



UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

**ANÁLISIS DE ESTABILIDAD SENSORIAL EN  
ALMACENAMIENTO DE EMULSIONES  
SABORIZADAS DE LA EMPRESA  
DISAROMAS S.A.**

**Carlos Bathuel Ramírez Pineda**

Facultad de Ciencias Agrarias  
Universidad Nacional de Colombia  
Bogotá, Colombia

2021



# **ANÁLISIS DE ESTABILIDAD SENSORIAL EN ALMACENAMIENTO DE EMULSIONES SABORIZADAS DE LA EMPRESA DISAROMAS S.A.**

**Carlos Bathuel Ramírez Pineda**

Trabajo final presentado como requisito parcial para optar al título de:  
**Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

Director (a):

Carlos Alberto Fuenmayor Bobadilla, Ph. D

Línea de Investigación:

Calidad de alimentos

Grupo de Investigación:

Aseguramiento de la calidad de alimentos y desarrollo de nuevos productos

Facultad de Ciencias Agrarias  
Universidad Nacional de Colombia  
Bogotá, Colombia

2021



*Dedico este logro a mi familia que siempre ha estado conmigo en los momentos más difíciles, brindándome apoyo incondicional en todo momento.*



## **Declaración de obra original**

Yo Carlos Bathuel Ramírez Pineda declaro que:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.



---

Carlos Bathuel Ramírez Pineda

Fecha 4/10/2021

## **Agradecimientos**

Agradezco a Dios por permitirme salud para lograr culminar este proyecto.

A mis padres por su apoyo.

A mi esposa Deysi y a mi hija Emma por darme fuerza todos los días.

A Disaromas, que más que un trabajo es una familia.

A mis amigos y compañeros, por estar siempre pendientes de mí. Especialmente a Andrea y Diana, por su ayuda en la investigación del proyecto.



## Resumen

### **Análisis de estabilidad sensorial en almacenamiento de emulsiones saborizadas de la empresa Disaromas S.A**

En el presente trabajo final, se determinó la vida útil sensorial de una emulsión saborizada de la empresa Disaromas S.A. Para ello, muestras de la emulsión fueron almacenadas a tres condiciones de temperatura 8, 20 y 28 °C, durante 155 días en total. Muestras recolectadas en intervalos de muestreo de 15 a 30 días fueron analizadas a través de parámetros de calidad, fisicoquímicos y sensoriales y se empleó un equipo de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas para evaluar las sustancias químicas asociadas al deterioro sensorial de la emulsión saborizada. Se encontró que el sabor graso-rancio fue el descriptor sensorial más relevante de deterioro de la emulsión. Con base en los resultados del análisis cromatográfico, se identificaron ácidos grasos de cadena corta presentes en la fracción volátil y se concluyó que estos ácidos grasos son productos de la degradación de la fracción oleosa de la emulsión saborizada y los responsables del aumento de la intensidad del descriptor sensorial antes mencionado. El estudio permitió establecer que la emulsión saborizada estudiada tiene una vida útil sensorial de 112 días a 28°C, 133 días a 20°C y  $\geq$  155 días a 8°C. Esta información permitirá implementar mejoras en las fichas técnicas del producto y en los procesos de almacenamiento. Adicionalmente, el enfoque metodológico seguido servirá de base para la determinación de futuros desarrollos en la empresa.

**Palabras clave:** Vida útil, Emulsiones saborizadas, GC-MS, Análisis sensorial.

## **Abstract**

### **Sensory stability analysis of Disaromas´ s flavored emulsions in storage**

Sensory shelf life of a flavored emulsion from Disaromas S.A. was determined, as follows, emulsion's samples were stored at three temperature conditions 8, 20 and 28 ° C, for 155 days in total. Samples collected at 15 to 30 days' sampling intervals and were analyzed through quality, physicochemical and sensory parameters and a gas chromatography equipment coupled to mass spectrometry was used to evaluate the chemical substances associated with the sensory deterioration of the flavored emulsion. The fatty-rancid taste was found as a sensory descriptor of deterioration in target emulsion, based on the results of chromatographic analysis, short-chain fatty acids present in the volatile fraction were identified and it was concluded that these fatty acids are degradation products of the oily fraction inside flavored emulsion. At the end of the study, it was found that the studied flavored emulsion has a shelf life of 112 days at 28 ° C, 133 days at 20 ° C and  $\geq 155$  days at 8 ° C. This information will allow to implement improvements in the technical specifications of the product and in the storage processes. Additionally, the methodological approach followed will serve as the basis for determining future developments.

**Keywords: Shelf-life, Flavored emulsions, Sensory analysis, GC-MS.**

# Contenido

|  | Pág.        |
|--|-------------|
| <b>Resumen</b> .....   | <b>IX</b>   |
| <b>Abstract</b> .....  | <b>X</b>    |
| <b>Lista de figuras</b> .....  | <b>XIII</b> |
| <b>Lista de tablas</b> .....   | <b>XIV</b>  |
| <b>Lista de Símbolos y abreviaturas</b> .....  | <b>XV</b>   |
| <b>Introducción</b> .....  | <b>1</b>    |
| <b>1. Objetivos</b> .....  | <b>5</b>    |
| 1.1 Objetivo general .....   | 5           |
| 1.2 Objetivos específicos .....  | 5           |
| <b>2. Marco conceptual</b> .....   | <b>6</b>    |
| 2.1. Saborizantes .....  | 7           |
| 2.1.1 Tipos de saborizantes.....   | 7           |
| 2.2 Emulsiones saborizadas.....  | 8           |
| 2.2.1 Emulsificantes .....   | 9           |
| 2.2.2 Fase oleosa en emulsiones .....  | 9           |
| 2.2.3 Estabilidad de emulsiones .....  | 10          |
| 2.2.3.1 Coalescencia.....  | 11          |
| 2.3 Vida útil .....  | 12          |
| 2.3.1 Vida útil sensorial.....   | 13          |
| <b>3. Materiales y métodos</b> .....   | <b>15</b>   |
| 3.1 Materiales .....   | 15          |
| 3.2 Determinación del perfil sensorial de la emulsión saborizada e identificación de<br>descriptores sensoriales de deterioro .....      | 16          |
| 3.3 Análisis cromatográfico del perfil aromático de la emulsión saborizada e<br>identificación de marcadores químicos de deterioro ..... | 17          |
| 3.4 Prueba de almacenamiento de la emulsión saborizada a distintas condiciones<br>de temperatura .....                                   | 19          |
| 3.4.1 Análisis sensorial.....  | 22          |
| 3.4.2 Análisis fisicoquímico.....  | 23          |
| 3.4.3 Análisis cromatográfico.....   | 23          |
| 3.5 Análisis de datos .....  | 24          |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>4. Resultados y discusión .....</b>   | <b>25</b> |
| 4.1 Perfil sensorial de la emulsión saborizada e identificación de descriptores sensoriales de deterioro .....   | 25        |
| 4.2 Análisis cromatográfico de la emulsión saborizada e identificación de marcadores químicos de deterioro ..... | 26        |
| 4.3 Prueba de almacenamiento de la emulsión saborizada .....   | 28        |
| 4.3.1 Características fisicoquímicas emulsión saborizada inicial .....   | 29        |
| 4.3.2 Efecto del tiempo y temperaturas de almacenamiento en las propiedades de la emulsión saborizante .....     | 29        |
| 4.3.2.1 Comportamiento de propiedades físicas .....  | 29        |
| 4.3.2.2 Comportamiento de fracción volátil .....   | 32        |
| 4.3.3 Determinación de la vida útil sensorial de la emulsión saborizante.....                                    | 35        |
| <b>5. Conclusiones y recomendaciones .....</b>   | <b>39</b> |
| 5.1 Conclusiones .....   | 39        |
| 5.2 Recomendaciones .....  | 40        |
| <b>A. Anexo Cromatogramas típicos de emulsión saborizada estudiada.....</b>                                      | <b>41</b> |
| <b>Bibliografía .....</b>  | <b>43</b> |

## Lista de figuras

|  | Pág. |
|--|------|
| <b>Figura 2-1:</b> Tipos de deterioro de una emulsión.....   | 10   |
| <b>Figura 3-1:</b> Equipos usados para el almacenamiento de la emulsión saborizada. A) Nevera (8 °C), B) Horno (28 °C).....  | 20   |
| <b>Figura 3-2:</b> Cabinas para evaluación sensorial .....   | 22   |
| <b>Figura 4-1:</b> Perfil sensorial de emulsión mora. ....   | 26   |
| <b>Figura 4-2:</b> Análisis de componentes principales de emulsión mora de diferentes lotes de fabricación. ....   | 27   |
| <b>Figura 4-3:</b> Gráfica de densidad en el tiempo de estudio para nevera, horno y anaquel. 29  | 29   |
| <b>Figura 4-4:</b> Gráfica de índice de refracción en el tiempo de estudio para nevera, horno y anaquel.....   | 30   |
| <b>Figura 4-5:</b> Gráfica de viscosidad en el tiempo de estudio para anaquel. ....  | 31   |
| <b>Figura 4-6:</b> Gráfica de pH en el tiempo de estudio para nevera, horno y anaquel. ....  | 32   |
| <b>Figura 4-7:</b> Análisis de componentes principales de composición volátil de la emulsión saborizante almacenada en nevera (8°C) y horno (28°C). ....                 | 33   |
| <b>Figura 4-8:</b> Análisis de componentes principales de composición volátil de la emulsión saborizante almacenada en nevera (8°C), Anaquel (20°C) y horno (28°C). .... | 34   |
| <b>Figura 4-9:</b> Análisis comparativo de resultados de pH y fallo sensorial. ....  | 36   |

## Lista de tablas

|  | <b>Pág.</b> |
|--|-------------|
| <b>Tabla 3-1:</b> Materiales usados para el desarrollo del proyecto. ....                | 15          |
| <b>Tabla 3-2:</b> Reactivos usados para el desarrollo del proyecto. ....                 | 16          |
| <b>Tabla 3-3:</b> Frecuencias de muestreo para determinación de vida útil.....           | 21          |
| <b>Tabla 4-1:</b> Parámetros fisicoquímicos emulsión mora patrón.....                    | 29          |
| <b>Tabla 4-2:</b> Análisis sensorial de emulsión saborizada mora ( $\alpha$ , 0,05)..... | 35          |

## Lista de Símbolos y abreviaturas

### Abreviatura Término

---

|       |   |
|-------|---|
| GC-MS | <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i> , Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas |
| O/W   | <i>Oil in Water</i> , Emulsión aceite en agua   |
| W/O   | <i>Water in Oil</i> , Emulsión agua en aceite   |
| SPME  | Solid phase microextraction, microextracción en fase sólida,  |
| TIC   | Total ion current, Corriente ionica total   |
| cps   | Centipoise  |





# Introducción

La calidad de la mayoría de los alimentos y bebidas disminuye con el tiempo de almacenamiento y la información acerca de estos procesos de deterioro es clave para mantener los mejores atributos posibles a lo largo de la cadena de suministro; sin embargo, existen algunos productos sin una caducidad clara o que, por el contrario, desarrollan sabores deseados durante el tiempo de retención en acopio, siendo un ejemplo de ellos algunos licores destilados whiskies, brandies o vinos (Robertson, 2010).

Cuando un alimento disminuye su calidad se debe estimar un tiempo en el cual los productos son aceptables para el consumo a este tiempo se le conoce como vida útil y se refiere tanto al tiempo en el estante (o anaquel) como al transcurrido luego de ser adquirido por el consumidor. De acuerdo con el Instituto de Tecnólogos de Alimentos (IFT) de EE UU., la vida útil se define como “el período entre la fabricación y la compra al por menor de un producto alimenticio, durante el cual el producto se encuentra en un estado de calidad satisfactoria en términos de valor nutricional, sabor, textura y apariencia (Giménez & Ares, 2019; Robertson, 2010).

En este contexto, un aspecto importante de la calidad de un alimento es que, dentro de su vida útil, el producto debe cumplir con todas las declaraciones dispuestas en la etiqueta, en la ficha técnica o aquellas realizadas como parte de estrategias de mercadeo, entre ellas, valor nutricional, características sensoriales, propiedades físicas y químicas, funcionabilidad y requerimientos microbiológicos (Robertson, 2010). Esto no solamente es cierto para productos terminados y envasados en sus formas de consumo, sino que también es válido para los ingredientes empleados en la fabricación industrial de alimentos procesados, incluyendo los ingredientes secundarios o aditivos, como saborizantes emulsionados, los cuales son de interés en el presente trabajo.

