

FORTIFICACIÓN DE AGUAS SABORIZADAS CON FRUCTOOLIGOSACARIDOS

*Eva Sevillano-Armesto, José Luis Rodríguez-Sánchez, Ariel Ortega-Luis **

Enrique Pérez, Cira Duarte, Margarita Núñez de Villavicencio e Isbel Martínez.

Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Carretera al Guatao km 3 1/2, La Habana,

C.P. 17100, Cuba. E-mail: ariel@iiaa.edu.cu

Recibido: 05-06-2022 / Revisado: 09-07-2022 / Aceptado: 13-09-2022 / Publicado: 19-09-2022

RESUMEN

Se estudió el comportamiento durante el almacenamiento a temperatura ambiente de las aguas saborizadas fortificadas con 5 g/L de fructooligosacáridos (FOS), en envases PET. En las aguas saborizadas de piña y de naranja la concentración de FOS al finalizar siete meses de almacenamiento fue 87 %. Sin embargo, en el agua saborizada de limón, el contenido final de FOS fue 45 %. De acuerdo con los resultados, la coloración de las aguas de sabor piña y de naranja, no experimentó cambio alguno, de igual modo la evaluación sensorial de ambas aguas tuvo calificación de excelente, no ocurriendo lo mismo con el agua saborizada de limón, que su calificación fue disminuyendo en el tiempo de almacenamiento, hasta la valoración de buena al final del estudio, debido a pérdida de intensidad del olor y sabor de limón. Durante los siete meses de almacenamiento, la calidad microbiológica de todas las aguas saborizadas fue satisfactoria. Se recomienda realizar un ajuste en la formulación del limón, para lograr un comportamiento del FOS similar al obtenido en las aguas de sabor naranja y de piña.

Palabras clave: agua saborizada fructooligosacáridos, evaluación sensorial.

ABSTRACT

Fortification of flavored waters with fructooligosaccharides

The behavior during storage at room temperature of flavored waters fortified with 5 g/L of fructooligosaccharides (FOS), in PET containers, was studied. In the pineapple and orange flavored waters, the FOS concentration at the end of seven months of storage was 87%. However, in the lemon-flavored water, the final FOS content was 45%. According to the results, the coloration of the pineapple and orange flavored waters did not experience any change, in the same way the sensory evaluation of both waters had an excellent rating, the same not happening with the lemon-flavored water, which its rating was decreasing in the storage time until the assessment of good at the end of the study, due to loss of intensity of the smell and taste of lemon. During the seven months of storage, the microbiological quality of all the flavored waters was satisfactory. It is recommended to make an adjustment in the lemon formulation, to achieve a FOS behavior like that obtained in orange and pineapple flavored waters.

Keywords: flavored water, fructooligosaccharide, sensory evaluation.

INTRODUCCIÓN

Las aguas saborizadas son productos relativamente nuevos cuyo origen se remonta a finales del pasado siglo, como alternativa saludable a los refrescos, ya que su contenido de azúcar es notablemente inferior. Esta innovadora propuesta fue hecha por marcas de aguas naturales gaseosas como Perrier y Poland Spring que ahora corresponden a Nestlé Waters. Se asociaban a los conceptos de placer y naturalidad, siendo una respuesta realmente saludable a los consumidores que buscan bebidas con menos calorías (1).

Los prebióticos son ingredientes alimentarios no digeribles que llegan al colon y sirven de sustrato a la flora intestinal, originando energía, metabolitos y micronutrientes utilizados por el hospedador y estimulando el crecimiento selectivo de determinadas especies beneficiosas (principalmente bifidobacterias y lactobacilos) de la microbiota intestinal. El uso comercial de los FOS comenzó en la década de los ochenta como sustitutos no cariogénicos e hipocalóricos de azúcares edulcorantes como la sacarosa. Como ingrediente alimentario, los FOS se le consideran seguros, aunque puede causar malestar intestinal y flatulencia cuando su consumo sobrepasa los 15 g diarios, también se ha informado que las personas intolerantes a la lactosa pueden padecer estos efectos colaterales (2, 3). Recientemente, se comenzó la producción industrial de FOS en nuestro país por vía enzimática, permitiendo disponer de este ingrediente funcional constituido principalmente por 1-kestosa y nistosa (5), por lo que es importante ensayar la fortificación de aguas saborizadas con FOS como vía para introducir prebióticos en la dieta. También se ensayó la adición de extracto de cúrcuma a estas aguas para lograr un producto funcional (4, 5).

