido de extracto 78.56 % de Inhibición y una diferencia de 3.69 % con respecto a 80 % y 14.60 % con respecto a 50 %. Esto debido a que la estructura química del agua hace que no tenga capacidad antioxidante, como lo logra el extracto rico en flavonoides al ceder sus protones para neutralizar la carga negativa del radical libre.

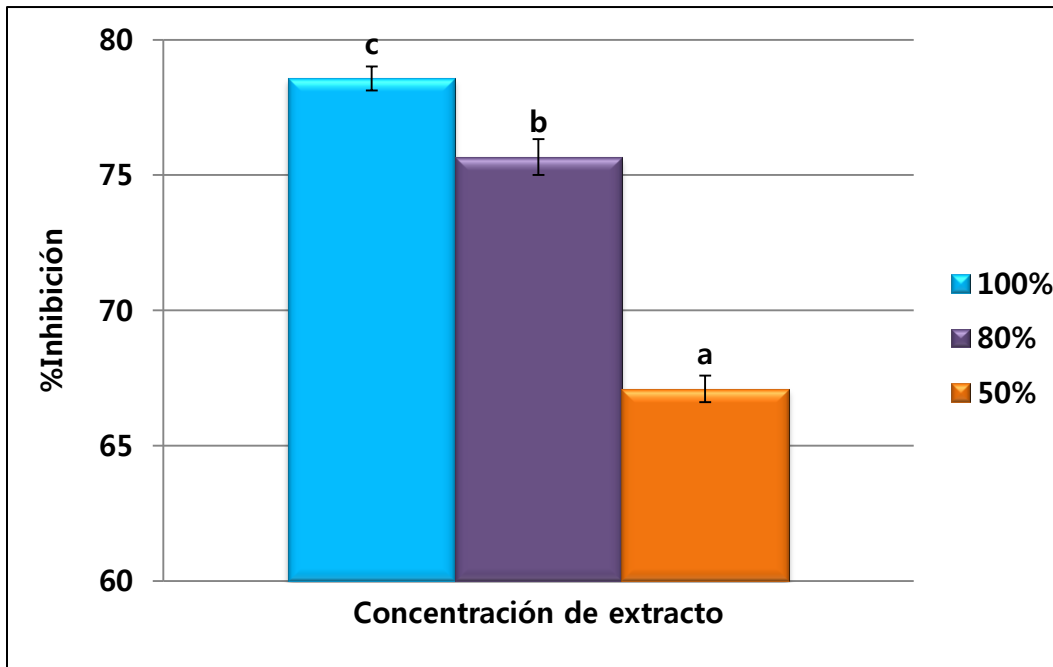


Figura 28 Porcentaje de inhibición en las diferentes formulaciones de bebida saborizada. Las letras diferentes en cada barra indican si existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$)

Uno de los parámetros importantes es la evaluación sensorial, debido a que lo que se busca con el producto es que la gente pueda consumir estos flavonoides y tener beneficios a la salud, pero al mismo tiempo que esta bebida sea agradable para su paladar y así lo consuma con mayor agrado.

En cuanto a la evaluación sensorial, se determinó cuál de las formulaciones es agradable al paladar de los panelistas, de acuerdo a la diferencia de extracto en cada una, observándose en la Figura 29 que los panelistas prefieren la formulación con 50 % de extracto de naranja, teniendo alrededor de un 60 % de aceptación, mientras que las bebidas con mayor concentración de extracto de naranja no superaron el 20 % de la preferencia, esto debido a que como indicaban los panelistas las bebidas con mayor concentración de extracto presentaban un resabio amargo, el cual generaba descontento, mientras que la bebida con 50 % de extracto no presentaba dicha característica.

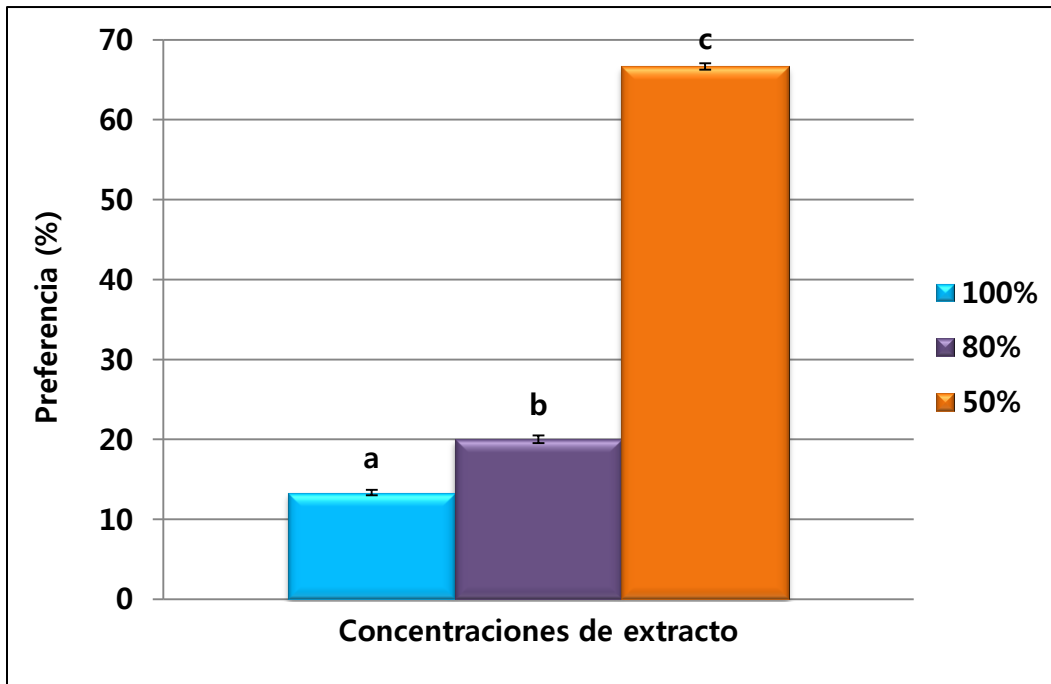


Figura 29 Preferencia de la bebida saborizada en las diferentes formulaciones. Las letras diferentes en cada barra indican si existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$)

Por lo anterior se seleccionó la concentración 50 %, debido a que como se dijo anteriormente lo que se busca es que la gente al consumir la bebida tenga un sabor agradable en su paladar y la siga consumiendo, teniendo también beneficios a la salud, ya que aunque el contenido de flavonoides y capacidad antioxidante es bajo siguen estando presentes, y teniendo en cuenta que la ingesta diaria recomendada de flavonoides es de 23 mg/día (Flores-Martínez *et al.*, 2002), con los 1272 mg/100g que se tiene en la bebida saborizada formulada con 50 % extracto se cumple este requerimiento. El cual aunque es 98 % mayor que el requerido no tendrá consecuencias en el organismo de acuerdo con lo reportado por Roberts *et al.*, 2003. Debido a que el organismo expulsa lo que no necesite y no tiene acontecimientos adversos en el organismo.

Dando como resultado la formulación final de la bebida saborizada que se muestra en la Tabla 16.



Tabla 16. Formulación utilizada para la realización de una bebida saborizada enriquecida con flavonoides.

Ingredientes	Cantidad (%)
Agua	44.23
Extracto	44.23
Azúcar	11.00
Ácido cítrico	0.15
Colorante	0.092
Citrato de potasio	0.04
Saborizante	0.25

Una vez establecida las cantidades de cada ingrediente, se llevó a cabo la vida de anaquel del producto.

5.4 Evaluación del tiempo de vida de anaquel de la bebida saborizada

Para la determinación de la vida de anaquel de la bebida saborizada se utilizaron los siguientes descriptores: microbiológicos, físicos, fisicoquímicos, químicos y sensoriales.