Las emulsiones son mezclas macroscópicamente homogéneas de dos líquidos inmiscibles entre ellos, las cuales pueden entenderse como una dispersión, usualmente en forma de glóbulos, de una de las dos fases (fase dispersa) en la otra (fase continua). Las emulsiones convencionales, son sistemas termodinámicamente inestables ya que la tendencia es regresar al estado de menor energía (dos fases), siendo los principales mecanismos de desestabilización el cremado, la floculación, la coalescencia, la inversión de fases, la maduración de Ostwald (especialmente en el caso de emulsiones con tamaño de glóbulos de 100 nm o menos, conocidas como nanoemulsiones), entre otras (Mc Clements, 2005).

Un ejemplo del uso de emulsiones en la industria de alimentos son las emulsiones saborizadas, o saborizantes emulsificados. Los saborizantes son sustancias o mezclas de sustancias empleadas como aditivos y que tienen propiedades aromáticas o sápidas capaces de conferir o reforzar el aroma y el sabor de los alimentos. Estos aditivos contienen compuestos relacionados con el aroma (conocidos también como base aromática) y pueden contener, o no, sustancias sápidas dulces, saladas, ácidas, amargas, umami, o sustancias generadoras de sensaciones trigeminales (sustancias picantes, astringentes, refrescantes). De acuerdo con su origen pueden clasificarse como saborizantes naturales y saborizantes sintéticos (IOFI, 2020). También se definen los saborizantes idénticos al natural como una sub-clase de saborizantes sintéticos, correspondiente a mezclas de compuestos relacionados con el aroma, obtenidos por síntesis o aislados por procesos químicos que presentan una estructura química idéntica a la de las sustancias presentes en las materias primas naturales cuyo perfil sensorial se intenta recrear.

Debido a las características fisicoquímicas disímiles de los distintos componentes de las mezclas saborizantes, en el caso de los saborizantes empleados en bebidas estos suelen estar en la forma de emulsión, típicamente de tipo aceite en agua (O/W). En la definición de vida útil de una emulsión, a los mecanismos de inestabilidad de la dispersión, mencionados anteriormente, se suman los procesos químicos y bioquímicos que pueden causar deterioro de los distintos componentes contenidos en la emulsión, en particular de los compuestos relacionados con el aroma. Este tipo de deterioro, debido al rol de saborizante, suele ser muy específico según la formulación y puede ser mucho más difícil de medir, predecir y modelar.

Dentro de los productos fabricados por Disaromas S.A., que es una empresa colombiana, fundada en 1982, dedicada a la creación, desarrollo, fabricación y comercialización de sabores, fragancias, estabilizantes y colorantes y que además, cuenta con puntos de venta a nivel nacional e internacional (*Productora Nacional de Aromas Fragancias y Colorantes, D. S. A., 2013*), se encuentran las emulsiones saborizadas O/W. Estas están destinadas, principalmente, para elaboración de bebidas saborizadas no gasificadas y representan una importante línea de negocio. El sabor de la emulsión y por ende su composición, está ligado a las especificaciones del cliente según la aplicación, p.ej. bebidas saborizadas tipo citrus, mora, frutos rojos, entre otros. El proceso de fabricación de las emulsiones inicia con la homogenización de los saborizantes en medio oleoso y una posterior mezcla en agitación fuerte y constante con la parte acuosa. Terminado el proceso de mezcla, se envían muestras de las emulsiones preparadas a análisis de control calidad y evaluación sensorial. Por último, son comercializadas, dependiendo de las especificaciones del cliente, en envases especiales para alimentos en presentaciones de 1, 5, 10, o 25 kg.

En Disaromas, la vida útil de las emulsiones saborizadas fabricadas se evalúa con base en atributos sensoriales, sin embargo, no se cuenta con la documentación confirmatoria requerida para la expresión de vida útil sin ambigüedades, ni se conocen con certeza los marcadores químicos de deterioro. Por otra parte, si bien las emulsiones saborizadas han sido ampliamente estudiadas y empleadas en la industria de alimentos, son escasos los reportes disponibles en la literatura con estudios detallados de un producto emulsificado y saborizado antes de ser procesado para venta como bebida en términos de composición química volátil y estabilidad.

Con base en lo anterior, el presente trabajo final tuvo como objetivo establecer el efecto del tiempo y la temperatura sobre los parámetros de calidad sensorial de una emulsión saborizada de la empresa Disaromas S.A. con el fin de determinar su estabilidad en distintas condiciones de almacenamiento y, de esta manera, contribuir al conocimiento de emulsiones saborizadas y su proceso de degradación.

-



# **1. Objetivos**

## **1.1 Objetivo general**

Establecer el efecto del tiempo y la temperatura sobre los parámetros de calidad sensorial de una emulsión saborizada de la empresa Disaromas S.A. con el fin de determinar su estabilidad en distintas condiciones de almacenamiento.

## **1.2 Objetivos específicos**

- Establecer el perfil sensorial descriptivo y de compuestos volátiles del aroma iniciales de una emulsión saborizada considerada como patrón de producto.
- Estudiar la variación de la calidad en la emulsión saborizada a través de parámetros sensoriales, fisicoquímicos y de composición química, a través de una prueba acelerada de almacenamiento.
- Deducir la vida útil de la emulsión saborizada estudiada.

## 2. Marco conceptual

Las emulsiones se utilizan ampliamente en diversos campos, como alimentos, agroquímicos y medicina. Una emulsión es un sistema termodinámicamente inestable de dos tipos de líquidos incompatibles, en el cual uno de los dos líquidos (fase dispersa) está disperso en el otro (fase continua), generalmente con la ayuda de compuestos que disminuyen la inestabilidad conocidos como emulsionantes o emulsificantes. Según las diferencias en la fase continua, estas se pueden clasificar en emulsiones de aceite en agua (O / W), emulsiones de agua en aceite (W / O) y emulsiones múltiples. La estabilidad de una emulsión depende de factores como el método de preparación, el tipo y concentración del emulsionante, la temperatura y el pH del medio. En una emulsión pueden ocurrir una serie de fenómenos que aportan a la inestabilidad de la misma en términos de la estabilidad de la dispersión homogénea de la fase dispersa en la fase continua, los cuales incluyen la maduración, formación de crema o sedimentación de Ostwald, floculación y coalescencia (Mc Clements, 2005).

En el sector alimentario las emulsiones de aceite en agua son más comunes y entre los productos más conocidos que son o contienen emulsiones están leches, sopas, salsas, entre otros (Petrut et al., 2016). Las emulsiones saborizadas son productos químicos que no tienen ningún aporte nutricional y cuya función es proporcionar sabor al producto que será consumido posteriormente, en otras palabras, las emulsiones saborizadas son una materia prima importante en productos procesados y buscan únicamente satisfacer la expectativa del consumidor en términos de sabor.

Los saborizantes ayudan a mantener los perfiles de sabor deseados y, además, el uso de saborizantes puede compensar las limitaciones de suministro de productos naturales al ayudar a obtener el perfil de sabor deseado que los consumidores reconocerán (IOFI, 2020). El término “mezcla saborizante” es consistente con el término “saborizantes” tal como se define en las directrices del Codex Alimentarius. Además, de sustancias

volátiles del aroma, algunas más complejas que otras, las cuales son la principal “herramienta” para lograr el sabor que se desea simular, los saborizantes contienen otros componentes, como son los solventes, emulsificantes y antioxidantes que se requieren para permitir que la mezcla saborizante funcione adecuadamente en el alimento al cual es añadido (IOFI, 2020).

A continuación, se presentan, de manera muy breve, algunos conceptos importantes en el desarrollo del trabajo.

## **2.1. Saborizantes**

Los saborizantes, como se ha mencionado, son mezclas de compuestos de grado alimentarios que pueden dar un sabor particular a un producto. Los avances en las tecnologías acerca de agentes alimentarios permiten a las industrias de manufactura formular preparaciones alimentarias atractivas para los consumidores. El uso de sabores externos en productos de consumo se justifica debido a que los consumidores se sienten atraídos por su agrado al producto mediante sus sentidos, productos deliciosos y atractivos organolépticamente brindan oportunidades satisfactorias en los mercados (Ramesh & Muthuraman, 2018).

Los ingredientes alimentarios usados en los saborizantes, ya sea solos o en combinación con otros compuestos, por ejemplo, solventes, potenciadores, entre otros, son los encargados de dar sabor al producto final, la procedencia de los ingredientes alimentarios puede variar de natural a sintética, siendo la ruta sintética la de mayor economía para las industrias de manufactura (Ramesh & Muthuraman, 2018). Cabe destacar que los aditivos alimentarios aumentan la vida útil y la estabilidad de los productos finales permitiendo abastecer los mercados por un mayor tiempo.

### **2.1.1 Tipos de saborizantes**

En general los saborizantes se pueden dividir en naturales y sintéticos. Si bien los componentes de los saborizantes pueden ser seguros los sabores naturales suelen ser considerados o percibidos como más saludables que los artificiales y, en muchos casos, la calidad del producto mejora al usar sabor natural. Además, algunos ingredientes

alimentarios naturales poseen cualidades antioxidantes, antiinflamatorias, entre otras. Por otra parte, los sabores artificiales son económicos, sensorialmente atractivos, estables e independientes de limitaciones agrícolas, sin embargo, existen posibles riesgos a la salud. que no han sido estudiados a totalidad (Ramesh & Muthuraman, 2018). Adicionalmente, en algunos marcos regulatorios se reconocen los saborizantes idénticos al natural como una sub-clase de saborizantes sintéticos, correspondiente a mezclas de compuestos relacionados con el aroma, obtenidos por síntesis o aislados por procesos químicos que presentan una estructura química idéntica a la de las sustancias presentes en las materias primas naturales cuyo perfil sensorial se intenta recrear (Prieto et al., 2019).

## **2.2 Emulsiones saborizadas**

Las emulsiones son ampliamente utilizadas en la industria debido a que logran una incorporación de agentes activos en mezclas que requieren un tratamiento posterior, los campos de aplicación más importantes son el farmacéutico y el alimentario (Tadros, 2009).

Las emulsiones contienen tres ingredientes básicos: aceite, agua y emulsificante, con el fin de buscar estabilidad y aplicabilidad se puede incluir en la formulación modificadores de textura, controles de pH, antioxidantes o agentes de ponderación. Dentro de la emulsión siempre se encuentra una fase dispersa (menor cantidad) y otra dispersante (mayor cantidad), en términos generales se habla de una emulsión aceite en agua cuando se cuenta con mayor cantidad de agua que de aceite en la formulación y por el contrario una emulsión agua en aceite se forma cuando se cuenta con una mayor cantidad de aceite que de agua (Mc Clements, 2005).

En el caso de las emulsiones saborizadas, estas se caracterizan por la incorporación de los compuestos saborizantes, generalmente compuestos volátiles con aroma pertenecientes a distintas clases de compuestos orgánicos, y en algunos casos colorantes, todo con el fin de presentar un producto comercial con mejores características en el mercado (Mc Clements, 2005). El proceso de fabricación de este



tipo de emulsiones inicia con la homogenización de los saborizantes en un medio oleoso, seguido de una posterior mezcla en agitación fuerte y constante con la parte acuosa, conteniendo el agente emulsificante, para lograr una dispersión adecuada de las dos fases.