La cúrcuma (*Curcuma longa* L.) es una planta de la familia Zingiberaceae, cuyos rizomas contienen curcuminoides, que son compuestos fenólicos que se utilizan como aromatizantes, colorante amarillo-naranja y son un potencial agente protector contra el cáncer, infección por VIH, enfermedades neurológicas, cardiovasculares y de la piel; además de presentar propiedades como antioxidante y antiinflamatorio (4, 5).

En este trabajo fue importante garantizar la inactivación de los microorganismos, para evitar alguna interferencia en el estudio del prebiótico, y como no se dispone en el país de alguna línea, para el tratamiento de aguas saborizadas, que comprenden, el empleo de la pasteurización, esterilización, altas presiones hidrostáticas, o irradiación, fortuitamente en el instituto se cuenta con una planta de irradiación de alimentos, el tratamiento que se utilizó para la conservación, fue la irradiación (6).

Tomando en consideración la disponibilidad y beneficios para la salud del FOS y la posibilidad de desarrollar nuevos

productos, como las aguas saborizadas y con sabores de producción nacional, el objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento de las aguas saborizadas (piña, naranja, limón) fortificadas con FOS, envasadas en botellas PET durante siete meses de almacenamiento a temperatura ambiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

En este estudio fueron consultados trabajos previos del IIIA (7-10), donde se utilizaron los sabores limón, naranja y piña, que se definieron previamente para aguas saborizadas, con el uso del extracto de cúrcuma. El trabajo experimental se realizó en el laboratorio de microbiología del IIIA, con la colaboración del Centro Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) de Sancti Spíritus.

Las aguas saborizadas de limón, naranja y piña presentaron las siguientes materias primas: agua mineral natural de la Empresa Ciego Montero, Pinar del Río; jarabe prebiótico con FOS, con un porcentaje de FOS (nistosa + 1-kestosa) de 56 % m/m y contenido de sólidos solubles 74 °Brix. Los saborizantes empleados todos procedieron de la Planta de Aromas del IIIA: sabor Piña PH; sabor Naranja AN-19 y sabor Limón AL-10. Se utilizó como conservante sorbato de potasio (Best Biochemical Corp., Nantong, China) con pureza 99,0 % y ácido cítrico anhidro (Weifang Ensign Industry Co., China), con pureza 99,5 %. Los colorantes alimentarios fueron amarillo ocaso SIN 110 (11) (agua saborizada de naranja) y tartracina SIN 102 (11) (agua saborizada de piña).

La fabricación de las aguas saborizadas se realizó a escala de laboratorio y el orden de adición de las materias primas fue el siguiente: agua mineral, sorbato de potasio, ácido cítrico, jarabe FOS, extracto de cúrcuma y el saborizante, en un recipiente de vidrio de 20 L de capacidad. En el caso del agua de naranja-cúrcuma y piña-cúrcuma se adicionó el colorante en solución al 1 % m/m disuelto en agua previamente esterilizado. Mediante agitación mecánica durante quince minutos se garantizó la disolución y homogeneización de todos los ingredientes. El envasado se efectuó en frascos de tereftalato de polietileno (PET) de 500 mL bajo condiciones higiénicas controlada. A fin de evitar el deterioro microbiológico durante el estudio de conservación y no disponer de un sistema de tratamiento de agua por métodos tradicionales, se procedió a irradiar los tres tipos de aguas saborizadas en la planta de irradiación del IIIA, aplicando una dosis 1,0 kGy garantizando su calidad microbiológica, teniendo en cuenta que esta dosis no influye en la calidad nutricional ni cambia las características organolépticas (6).