5.4.1 Descriptor microbiológico: Determinación de Coliformes totales y Mesófilos aerobios de la bebida saborizada enriquecida con flavonoides.

Las disoluciones se hicieron de acuerdo a la NOM-110-SSA1-1994 y los resultados obtenidos se compararon con los establecidos en la NOM-218-SSA1-2009. Estos análisis se realizaron para las muestras en las tres temperaturas, las cuales fueron 10°C, 20°C y 30°C. En la Tabla 17 se muestran los resultados del conteo de mesófilos aerobios y coliformes totales.



Tabla 17. Conteo de mesófilos aerobios y coliformes totales de las bebidas saborizadas enriquecidas con flavonoides sometidas a almacenamiento a 10, 20 y 30°C.

Días	Temperaturas de almacenamiento del producto					
	10°C		20°C		30°C	
	Mesófilos aerobios (UFC/mL)	Coliformes totales (UFC/mL)	Mesófilos aerobios (UFC/mL)	Coliformes totales (UFC/mL)	Mesófilos aerobios (UFC/mL)	Coliformes totales (UFC/mL)
0	<10	<10	<10	<10	<10	<10
7	<10	<10	<10	<10	<10	<10
14	<10	<10	<10	<10	<10	<10
21	<10	<10	<10	<10	<10	<10
28	<10	<10	<10	<10	<10	<10
35	<10	<10	<10	<10	<10	<10

Los datos reportados indican <10 UFC/ mL en la dilución de 10⁻¹ sembrados en agar nutritivo para Mesófilos aerobios durante 48 horas/35°C; agar mac Conkey para Coliformes durante 48 horas/35°C.

Como se observa en la Tabla 17 no hubo crecimiento microbiano durante el almacenamiento de las cajas petri con muestra a 35°C durante 48 h en la bebida saborizada, ya que hasta el día 35 a las diferentes temperaturas no se tuvieron colonias, esto puede ser por la pasteurización y aparte el conservador adicionado.

Debido a que el contenido de Mesófilos aerobios y Coliformes totales no mostraron un cambio a lo largo del tiempo, se concluye que el consumo de la bebida saborizada enriquecida con flavonoides es inocua hasta por 35 días de almacenamiento, a las diferentes condiciones, indicando que fue elaborada con buenas condiciones higiénicas y de sanidad. Además que de acuerdo a la NOM-218-SSA1-2009 los parámetros permitidos de Mesófilos aerobios son 50 UFC/g o mL y Coliformes totales 10 NMP/mL o g, por lo que los resultados obtenidos están dentro de los límites permitidos.

5.4.2 Descriptor físico: color, luminosidad, croma y tono de la bebida saborizada enriquecida con flavonoides.

La evaluación de los descriptores físicos, en este caso el color, se tomó como un factor de calidad, debido a que éste puede sufrir un cambio por efecto del tiempo y temperatura, aun teniendo como ayuda el colorante artificial, debido a que el extracto de la cáscara de naranja tiene carotenoides que se van degradando y con estos el color. Para describir las



diferencias en distintos tiempos y temperaturas de almacenamiento, se tomaron en cuenta el tono, que es el color básico en un objeto que se puede percibir; croma que indica la intensidad o saturación de color o que tanto se acerca el objeto a los grises; y luminosidad que es un indicador de la claridad de un color, la escala oscila entre 100 = puro blanco a 0 =puro negro.

Una vez teniendo estos se calcula la diferencial de color ΔE que se tiene como índice de deterioro del color (X-Rite, 2002).

En la Figura 30 se puede apreciar que la luminosidad en cuanto a temperatura no tuvo cambios significativos, ya que las tres tienen comportamientos similares, pero en cuanto al tiempo, en el día 14 se tiene una disminución de 27% y después se mantiene en un intervalo, lo que indica que a los 14 días se tiene la mayor degradación de luminosidad y los días consecutivos se mantiene constante, aunque a los 35 días disminuye 21.45% con respecto al día cero.

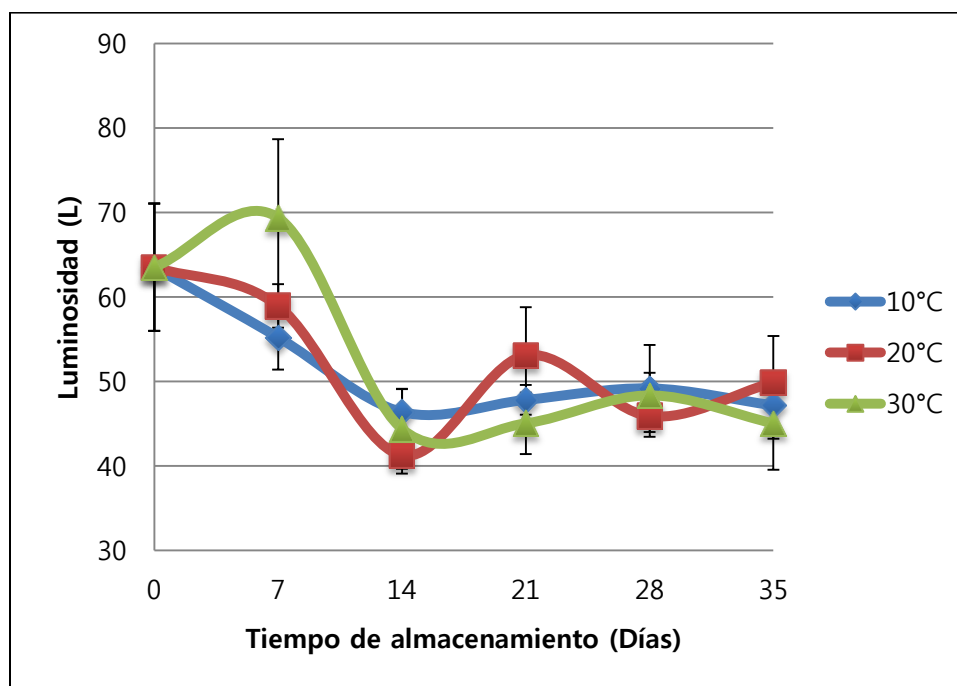


Figura 30. Cambio de luminosidad en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C



En cuanto al tono en la Figura 31 se observó un comportamiento similar con las tres temperaturas, teniendo un pequeño aumento el día 7 del 0.07% y posteriormente una disminución de 0.05% con respecto al día cero, terminando sin diferencias significativa ($p \leq 0.05$) entre los tiempos y las temperaturas.

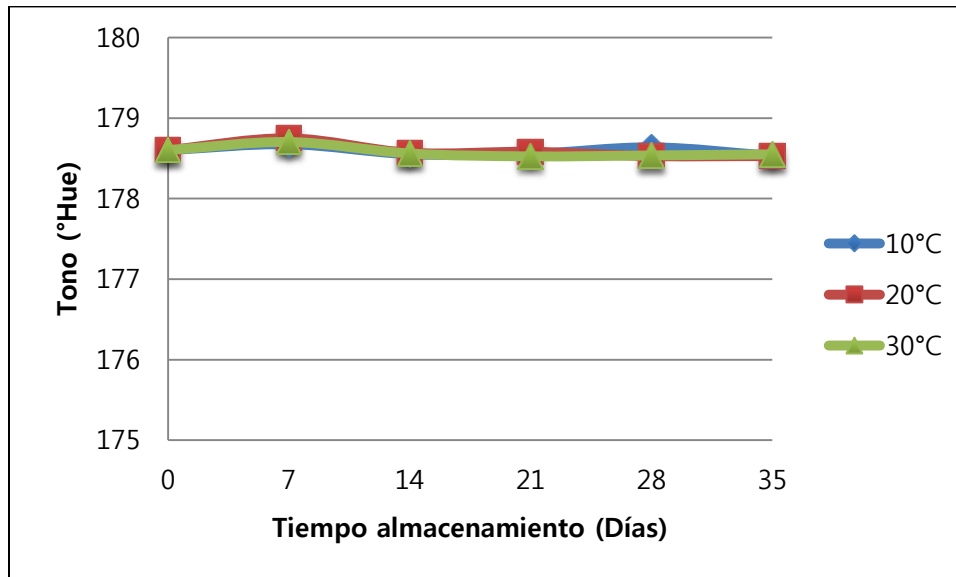


Figura 31. Cambio de tono en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C

Posteriormente se registraron los cambios de croma, debido a que es otro parámetro del color. En la Figura 32 se observan los resultados de croma, los cuales van variando en los días 7 y 28, teniendo diferencias entre estos, pero en el día 35 el valor de croma aumentó teniendo una diferencia de 1% comparándolo con el día 0, por lo que no se tuvieron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la temperatura y el tiempo.

