

FORMULACIÓN DE UNA NANOEMULSIÓN ESTABLE PARA ENCAPSULACIÓN DE UN SABORIZANTE CON APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA DE BEBIDAS

Maritza Torres Rodríguez, Alis Pataquiva-Mateus

Programa de Maestría en Ingeniería de Procesos y Sistemas Industriales, Facultad de Ciencias Naturales e Ingeniería, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Bogotá, Colombia

RESUMEN

En este estudio, se realizó la síntesis de una nanoemulsión, la cual está compuesta por un saborizante oleosoluble y co-solventes hidrosolubles, por medio de un ultra-homogenizador; obteniéndose un saborizante compuesto, con ingredientes de origen natural y con el que se logró el desarrollo una bebida alcohólica gasificada (*Alcopops*), translúcida y con un perfil sensorial que fue aceptado por los consumidores de un *target* específico. El proceso se llevó a cabo por medio de una homogenización a 13500 rpm por 20 minutos, realizándose una estabilidad por 45 días con el fin de detectar la duración y funcionalidad de la misma. Se obtuvo una nanoemulsión con una estabilidad aceptable a 45 días en temperatura de refrigeración y ambiente, destacándose un tamaño de partícula inicial de 61.5 nm.

Palabras clave: Síntesis, ultra homogenización, nanoemulsiones, bebidas, saborizantes.

ABSTRACT

In this research, the synthesis of a nanoemulsion was studied, which is composed of an oil-soluble flavoring and water-soluble co-solvents, with an ultra-homogenizer; obtaining a flavoring, with natural ingredients and with which it development of a carbonated alcoholic drink (*Alcopops*), translucent and with a sensory profile that was accepted by the consumers of a specific target. The process was carried out by means of a homogenization at 13,500 rpm for 20 minutes, performing a stability for 45 days in order to detect its duration and functionality. A nanoemulsion was obtained with an acceptable stability at 45 days in refrigeration and ambient temperatures, highlighting an initial particle size of 61.5 nm.

Keywords: Synthesis, ultra homogenization, nanoemulsion, beverages, flavorings.

INTRODUCCIÓN

Desde épocas antiguas, diferentes culturas y sociedades humanas han usado especias y condimentos con el fin de lograr percibir los alimentos con sabores más agradables al paladar (Almeida, 2011). En el descubrimiento de América, los conquistadores en su encuentro con los nativos americanos registraron que estos consumían ají, y otras especias nativas; causando una transformación paulatina las artes culinarias (Ulloa, 2006). Adicionalmente, se encontró la necesidad de transferir estos aromas a otros productos con el fin de brindar mejores sabores y crear una sensación familiar y agradable al consumir un alimento diferente (Ulloa, 2006).

Los sabores y aromas se definen como moléculas volátiles que no solo se registran a nivel olfativo, sino también por vía retronasal que permite identificar una sensación que se experimenta cuando un alimento está en la boca (Ibañez, Torre, & Irigoyen, 2003). En este sentido, los sabores tienen la capacidad de crear experiencias en donde se combinan la percepción del gusto y el aroma. Esto permite estructurar un factor importante de decisión para los consumidores a la hora de degustar cualquier alimento ya sea procesado o no, ya que una desviación del olor o el sabor de un producto, puede causar el rechazo del mismo, principalmente porque el perfil sensorial se asocia generalmente con la calidad (Ibrahim, El-Ghorab, El-Massry, & Osman, 2012).

Los consumidores hoy en día son más conscientes de los alimentos que usan en su canasta familiar; la información sobre el alimento a la cual se tiene acceso cada vez es más amplia lo cual ha llevado a fortalecer las etiquetas limpias, que permiten tener claridad en las características del producto, su origen, los ingredientes, las cantidades y lotes de producción, identificándose así la composición y naturalidad de los mismos (Barbosa & Duque, 2017). En este punto, es posible argumentar que los productos naturales son una de las tendencias de alimentación más marcadas en el año 2019, por ello los consumidores buscan alimentos más naturales, menos nocivos y con etiquetado más transparente (Olivares & Lozano, 2019), además se indica que lo artificial para los consumidores es “el enemigo número uno”, esto, ha venido obligando a las compañías a tener productos menos artificiales, 100% libres de aditivos químicos o sintéticos y sustituyéndolos por formulaciones naturales que sean de fácil identificación en manos del consumidor (Montero, 2016).

No obstante, el consumidor busca en los productos no solo naturalidad, si no que se enfocan en productos que les produzcan diferentes sensaciones o experiencias, refiriéndose a la emocionalidad que puede causar un alimento en una persona (Olivares & Lozano, 2019). Esto, gracias a la mezcla de colores, sabores, texturas u olores que le permita tener la sensación de desear consumirlo. Por esta razón, la industria de sabores no puede descuidar a los consumidores que quieren un alimento sabroso, pero natural.