En total se obtuvieron 60 botellas de 500 mL de cada sabor, las que fueron almacenadas a temperatura ambiente (30 ± 4 °C). El muestreo se realizó mensualmente tomando seis

muestras de aguas de cada sabor, tres de ellas para análisis microbiológicos y sensoriales, dos para análisis físicos y químicos y una muestra para determinar el contenido de FOS. A las aguas saborizadas se le determinó el contenido de sólidos solubles por el método refractométrico (12) y valor de pH (13).

La cuantificación del contenido FOS se realizó por medio de la cromatografía líquida de alta resolución según el método establecido en el laboratorio del CIGB. Se empleó una columna Aminex HPX 42-C (BioRad, Richmond) y como fase móvil agua (grado de pureza HPLC), con un flujo de 0,5 mL/min, una presión de aproximadamente 5,2 MPa y la temperatura del horno fue 85 °C. La detección se realizó con el detector de índice de refracción Knauer Differential-Refractometer: La cantidad inyectada fue 20 µL. La cuantificación se hizo con la ayuda del software BioCrom, ver. 3.0.

Para evaluar la calidad microbiológica de las aguas saborizadas se llevaron a cabo las determinaciones hongos y levaduras (14), coliformes termo-tolerantes (15) y coliformes (16). La evaluación de los resultados se realizó comparando con los límites establecidos en la norma de contaminantes microbianos (17).

La evaluación del color de las aguas de sabor piña y de naranja durante el almacenamiento fue por la vía instrumental. Esta se realizó en el espectrofotómetro UV-Vis modelo 2600 (Shimadzu) con el accesorio ISR-2600 (esfera integrada). Las muestras fueron introducidas en cubetas de vidrio de 10 mm de paso óptico. Las condiciones de análisis fueron: modo transmitancia; intervalo de medición 380 - 800 nm; velocidad de barrido media; slit 5 nm. La determinación de los parámetros de color se realizó mediante el programa UVPC Color analysis spectroscopic software ver. 3.12 de Shimadzu. El valor de iluminante seleccionado fue D65 y el ángulo de observación de 10° (CIE, 2001). Los resultados se expresaron en las coordenadas cromáticas del sistema CIELAB (L* a* b*).

La coordenada L* recibe el nombre de luminosidad o claridad y, puede tomar valores entre 0 y 100. La coordenada a*

representa el eje rojo – verde; rojo si a* es positiva y verde si a* es negativa. Análogamente la coordenada b* representa el eje amarillo – azul; amarillo si b* es positiva y azul si b* es negativa.

La diferencia de color (ΔE) se determinó por la ecuación 1.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad ec. 1$$

Donde ΔL^* : $L_1^* - L_2^*$; Δa^* : $a_1^* - a_2^*$; Δb^* : $b_1^* - b_2^*$

La evaluación de las muestras de las aguas saborizada con FOS fue efectuada por una comisión de evaluación sensorial integrada por siete catadores adiestrados en este tipo de producto, quienes en una sesión inicial aplicaron el método de impresión general de calidad, para describir y evaluar el producto en tiempo cero, precisaron las posibles vías de deterioro sensorial del producto y los límites de rechazo de acuerdo a lo establecido en la metodología de estimación de la durabilidad (18, 19).

Las evaluaciones posteriores de las aguas saborizadas con FOS en el tiempo de estudio se realizaron aplicando una escala de cinco categorías de calidad (1-pésima; 2-insuficiente; 3-aceptable; 4-buena; 5-excelente), registrando los cambios percibidos con respecto a la evaluación en tiempo cero (considerada como estándar de calidad sensorial) (20).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características químicas de las tres formulaciones de agua saborizadas con la adición de FOS se muestran en la Tabla 1. Se observa que todas las formulaciones tienen un pH ácido debido a la adición de ácido cítrico, aditivo que se utilizó para impartir un sabor ligeramente ácido. El contenido de sólidos solubles presentó un valor medio de 1,9 °Brix como consecuencia de la adición de jarabe de FOS.