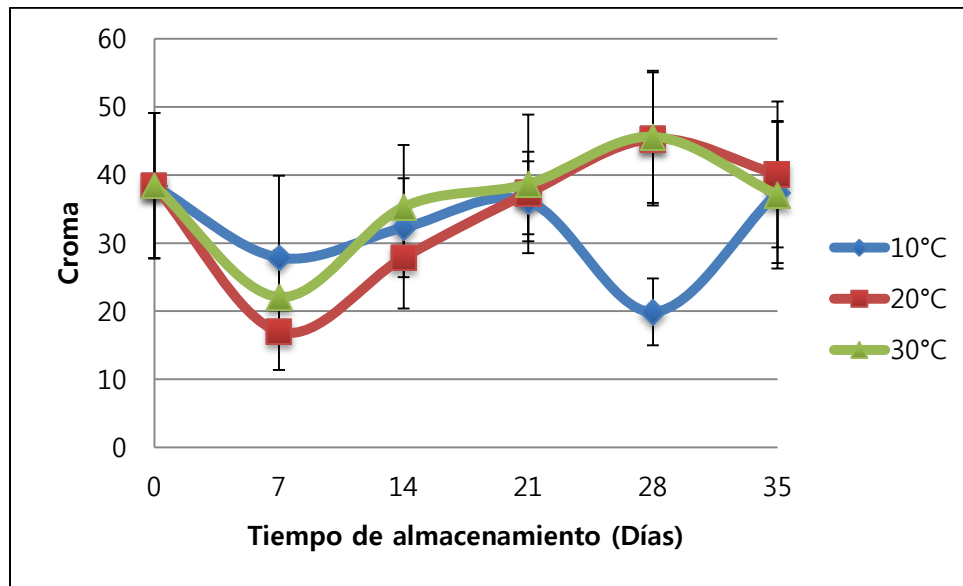


Figura 32. Cambio de croma en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C

En cuanto a luminosidad, tono y croma se observó que en el día 35 no se tuvieron diferencias considerables a las diferentes temperaturas, y conforme a los días las diferencias fueron mínimas. Aunque comparando la Figura 30 y 31 se observa la relación de color, debido a que en el día 35 la luminosidad de la bebida disminuyó, por lo cual tiende a negro u opaco y croma aumento.

Posteriormente se calculó la diferencia de color que se tiene en las bebidas a las diferentes temperaturas, ya que este dato es importante debido a que si se tiene un cambio radical en el color podría ocasionar que al consumidor ya no le sea agradable el producto.

En la Figura 33 se observó que en el día cero no hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$), a partir del día 14 presentó un aumento en las bebidas almacenadas en las tres temperaturas. A partir del día 15 no se observa un efecto sobre la diferencia total de color llegando al día 35 donde se observó un deterioro poco evidente, sobre todo la bebida a 30°C que se conserva en valores similares durante el almacenamiento. Lo que indica que el colorante empleado en la formulación de la bebida es estable durante el almacenamiento.

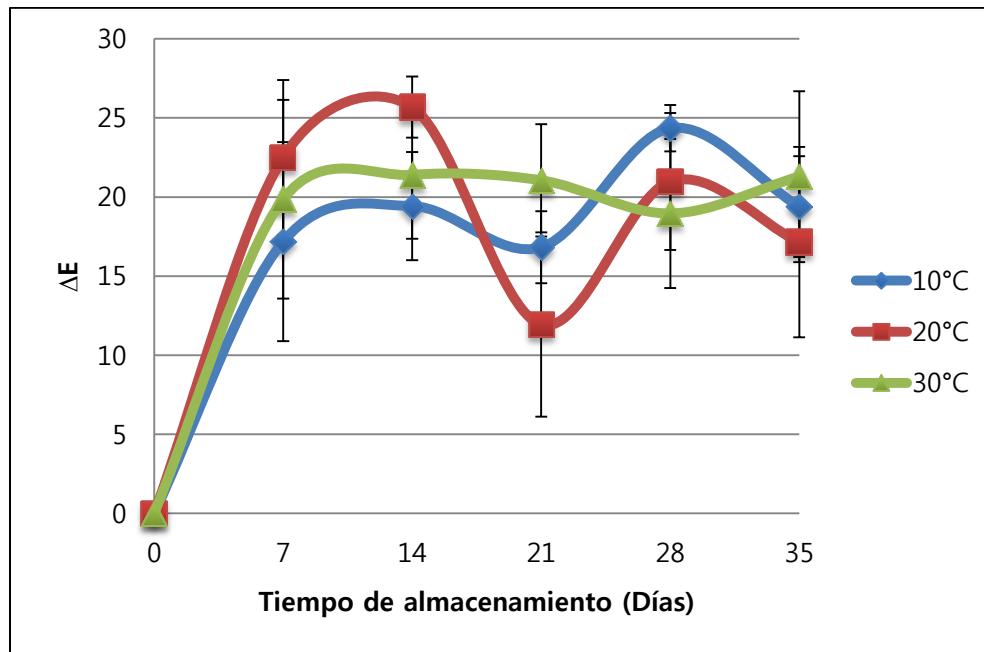


Figura 33. Diferencial total del color en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C

5.4.3 Descriptores fisicoquímicos: pH y acidez de la bebida saborizada enriquecida con flavonoides.

En la evaluación de los descriptores fisicoquímicos, estos pueden sufrir un cambio por efecto del tiempo y temperatura, pero durante la experimentación se observó que no hubo efecto del almacenamiento sobre dichos parámetros. Para describir las diferencias en distintos tiempos y temperaturas de almacenamiento, se tomaron en cuenta el pH que es el coeficiente que indica el grado de acidez o basicidad de una solución acuosa y la acidez que se percibe como sabor agrio en los alimentos. Estos pueden afectar al producto debido a su cambio de sabor, provocando que para el consumidor sea desagradable.

En la Figura 34 se puede observar que conforme a los días no se presentó un cambio, al igual que por efecto de las temperaturas. Los comportamientos a las 3 temperaturas de almacenamiento fueron similares en cuanto a pH, solo en el día 35 se observó que en las bebidas disminuyó 1.36 % en el caso de 10 y 30°C y un 0.68 % a 20°C.