Los sabores naturales que provienen de materiales de origen vegetal o animal son extraídos generalmente por técnicas fisicoquímicas que brindan aceites esenciales, oleorresinas, entre otras. Estos productos derivados de aceites esenciales son usados en la industria cosmética, farmacéutica y de saborizantes para diferentes fines y propósitos comerciales; sin embargo, no pueden ser usados en bebidas traslúcidas debido a la turbidez y a la separación de las fases (agua/aceite) en el producto terminado.

Es así como en los últimos años, a pedido del mercado se ha incrementado la demanda de nuevas tecnologías que permitan liberar y proteger compuestos nutraceuticos en productos alimenticios acuosos; para lo cual se han venido diseñando vehículos de naturaleza diferente a la lipida para estas funciones mencionadas (Zimet & Livney, 2009). Por esta razón, la producción de vehículos a nanoescala, puede ser empleada para desarrollar compuestos nutraceuticos hidrofobicos y que aportan las siguientes características: por su tamaño proveen: biodisponibilidad (ya que se encuentran en gran número por unidad de masa); minimización de los efectos adversos de las características sensoriales (transparencia); protección contra degradación por oxidación (vida útil) y finalmente, previene la aparición de sabores u olores indeseados evitando la pérdida del valor metabólico (Zimet & Livney, 2009).

Entrando más en materia, la encapsulación por medio de nanoemulsiones permite transformar sabores oleosolubles a hidrosolubles, lo que es bastante útil tanto para la industria de bebidas

alcohólicas, como las sin alcohol; pues brindan una apariencia totalmente translúcida y no genera separaciones de fases en el producto terminado (Silva, Cerqueira & Vicente, 2011). La obtención de estos sabores se genera sin bases alcohólicas, permitiendo mejores oportunidades a la hora de su comercialización, ya que no poseen problemas por bajo punto de inflamabilidad y, además, permite el uso de aceites esenciales para la elaboración de sabores clasificados como Naturales según el Codex Alimentarius (Zhang, Bing, & Reineccius, 2015)

Hoy por ejemplo, como lo muestran los estudios de la Cámara de Comercio de Cali, es una tendencia en aumento el consumo de bebidas saborizadas que sean de baja turbidez como las aguas, licores, incluso cerveza saborizada; en donde el uso de sabores que no contengan alcohol o generen separación se ha convertido en una necesidad para la industria (CCC, 2019), pues en casos como las cervezas 0.0 el contenido alcohólico de un sabor puede dañar la declaración alcohólica en la etiqueta, así como en bebidas traslúcidas que pueden generar anillos grasos en las marmitas de fabricación; por lo que las nanoemulsiones son la solución para el nuevo desarrollo de estas bebidas.

En conclusión, esta investigación tuvo como objetivo la formulación y el desarrollo de una nanoemulsión con sabor oleosoluble, elaborada con materias primas de origen natural, de fácil acceso y bajo costo, lo cual permitirá a su vez el desarrollo de nuevos productos para ser implementados en la industria de sabores, con el fin de aportar a la innovación en el mercado de bebidas en los diferentes mercados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Las materias primas usadas para el proceso de producción de la nanoemulsión se basaron en un surfactante natural como lecitina de soja líquida (Danisco), sabor oleosoluble de tutti frutti (Piccolinni Sabores y Fragancias) y co-solventes como glicerina, propilenglicol, y sorbitol (Dow Chemical). Todos los productos usados durante la experimentación son declarados como grado alimenticio y a su vez, se encuentran aprobados por el Codex Alimentarius en las dosificaciones recomendadas para su uso en la industria de alimentos y bebidas que se encuentran descritos en la Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios (GSFA).

Síntesis de la nanoemulsión

La síntesis de la nanoemulsión se llevó a cabo por medio de un homogeneizador (Ultra Turrax® T-25) a una velocidad de 13500 rpm, en un ciclo de 20 minutos.

El proceso se realizó mezclando dos fases: una hidrosoluble y otra oleosoluble. En la fase oleosoluble se mezclaron 160 g/L del sabor tutti frutti y la lecitina de soya. Por otro lado, la fase hidrosoluble se colocaron los cosolventes (200 g/L de glicerina, propilenglicol y 400 g/L sorbitol) junto con 100 g/L de agua y se procedió a agitar manualmente hasta obtener un producto totalmente traslucido. Las cantidades de lecitina de soya y del propilenglicol variaron entre 1 y 10 g/L y 130 y 137 g/L respectivamente según la formulación.

Se inició entonces el proceso de agitación en el homogeneizador con la fase oleosoluble y lentamente se fue adicionando la fase hidrosoluble, al terminar de agregar la fase oleosoluble sobre la hidrosoluble se comenzó a tomar el tiempo.

Proceso de Estabilidad

El proceso de estabilidad se llevó a cabo dividiendo la nanoemulsión en tres muestras y sometiéndolos a tres tipos de ambiente por un periodo de seis semanas. Se realizó una toma de parámetros fisicoquímicos al inicio del proceso y al finalizar el periodo de estabilidad.

Las temperaturas manejadas fueron las siguientes: temperatura ambiente, temperatura de refrigeración que se realizó a 4°C y temperatura de calentamiento que se ejecutó en una incubadora IN55 marca Memmert a 35°C.