### **2.2.1 Emulsificantes**

Los emulsionantes o emulsificantes son moléculas tensoactivas que se mantiene en la superficie de las gotas de fase dispersa formadas durante la homogenización de una emulsión. La participación de los emulsificantes en las emulsiones es fundamental ya que facilitan la descomposición en gotas de la fase dispersa, forman una membrana protectora evitando que las gotas se agreguen y se separen de la fase dispersante. (Mc Clements & Decker, 2000)

### **2.2.2 Fase oleosa en emulsiones**

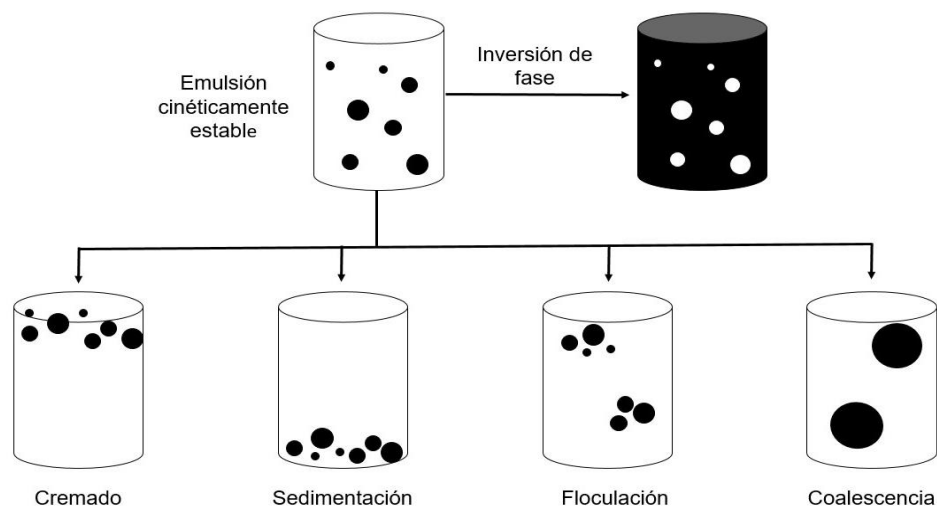
En la industria alimentaria para la fabricación de emulsiones se usan principalmente los triacilgliceroles (Mc Clements, 2005). Los triacilgliceroles son ésteres formados de una molécula de glicerol y tres moléculas de ácidos grasos; los ácidos grasos se diferencian por el número de carbonos que forman la molécula siendo está la principal característica estructural, también existen dos posibilidades más: una sería insaturaciones en la cadena de carbonos y otra sería derivaciones en la cadena principal.

Hay una gran variedad de grasas y aceites comestibles para su uso en emulsiones alimentarias y la elección depende de sus características nutricionales, fisicoquímicas y sensoriales deseadas para un producto específico. Algunas de las características más importantes a considerar son: perfil nutricional, perfil del sabor, comportamiento de cristalización, estabilidad de oxidación, propiedades fisicoquímicas en general y calidad de aceite (Mc Clements, 2005). Adicionalmente, en la industria de alimentos, otras consideraciones como el costo, la disponibilidad y el impacto ambiental, pueden ser relevantes en la elección de esta fase.

### 2.2.3 Estabilidad de emulsiones

Cuando hablamos de estabilidad en una emulsión hacemos referencia la capacidad de la emulsión para resistir cambios en sus propiedades a largo plazo, es decir, cuanto más estable es la emulsión más lentamente cambian las propiedades. La inestabilidad de las emulsiones, en términos de separación de las fases, puede clasificarse en los siguientes métodos: cremado, floculación, coalescencia, coalescencia parcial, inversión de fase y maduración de Ostwald (Mc Clements, 2005).

**Figura 2-1:** Tipos de deterioro de una emulsión



Fuente: Elaboración propia, basado en (Mc Clements, 2005)

Como se observa en la **Figura 2-1**, una parte esencial de la formulación que contribuye en la degradación de la emulsión es la fase dispersa; en el caso de las emulsiones aceite en agua, son las grasas, aceites o lípidos dispersos en la emulsión los que terminan deteriorando la emulsión y no solo por separación de fases, sino que también se puede observar una oxidación gradual del lípido contenido en la emulsión (Mc Clements & Decker, 2000).

Durante la oxidación de lípidos, ocurren simultáneamente varias reacciones de descomposición lo que conduce a la formación de una mezcla compleja de productos de reacción entre ellos: aldehídos, cetonas, alcoholes e hidrocarburos, entre otros (Mc Clements, 2005). Muchos de los productos de degradación de las grasas son volátiles y

tensoactivos, por lo tanto, dependiendo de su preferencia se acumularían en la fase oleosa o acuosa de una emulsión, además de proveer características no deseadas en olor y sabor a la emulsión.

### **2.2.3.1 Coalescencia**

La coalescencia es un defecto frecuente en las emulsiones de aceite en agua, siendo un defecto visible en la emulsión preparada con una cantidad insuficiente de emulsificante o por desgaste de la película que ayuda a cubrir las gotas aceite dispersas en el agua (Mc Clements, 2005).

La falta de emulsionante en un sistema para cubrir completamente todas las interfaces aceite-agua presentes da como resultado espacios en las membranas interfaciales que rodean las gotas. La coalescencia podría ocurrir si dos espacios en gotas diferentes se acercaran. Es probable que la falta de emulsificante sea más evidente durante la homogeneización, donde continuamente se crean nuevas superficies por las intensas fuerzas generadas dentro de un homogeneizador y como resultado se crea una inestabilidad por coalescencia en la emulsión (Mc Clements, 2005).

Otro camino que puede llevar a la coalescencia en una emulsión de aceite-agua es el estiramiento de película. Cuando se aplica una tensión suficientemente grande en paralelo a una interfaz que está cubierta con emulsionante, algunas de las moléculas de emulsionante pueden ser arrastradas a lo largo de la interfaz dejando algunas regiones donde hay un exceso de emulsionante y otras regiones donde hay un agotamiento de emulsionante. La coalescencia podría ocurrir entonces si dos regiones empobrecidas en emulsionante en diferentes gotitas se acercaran durante un encuentro entre gotas. Es probable que este proceso sólo sea importante si la adsorción del emulsionante es relativamente lenta en comparación con la duración de las tensiones aplicadas y la frecuencia de encuentro de las gotas; de lo contrario, el emulsionante tendría tiempo de adsorberse en las superficies de las gotas y cubrir los huecos. Es probable que el estiramiento de la película sea importante en emulsiones que están sujetas a intensas tensiones mecánicas, especialmente si las gotitas están muy próximas, por ejemplo, en emulsiones floculadas o concentradas (Mc Clements, 2005).

La ruptura de película de emulsionante es otro camino para la aparición de la coalescencia en la emulsión, para explicar el proceso de ruptura hay que tener en cuenta que si se aplica una tensión paralela a una interfaz que se compone de una capa altamente cohesiva de moléculas emulsionantes puede causar que la membrana interfacial se rompa, dejando parches expuestos sin emulsionante que promueven la coalescencia. Es probable que este mecanismo sea importante en sistemas donde las membranas interfaciales son altamente cohesivas, por ejemplo, membranas proteicas con entrecruzamiento extenso. La ruptura se da particularmente bajo altas tensiones mecánicas aplicadas, por ejemplo, cizallamiento, homogeneización, centrifugación. Es probable que sea menos importante en emulsiones diluidas, no floculadas y en reposo porque las fuerzas generadas en estos sistemas no son lo suficientemente fuertes como para romper las membranas interfaciales (Mc Clements, 2005).

## **2.3 Vida útil**

La vida útil de un alimento es el periodo de tiempo en el que la calidad del alimento es aceptable en términos de ingesta, nutrición y perfil organoléptico, es decir, si un alimento conserva durante un periodo de tiempo su calidad sensorial, rendimiento y cualquier otro beneficio asociado al alimento, se puede decir que el producto está dentro de su vida útil (Giménez & Ares, 2019).

Diversas fuentes asocian calidad del alimento únicamente a sus atributos sensoriales, sin embargo, el término calidad del alimento puede definirse como la aceptación de las características percibidas de un producto por los consumidores, estas características incluyen percepción de la inocuidad, conveniencia, costo, entre otros (Robertson, 2010).

La vida útil se determina por varios métodos, a saber: análisis sensorial, fisicoquímico y microbiológico, se comparan muestras consideradas como patrones contra muestras que se almacenan durante un periodo de tiempo a estudiar (Giménez et al., 2012). Por otra parte, las metodologías para determinación de vida útil son: análisis de calidad, límite de aceptabilidad, punto de corte y análisis de supervivencia. Cada método proporciona

---

información válida y estadísticamente confiable para el análisis de vida útil (Giménez et al., 2012).

### **2.3.1 Vida útil sensorial**

El análisis sensorial de un producto busca perfilar el alimento a estudiar y con ello encontrar un cambio que describa cuándo un producto está en condiciones aceptables y cuándo no (Giménez et al., 2012). La diferencia se puede especificar basado en uno o varios de los siguientes ejemplos:

- Aumento o disminución fija en la intensidad promedio de un atributo sensorial
- Tiempo necesario para alcanzar una calidad general no deseada
- Diferencia apenas perceptible, definida como el período de tiempo necesario para distinguir el producto que se está evaluando del producto fresco
- Diferencias significativas en el perfil de análisis descriptivo del producto fresco
- Correlacionar datos analíticos y afectivos para establecer un tiempo de falla
- Puntuaciones de agrado generales predeterminadas del consumidor, rechazo a consumir o rechazo a comprar el producto

De acuerdo con la organización internacional de normalización (ISO, por sus siglas en inglés), las pruebas sensoriales pueden dividirse en tres grandes grupos discriminantes, escala y categoría, y descriptivas (ISO 6658, 2017). Las comparaciones pareadas son pruebas discriminatorias que se utilizan cuando se desea determinar si dos muestras difieren en una característica sensorial específica, al evaluador se le presentan dos muestras y se le pide identificar la muestra que es más alta en el atributo sensorial especificado (Giménez et al., 2012).

Las evaluaciones triangulares también son pruebas discriminantes donde los evaluadores identifican entre tres muestras codificadas la muestra diferente, la presentación se realiza con dos muestras iguales y una diferente. Cada prueba se asocia a un análisis que describe cuanta probabilidad de diferencia existe entre las muestras (ISO 6658, 2017).



## 3. Materiales y métodos

### 3.1 Materiales

Los materiales necesarios para el desarrollo del presente trabajo final se presentan en la **Tabla 3-1**. Los materiales y equipos fueron suministrados por la empresa Disaromas S.A., dentro de sus instalaciones en la sede de Bogotá.

**Tabla 3-1:** Materiales usados para el desarrollo del proyecto.

| Material                        | Descripción  | Cantidad     |
|---------------------------------|--|--------------|
| Emulsión saborizada             | Emulsión tipo O/W. Sabor tipo mora.<br>Producto recomendado para aplicación en bebidas, yogures y bebidas gasificadas. Fabricada el día de inicio del estudio. Fecha de vencimiento estimada 12 meses. | 5 kg         |
| Frascos de vidrio con tapa      | Recipientes de almacenamiento para el estudio, capacidad 25 mL   | 183 unidades |
| Garrafa plástica                | Capacidad 5 kg   | 1 unidad     |
| Bolsas plásticas termosellables | Necesarios para evitar deterioro por humedad   | 30 unidades  |
| Copas desechables               | Recipientes para evaluación sensorial, capacidad 30 mL   |              |
| Vasos de precipitado            | Capacidad de 600 mL  | 4 unidades   |
| Vaso metálico                   | Capacidad de 2 L   |              |
| Agitador magnético              |  |              |

**Tabla 3-1:** Continuación

| <b>Material</b>              | <b>Descripción</b>   | <b>Cantidad</b> |
|------------------------------|----------------------|-----------------|
| Varillas de agitación        |                      |                 |
| Tapa rosca con <i>septum</i> | Para viales de 15 mL | 12 unidades     |
| Viales ámbar                 | Capacidad de 15 mL   | 12 unidades     |

El presente trabajo requirió el uso de las sustancias químicas listadas en la **Tabla 3-2**. Las sustancias de grado alimenticio se emplearon en la preparación de las muestras para la evaluación sensorial y el patrón se usó para la cuantificación durante el análisis cromatográfico.

**Tabla 3-2:** Reactivos usados para el desarrollo del proyecto.

| <b>Reactivos</b> | <b>Pureza</b> | <b>Grado</b>            |
|------------------|---------------|-------------------------|
| Azúcar           | ≥ 90 %        | Alimenticio             |
| Ácido cítrico    | ≥ 95 %        | Alimenticio             |
| n Tetradecano    | ≥ 99 %        | Patrón de cromatografía |

La metodología se realizó con ayuda del laboratorio de análisis sensorial y del laboratorio de cromatografía de la empresa Disaromas S.A. sede Bogotá, los ensayos fueron aprobados y respaldados por la gerencia general.

## **3.2 Determinación del perfil sensorial de la emulsión saborizada e identificación de descriptores sensoriales de deterioro**

La determinación del perfil sensorial de la emulsión saborizada se realizó en su forma ya aplicada al producto para el cual está diseñada como ingrediente, es decir, en una bebida endulzada con sabor a mora. Es importante mencionar que, si bien en el trabajo es de interés el almacenamiento de la emulsión saborizada como tal, no es pertinente realizar



---

pruebas sensoriales con panelistas directamente en el ingrediente sino en su forma aplicada. El perfil fue determinado con un panel sensorial empleando ocho (8) jueces entrenados de la empresa Disaromas S.A. Con el fin de determinar no solamente los principales descriptores sensoriales de la emulsión sino también los marcadores o descriptores sensoriales de deterioro, se llevó a cabo esta etapa empleando dos muestras de la emulsión saborizada de idéntica formulación: una emulsión saborizada recientemente preparada (tiempo 0 días de almacenamiento) y una almacenada en condiciones de anaquel por más de un año (tiempo 357 días de almacenamiento).