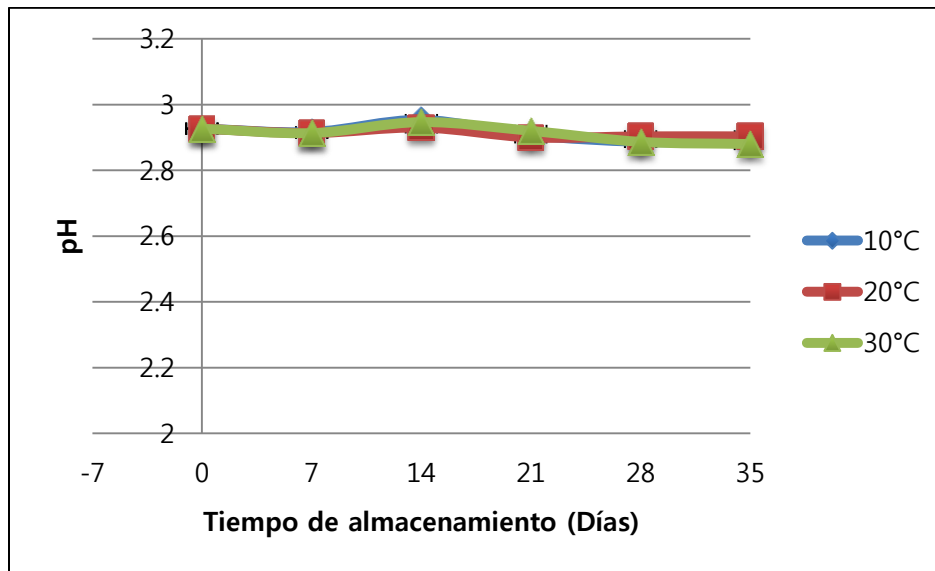


Figura 34. Cambio de pH en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C

En la Figura 35 se observa que no hay cambios con respecto a la relación de la acidez con las temperaturas, y en cuanto al tiempo a los 35 días disminuyó en las tres temperaturas, un 81.81 % con respecto al día 0. Teniendo en el día 35 una disminución de 37.19 % con respecto al día 0, aún con esta disminución en la acidez el sabor de la bebida no se afectó. Los cambios se pudieron deber a que se agregó ácido cítrico en la formulación el cual es usado como corrector de acidez en algunos alimentos.

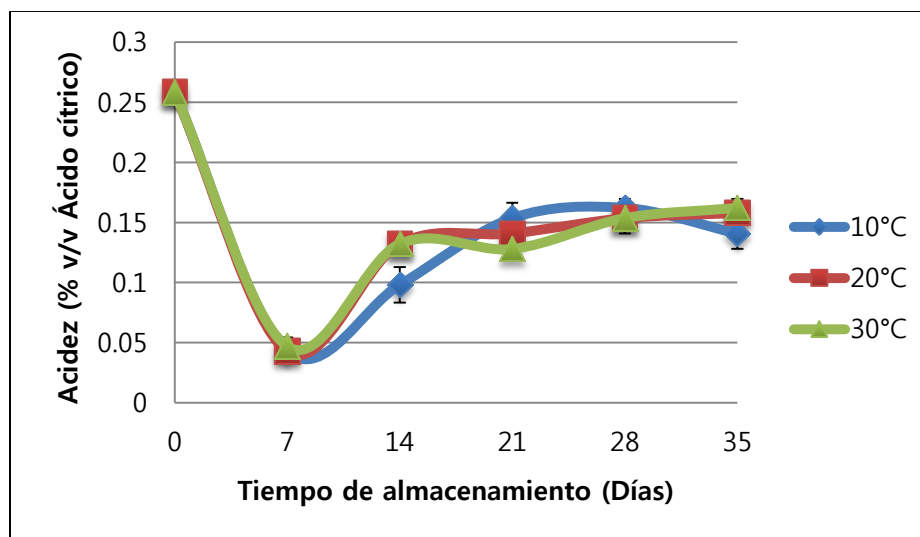


Figura 35. Cambio de acidez en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C



Con lo observado en las Figuras 34 y 35 se determinó que en cuanto a las temperaturas y el tiempo, el pH y la acidez no presentaron cambios relevantes, por lo que la bebida no presentara cambios significativos después de 35 días en estos parámetros.

5.4.4 Descriptores químicos: Contenido de flavonoides y capacidad antioxidante de la bebida saborizada enriquecida con flavonoides.

Los descriptores fisicoquímicos, son un punto importante en la calidad, debido a que es lo que se busca que se mantenga en el producto debido a los beneficios a la salud como la actividad anticancerígena, antiinflamatoria, antiviral, antialérgica, protección contra enfermedades del corazón, y porque es lo que el producto le ofrece a la gente; pero estos se podrían ver afectados por efecto del tiempo y de la temperatura. Por lo que para describir las diferencias en el almacenamiento se tomaron en cuenta el contenido de flavonoides, además de capacidad antioxidante.

En la Figura 36 con respecto a las temperaturas se observó un comportamiento similar, conforme pasaron los días de almacenamiento se observaron cambios en la bebida, en el día 35 se registró una disminución en la concentración de flavonoides del 50%, pero posteriormente se mantuvo constante, esto se puede deber al efecto de polimerización, es decir, que las moléculas de flavonoides reaccionan entre sí y se van uniendo unas con otras, al mismo tiempo este efecto se puede observar en la Figura 30 la cual tiene un comportamiento similar en el cual la luminosidad disminuye y posteriormente se mantiene constante, debido a que una consecuencia de la polimerización de flavonoides es el cambio de color. De igual forma se sigue teniendo un contenido considerable y funcional para el consumo humano, debido a que la ingesta diaria recomendada de estos se estima que es de 23mg/día (Flores-Martínez *et al.*, 2002).

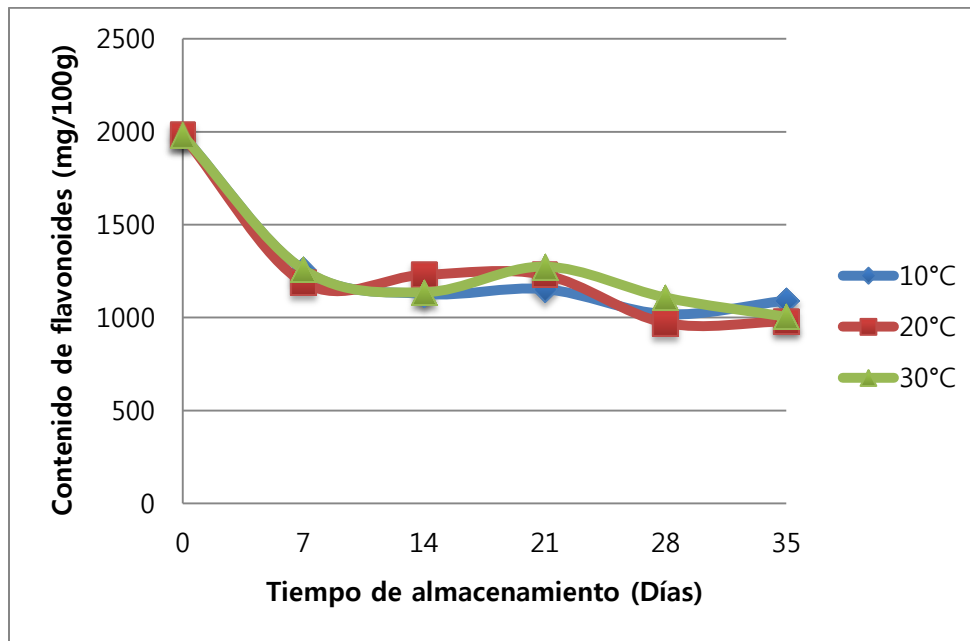


Figura 36. Cambio de contenido de flavonoides en la bebida saborizada almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C

Con respecto a la capacidad antioxidante en la Figura 37 se observó que a los 7 días la temperatura de 10°C no tuvo el mismo comportamiento que las otras dos temperaturas, ya que disminuyó 4 % con respecto al día cero y las demás aumentaron 26 y 29 %, aunque posteriormente tienen un comportamiento similar, llegando al día 35 se tuvo un ligero aumento conforme al día 0 de 1 % a 10°C, 3 % a 20°C y 0.99 % a 30°C, lo que puede indicar la polimerización de los flavonoides, debido a que Marcano y Hasegawa, (2002) indican que los flavonoides al unirse provocan sinergismo, lo que podría causar el ligero aumento en la capacidad antioxidante. La cual es funcional en el organismo debido a que los flavonoides logran reducir los radicales libres cediéndoles un protón, causando que estos no generen enfermedades en el organismo, como puede ser el cáncer.