Caracterización

Se realizaron diferentes análisis de cada una de las nanoemulsiones, los parámetros fisicoquímicos tomados fueron índice de refracción por medio de un refractómetro portátil (Hanna Instruments HI96800), densidad relativa en un densímetro digital (30PX Mettler Toledo) y el pH se registró usando un pH metro portátil (SG32 Mettler Toledo).

La caracterización de la estabilidad de la nanoemulsión se realizó por medio de un equipo Laser Diffraction Particle Size Analyzer (LS 13 320), en donde se midió el tamaño de partícula (nm); mediante la difracción de un rayo láser que permite medir tamaños desde 10nm hasta 3500 μm (Beckman, 2003).

Funcionalidad en bebida terminada

Se desarrolló una bebida alcohólica gasificada con 5° de alcohol, incolora y con sabor brindado por la nanoemulsión de tutti frutti. La bebida contenía alcohol étílico al 96% grado alimenticio, acidulante (ácido cítrico), azúcar y agua gasificada.

Se aplicaron las nanoemulsiones al iniciar y finalizar el periodo de estabilidad en las bebidas previamente desgasificadas y se procedió a evaluar la turbidez de las mismas, en un turbidímetro (Hanna HI93703C). La medición de turbidez se realizó durante dos días consecutivos para verificar cambios en el comportamiento de la nanoemulsión.

Se llevo a cabo un panel sensorial con la nanoemulsión mantenida al medio ambiente, ejecutándose una prueba afectiva de escala hedónica verbal determinando la satisfacción del producto en los consumidores, según la NTC 3930. Se realizó un análisis estadístico general.

Análisis estadístico

Se evaluaron los resultados por medio de un diseño de experimentos multifactorial en tres fases, por un análisis comparativo múltiple realizado por triplicado ($n=3$), con el fin de detectar las diferencias significativas entre las experimentaciones.

En la primera fase se estudió el efecto de la cantidad porcentual del emulsificante (4 niveles), el tiempo (2 niveles) y la temperatura (3 niveles); sobre la medida de la altura de la separación de la fase oleosa. En este proceso se seleccionó la mejor formulación.

Posteriormente, en la segunda fase se evaluó la estabilidad de las formulaciones, en donde se evaluó el tiempo (2 niveles) y la temperatura (3 niveles) y sus efectos en los parámetros de

respuesta, tomados como los factores fisicoquímicos (pH, densidad relativa, índice de refracción y tamaño de partícula).

Finalmente, se evaluó el efecto del tiempo (2 niveles) y la temperatura (3 niveles), sobre la turbidez de la bebida realizada con la nanoemulsión.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la concentración de emulsificante en la estabilidad de la nanoemulsión

La formulación se basó en ensayos preliminares, en donde se establecieron y definieron las mezclas adecuadas en cuanto a la dosificación y tipo de sabor oleosoluble, los solventes y co-solventes. La lecitina de soya, fue elegida como surfactante principalmente por ser un emulsificante de origen natural, según el Codex Alimentarius, no tiene límite de uso y, además, estabiliza y emulsifica sistemas aceite en agua, presentando buena sinergia entre las diferentes fases de una emulsión (Zhang, Dudley, G., & Harte, 2017).