Para los ensayos sensoriales se prepararon las dos bebidas saborizadas de mora de la siguiente manera: para la formulación se preparó una solución base de 1,5 L de 10,5 °Brix y 0,2 % de ácido cítrico en agua en un vaso metálico de 2 L agitando en una plancha de agitación por 30 min para asegurar la homogeneidad de la mezcla. Posteriormente, en un vaso de precipitado de 600 mL, se agregó cada emulsión saborizada a 500 mL de solución base en una proporción de 0,3% y se agitó por 30 min para garantizar homogeneidad.

Se presentaron a los jueces muestras 30 mL de las dos bebidas saborizadas y se les solicitó evaluarlas y encontrar por consenso descriptores que fuesen apropiados para perfilar las bebidas evaluadas y describir sus diferencias en términos de defectos asociados con deterioro. En total, los jueces encontraron nueve (9) descriptores, incluyendo intensidad global de la bebida; posteriormente calificaron las dos muestras de bebida usando los nueve descriptores encontrados por consenso en una escala no estructurada de 0 a 10, donde 0 era nada intenso y 10 era extremadamente intenso.

### **3.3 Análisis cromatográfico del perfil aromático de la emulsión saborizada e identificación de marcadores químicos de deterioro**

Con el fin de analizar el perfil aromático de la emulsión saborizada y determinar los compuestos químicos del aroma asociados a cambios durante el almacenamiento (marcadores químicos del deterioro del perfil aromático), se analizaron por cromatografía cuatro muestras de la emulsión saborizada de diferentes lotes de fabricación: una

recientemente preparada (tiempo 0 días de almacenamiento) y muestras almacenadas en condiciones de anaquel por distintos periodos (tiempo 15, 141 y 357 días de almacenamiento).

Se usó un cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas GC-MS (Agilent Technologies GC 7890A, MS 5975C), equipado con un puerto de inyección *split/splitless* manual (250°C, relación *split* 1:30), con una columna polar DB-WAX (J&W Scientific, Folsom, CA, EE.UU., 60m x 0.25mm x 0.25µm) usando helio como gas de arrastre y una rampa de calentamiento de 80°C (2 min) @7°C/min, 150°C (8 min) @4°C/min, 250°C (25 min).

Como la emulsión es una mezcla de agua, aceite y compuestos químicos que imparten aroma (composición volátil), se hizo necesario realizar una extracción para analizar la composición volátil de la emulsión saborizada. La extracción se realizó mediante la técnica de micro extracción en fase sólida (SPME, por sus siglas en inglés). La fibra de SPME usada fue de 65µm PDMS/DVB, las condiciones de extracción fueron 80°C, 20 min de pre-equilibrio, 15 min de extracción y 10 min de desorción, se usaron viales ámbar de 15 mL y 2 g de muestra para el análisis. Se usó un patrón externo de n-tetradecano de 1000 ppm para la cuantificación de la fracción volátil de la emulsión analizada.

Los espectros de masas y corrientes iónicas totales reconstruidas (TIC, *Total Ion Current*, por sus siglas en inglés) se obtuvieron por impacto de electrones con energía de 70 eV. Las temperaturas de cámara de ionización, línea de transferencia y cuadrupolo se mantuvieron constantes a 230, 280 y 150 °C, respectivamente. Los espectros se obtuvieron con un analizador cuadrupolar, por medio de barrido automático de frecuencia (*full scan*) a 4,75 *scan s*<sup>-1</sup>, en el rango de m/z 40-350. Los datos de espectros se analizaron con el sistema de datos *Chemstation* (G1701EA MSD). Se usaron las bases de datos Adams, NIST y una interna creada por la empresa que se registra como DISAROMAS, como parámetros de identificación se ocuparon los tiempos de retención y fragmentogramas de masas.

A partir del área bajo la curva de los picos cromatográficos se calculó la concentración en relación usando el estándar externo de n-tetradecano (1000 mg/L) y se calcularon las

concentraciones relativas de cada compuesto identificado (**Ecuación 1**) y se realizaron las comparaciones lo cual permitió definir marcadores químicos de deterioro como las sustancias que cambiaron en mayor proporción en las emulsiones almacenadas en distintos tiempos.

$$C_{relativa_{analito, ppm}} = \frac{C_{patrón, ppm} * \text{Área}_{analito}}{\text{Área}_{patrón}} \quad \text{Ecuación 1}$$

### 3.4 Prueba de almacenamiento de la emulsión saborizada a distintas condiciones de temperatura

Los cambios sensoriales, fisicoquímicos y de composición química volátil a diferentes temperaturas de almacenamiento, se estudiaron en un único lote de emulsión saborizada preparada y almacenada a tres distintas condiciones térmicas.

El lote de emulsión saborizada se dispuso en frascos de vidrio de 25 mL (tres por cada tiempo de almacenamiento y por cada temperatura). Por las condiciones en las que el producto es almacenado en condiciones reales, la humedad y la luz no se consideraron en este estudio como variables de interés. Por ello, para garantizar que no hubiese ningún efecto de estas, se realizó un sellado al vacío de las muestras envasadas en las botellas de vidrio de 25 mL en bolsas plásticas termosellables de alta barrera al agua y se aisló de la luz directa.

Cada paquete de tres muestras se almacenó en una de tres condiciones distintas y se retiró después de un cierto tiempo, de acuerdo con el periodo de muestreo (0 a 15 días). Las condiciones del ensayo fueron elegidas para cubrir el mayor intervalo posible de condiciones reales, teniendo en cuenta que este tipo de ingredientes suele almacenarse en temperaturas de entre 8°C y 28°C, de la siguiente manera:

**1) Temperatura de refrigeración (nevera).** Se usó un refrigerador marca *Lassele*, modelo LRF-1382 PC, serie 2271AG900002 y se ajustó la temperatura a 8°C (**Figura 3-1 A**). La condición de nevera se usó como patrón en este estudio, cabe aclarar que se confirmó el poco deterioro en esta condición con los ensayos cromatográficos y sensoriales en los periodos de observación.

**2) Temperatura alta (horno).** Se empleó una temperatura de trabajo fue de 28°C y se usó un horno *Memmert*, modelo UNB-400, serie DIN EN60529-IP-20 (**Figura 3-1 B**)

**3) Temperatura de anaquel.** Las muestras fueron puestas a condiciones ambientales en la bodega de almacenamiento de la empresa y en el empaque de despacho, en esta condición se almacenó el 40% de la emulsión estudiada (2 kg), la temperatura promedio de almacenamiento en anaquel fue 20°C ± 1,5°C, con un intervalo de variación de 15°C a 22°C durante el tiempo del estudio.

**Figura 3-1:** Equipos usados para el almacenamiento de la emulsión saborizada. A) Nevera (8 °C), B) Horno (28 °C).



Fuente: Fotografía tomada por el autor.

Pasado el tiempo de almacenamiento se retiraron las muestras y se realizaron pruebas sensoriales de discriminación triangular, pruebas de análisis fisicoquímico (pH, viscosidad e índice de refracción) y pruebas cromatográficas, con distintas frecuencias.

La recolección de las muestras y los análisis correspondientes por muestreo se presentan en la **Tabla 3-3**, en total se realizaron 26 muestreos en un periodo de estudio de 155 días.

**Tabla 3-3:** Frecuencias de muestreo para determinación de vida útil

| Periodo | Tiempo |      | Análisis* |               |               |
|---------|--------|------|-----------|---------------|---------------|
|         | Meses  | Días | Sensorial | Cromatografía | Fisicoquímico |
| 0       | 0,0    | 0    | X         | X             | X             |
| 1       | 0,5    | 14   | X         |               | X             |
| 2       | 0,9    | 28   | X         | X             | X             |
| 3       | 1,2    | 35   | X         |               | X             |
| 4       | 1,4    | 42   | X         |               | X             |
| 5       | 1,6    | 49   | X         |               | X             |
| 6       | 2,9    | 86   | X         |               | X             |
| 7       | 2,1    | 63   | X         | X             | X             |
| 8       | 2,3    | 70   | X         |               | X             |
| 9       | 2,6    | 77   | X         |               | X             |
| 10      | 2,8    | 84   | X         | X             | X             |
| 11      | 3,0    | 91   | X         |               | X             |
| 12      | 3,3    | 98   | X         |               | X             |
| 13      | 3,5    | 105  | X         |               | X             |
| 14      | 3,7    | 112  | X         | X             | X             |
| 15      | 3,9    | 117  | X         | X             | X             |
| 16      | 4,0    | 119  | X         | X             | X             |
| 17      | 4,1    | 124  | X         |               |               |
| 18      | 4,2    | 126  | X         |               |               |
| 19      | 4,4    | 131  | X         |               |               |
| 20      | 4,4    | 133  | X         |               |               |
| 21      | 4,6    | 138  | X         |               |               |
| 22      | 4,7    | 140  | X         |               |               |
| 23      | 4,8    | 145  | X         |               |               |
| 24      | 4,9    | 147  | X         |               |               |
| 25      | 5,1    | 153  | X         |               |               |
| 26      | 5,2    | 155  | X         |               |               |

\**Sensorial*: pruebas triangulares de discriminación respecto a la muestra almacenada en refrigeración (sección 3.4.1); *cromatografía*: análisis de GC-MS (sección 3.3); *fisicoquímico*: pH, viscosidad e índice de refracción (sección 3.4.2).

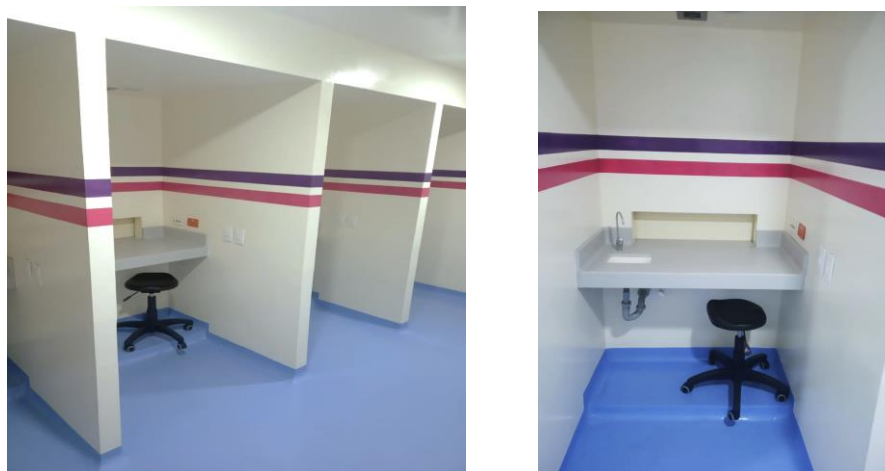
### 3.4.1 Análisis sensorial

Para la evaluación sensorial se prepararon bebidas saborizadas con las emulsiones saborizadas almacenadas en las diferentes condiciones de almacenamiento como se muestra en la sección 3.2. Las muestras de emulsión saborizada pasado el tiempo de almacenamiento fueron dejadas a condiciones ambientales por 6 horas antes de realizar la preparación de la bebida saborizada, lo anterior con el fin de estabilizar las temperaturas de las emulsiones saborizadas almacenadas.

El análisis de bebida saborizada se realizó con el ensayo triangular (NTC 2681, 2006), para encontrar diferencia entre el patrón (emulsión almacenada en refrigeración o nevera) y las muestras almacenadas en horno o anaquel; en total se usaron de 24-30 juicios para formular las conclusiones. Las bebidas fueron presentadas aleatoriamente y con una codificación de tres cifras entre números y letras. Los resultados sobre la diferencia entre el patrón y las muestras almacenadas se tomaron teniendo en cuenta una confianza de 95% ( $\alpha$ , 0,05).

Las pruebas de evaluación sensorial se realizaron en cabinas independientes dispuestas por la empresa Disaromas S.A. (Véase **Figura 3-2**).

**Figura 3-2:** Cabinas para evaluación sensorial



Fuente: Fotografía tomada por el autor.

### 3.4.2 Análisis fisicoquímico

Se realizaron pruebas de pH, índice de refracción, densidad y viscosidad. Los parámetros fisicoquímicos se determinaron directamente en la emulsión saborizada, es decir, no se diluyeron las muestras para los ensayos.