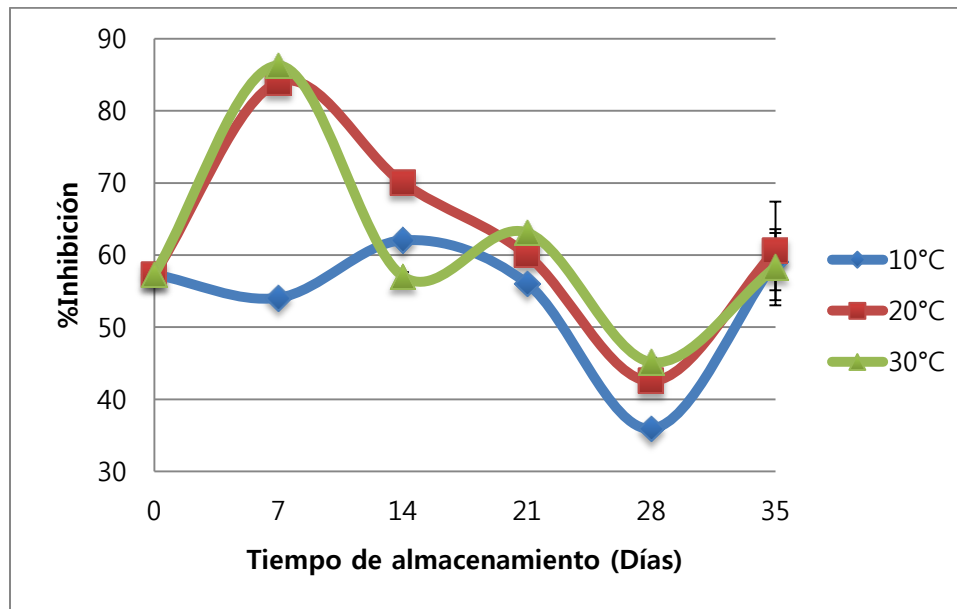


Figura 37. Cambio de capacidad antioxidante en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C

5.4.5 Descriptor sensorial

Los resultados de la evaluación sensorial de la bebida saborizada enriquecida con flavonoides a 10°, 20°C y 30°C se muestran de la Figura 38 a la 40.

En la Figura 38 se observa que con respecto a las diferentes temperaturas los panelistas no notaron cambios en el sabor, aunque con respecto al tiempo se tuvo una disminución a 4 que se tomó como *me gusta*, y a 3 que se consideró como *me es indiferente*. Por lo que la bebida fue aceptada con el paso del tiempo, ya que en ningún punto llegó a ser del disgusto de los panelistas, esto en cuanto al sabor. Aunque se tienen desviaciones debido a que las calificaciones de los panelistas fueron variadas, por lo que esta correlación es subjetiva debido a que los panelistas no estaban entrenados. Además que se tienen ingredientes los cuales cambian sabor, aroma y color del extracto, por lo que los panelistas pueden tener diferentes percepciones de los parámetros evaluados.

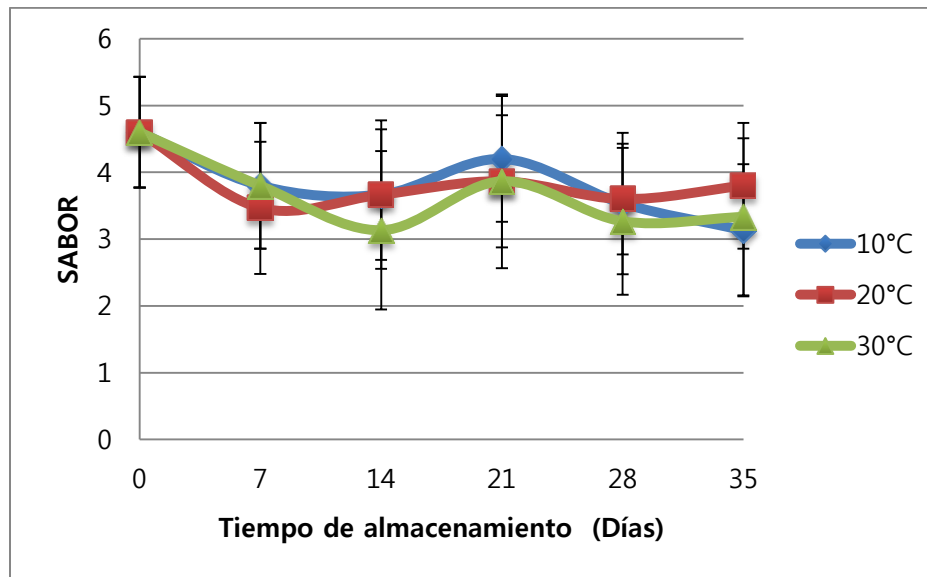


Figura 38. Cambio de sabor en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C

En cuanto al color, en la Figura 39, se observa que no hay diferencias significativas ($p \leq 0.05$) conforme a las temperaturas, ni conforme al tiempo, ya que la valoración de los panelistas fue cercana a 4, es decir que les gusta el color durante el almacenamiento a las diferentes temperaturas. Lo que concuerda con lo reportado en el punto 4.4.2. Debido a que tanto con el colorímetro como con el ojo humano no se registraron cambios considerables en el color.

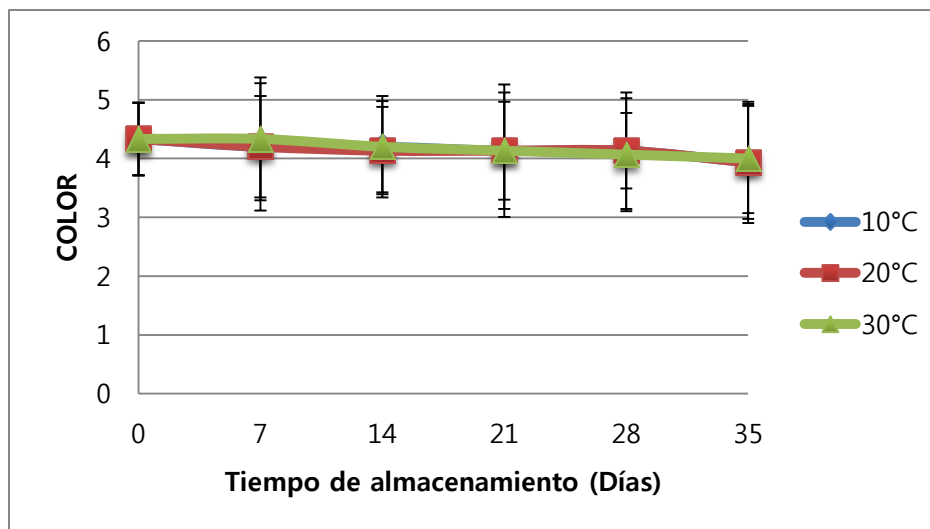


Figura 39. Cambio de color en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C



Ya que se observó que en estos dos parámetros los panelistas determinaron que no se tienen cambios significativos, se observa en la Figura 40 que de igual forma en el olor no disminuyó la evaluación al grado de disgustar al panelista. Ya que solo llega a 3, es decir, *me es indiferente*. Aunque en ninguno de los parámetros se llegó a *me gusta mucho*, que sería el número 5, al menos se tiene que los panelistas si consumirían este producto, además que una vez diciendo los beneficios que se pueden tener al consumirlo las probabilidades de venta son mayores.