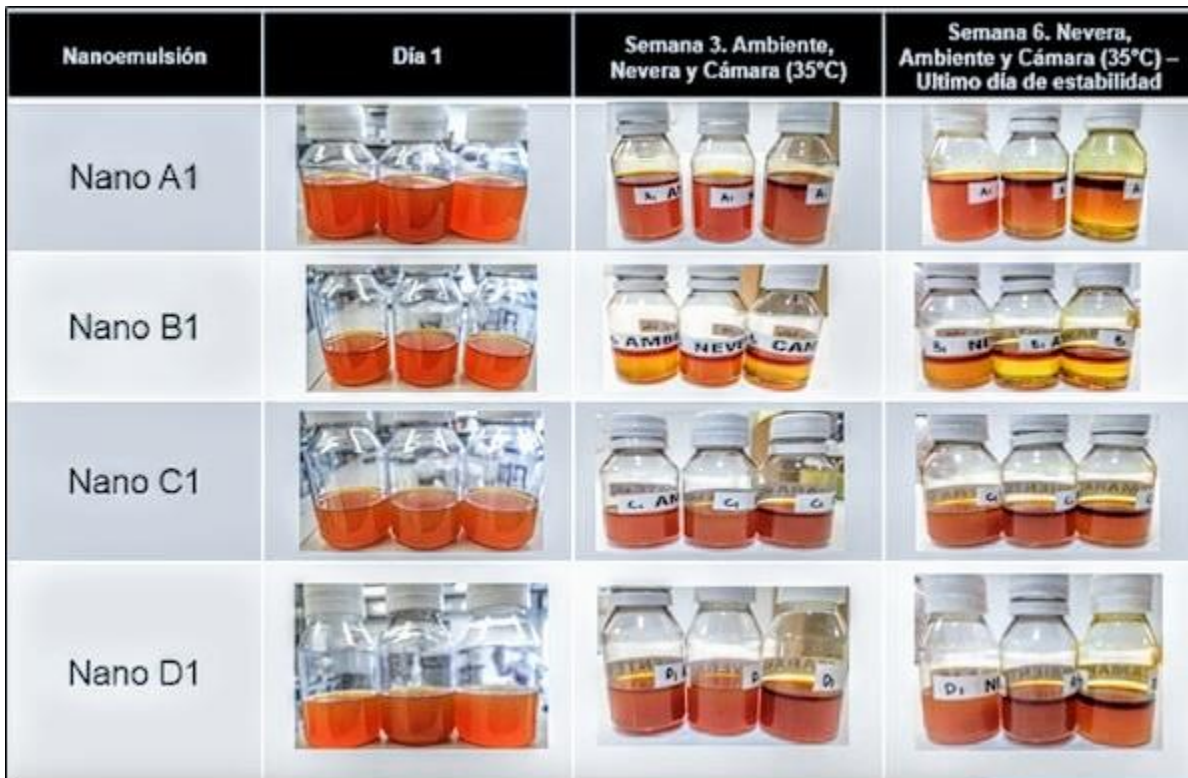


Figura 1. Cambios físicos de la nanoemulsión a diferentes concentraciones de la lecitina de soya (A1, 5g/L. B1, 3g/L. C, 8g/L y D1, 10g/L)

La separación de fases se realizó con un análisis físico y cualitativo (Figura 1), que se cuantificó realizando la medición de la fase oleosa entre 0 y 4 mm, asignándoles un valor dependiendo del nivel de separación tal y como se observa en la tabla 1, esta medición se llevó a cabo cada semana a las diferentes temperaturas, por un espacio de 45 días.

Tabla 1. Asignación de valores cuantitativos de la separación de las fases

Calificación Cualitativa	Valor asignado	Medición de la separación (mm)
Sin separación	5,0	0,0 - 0,5
	4,3	0,6 – 1,0
	3,6	1,1 - 1,5
	2,8	1,6 – 2,0
	2,1	2,1 - 2,5
	1,4	2,6 – 3,0
	0,7	3,1 - 3,5
Con separación	0,0	3,6 – 4,0

De esta manera, se evaluó en la tabla 2 la concentración del emulsificante (Lecitina de soya) y su efecto en la separación de fases.

Tabla 2. Evaluación de la dosis de la lecitina de soya en la nanoemulsión

Formulación	Emulsificante
A	1,900 ^B
B	1,667 ^B
C	3,878 ^A
D	4,522 ^A

Los diferentes subíndices en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$)

La máxima concentración micelar crítica (CMC) de la lecitina de soya, reportada en algunos estudios es de 20g/L de solución (Gonçalves, y otros, 2015), indicando que, a una dosis superior a estos valores, se inicia la formación de micelas y los cambios fisicoquímicos se generan con mayor facilidad (Avilán, 2007). En pruebas preliminares se detectó que dosis superiores a los 15g/L con las mezclas de los solventes y co-solventes elegidos, se generaba una emulsión físicamente viscosa y con baja maniobrabilidad. Algunas patentes desarrolladas en nanoencapsulación de sabores, indican que la concentración de lecitina como emulsificante en el peso de la nanoemulsión puede estar en rangos entre el 0.5 – 150 g/L; sin embargo, durante el proceso de nanoemulsión, solo se usaron dosis de 3 g/L, el cual fue combinado con otros emulsificantes artificiales (Estados Unidos Patente n° WO2016064883A1, 2016). Por esta razón, se revisaron las concentraciones entre el 3 y 10 g/L. en el desarrollo del producto.

La característica de separación de fases durante el proceso de estabilidad, mostro según la tabla 2, que la nanoemulsión C y D no presentaba diferencias significativas en la separación de fases, sin embargo, físicamente como se observa en la figura 1 la nanoemulsión D tiene una estabilidad mejor, es esta la que presentaba el mayor contenido de lecitina de soya evaluada.

La proporción adecuada de surfactante, es importante en el desarrollo de la nanoemulsión, ya que permite reducir la tensión superficial de la interface entre el agua y el aceite (Zhang, S., Zhang, M., Fang, Z., & Liu, Y, 2016). Así mismo, algunos estudios indican que las

nanoemulsiones se ven afectadas por la temperatura de almacenamiento, el porcentaje de encapsulación de algunos compuestos va disminuyendo significativamente al pasar los días, sin embargo, a temperaturas de refrigeración 4°C, la estabilidad y el encapsulado del componente es más estable al pasar el tiempo, aunque se ha demostrado que a temperatura ambiente también se puede generar una buena estabilidad y en donde rangos como el tamaño de partícula no generan diferencias significativas (Li & Lu, 2014). Igualmente, en estudios de síntesis de nanoemulsiones con aceite esencial de limón, se detectó que a temperaturas de 5°C la estabilidad es constante al paso de 28 días de almacenamiento (Rao & McClements, 2011) Estos resultados son similares a los obtenidos en este estudio en donde a temperaturas de refrigeración la nanoemulsión mantiene sus características físicas con mejor estabilidad.