Tabla 1. Caracterización física y química de las aguas saborizadas

Característica	Sabor piña	Sabor naranja	Sabor limón
pH	4,64(0,02)	4,71(0,03)	4,32(0,03)
Sólidos solubles totales (°Brix)	2,1 (0,1)	2,2 (0,1)	1,6 (0,1)
Acidez (% m/v, ácido cítrico)	0,04(0,01)	0,04(0,01)	0,06(0,01)

Los valores informados corresponden a la media y entre paréntesis la desviación estándar (n = 2).

Teniendo en consideración que la ingesta diaria de fructooligosacáridos (FOS) es beneficiosa para la salud humana por su acción prebiótica, se evaluó la estabilidad del FOS en las tres formulaciones durante el almacenamiento a temperatura ambiente, comportamiento que se aprecia en la Fig. 1. La concentración de fructooligosacáridos en las aguas saborizadas de piña y de naranja prácticamente no se afectó en el almacenamiento, pues de una concentración inicial de 5,4 g/L esta disminuyó a 4,7 g/L, lo que equivale

aproximadamente un 87 % de retención, no sucediendo lo mismo con el agua de sabor limón, que a los dos meses de almacenamiento la concentración se redujo poco más del 40 % y finalmente a los siete meses, el contenido de FOS remanente fue de 2,2 g/L, o sea, un 45 % de la concentración inicial. Este comportamiento que exhibió el agua saborizada de limón es consecuencia de la hidrólisis parcial de los fructooligosacáridos debido a su mayor contenido de ácido (menor pH) respecto a las otras dos formulaciones.

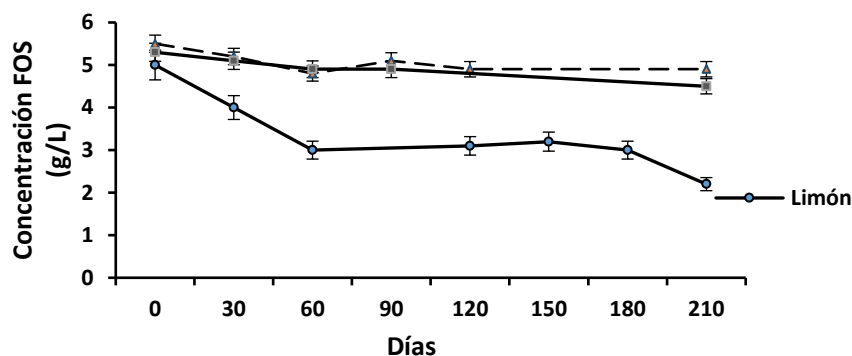


Fig. 1. Contenido de FOS (nistosa+1-kestosa) durante el almacenamiento a temperatura ambiente.

La Fig. 2 presenta los resultados de pH de las aguas saborizadas durante el almacenamiento, donde se aprecia que

esta característica química no experimentó cambios en el tiempo de estudio.

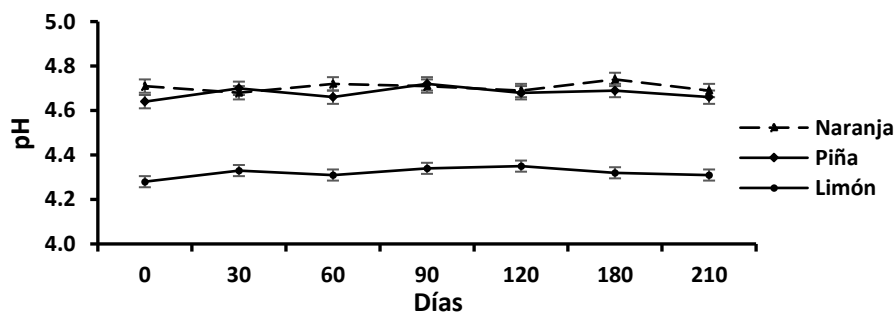


Fig. 2. Variación del pH durante el almacenamiento a temperatura ambiente.