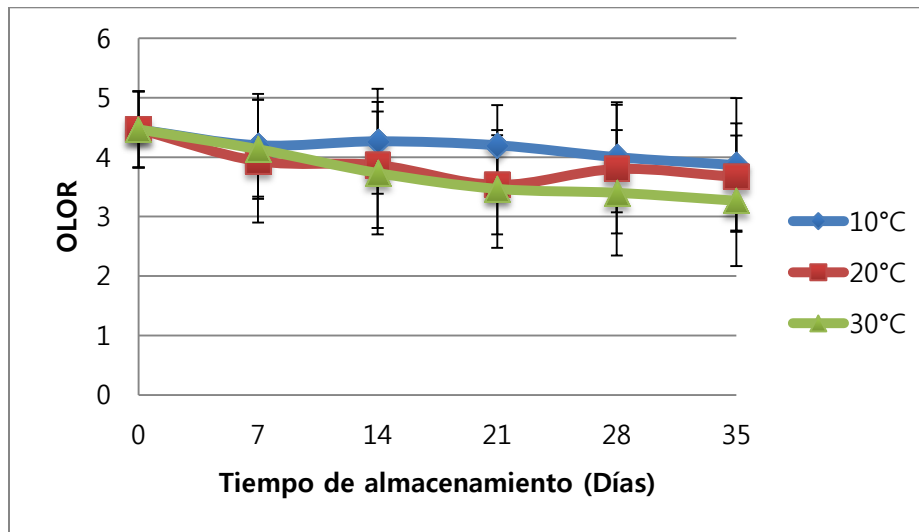


Figura 40. Cambio de olor en la bebida saborizada enriquecida con flavonoides almacenada por 35 días a 10, 20 y 30°C

5.4.6 Cinética de reacción de la acidez, luminosidad y olor durante el almacenamiento de la bebida saborizada enriquecida con flavonoides.

Se tomaron estos parámetros para evaluar la vida útil acelerada debido a que en las figuras de logaritmo natural de la variable contra el inverso de la temperatura que se verán a continuación en la Figura 41, son los que se afectan.

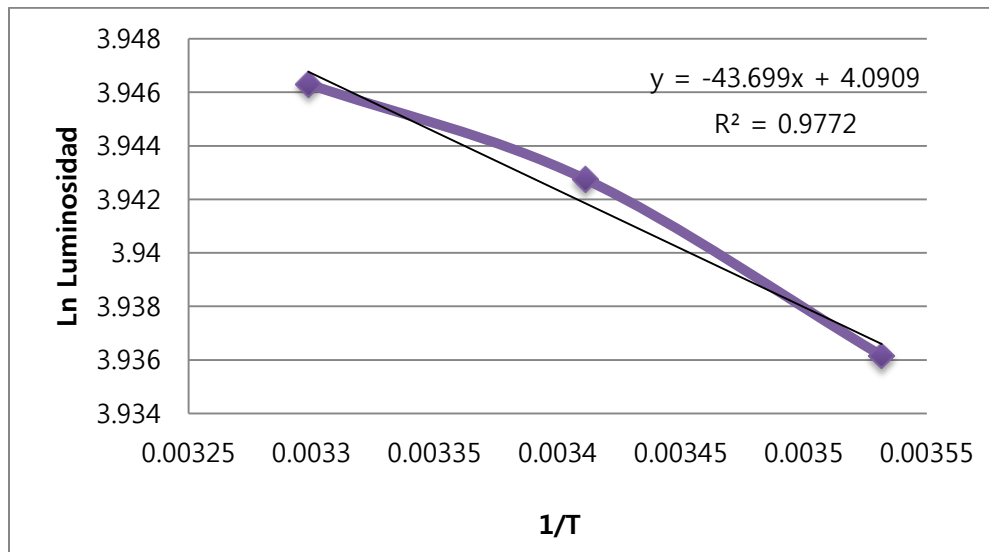


Figura 41. Datos cinéticos de luminosidad para una bebida saborizada enriquecida con flavonoides

La ordenada al origen y la pendiente de esta recta ayudaran a calcular t_0 y E_a respectivamente, como se procede en la Ec 6. Se hizo lo mismo para las demás variables consideradas.

$$E_a = -43.699 \cdot 8.314 \frac{J}{K \text{ mol}} = -363.31 \frac{J}{\text{mol}} \quad \text{y} \quad t_0 = e^{4.0909} = 59.79 \quad \text{Ec 6}$$

Con estos datos se puede predecir la vida de anaquel de la bebida saborizada enriquecida en flavonoides a cualquier temperatura. Para la bebida la temperatura establecida de almacenamiento fue de 10°C, para esta temperatura el valor esperado de vida de anaquel se calculó reemplazando los valores de energía de activación y del factor pre exponencial en la Ec 1, dando como resultado la Ec 7:

$$t_{10^\circ\text{C o } 283.15\text{K}} = 59.79 \cdot e^{\frac{363.31}{8.314} \left[\frac{1}{298.15} - \frac{1}{283.15} \right]} = 64.46 \text{ días} \quad \text{Ec 7}$$

Teniendo como resultado la Tabla 18.



Tabla 18. Resultados de E_a , t_0 y días de vida de anaquel tomando en cuenta el parámetro de luminosidad de la bebida saborizada.

Variable	E_a (Cal/mol)	t_0	Tiempo _{10°C} (días)
Acidez	-1309.78	0.2216	0.2906
Luminosidad	-363.31	59.7936	64.46
Olor	4012.41	-0.2834	0.3283

De acuerdo a lo observado en la vida de anaquel la bebida saborizada enriquecida con flavonoides, se mantendrá durante 64.46 días, esto a una temperatura de almacenamiento de 10°C. Lo cual se determina con el parámetro de luminosidad y los parámetros microbiológicos.



6. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en la experimentación, se puede concluir que:

- Los volúmenes de residuo de cáscara de naranja generado en la industria son grandes y estos pueden ser aprovechados para la extracción de flavonoides, ya que se tiene una cantidad considerable contenida en estos.
- El mejor método para extracción de flavonoides fue por el método químico (cambio de pH), obteniéndose un rendimiento de 4.88% en comparación con el método físico que presentó un rendimiento de 0.149%, en cuanto al contenido de flavonoides obtenidos. El método químico permitió obtener extractos con el mayor contenido de flavonoides (4882.87mg/100g), utilizando el ph de 4.
- La aplicación del extracto en una bebida saborizada, fue una buena opción tecnológica debido a que se logró enriquecer con flavonoides, dándole un valor agregado y además contribuirá a la población a consumir estos compuestos benéficos a la salud sin la necesidad de gastar tanto, ya que tiene el contenido recomendado de ingesta diaria. Además que toda la gente necesita y consume agua. La formulación con mayor aceptación por los panelistas fue utilizando 50:50 extracto:agua, con color amarillo, ya que presentó características sensoriales aceptadas por los consumidores potenciales.
- En cuanto a la vida de anaquel a pesar de que la bebida fue aceptada durante los 35 días por los panelistas y en los parámetros microbiológicos no se tuvo presencia de microorganismos, esta no fue tan larga como se esperaba, debido a que el factor de luminosidad se limita a 64.46 días a 10°C, lo que indica al igual que la capacidad antioxidante, que pudo existir la polimerización, debido que aunque se tuvo pasteurización y vacío en las botellas, el agua puede contener oxígeno disuelto el cual favorece la cinética de polimerización de flavonoides, los cuales no se perderían en la bebida, más bien solo se unen logrando a su vez un sinergismo. Aunque también se debe tener en consideración el cuidar que a las bebidas no les de la luz, debido a que esto provoca la oxidación de los flavonoides.
- En el mercado no se encuentran productos con estas características, por lo que este estudio puede dar un producto al mercado nuevo y funcional.