Estabilidad de la nanoemulsión

Los cambios físicos de cada una de las nanoemulsiones fueron evidentes al realizar el registro fotográfico, tal y como se observa en la figura 1, en donde los cambios menos significativos en la última semana se registraron en la nanoemulsión D. La estandarización de la cantidad del emulsificante (lecitina de soya), fue clave para evaluar la mejor formulación de la nanoemulsión, en donde se analizó que la separación de las fases se evidenciaba con mayor rapidez al disminuir la cantidad de lecitina de soya, por lo que se definió realizar el proceso de estabilidad con la mejor fórmula desarrollada que contenía 10 g/L de emulsificante. En estudios de desarrollo de nanoemulsiones con aceites esenciales cítricos y uso de lecitina de soya y otras gomas como emulsificantes, en pruebas con concentraciones entre 2.5 g/L y 10 g/L de lecitina de soya se detectó que con esta última cantidad se obtenían mejores resultados en la evaluación del tamaño de partícula (Moreno, 2013).

Se evaluaron cuatro parámetros principales durante la evaluación de la emulsión D que presentó la menor variación en la separación de las fases, durante el proceso de selección. La nanoemulsión fue sometida a un proceso de estabilidad a diferentes temperaturas por un periodo de 45 días, se realizó un análisis estadístico, con el fin de observar los cambios en los parámetros fisicoquímicos para identificar y evaluar los factores en donde existía mayor diferencia significativa. Los factores que se evaluaron equivalen a la temperatura (Factor I) y el tiempo (Factor II) (Tabla 3), los cuales presentaron diferencias significativas en los parámetros fisicoquímicos evaluados, corroborando que son los principales factores que afectan la estabilidad de la nanoemulsión. En otros estudios, se evidencia el aumento del tamaño de partícula y los cambios fisicoquímicos de las nanoemulsiones, al considerar la misma cantidad de emulsificante y su estabilidad en periodos hasta de 15 días, así mismo, se evidencio estos cambios al someter las nanoemulsiones a cambios de temperatura entre los 20 y 90°C, siendo esta temperatura máxima la que presenta mayor deterioro en la nanoemulsión (Su & Zhong, 2015).

Tabla 3. Diferencias en los parámetros fisicoquímicos entre los tratamientos. Temperatura (I) y Tiempo (II)

Parámetro	Factor	
	I	II
nm	142.067 ^A	153.333 ^A
	100.233 ^{AB}	61.467 ^B
	79.900 ^B	
Densidad Relativa	1.149 ^A	1.148 ^B
	1.149 ^A	1.150 ^A
	1.148 ^B	
Índice de refracción	1.451 ^A	1.450 ^A
	1.448 ^B	1.447 ^B
	1.447 ^B	
pH	4.850 ^B	5.053 ^A
	5.005 ^{AB}	4.930 ^A
	5.120 ^A	

Los diferentes subíndices en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$)

Siendo el tamaño de partícula, la densidad relativa y el índice de refracción, los parámetros de mayor impacto en la evaluación de la estabilidad de un sabor, se debe destacar que el tiempo, es un factor que presenta mayor varianza y diferencia en los datos tomados. El tiempo evaluado a diferentes temperaturas finalmente brinda una hipótesis del comportamiento de la vida útil de la nanoemulsión y cuáles son las características de mejor almacenamiento (Temperatura). En este estudio se detectó que, a temperaturas de refrigeración, el producto genera buena estabilidad, durante el tiempo estudiado (45 días). Se corrobora de esta manera que los estudios de Li & Lu y Rao & McClements nombrados anteriormente muestran los mismos comportamientos en temperaturas de 4-5°C.

En estudios preliminares, se evaluó como factor el paso de la emulsión por dos ciclos de mezcla, debido a que en investigaciones similares el número de ciclos de paso por equipos de altas presiones o microfluidizadores ayudan a que el tamaño de partícula sea menor y a generar mejor estabilidad y mayor tiempo de vida útil (Zhang, S., Zhang, M., Fang, Z., & Liu, Y, 2016). Sin embargo, al usar el ultra-turrax y realizar dos ciclos consecutivos, se afectaron los parámetros de temperatura y la emulsión se comenzó a separar más rápidamente, evidenciándose que no era un factor útil para medición pues las partículas de la nanoemulsión se dispersaron con mayor facilidad. Otros estudios han demostrado que, al realizar más de un ciclo, se comienza a descomponer la lecitina, lo que hace que la nanoemulsión tenga grupos de partículas de diferentes tamaños, indicando la degradación del material y aumento rápido del tamaño de partícula derivando a una separación de fases (Moreno, 2013).

Los procesos de nanoemulsión por medio de técnicas de alta energía deben ser realizadas en homogeneizadores de altas presiones, ultrasonidos o microfluidizadores que permitan romper las fases de aceite y agua con el fin de formar pequeñas nanopartículas (Chime,

Kenechukwu & Attama, 2014), de esta manera se realizó una homogenización a la velocidad máxima del Ultra turrax, usando 13500 rpm por 20 min, en donde se logró generar una mayor estabilidad y menor tamaño de partícula, al compararlo con los ensayos preliminares a menores revoluciones.