En cuanto al color de las aguas de sabor piña y de naranja, la Tabla 2 muestra los valores de las coordenadas de color en el sistema CIELAB al inicio y final del estudio del almacenamiento a temperatura ambiente. De acuerdo con los resultados, los colores de estas aguas no experimentaron

cambios que pudieran ser diferenciado visualmente por el ojo humano, ya que ΔE en ambos tipos de aguas fue inferior a 2 (21).

Tabla 2. Parámetros de color en el sistema CIE L*a*b* de las aguas de sabor piña y sabor naranja

Sabor	L*	ΔE	a*	b*
<i>Piña</i>				
Inicio (0 días)	99,67		-1,44	4,37
Final (210 días)	99,53	0,44	-1,34	4,77
<i>Naranja</i>				
Inicio (0 días)	95,75		6,48	14,96
Final (210 días)	96,11	0,99	6,60	14,14

Las Tablas 3 a 5 presentan las evaluaciones de las aguas saborizadas de piña, naranja y limón. En los dos primeros sabores no se registraron cambios en el tiempo de estudio con respecto al inicio. En el limón se detectaron cambios relacionados con una disminución ligera de la intensidad del

saborizante y del sabor ácido, por lo que los catadores valoraron su calidad sensorial de buena, calificación que se mantuvo hasta los 210 días, que coincide con el tiempo de término del estudio.

Tabla 3. Evaluación sensorial de agua saborizada de piña con FOS

Tiempo (d)	Descripción	Calidad sensorial
0	Color amarillo, que se asocia con la fruta, olor y sabor ligero a piña artificial, acidez ligera, armonía en el sabor, cuerpo ligero, sensación de llenura en la boca	Excelente
30	No presenta cambios con respecto al tiempo cero	Excelente
65	No presenta cambios con respecto al tiempo cero	Excelente
90	No presenta cambios con respecto al tiempo cero	Excelente
120	No presenta cambios con respecto al tiempo cero	Excelente
150	No presenta cambios con respecto al tiempo cero	Excelente
180	No presenta cambios con respecto al tiempo cero	Excelente
210	No presenta cambios con respecto al tiempo cero	Excelente

Tabla 4. Evaluación sensorial de agua saborizada de naranja con FOS

Tiempo (d)	Descripción	Calidad sensorial
0	Color naranja, que se asocia con la fruta, define naranja en olor y sabor con una intensidad moderada, acidez ligera, nota dulce muy ligera, armonía en el sabor, cuerpo ligero, sensación de llenura en la boca	Excelente
30	No presenta cambios con respecto al tiempo cero	Excelente
65	No presenta cambios con respecto al tiempo cero	Excelente
90	No presenta cambios con respecto al tiempo cero	Excelente
120	No presenta cambios con respecto al tiempo cero	Excelente
150	No presenta cambios con respecto al tiempo cero	Excelente
180	No presenta cambios con respecto al tiempo cero	Excelente
210	No presenta cambios con respecto al tiempo cero	Excelente

Tabla 5. Evaluación del agua saborizada de limón con FOS

Tiempo (d)	Descripción	Calidad sensorial
0	Apariencia: Incolora, transparente. Olor que define a limón, se percibe con intensidad de moderada a marcada, sabor marcado, se percibe nota ligeramente dulzona y el ácido con intensidad moderado. Sensación de llenura en la boca	Excelente
30	No presenta cambios con respecto al tiempo cero	Excelente
60	No presenta cambios con respecto al tiempo cero	Excelente
90	No presenta cambios con respecto al tiempo cero	Excelente
120	Presenta cambios con respecto al tiempo cero, los catadores perciben una disminución muy ligera de la intensidad del olor y del sabor a limón	Buena
150	Presenta cambios con respecto al tiempo cero, los catadores perciben una ligera disminución del sabor ácido	Buena
180	Presenta cambios con respecto al tiempo cero, los catadores observan una ligera disminución del sabor ácido	Buena
210	Presenta cambios con respecto al tiempo cero, los catadores perciben el ácido con una intensidad muy ligera, lo que hace que prevalezca la nota dulce.	Buena

Los resultados microbiológicos se muestran en las Tablas 6 a 8, donde se aprecia que no hubo crecimiento microbiano durante el almacenamiento, debido al tratamiento de conservación empleado.