7. RECOMENDACIONES

Debido a que esta bebida puede ser funcional para la salud de la gente y con esto incorporarse al mercado. Se pueden considerar los siguientes puntos para experimentaciones posteriores:

- Debido a los cambios de color producidos en el producto pueden ser por el envase, es recomendable realizar un estudio evaluando la vida de anaquel de la bebida con un envasado en tetra pack o envase ámbar.
- Evaluar el efecto de los tiempos de reposo con pH 11 en el método químico, para observar si se obtiene una cantidad de flavonoides mayor.
- Desarrollar la bebida con otros sabores, para tener una diversidad en el producto. Y con esto tener una mayor aceptación, ya que no a toda la gente le gusta el sabor naranja.
- Desarrollar el diseño de la planta, tomando en cuenta equipos y análisis financieros para establecer el costo y precio del producto. Y con esto verificar si es viable el proyecto.
- Tener una muestra sin extracto durante la vida de anaquel, para comparar los efectos que el extracto causa en la bebida, o si algún otro ingrediente causa cambios.
- Conocer los flavonoides presentes en el extracto crudo por la técnica de HPLC.



BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar-Ahumada, O. J. (2015). Evaluación de la actividad antioxidante de extractos obtenidos a partir de la cáscara de naranja valencia (*Citrus Sinensis* L.). Tesis para obtener el título de Ingeniero en Alimentos. Universitaria Agraria de Colombia. Bogotá.
2. Badui-Dergal, S. (2013). Química de los alimentos. Quinta edición. Pearson. México.
3. Baraona-Cockrell, M. y Sancho-Barrantes, E. (2000). Cítricos. Fruticultura Especial. Universidad Estatal a Distancia.
4. Barroto, B.; Rodriguez, J. L. y Larrauri, J.A. (1995). Composición química de la fibra dietética obtenida a partir de hollejos cítricos durante su cosecha. Revista de Tecnología e Higiene de los Alimentos, 265, 63-65.
5. Bocco, A.; Cuvelier, M.E.; Richard, H. y Berset, C. (1998). Antioxidant activity an phenolic composition of citrus peel and seed extracts. Journal of Agricultural food Chemistry. 46: 2123-2129.
6. Calí, J.M. (2012). Análisis sensorial de los alimentos. Fruticultura y Diversificación. 34-37.
7. Camacho-Campos, C. (2009). Compuestos fenólicos y el medio ambiente. Facultad de Agronomía. Universidad de Matanzas. Cuba.
8. Cardona-Chica, B.A. y Saldarriaga-Osorio, S.I. (2003). Determinación de la vida de anaquel del chocolate de mesa sin azúcar en una película de polipropileno biorientado. Tesis para obtener el título de Ingeniero Químico. Universidad Nacional de Colombia.
9. Comité de Gestión de Cítricos. (2014). Recuperado el 6 de Diciembre de 2016, de <http://www.agronegocios.es/digital/files/planstar/sanfeliu>
10. Comité de Gestión de Cítricos. (2016). La Citricultura en España: Presente y Futuro. *Planstarcítricos*.
11. Consejo Cítricola Mexicano. (2007). Recuperado el 3 de Septiembre de 2016, de <http://www.dimensionx.com.mx/ccm/naranjaes.pdf>
12. El Universal. (2016). Casi la mitad de la población en México padece colesterol. recuperado el 2016 de Septiembre de 3, de <http://www.eluniversal.com.mx/articulo/nacion/sociedad/2016/08/1/casi-la-mitad-de-la-poblacion-en-mexico-padece-colesterol>.
13. Escobar-Blanco M.. (2010). Extracción de compuestos fenólicos de las cáscaras de



- cítricos producidos en México. Tesis para obtener el título de Maestra en Ciencias en Alimentos, Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México.
14. European Society Cardiology. (2015). Recuperado el 8 de Enero de 2017, de <https://www.escardio.org/congresses-%26-events/heart-failure>
 15. FAO. (2014). Recuperado el 20 de noviembre de 2016, de <http://www.fao.org/3/a-i3592s.pdf>
 16. Flores-Martínez, S.; González-Gallego, J.; Culebras, J.M. y Tuñón, M.J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*. 17(6):271-278.
 17. Frutas y Hortalizas. (2016). Recuperado el 6 de Septiembre de 2016, de frutas-hortalizas.com/frutas/origen-produccion-naranja.html.
 18. García-Martínez, E.; Fernández-Segovia, I. y Fuentes-López, A. (2016). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Universidad Politécnica de Valencia, España.
 19. Garcia-Nava, M.A. (2007). Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Universidad Autónoma de Querétaro. Recuperado el 6 de Diciembre de 2016, de http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_1uaggarcianava.pdf
 20. Geronazzo, H.; Macoritto, A. y Ellenrieder, G.. (2012). Obtención de hesperidina a partir de naranjas de derrame. *Información Tecnológica*, 4(12), 3-8.
 21. Guntero, V.; Longo, M.; Ciparicci S.; Martini R. y Andreatta, A. (2015). Comparación de métodos de extracción de polifenoles a partir de residuos de la industria vitivinícola. Centro para la seguridad de los procesos químicos.
 22. Hernández-Alarcón, E. (2005). Evaluación Sensorial. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Colombia.
 23. Huchin Moo, M.; Vargas-Vargas, M.; Cuevas-Glory, I.; Huchin-Moo, V. y Sauri- Dunch, E. (2012). Evaluación del contenido de flavonoides totales en residuos cítricos. Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica. Recuperado el 18 de Enero de 2017, de <http://www.informatica.sip.ipn.mx/colmex/congresos/ixtapa/autoplay/docs/extensos/ciencia%20de%20los%20alimentos/cal85vmo20120117.pdf>



24. InfoAgro. (2016). Curso de citricultura._Recuperado el 3 de Septiembre de 2016 de, Infoagro.com/citricos/naranja.htm
25. IQ Citrus. (2017). Recuperado el 18 de Enero de 2017, de <http://www.iqcitrus.com/>
26. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2016). Estadísticas a propositodel... día mundial se la lucha contra el cáncer de mama (19 de octubre). Recuperado el 8 de Enero de 2017, de http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2016/mama2016_0.pdf
27. Instituto Nacional de Salud Pública (INSP). (2016). Diabetes, causa principal de muerte en México. Recuperado el 8 de Enero de 2017, de <https://www.insp.mx/presencia-insp/3877-presencia-insp.html>
28. Kuskoski-M., E.; Asuero, G.; Troncos-M., A., Mancini-Filho, J. y Fett R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia Tecnológica de Alimentos*, 25 (4).
29. Khan-Kamran, M.; Abert-Vian, M.; Fabiano-Tixier, A.; Danlges, O. y Chemat, F. (2009). Ultrasound Assisted Extraction of Polyphenols (Flavanone Glycosides) from Oranges (*Citrus Sinensis L.*) peel. *Food Chemistry*, 119:851-858.
30. Larreda-Posadas, J. (2012). Obtención de extractos polifenólicos a partir de uva para su uso alimentario. Tesis para obtener el título Master de Tecnología y Calidad en las Industrias Agroalimentarias, Universidad Pública de Navarra, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. España.
31. Liria-Domínguez, M. (2007). Guía para la evaluación sensorial de alimentos. Lima. Agrosalud.
32. Londoño-Londoño, J. (2011). Aprovechamiento de la agroindustria de cítricos: extracción y caracterización de flavonoides. *Corporación Universitaria Lasallista*. 21 (396-416).
33. Londoño-Londoño J.; Sierra J.; Álvarez R.; Retrepo- Duque A. M. y Pássaro-Carvalho, P. (2012). Aprovechamiento de los subproductos cítricos. *Corporación Universitaria Lasallista*. 12, 344-367.
34. Roberts A., O'Brien M. y Shubake-Sharpe G. (2003). *Nutricéuticos*. Robinbook. España.
35. Marcano, D. y Hasegawa, M. (2002). *Fitoquímica orgánica*. Universidad Central de Venezuela.