El pH se determinó en un potenciómetro marca Hach, modelo HQ40d, serie 141200015044. La densidad se realizó con picnómetros certificados de 10 mL y con ayuda de una balanza analítica Mettler Toledo, modelo PB303S, serie 1127330246.

El índice de refracción se determinó en un refractómetro de mesa Mettler Toledo, modelo RE400, serie MAD 76C7.

Por último, para la determinación de viscosidad, se usó un viscosímetro Brookfield, modelo LDV-II+, serie DE 39410, la aguja fue la número 1 con un rango de medición de 10-100 cps. Debido a las condiciones operacionales del equipo se requirieron 100 g de emulsión saborizada para realizar el ensayo de viscosidad, esto limitó la prueba debido a que únicamente se contaba con 5 kg de emulsión para todos los ensayos y determinaciones del presente trabajo final, se optó por excluir la prueba de viscosidad a la condición de temperatura de anaquel y se observó su comportamiento al final del estudio.

### 3.4.3 Análisis cromatográfico

Como se mencionó en la sección 3.3, se usó un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas para realizar la identificación de los compuestos volátiles de la emulsión saborizada, el método empleado para la extracción de la fracción volátil se describe en la sección 3.3, las muestras estudiadas fueron las que de acuerdo con el análisis sensorial presentaban alguna inconsistencia con el sabor del patrón de bebida saborizada. Se analizaron siete muestras en total en todo el periodo de estudio de 155 días, los periodos de almacenamiento analizados por cromatografía se presentan en la **Tabla 3-3**.

### **3.5 Análisis de datos**

Para los resultados de análisis cromatográfico se realizó un análisis de componentes principales para identificar similitudes entre las muestras de emulsión saborizada, se tomaron como variables cada sustancia química identificada en el perfil cromatográfico.

El análisis de datos de las pruebas de evaluación sensorial se realizó teniendo en cuenta la normatividad vigente para prueba triangular (NTC 2681, 2006), se usó una confianza de 95% para la toma de decisiones. La vida útil de la emulsión saborizada se calculó con base en el rechazo de la bebida saborizada durante la evaluación sensorial, finalmente se calculó la relación existente entre el deterioro acelerado por el horno y el deterioro en anaquel.



## 4. Resultados y discusión

A continuación, se presentan los resultados del trabajo final teniendo en cuenta el orden en el que se realizaron las actividades para cumplir el objetivo principal de la investigación, es decir, determinar la vida útil de la emulsión saborizada.

### 4.1 Perfil sensorial de la emulsión saborizada e identificación de descriptores sensoriales de deterioro

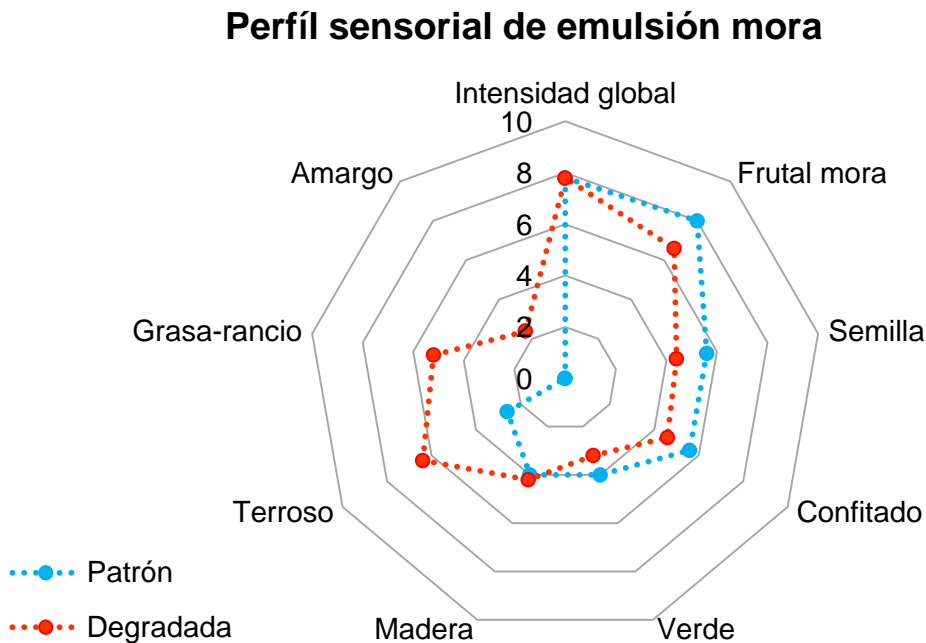
Se usó un panel entrenado de ocho jueces para la evaluación de dos muestras de emulsión saborizada a mora, la primera correspondió a una muestra recién fabricada (o patrón) y la segunda considerada como muestra deteriorada, por estar fuera de su vida útil estimada (357 días). Esto permitió realizar un perfil descriptivo de la emulsión saborizada e identificar los descriptores sensoriales del deterioro. Los resultados de la evaluación sensorial se presentan la **Figura 4-1**.

En general el perfil de la muestra de emulsión patrón se asoció con referencias frescas, frutales y jugosas, propias de frutos rojos en general y de mora en particular, mientras que la muestra deteriorada se asoció con notas grasosas, rancias, sucias y amargas. De acuerdo con los resultados las notas terrosas, amargas y rancias de la muestra deteriorada no se encontraron en la muestra patrón, por lo cual estos descriptores son útiles como indicadores de deterioro. También se observó que en la muestra deteriorada se mantienen las notas asociadas al fruto de mora, pero menos destacadas que en la emulsión patrón, como era de esperarse.

Un estudio de variedades de mora de diferentes fuentes de cultivo de Du et al. (2010) muestra que los principales descriptores sensoriales asociadas al fruto son floral, fruta fresca, vegetal y madera. Estos descriptores coinciden con los hallados por parte del panel entrenado para la emulsión estudiada, lo cual indica la similitud de la emulsión

saborizada con el perfil de sabor del fruto natural; sin embargo, las notas de degradación encontradas en la muestras de emulsión no son asociadas directamente con el sabor, por lo tanto, se puede decir que el deterioro de la emulsión no es producto del sabor a mora *per se*, y sugiere que el deterioro, en particular el sabor rancio, de la emulsión es producto de los demás ingredientes presentes en la formulación. A partir de estos resultados, se identificó el descriptor **graso-rancio** como aquél de mayor interés para la realización de ensayos de seguimiento del perfil sensorial en almacenamiento.(Du et al., 2010),

**Figura 4-1:** Perfil sensorial de emulsión mora.



Fuente: Elaboración área responsable de análisis sensorial Disaromas (Diana y Andrea).

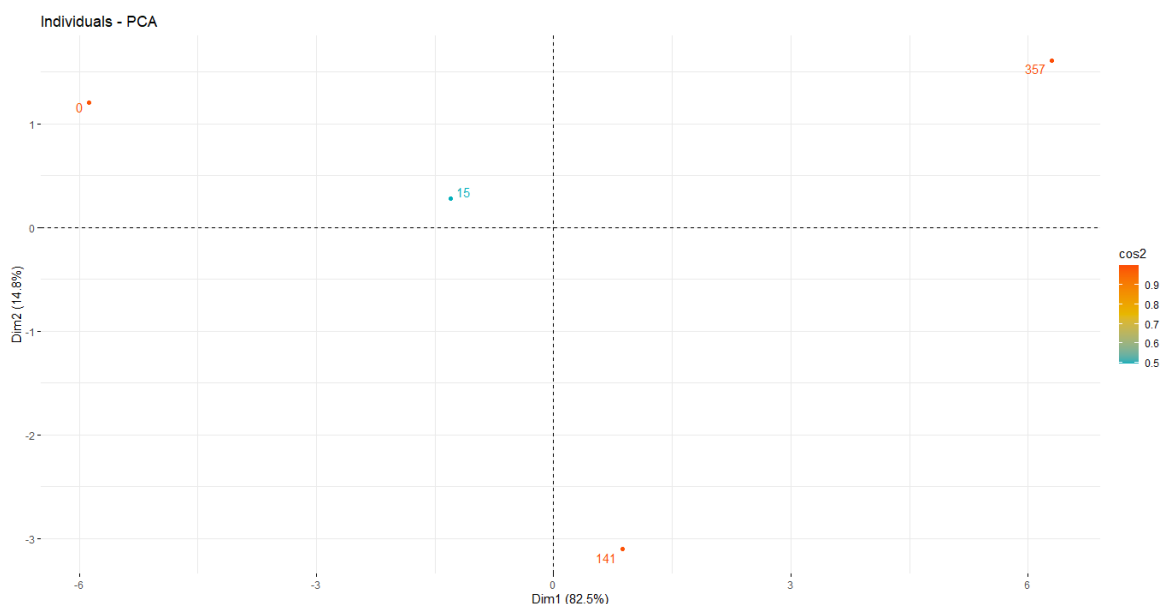
## 4.2 Análisis cromatográfico de la emulsión saborizada e identificación de marcadores químicos de deterioro

Se realizó un análisis cromatográfico a fin de establecer diferencias en el perfil de los compuestos volátiles entre muestras de las emulsiones saborizadas a mora almacenadas

en condiciones de anaquel por distintos periodos (0, 15, 141 y 357 días) en las instalaciones de Disaromas.

La **Figura 4-2**, presenta el *score plot* del análisis de los componentes principales (PCA) de los resultados cuantitativos del análisis cromatográfico para las cuatro muestras almacenadas de lotes diferentes con diferencia de 0, 15, 141 y 357 días de diferencia con respecto a su fecha de fabricación. Los cromatogramas típicos para la emulsión saborizada estudiada se presentan en el **Anexo A**.

**Figura 4-2:** Análisis de componentes principales de emulsión mora de diferentes lotes de fabricación.



Fuente: Elaboración propia.

Como se observa en la **Figura 4-2**, todas las muestras presentan diferencias entre sí, en especial en el componente principal 1 (Dim1, eje X) que es el que explica el 82,5% del total de la varianza. Esto indica que todas las muestras son distintas respecto al perfil de compuestos volátiles, lo que subraya el impacto del tiempo de almacenamiento y la importancia del establecimiento de un tiempo de vida útil en condiciones de anaquel. De manera interesante, la muestra de emulsión con 141 días de almacenamiento presentó una diferencia marcada con respecto a las demás muestras analizadas, también en el componente principal 2 (Dim2, eje Y, 14,8% de varianza explicada), siendo esta la única

muestra ubicada en el cuadrante inferior derecho. Este comportamiento sugiere que la emulsión mora presenta un cambio fuerte en su composición volátil con respecto a las muestras analizadas alrededor de este tiempo de almacenamiento. Las muestras de 0 y 357 días de almacenamiento son las muestras más alejadas entre las muestras analizadas, lo cual es característico de un proceso de cambio (en este caso de degradación) progresiva irreversible. Un análisis del *loading plot* (no presentado) indica que los cuadrantes izquierdos del PCA contienen gran parte de las sustancias volátiles encontradas en la emulsión mora, mientras que los cuadrantes izquierdos contienen compuestos que no son parte del perfil volátil determinado y establecido para la emulsión mora patrón (0 días).

Se puede decir que a partir de 15 días de almacenamiento a temperatura ambiente de la emulsión saborizada a mora se observan cambios en la composición volátil de la muestra inicial que son notables por medio del uso de instrumentos analíticos, lo cual indica que el deterioro de la emulsión ocurre desde el inicio de su almacenamiento; sin embargo, estos cambios no necesariamente serán perceptibles sensorialmente, por lo tanto, es necesario que la emulsión sea almacenada en condiciones de temperatura controlada y hacer un seguimiento a través de parámetros sensoriales y fisicoquímicos. Entre las diferencias encontradas en el perfil volátil de las muestras de emulsión saborizada se identificó como principal diferencia la presencia de ácidos grasos de cadena corta posiblemente resultado de la degradación de la fracción oleosa de la emulsión saborizada.

### **4.3 Prueba de almacenamiento de la emulsión saborizada**

Para la prueba de almacenamiento, además de los resultados presentados anteriormente sobre las características sensoriales y de composición de volátiles, se estudiaron las características fisicoquímicas de la emulsión inicial y, posteriormente, se evaluaron los cambios sufridos a través del tiempo de almacenamiento en tres condiciones de temperatura distinta. A continuación, se presentan los resultados obtenidos.

### 4.3.1 Características fisicoquímicas emulsión saborizada inicial

Los parámetros fisicoquímicos determinados para la emulsión mora recién fabricada se presentan en la **Tabla 4-1**.