La figura 2. muestra el tamaño de partícula de las diferentes nanoemulsiones, según la temperatura y el tiempo por el cual fueron sometidos. Las nanoemulsiones se midieron en el equipo LS 13 320, en donde se observa un promedio del tamaño partícula expresado en nanómetros. Al inicio de la estabilidad se logra un tamaño de partícula promedio de 61.5 nm, sin embargo, al pasar los días de estabilidad, rápidamente aumenta el tamaño de partícula hasta alcanzar un promedio de 223 nm al finalizar la estabilidad. Los datos evaluados por triplicado, muestran una baja desviación, siendo el día 1 y a temperatura de refrigeración las muestras menos dispersas; los datos más dispersos alrededor de la media se encontraron el día 45 a 35°C, en donde finaliza la estabilidad y es el valor en donde la nanoemulsión sufrió mayores cambios.

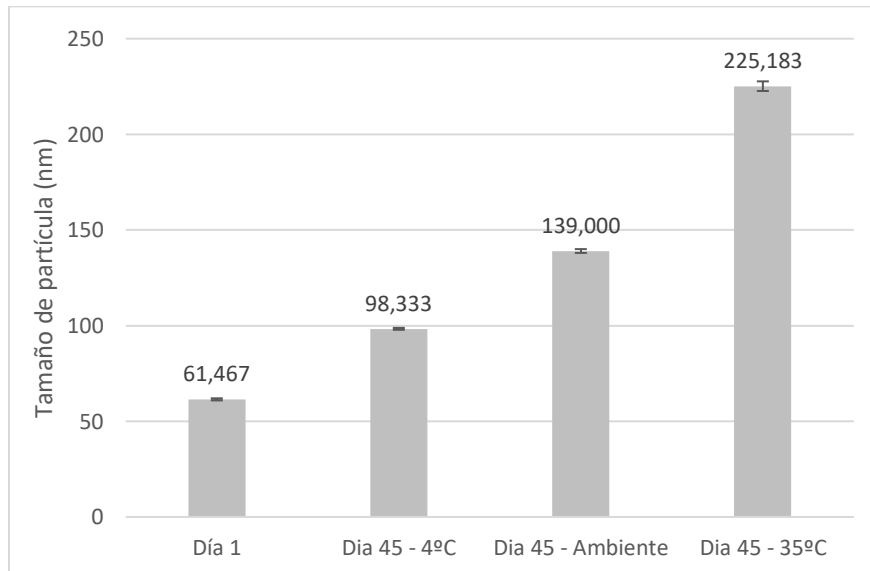


Figura 2. Cambios en el tamaño de partícula último día de estabilidad, según la influencia de la temperatura (Fresco, ambiente, nevera y cámara) (n=3)

Se evidenció una alta distribución de partículas en el tiempo 0, por lo que la separación de las partículas se lleva a cabo más fácilmente. Esto puede indicar que el homogeneizador usado no es suficiente para romper todas las partículas al tamaño necesario para mantener una buena estabilidad. Estudios indican que el uso de Ultra turrax a 10.000 rpm por 5 minutos es útil en pre-homogenizaciones (Riquelme & Arancibia, 2018). Además, en estos homogeneizadores a mayor tiempo de mezclado si se rompe más el tamaño de la partícula, pero hay un aumento significativo en la temperatura del mismo, que se debe controlar, con lo que se lograron estabilidades hasta de 30 días (Zhang, Bing, & Reineccius, 2015)

También se observa que a medida que transcurren los días de estabilidad el aumento del tamaño de partícula es significativo, primero se evidencia que a mayor temperatura la separación de fases es más visible y por ende el tamaño de partícula es más alto, estos resultados, son equivalentes a otros estudios en donde se evidencia que a temperaturas más altas el tamaño de partícula va aumentando, generando la maduración de Ostwald, y en donde

durante los procesos de estabilidad, el tamaño de la gota rompe la estabilidad de la emulsión y genera la separación de las fases (Delmas, y otros, 2010).

Los resultados de las mediciones del tamaño de partícula, son equivalentes a los parámetros fisicoquímicos de las muestras, en donde se evidenció la separación de las fases a 45 días de estabilidad en temperatura ambiente; la estabilidad en algunas nanoemulsiones generadas con procesos de alta energía pueden alcanzar de 15 a 90 días de estabilidad, estos resultados fueron evidentes en estudios en donde se usaron presiones de 28000 psi, al realizar comparaciones entre las presiones, se identificó que a mayor presión menor es el tamaño de la partícula, encontrando que existen diferencias significativas usando presiones de 16000 psi a 28000 psi (Cheong & Nyman, 2016). Agitaciones a menos revoluciones son usados como premezcla, en donde a 6000 rpm se alcanza a generar una macroemulsión, por lo que posteriormente debe ser pasada por un microfluidizador a 22000 psi y lograr de esta manera menores tamaños de partículas (Zhang, Bing, & Reineccius, 2015).