Tabla 6. Evaluación microbiológica de agua saborizada de piña con FOS

Tiempo (d)	CHF (ufc/mL)	CL (ufc/mL)	CCT (ufc/mL)	CCTT (ufc/mL)
0	negativo	negativo	negativo	negativo
30	negativo	negativo	negativo	negativo
65	negativo	negativo	negativo	negativo
90	negativo	negativo	negativo	negativo
120	negativo	negativo	negativo	negativo
150	negativo	negativo	negativo	negativo
180	negativo	negativo	negativo	negativo
210	negativo	negativo	negativo	negativo

CCT: conteo de coliformes totales, CTT: conteo de coliformes termo-tolerantes, CHF: conteo de hongos filamentosos, CL: conteo de levaduras.

Tabla 7. Evaluación microbiológica de agua saborizada de naranja con FOS

Tiempo (d)	CHF (ufc/mL)	CL (ufc/mL)	CCT (ufc/mL)	CCTT (ufc/mL)
0	negativo	negativo	negativo	negativo
30	negativo	negativo	negativo	negativo
65	negativo	negativo	negativo	negativo
90	negativo	negativo	negativo	negativo
120	negativo	negativo	negativo	negativo
150	negativo	negativo	negativo	negativo
180	negativo	negativo	negativo	negativo
210	negativo	negativo	negativo	negativo

CCT: conteo de coliformes totales, CTT: conteo de coliformes termo-tolerantes, CHF: conteo de hongos filamentosos, CL: conteo de levaduras.

Tabla 8. Evaluación microbiológica de agua saborizada de limón con FOS

Tiempo (d)	CHF (ufc/mL)	CL (ufc/mL)	CCT (ufc/mL)	CCTT (ufc/mL)
0	negativo	negativo	negativo	negativo
30	negativo	negativo	negativo	negativo
65	negativo	negativo	negativo	negativo
90	negativo	negativo	negativo	negativo
120	negativo	negativo	negativo	negativo
150	negativo	negativo	negativo	negativo
180	negativo	negativo	negativo	negativo
210	negativo	negativo	negativo	negativo

CCT: conteo de coliformes totales, CTT: conteo de coliformes termo-tolerantes, CHF: conteo de hongos filamentosos, CL: conteo de levaduras.

CONCLUSIONES

En las aguas saborizadas de piña y de naranja la concentración de fructooligosacáridos (FOS) se mantuvo en un 87 % durante un tiempo de conservación de 210 días a temperatura ambiente y en envases PET, mientras que el agua saborizada de limón a los siete meses, el contenido de FOS fue 45 % de la concentración inicial. En la evaluación sensorial las aguas saborizadas de naranja y piña mantuvieron estables su apariencia, olor y sabor con evaluación de excelente, mientras que la de limón a los 120 días fue evaluada de buena al disminuir la intensidad del olor y sabor. Las aguas saborizadas no sufrieron afectaciones microbiológicas durante los siete meses evaluados. Se recomienda realizar un ajuste en la formulación del limón, para lograr un comportamiento del FOS similar al obtenido en las aguas de sabor naranja y de piña.