**Tabla 4-1:** Parámetros fisicoquímicos emulsión mora patrón.

| Parámetro                | Valor*         |
|--------------------------|----------------|
| Densidad, mg/L           | 1,025 ± 0,001  |
| Índice de refracción, nD | 1,3701 ± 0,001 |
| Viscosidad, cps          | 16,6 ± 0,1     |
| pH                       | 3,07 ± 0,04    |

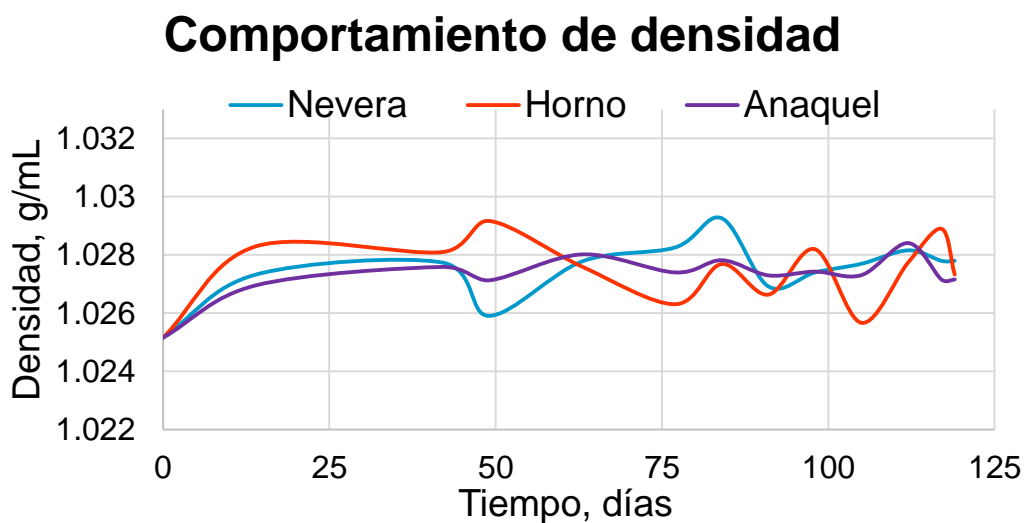
\*n=3

### 4.3.2 Efecto del tiempo y temperaturas de almacenamiento en las propiedades de la emulsión saborizante

#### 4.3.2.1 Comportamiento de propiedades físicas

Se estudiaron los cambios de la muestra en sus propiedades físicas densidad, pH, índice de refracción y viscosidad. El comportamiento de la densidad se observa en la **Figura 4-3**.

**Figura 4-3:** Gráfica de densidad en el tiempo de estudio para nevera, horno y anaquel.

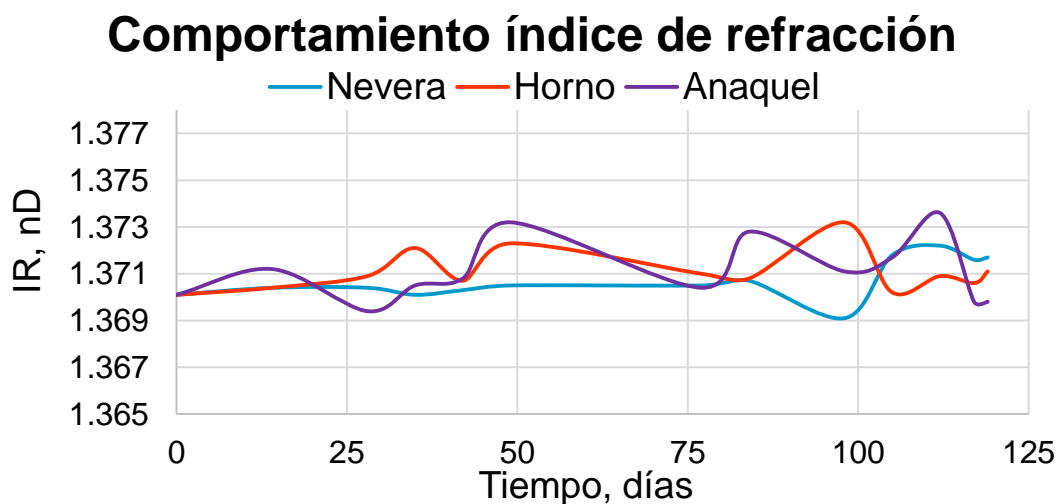


Fuente: Elaboración propia.

Los resultados indicaron que este parámetro físico no es determinante para identificar el deterioro de la emulsión estudiada ya que, en general, la densidad no mostró un comportamiento diferenciador entre las tres condiciones de almacenamiento. Con respecto al valor inicial de densidad  $1,025 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$  no se observó un cambio significativo ( $p>0,05$ ) al final del estudio,  $1,027\text{-}1,028 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Si bien se encontraron algunos picos durante el estudio siempre superiores al valor inicial de densidad, estos valores no arrojaron un criterio de identificación para el deterioro de la emulsión estudiada.

El comportamiento del índice de refracción de la emulsión se presenta en la **Figura 4-4**. En esta propiedad, al igual que con la densidad, no se observó un comportamiento definido por el deterioro de la muestra. De forma interesante, se encontró que para el almacenamiento a menor temperatura (nevera), este parámetro fue más estable durante el tiempo de estudio únicamente, observándose cambios cuantificables únicamente a partir del día 100 de almacenamiento. En el almacenamiento en horno y anaquel se observó un ligero incremento en el valor inicial de índice de refracción,  $1,3701$ , sin embargo, los cambios observados no fueron significativos ( $p>0,05$ ) comparados con los valores del índice de refracción determinados al final del estudio, en estas condiciones,  $1,3710\text{-}1,3720$ , respectivamente.

**Figura 4-4:** Gráfica de índice de refracción en el tiempo de estudio para nevera, horno y anaquel.

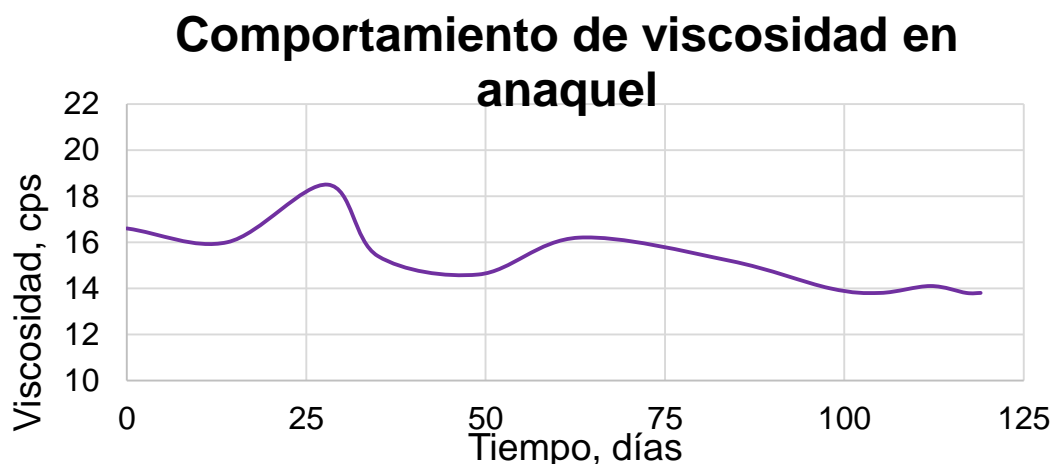


Fuente: Elaboración propia.

La viscosidad en la emulsión se estudió únicamente en la muestra de anaquel debido a la cantidad de muestra requerida para el análisis. El gráfico correspondiente se presenta en la **Figura 4-5**. Como se observa en la figura, la viscosidad disminuyó a medida que el tiempo de almacenamiento con una tendencia a valores cercanos a 14 cps al final del estudio. Por lo tanto, se puede decir que esta propiedad sí fue un indicador del deterioro de la emulsión, y señaló que la dispersión está perdiendo su estructura de equilibrio aceite-agua. Durante el estudio se observaron varios picos leves de incremento de la viscosidad de la emulsión estos picos pudieron ser causados por la formación de coalescencia y desestabilización de la emulsión siendo promovidos por gotas de aceite de mayor tamaño que empezaban a formarse (Mc Clements, 2005).

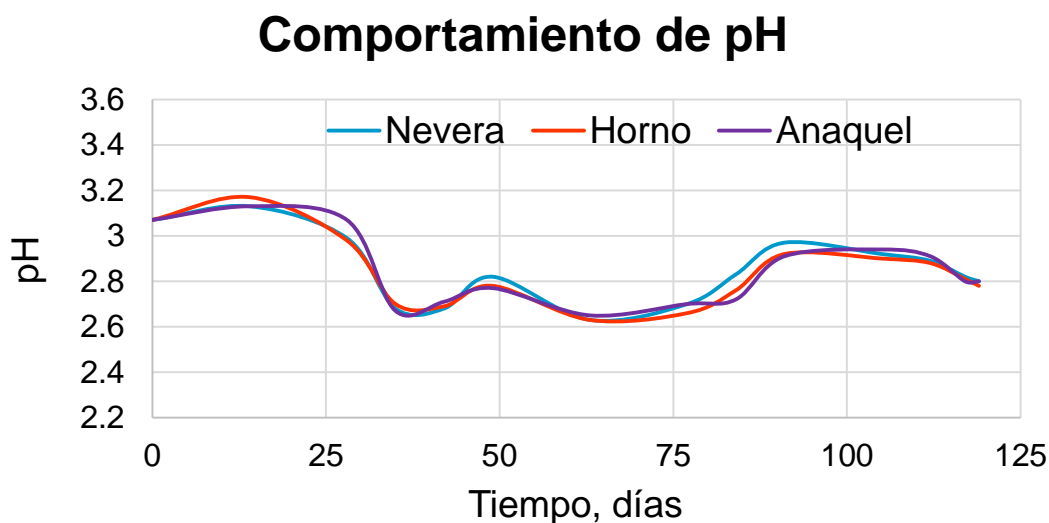
El pH es una medida de la acidez o alcalinidad de una mezcla, y como parámetro de calidad permite medir cambios en la composición de una mezcla. El comportamiento del pH se presenta en la **Figura 4-6**. Se observó un comportamiento similar entre las tres condiciones de almacenamiento y se evidenció una disminución del pH de la emulsión estudiada posiblemente promovido por la formación de ácidos orgánicos productos del deterioro de la fase oleosa de la emulsión (Jaworska et al., 2014), lo cual coincide con el aumento observado en la concentración de ácidos grasos de cadena corta, es decir, con un aumento de la acidez. Se encontró que la emulsión estudiada inició con un pH ácido (~3) y terminó con un pH un poco más ácido estabilizado en 2,8, independientemente de la temperatura de almacenamiento.

**Figura 4-5:** Gráfica de viscosidad en el tiempo de estudio para anaquel.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 4-6: Gráfica de pH en el tiempo de estudio para nevera, horno y anaquel.



Fuente: Elaboración propia.

#### 4.3.2.2 Comportamiento de fracción volátil

El comportamiento de la fracción volátil de la emulsión saborizante se presenta en la **Figura 4-7** (Nevera-Horno) y **Figura 4-8** (Nevera-Horno-Anaquel). Se realizó un análisis de componentes principales para comparar más fácilmente las muestras entre sí. En las figuras se muestran, respectivamente, los *scores plot* obtenidos cuando se comparan solamente las dos condiciones de almacenamiento más opuestas (refrigeración/nevera a 8°C y horno a 28°C) y cuando se incluye el almacenamiento a temperatura ambiente (20°C +/- 2°C) en la comparación. Se decidió presentar los resultados en graficas separadas debido a que la información obtenida de anaquel fue muy similar a la de nevera durante los primeros periodos de muestreo y no se observó diferencia entre la muestra de anaquel y nevera durante el inicio del estudio.