Se demostró además que, dependiendo de la fuente y tipo de aceite, las nanoemulsiones suelen ser más o menos estables, reportándose que los aceites cítricos tienen mejor estabilidad (Guerra & Otros, 2015).

Finalmente, es importante destacar, que la nanoemulsión desarrollada es una mezcla de químicos aromáticos naturales, con un aceite esencial de naranja. La presencia de los químicos naturales puede generar una mayor variabilidad en la estabilidad del sabor.

Funcionalidad de la nanoemulsión

La nanoemulsión D, fue usada para verificar su funcionalidad en una bebida terminada. Las nanoemulsiones fueron aplicadas en una bebida tipo *alcopops*, que es una bebida alcohólica, generalmente incolora, translúcida y gasificada; que contiene entre el 3,5% y el 20% de alcohol. Se caracterizan por manejar un marketing juvenil, en donde no solo el empaque es atractivo, sino que además maneja un sabor, generalmente dulce para evocar momentos de la infancia o cítricos para denotar refrescancia (Robledo, 1998); lo ideal es que estos sabores puedan y logren enmascarar el sabor del alcohol haciendo que sean productos llamativos, de sabor agradable y seductor. De esta manera, se desarrolló una bebida endulzada con azúcar con los ingredientes reportados en la tabla 4, en donde la dosis de la nanoemulsión es del 0.1 g/L de producto terminado.

Tabla 4. Fórmula bebida tipo *alcopop* con nanoemulsión como saborizante

Ingredientes	g/L
Alcohol 96%	51.2
Ácido Cítrico	0.8
Azúcar	7.0
Sabor	0.1
Agua Gasificada	Llevar a 1000 ml

La funcionalidad (figura 3) se analizó en dos parámetros principales, para lo cual se midió la turbidez de la bebida, en el tiempo cero y después de un día de la aplicación comparándolo con un blanco que se definió como agua azucarada. Al realizar el análisis de los datos tomados por triplicado, se detecta una baja dispersión de los datos alrededor de la media, ya que la desviación para la turbidez en los diferentes días es menor a 0.5; solamente se encontró una

des desviación de 1.2 en el día 2 a temperaturas de 45°C, que indica el final de la vida útil de la nanoemulsión.

Las nanoemulsiones son útiles en el desarrollo de productos que tienen baja solubilidad en el agua, y presentan características especiales (Gupta, Eral, Hattona, & S., 2015). Se realizó la comparación de las nanoemulsiones en los diferentes factores (tiempo y temperatura), en donde se registró un máximo de turbidez de 15.1 NTU en la nanoemulsión expuesta a 35°C por 45 días. La mayoría de las bebidas desarrolladas con características similares presentaron una turbidez menor a 10 NTU, que son en lo general bebidas sin azúcar. Tal y como se observa en la figura 4, la bebida con 7% azúcar, registrada como el blanco aporta 3.68 NTU, evidenciándose el buen funcionamiento de las diferentes nanoemulsiones. Resultados similares, son encontrados en las patentes desarrolladas para sabores nanoemulsionados, en donde la turbidez obtenida en un producto libre de azúcar alcanzo los 5 NTU y se obtuvo una disminución significativa en la turbidez después de un día de almacenamiento o maduración de la bebida terminada (Estados Unidos Patente nº WO2016064883A1, 2016), mostrando la efectividad en el uso de la nanoemulsión.

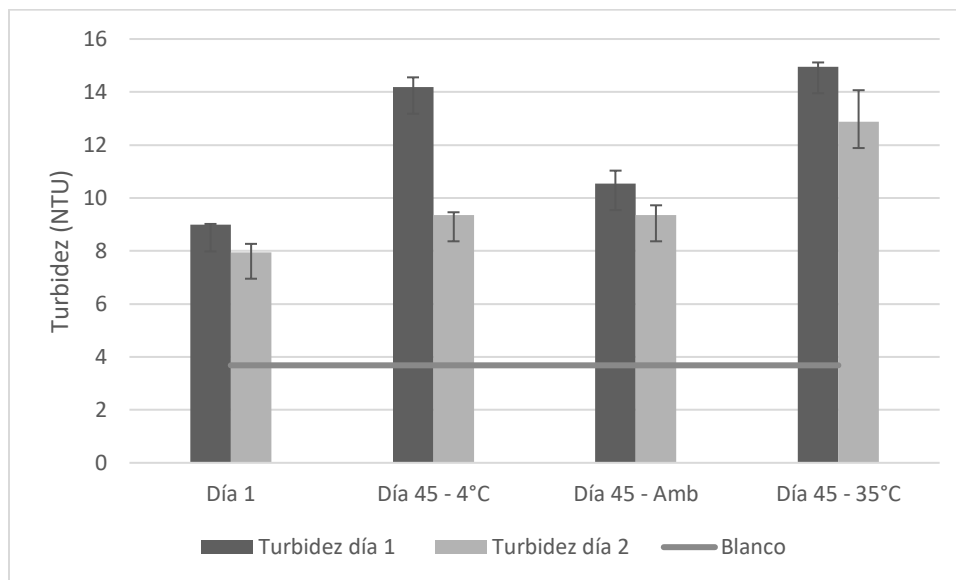


Figura 3. Cambio en la turbidez del producto terminado en día cero y uno (n=3).