REFERENCIAS

1. Da Cruz J. 2006. Agua embotellada: Signo de nuestro tiempo. Observatorio de globalización. D 3e. n°5. <http://www.globalizacion.org/ODGDaCruzAguaEmbotellada.pdf> (Octubre 2021)
2. Kolida S, Tuohy K, Gibson R. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. *Bri J Nutr* 2002; 87(2):193-7.
3. Bouhnik Y. Four-week short chain fructo-oligosaccharides ingestion leads to increasing fecal bifidobacteria and cholesterol excretion in healthy elderly volunteers. *Nutr J* 2006; 6:1-42.
4. Borges P, Otano B, Pino J.A. Obtención y aplicación de extractos alcohólicos de cúrcuma. *Cienc Tecnol Aliment* 2011; 21(3):68-5.
5. Saiz de Cos P, Pérez-Urria E. Cúrcuma I (*Curcuma longa* L.). *REDUCA Biología* 2014; 7(2):84-99.
6. Laura R, Dana W, Escandarani S, Miranda A, Troncoso A. La radiación a la mesa. *Rev Chil Infect* 2009; 26 (4):318-30.

7. Gonzáles-Rodríguez E, Ortega A, Matínez-Rodríguez O, Pérez-Cruz E, Nuñez de Villavicencio M, Ruiz-Maura M. Agua saborizada de limón con jarabe prebiótico. *Cienc Tecnol Aliment* 2019; 29(2):66-6. Disponible en <https://www.revcitecal.iiiia.edu.cu/revista/index.php/RCTA/article/view/28>. Acceso 20 abril 2022.
8. Ortega A, Borges P, Ramos L, Jiménez L, Nieves G, Rodríguez J L. Desarrollo de un agua con sabor naranja y extracto de cúrcuma. *Cienc Tecnol Aliment* 2020; 30(1):7-11. Disponible en <https://www.revcitecal.iiiia.edu.cu/revista/index.php/RCTA/article/view/83>. Acceso 20 abril 2022.
9. García-Duarte C, Ortega A, Bouza B. Perfil sensorial de aguas saborizadas limón y naranja con adición de jarabe de fructooligosacáridos y extracto de cúrcuma. *Cienc Tecnol Aliment* 2021; 31(1):36-6. Disponible en <https://www.revcitecal.iiiia.edu.cu/revista/index.php/RCTA/article/view/222>. Acceso 20 abril 2022.
10. García-Duarte C, Ortega A, Bouza B. Caracterización sensorial de ingredientes a emplear en aguas saborizadas limón y naranja. *Cienc Tecnol Aliment* 2021; 31(2):20-5. Disponible en <https://www.revcitecal.iiiia.edu.cu/revista/index.php/RCTA/article/view/269>. Acceso 20 abril 2022.
11. NC 277. Aditivos alimentarios. Regulaciones Sanitarias. Método de referencia. Cuba; 2003.
12. NC 424. Bebidas no alcohólicas - Determinación del contenido de sólidos solubles totales. Método de referencia. Cuba; 2006.
13. NC 528. Medidores de pH. Métodos y medios de verificación. Método de referencia. Cuba; 2017.
14. NC 1004. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal - guía general para la enumeración de levaduras y mohos - técnica a 25 °C. Método de referencia. Cuba; 2016.
15. NC 1096. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal – método horizontal para la enumeración de coliformes termotolerantes – conteo de las colonias obtenidas a 44 °C - Técnica de placa vertida. Método de referencia. Cuba; 2015.
16. NC ISO 4832. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal — método horizontal para la enumeración de coliformes — Técnica de conteo de colonias método de referencia (ISO 4832:2006, idt). Método de referencia. Cuba; 2010.
17. NC 585. Contaminantes microbiológicos en alimentos. Regulaciones sanitarias. Método de referencia. Cuba; 2017.
18. Duarte C. Métodos objetivos para el control de la calidad sensorial. *Cienc Tecnol Aliment* 2013; 23(2):12-5.
19. Nuñez de Villavicencio M, Hernández-Álvarez R, Rodríguez-Álvarez I, Rodríguez J L, Torres-López Y. Metodología para la estimación de la vida útil de los alimentos. I. Procedimiento General: *Cienc Tecnol Aliment* 2017; 27(1):58-6.
20. NC-ISO 8589. Análisis sensorial- Guía general para el diseño de los salones de ensayo. Método de referencia. Cuba; 2021.
21. Mokrzycki W, Tatol M. Color difference Delta E - A survey. *Machine Graphics and Vision* 2011; 20:383-411.