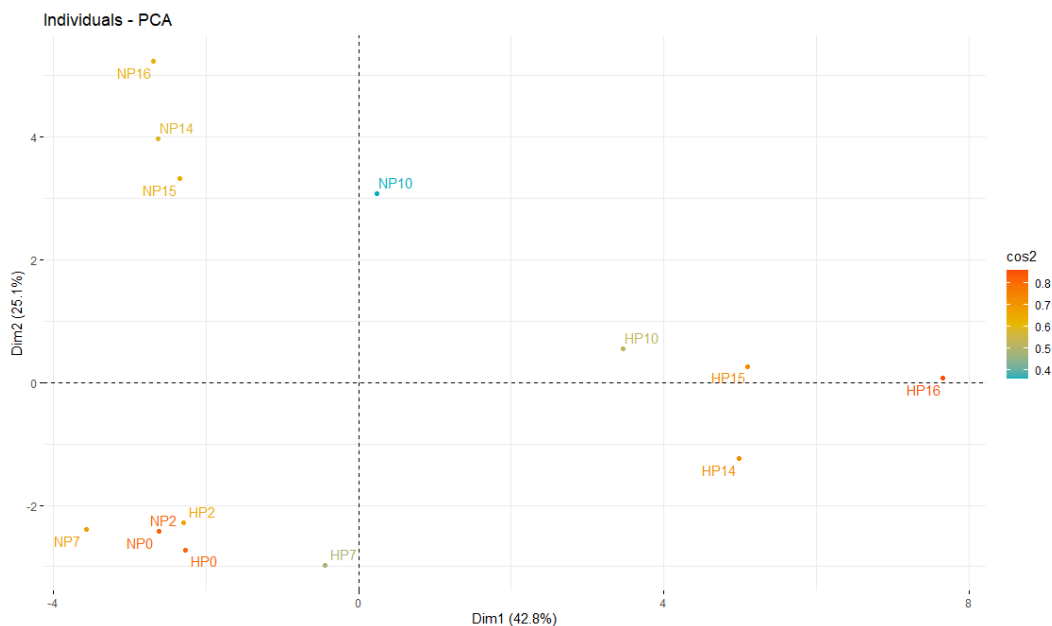
Como se observa en la **Figura 4-7**, las muestras de nevera (N) se encuentran más cercanas durante todo el estudio centrándose en los cuadrantes izquierdos del diagrama, mientras que las muestras de horno (H) se encuentran desplazadas hacia los cuadrantes derechos del diagrama. Esto indica, como se esperaba, que la condición con mayor temperatura logró degradar con mayor rapidez la emulsión saborizada, por lo tanto, se concluyó que 28°C son suficientes para generar un cambio significativo en la



composición volátil de la emulsión saborizante de mora en periodos notablemente más cortos, no siendo entonces recomendable como condición de almacenamiento. Esto es significativo en términos prácticos, ya que, en algunas regiones del país, temperaturas cercanas a 28°C pueden corresponder a la condición de almacenamiento típica.

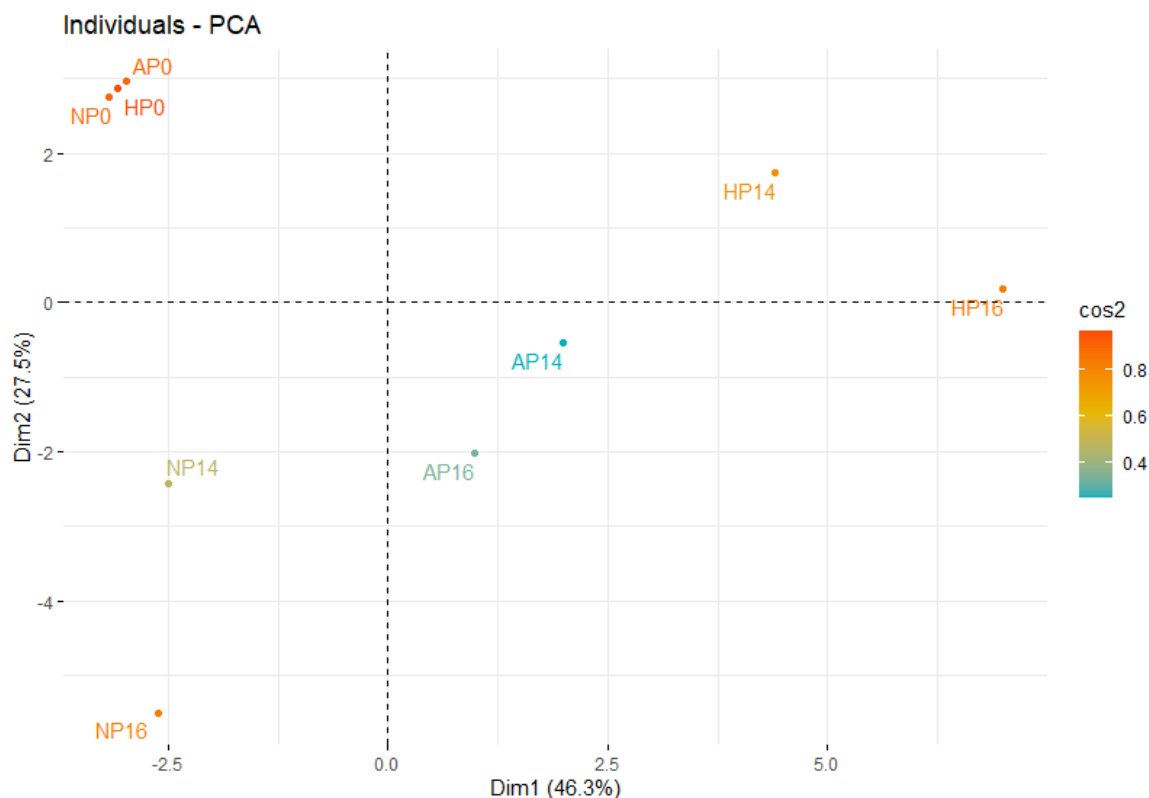
Con base en la **Figura 4-7**, se puede decir que la muestra de emulsión almacenadas en nevera y horno sufren cambios significativos en su composición volátil a partir del periodo 7 (P7) de almacenamiento, es decir, 2,1 meses. Sin embargo, las muestras de horno son desplazadas con mayor facilidad del grupo mostrando que la degradación es superior, mientras que las muestras de nevera igualmente evidencian degradación, pero en menor grado. Con base en lo anterior se puede decir que la degradación de la emulsión es producto de inestabilidades internas de la emulsión y que son promovidas por la temperatura de almacenamiento. Es decir, en ambas condiciones de almacenamiento muy probablemente el mecanismo de degradación es el mismo.

**Figura 4-7:** Análisis de componentes principales de composición volátil de la emulsión saborizante almacenada en nevera (8°C) y horno (28°C).



N, se usó para nombrar condición de nevera. H, se usó para nombrar la condición de horno. P, significa el periodo de muestreo y el número corresponde al indicado en la **Tabla 3-3** en la columna de periodo.

**Figura 4-8:** Análisis de componentes principales de composición volátil de la emulsión saborizante almacenada en nevera (8°C), Anaquel (20°C) y horno (28°C).



N, se usó para nombrar condición de nevera. H, se usó para nombrar la condición de horno. P, significa el periodo de muestreo y el número corresponde al indicado en la **Tabla 3-3** en la columna de periodo.

En la **Figura 4-8** se comparan las tres condiciones de almacenamiento. En este *score plot* se observó que las muestras almacenadas en nevera (N) tienen un mismo patrón y se encuentran en el cuadrante inferior alejadas de la muestra inicial, pero todas en la parte izquierda del diagrama. Las muestras de anaquel son las siguientes en aparecer, cercanas a las muestras iniciales representadas en el cuadrante inferior derecho, cercanas a las de nevera. Por último, las muestras de horno son las más alejadas de la muestra inicial en el cuadrante superior derecho. Se evidenció que el desplazamiento se refleja hacia los cuadrantes derechos del diagrama.

Los compuestos volátiles que se encuentran en los cuadrantes derechos del diagrama de PCA son resultado de la degradación de la fase oleosa de la emulsión saborizante, lo

anterior se concluyó debido a que las sustancias químicas diferenciadoras entre las muestras de horno, nevera y anaquel son ácidos grasos de cadena corta. Los ácidos grasos de cadena corta encontrados en las muestras de emulsión saborizada son producidos durante el almacenamiento (**Anexo A**) y se asocian principalmente a la degradación de triacilgliceroles (Jaworska et al., 2014; Mc Clements & Decker, 2000).

### 4.3.3 Determinación de la vida útil sensorial de la emulsión saborizante

Como se mencionó en la **Sección 3.2** y de acuerdo con la **Tabla 3-3**, la evaluación sensorial se realizó con 24-30 juicios de jueces entrenados en todos los periodos de muestreo, adicionalmente, con base en los resultados de la **sección 3.4**, se identificó el descriptor graso-rancio como defecto sensorial y se asoció con un ácido graso común en la degradación de triacilgliceroles presentes en las formulaciones de emulsiones O/W. Los resultados de la evaluación sensorial se presentan en la **Tabla 4-2**.

**Tabla 4-2:** Análisis sensorial de emulsión saborizada mora ( $\alpha$ , 0,05)

| Tiempo,<br>Días | Diferencia * ** |                   | Tiempo,<br>Días | Diferencia * ** |                   |
|-----------------|-----------------|-------------------|-----------------|-----------------|-------------------|
|                 | Horno,<br>28°C  | Anaquele,<br>20°C |                 | Horno,<br>28°C  | Anaquele,<br>20°C |
| 0               | 0               | 0                 | 112             | 1               | 0                 |
| 14              | 0               | 0                 | 117             | 1               | 0                 |
| 28              | 0               | 0                 | 119             | 1               | 0                 |
| 35              | 0               | 0                 | 124             | 1               | 0                 |
| 42              | 0               | 0                 | 126             | 1               | 0                 |
| 49              | 0               | 0                 | 131             | 1               | 0                 |
| 86              | 0               | 0                 | 133             | 1               | 1                 |
| 63              | 0               | 0                 | 138             | 1               | 1                 |
| 70              | 0               | 0                 | 140             | 1               | 1                 |
| 77              | 0               | 0                 | 145             | 1               | 1                 |
| 84              | 0               | 0                 | 147             | 1               | 1                 |
| 91              | 0               | 0                 | 153             | 1               | 1                 |
| 98              | 0               | 0                 | 155             | 1               | 1                 |
| 105             | 0               | 0                 |                 |                 |                   |

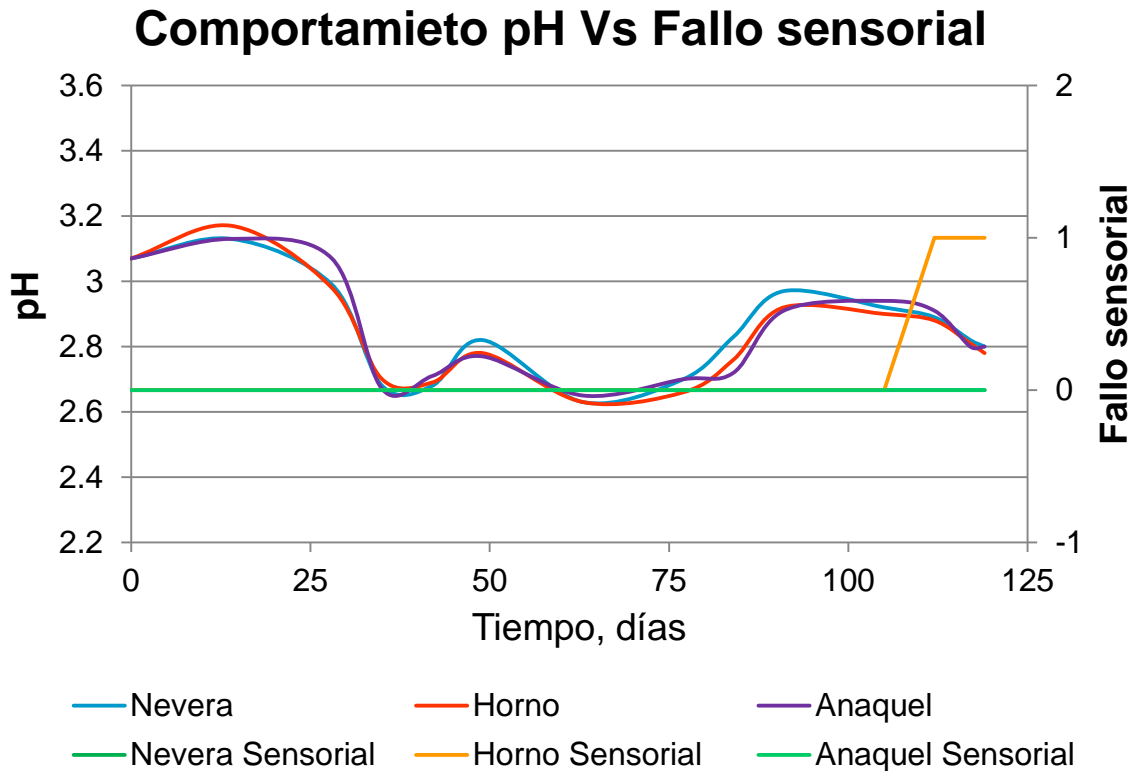
\* 0, No hay diferencia entre las muestras

\*\* 1, Hay diferencia entre las muestras

Con base en los resultados presentados en la **Tabla 4-2**, se concluyó que la vida útil sensorial de la emulsión mora en horno es de 112 días (3,73 meses) y en anaquel de 133 días (4,43 meses). Con base en lo anterior, se puede decir que se logró acelerar la degradación de la emulsión en una relación de 0,84 días Horno/Anaquel, es decir, por cada 10 días en anaquel se estiman 8,4 días en horno.