36. Martínez-Quiroga, J. M. (2014). Efecto de la aplicación de materiales encalantes en el cultivo de la vid cv. mencía en la d.o. Bierzo, incidencia sobre la composición fenólica y evaluación de la crianza del vino. Tesis doctoral. Universidad de León. México.
37. Martínez-Valverde, I.; Periago-Jesús, M. y Ros, G.. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Recuperado el 2 de Septiembre de 2016, de https://www.researchgate.net/publication/262551532_significado_nutricional_de_los_compuestos_fenolicos_de_la_dieta
38. Moreno, A.; Machado, A. y Padrón, A. (2004). Evaluación microbiológica y fisicoquímica de bebidas pasteurizadas fortificadas con extractos de desechos desodorizados de naranja. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 54(3): 270-276.
39. Muñoz, W. C.; -Chavez, W. R.; Pabón-C., I.; Rendón-R., M.; Patricia-Chaparro, M. y Otálvaro-Álvarez, M.A. (2015). Extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de champa (*Campomanesia Lineatifolia*). Revista Ciencias Químicas. 46:38-46.
40. Naranjo-Gómez, E. (2016). Bebidas funcionales, "Una necesidad saludable". Alimentos. Recuperado el 7 de Diciembre de 2016, de <http://revistaalimentos.com/ediciones/edicion4-2/bebidas/bebidas-funcionales-una-necesidad-saludable.htm>
41. Nogata, Y.; Sakamoto, K.; Shiratsuch, H.; Ishii, T.; Yano, M. y Ohta, H. (2006). Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 70(1), 178-192.
42. NMX-F-102-S-1978. Determinación de la acidez titulable en productos elaborados a partir de frutas y hortalizas. Norma mexicana. Dirección General de Normas. Recuperado el 3 de Septiembre del 2016, de <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/nmx-f-102-s-1978.pdf>
43. NMX-F-118-1984. Alimentos para humanos. Bebidas no alcohólicas. Jugo de naranja envasado. Foods for humans. Soft drinks. Canned orange juice. Normas mexicanas. Dirección General de Normas. Recuperado el 3 de Septiembre de 2016, de <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/nmx-f-118-1984.pdf>
44. NMX-F-317-S-1978. Determinación de pH en alimentos. Determination of pH in foods. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. Recuperado el 3 de Septiembre de 2016, de <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/nmx-f-317-s-1978.pdf>



45. Norma general del codex para zumos (jugos) y néctares de frutas (codex stan 247-2005).
46. NOM-086-SSA1-1994, bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Especificaciones nutrimentales. Recuperado el 25 de noviembre de 2016, de http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5172062&fecha=22/12/2010
47. Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Recuperado el 25 de Noviembre de 2016, de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html>
48. Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Recuperado el 25 de Noviembre de 2016, de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/110ssa14.html>
49. Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos Coliformes totales en placa. Recuperado el 25 de Noviembre de 2016, de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/113ssa14.html>
50. Norma Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011, productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. especificaciones y disposiciones sanitarias. Métodos de prueba. Recuperado el 25 de Noviembre de 2016, de http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5233379&fecha=10/02/2012
51. Ochoa-M., I. C. y Ayala-A., A. A. (2004). Los flavonoides: Apuntes generales y su aplicación en la industria de alimentos. Ingeniería y Competitividad. (6)2: 28-30.
52. Orangeblue-naranja. (2008). Recuperado el 3 de Septiembre de 2016, de orangeblue-naranja.blogspot.mx/2008/09/taxona-y-morfologa.html
53. Padrón-Pereira, C.A.; Padrón León, G.M.; Hernández-Montes, A.I. y Oropeza-González, R.A. (2012). Determinación del color en epicarpio de tomates (*Lycopersicum esculentum mill.*) con sistema de visión computarizada durante la maduración. Agronomía Costarricense. 36 (1):97-111.
54. Proceso de frutas. (2008). Recuperado el 18 de Enero de 2017, de <http://procesodefutas.blogspot.mx/2008/01/proceso-de-frutas.html>
55. Revista del Consumidor, (2013) Reporte especial: bebidas azucaradas y endulzantes. Recuperado el 25 de Noviembre del 2016, de <http://revistadelconsumidor.gob.mx/?p=39942>



56. Rodríguez-Rodríguez, K. y Román-Henríquez, A. (2004). Extracción y evaluación de pectina a partir de la cáscara de naranja de las variedades *Citrus sinensis* y *Citrus paradisi* y propuesta de planta piloto para su producción. Tesis para obtener el título de Licenciado en Química y Farmacia, Universidad del Salvador, El Salvador.
57. Sagarpa. (2015a). Recuperado el 6 de Diciembre de 2016, de <https://www.gob.mx/sagarpa/articulos/naranja-dulce-limon-partido?idiom=es>
58. Sagarpa. (2015b). Situación de la Citricultura en Nuevo León. Cooperación para el Desarrollo Agropecuario, 7-33.
59. SAGARPA/SIAP. (2016). Atlas Agroalimentario 2016. México.
60. Salamanca, G.; Osorio, P, M. y Montoya, M. I. (2010). Elaboración de una bebida funcional de alto valor biológico a base de borojo. Revista Chilena de Nutrición. 37(1). 87-96.
61. Salinas-Lobo, R. (2002). Elaboración de una bebida saborizada con base en agua y sabores artificiales de frutas. Tesis para obtener el título de Ingeniero en Agroindustria. Zamorano Carrera de Agroindustria. Honduras.
62. Santiago- Falcon, M. (2006). Estudio de las propiedades funcionales de la fibra dietética a partir de la cáscara de naranja. Tesis para obtener el título de Químico de Alimentos, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
63. SIAP/SAGARPA (2009). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Reporte Especial Naranja. (2009). Consultado el 3 de Septiembre de 2016, de <https://www.gob.mx/siap/>
64. SIAP/SAGARPA. (2016). Recuperado el 3 de Septiembre de 2016, de <http://infosiap.siap.gob.mx/images/stories/infogramas/100602-reporte-naranja.pdf>
65. Sharapin, N. (2000). Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Colombia. Cba.
66. Sotomayor-Guamán, M. (2015). Valoración de la actividad antioxidante de los productos de naranja. Tesis para obtener el título de Bioquímico Farmacéutico , Universidad Técnica Particular de Loja, , Ecuador.
67. Tenorio-Domínguez, M. (2016). Flavonoides extraídos de la cáscara de naranja tangelo (*Citrus reticulata X Citrus paradisi*) y su aplicación como antioxidante natural en el aceite vegetal sacha inchi (*Plukenetia volubilis*). Scientia Agropecuaria. 7(4):419-431.
68. Universidad Complutense de Madrid. (2014). Prácticas de Química Orgánica I.



- Recuperado el 20 de Agosto de 2017, de https://www.ucm.es/data/cont/docs/410-2014-10-07-guion-practicas-quimica%20organica-segundo-grado_2014-15.pdf
69. Universidad Politecnica de Valencia. (2016). Recuperado el 3 de Septiembre de 2016, de <http://www.euita.upv.es/varios/biologia/temas%20angiospermas/r%c3%b3sidarut%c3%a1ceas/rut%c3%a1ceas.htm>
70. USDA. (2015). Recuperado el 6 de Diciembre de 2016, de http://gain.fas.usda.gov/recent%20gain%20publications/citrus%20annual_madrid_eu-28_12-14-2015.pdf
71. X-rite. (2002). Guía para entender la comunicación del color. Recuperado el 18 de Febrero de 2017, de http://www.mcolorcontrol.com/archivos/l10-001_understand_color_es.pdf