Dentro de las propiedades fisicoquímicas analizadas de la emulsión estudiada, se observó que el pH fue una propiedad que se comportó con una tendencia a disminuir y a estabilizarse durante el estudio de estabilidad en todas las condiciones de almacenamiento, con el fin de encontrar una correlación entre el pH y la estabilidad sensorial se realizó un gráfico comparativo entre los resultados obtenidos de análisis sensorial y determinación de pH. Véase **Figura 4-9**.

**Figura 4-9:** Análisis comparativo de resultados de pH y fallo sensorial.



1, Diferencia sensorial. 0, No diferencia sensorial

Fuente: Elaboración propia.

Como se observa en la **Figura 4-9** y como se mencionó anteriormente el pH no refleja un cambio apreciable para estimar la estabilidad sensorial de la emulsión estudiada, esto debido a que el fallo sensorial durante en horno se apreció hasta los 112 días de almacenamiento y el de anaquel hasta los 133 días de almacenamiento, pero no se observa que el pH de la muestra almacenada en el horno varié con respecto a las demás condiciones de almacenamiento.

De acuerdo con un estudio reciente sobre robustez de emulsiones al efecto del pH en la estabilidad, se sabe que el pH es un factor clave para que la emulsión sea estable por mayor tiempo y que un pH bajo ayuda a estabilizar mejor una emulsión o/w, sin embargo, para el presente trabajo no se logró contemplar si el pH al disminuir promueve o evita el fallo sensorial determinante para identificar la estabilidad de la emulsión estudiada. (He et al., 2022)



## **5. Conclusiones y recomendaciones**

### **5.1 Conclusiones**

Se determinó que la emulsión saborizada es degradada por la fracción oleosa presente en la formulación y que las condiciones de temperatura elevada conducen al deterioro temprano de la emulsión.

Se concluyó que ácidos grasos de cadena corta son formados durante el almacenamiento de la emulsión saborizada, y a medida que la temperatura de almacenamiento aumenta la formación de ácidos grasos se acelera.

Se concluyó que los ácidos grasos formados durante el almacenamiento de la emulsión saborizada son responsables del sabor graso-rancio encontrado en las muestras deterioradas de emulsión saborizada.

La vida útil estimada para la emulsión saborizada fue de 112 días en horno, 133 días en anaquel y superior a 155 días en nevera.

La relación de aceleración de degradación en el horno es baja debido a las temperaturas usadas en la investigación y, como se mencionó anteriormente, se escogieron debido a que son las temperaturas recomendadas de almacenamiento de la emulsión saborizada estudiada. Teniendo en cuenta la vida útil estimada de la emulsión saborizada en la ficha de seguridad (6 meses), se concluyó que la emulsión no sobrevive en condiciones de horno ni anaquel por el periodo recomendado.

Las propiedades fisicoquímicas de la emulsión pH, índice de refracción, no son determinantes para verificar una temprana degradación de la emulsión mora estudiada. Únicamente, el pH puede ser un indicativo del deterioro de la emulsión, sin embargo, se requiere una concentración elevada del producto de degradación ácido encontrado y asociado a la degradación de la fracción oleosa.

Se concluyó que la coalescencia es la inestabilidad que presenta la emulsión saborizada estudiada, sin embargo, no fue el factor clave para la determinación de la vida útil de la emulsión.

## **5.2 Recomendaciones**

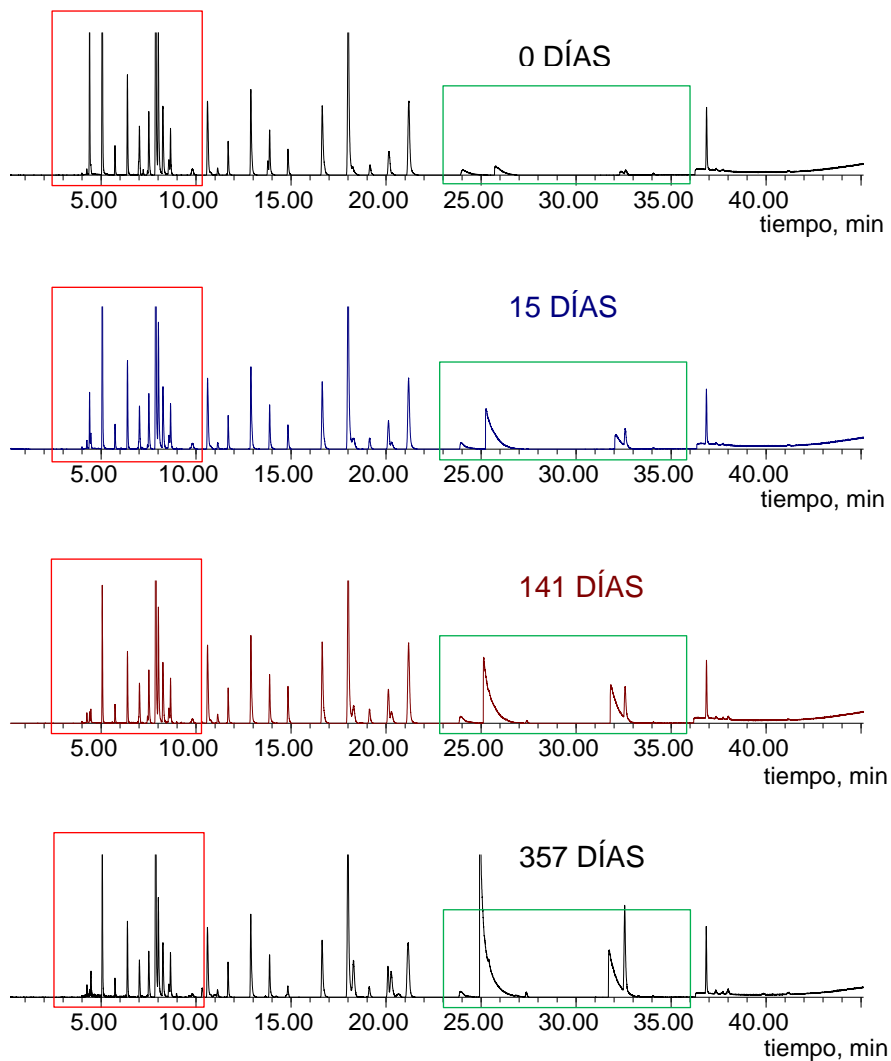
Se recomienda usar temperaturas más elevadas para el estudio de vida útil y de esta manera calcular una relación de aceleración más alta y concluir con mayor rapidez la vida útil.

Se puede usar la información recolectada en el estudio para extender la estimación de vida útil a emulsiones con formulaciones similares a la estudiada en esta investigación.

Se recomienda correlacionar el estudio de viscosidad presente en este trabajo final con resultados de tamaño de partícula y de esta manera identificar la pérdida de viscosidad en términos de morfología y homogeneidad de la emulsión saborizada.



## A. Anexo Cromatogramas típicos de emulsión saborizada estudiada



La figura representa un cromatograma típico de la emulsión saborizada estudiada a través del tiempo de almacenamiento (0, 15, 141 y 357 días), por razones de

confidencialidad de información con la empresa Disaromas S.A. no es posible presentar el nombre o el grupo funcional de los compuestos químicos encontrados en la emulsión saborizada.

En la figura se resaltaron dos grupos de compuestos uno con un recuadro rojo y otro con un recuadro verde, el rojo corresponde a compuestos de bajo peso molecular que, debido a su volatilidad, se pueden apreciar cómo van disminuyendo la intensidad de los picos cromatográficos. La fracción resaltada en verde representa compuestos de degradación de la fracción oleosa y como se observa van en aumento a medida que el tiempo de almacenamiento se incrementa.

Sensorialmente se apreció mayormente la presencia del sabor rancio que la decadencia del sabor frutal (Ver **Figura 4-1**) en muestras con tiempo de almacenamiento avanzado, por tanto, se concluyó que el sabor incorporado a la emulsión no es una variable de cambio confirmatoria para el deterioro de la emulsión saborizada, si bien se pierden algunos compuestos no es suficiente para afectar el perfil organoléptico de la emulsión saborizada, sin embargo, el aumento del sabor rancio es evidente tanto sensorialmente como en el cromatograma, por lo tanto, se puede concluir que el sabor rancio puede usarse como marcador de deterioro de la emulsión saborizada estudiada.

## Bibliografía

- Du, X. F., Kurnianta, A., McDaniel, M., Finn, C. E., & Qian, M. C. (2010). Flavour profiling of “Marion” and thornless blackberries by instrumental and sensory analysis. *Food Chemistry*, *121*(4), 1080–1088.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.053>
- Giménez, A., Ares, F., & Ares, G. (2012). Sensory shelf-life estimation: A review of current methodological approaches. *Food Research International*, *49*(1), 311–325. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.008>
- Giménez, A., & Ares, G. (2019). Sensory shelf life estimation. In *Food Quality and Shelf Life*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817190-5.00011-2>
- He, X., Jia, K., Yu, L., Li, H., Xin, J., Zheng, X., Ning, J., Wu, H., Huang, L., & Wen, W. (2022). Robust pH-switchable pickering emulsions stabilized solely by organic Rosin-based particles with adjustable wettability. *Journal of Molecular Liquids*, *353*, 118751. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.118751>
- IOFI. (2020). *Código de Prácticas*. <https://iofi.org/uploads/Documents/IOFI-CoP-5th-Revision-Spanish-translation-final-version.pdf>
- ISO 6658. (2017). *Sensory analysis Methodology General Guidance*.
- Jaworska, M., Sikora, E., & Ogonowski, J. (2014). The influence of glicerides oil phase on O/W nanoemulsion formation by pic method. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, *58*(SUPPL), 43–48.  
<https://doi.org/10.3311/PPch.7299>
- Mc Clements, D. J. (2005). Principles, Practicies, and Techniques. In *Food Emulsions* (Second, Vol. 2, Issue CRC PRESS). CRC PRESS.  
<https://doi.org/https://doi-org.ezproxy.unal.edu.co/10.1201/9781420039436>
- Mc Clements, D. J., & Decker, E. A. (2000). Lipid Oxidation in Oil-in-Water

- Emulsions : Impact of Molecular Environment on Chemical. *Journal of Food Science*, 65(8), 1270–1282. [http://lib3.dss.go.th/fulltext/Journal/Journal of food science/2000 v.65/no.8/jfsv65n8p1270-1282ms20000241%5B1%5D.pdf](http://lib3.dss.go.th/fulltext/Journal/Journal%20of%20food%20science/2000%20v.65/no.8/jfsv65n8p1270-1282ms20000241%5B1%5D.pdf)
- NTC 2681. (2006). *Norma técnica colombiana. Análisis sensorial. Metodología. Prueba triangular.*
- Petrut, R. F., Danthine, S., & Blecker, C. (2016). Assessment of partial coalescence in whippable oil-in-water food emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 229, 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2015.12.004>
- Prieto, J., Fuenmayor, C. A., Zuluaga-Domínguez, C. M., Melo, N., & Díaz-Moreno, C. (2019). Instrumental and sensory analysis for the design of complex tropical fruit beverage flavorings: The case of Soursop. *Chemical Engineering Transactions*, 75(52), 271–276. <https://doi.org/10.3303/CET1975046>
- Productora Nacional de Aromas Fragancias y Colorantes, D. S. A.* (2013).
- Ramesh, M., & Muthuraman, A. (2018). Flavoring and coloring agents: Health risks and potential problems. In *Natural and Artificial Flavoring Agents and Food Dyes: Handbook of Food Bioengineering* (Vol. 7). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/C2016-0-00380-7>
- Robertson, G. (2010). Food Packaging and Shelf Life: A Practical Guide. In *CRC Press*. <https://doi.org/10.1201/9781420078459-c2>
- Tadros, T. F. (2009). Related Titles Colloids and Interface Science Series Environmental Colloids and Particles Emulsions , Foams , and Applied Surfactants. In T. F. Tadros (Ed.), *Cosmetics*. Wiley- VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. <https://doi.org/10.1002/9783527626564>