Adicionalmente, se realizó un análisis estadístico, para verificar si existía diferencias significativas entre los diferentes factores evaluados. En la tabla 5, se identificó que tanto la temperatura, como el tiempo presentaron diferencias significativas; siendo este último un factor importante ya que establece la vida útil del saborizante, en términos de comercialización del producto, indica que al aumentar la turbidez significativamente en el tiempo, los parámetros de calidad del producto terminado se verán afectados. Los altos parámetros de turbidez productos terminados, puede indicar un aumento en la concentración de gotas de aceite presentes en las macro y nanoemulsiones (Piorkowski & McClements, 2013)

Tabla 5. Análisis estadístico de la turbidez respecto a los tratamientos. Temperatura (I) y Tiempo (II)

Turbidez	Factor	
	I	II
Día 1	11.968 ^A	13.259 ^A
	11.632 ^A	8.983 ^B
	9.763 ^B	
Día 2	10.417 ^A	10.537 ^A
	8.657 ^B	7.950 ^B
	8.657 ^B	

Los diferentes subíndices en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$)

Por otro lado, debido a que se evaluó la funcionalidad del sabor en una bebida terminada, se verifica uno de los parámetros más importantes en el desarrollo de un producto de este tipo y son los factores sensoriales de la bebida. Se debe destacar que al ser un producto con un gran impacto en marketing y con unas características tan específicas, en cuanto a *target* de consumidor y notas sensoriales, se realizó a un panel sensorial con jóvenes universitarios ($n=60$) en donde por medio de un puntaje hedónico se verificó la aceptabilidad de la bebida. Las notas de preferencia observadas en la figura 4 muestran una curva unimodal, en donde se evalúan las medias estadísticas. Debido a que la figura no muestra notas de preferencia en una distribución multimodal, no se hace necesaria la realización de un análisis ANOVA para verificar alguna preferencia. La media en la figura 4 superior al valor 5 indica que el producto tiene aceptación en la población en donde fue evaluada.

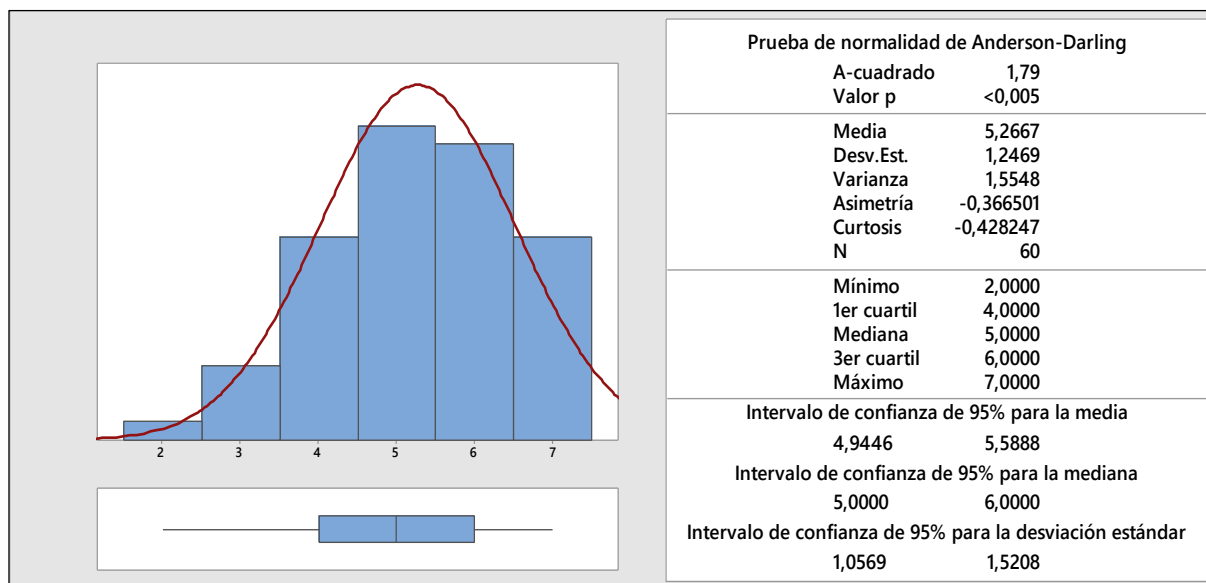


Figura 4. Análisis estadístico del panel sensorial.

El análisis sensorial en escala hedónica además permite realizar ajustes en los factores de desarrollo de la bebida, las observaciones que los diferentes panelistas no entrenados describieron, son factores clave para realizar los ajustes necesarios. Al revisar cada uno de los comentarios, se evidencia que la bebida presenta agrado por su sabor innovador, dulce; sin embargo, se percibe una nota alcohólica que se destaca. Este último factor, se podrá corregir con el ajuste de la dosificación de la nanoemulsión.

Atributos económicos

En el estudio de viabilidad en el desarrollo de un nuevo producto, como en el caso de las bebidas alcohólicas, uno de los factores críticos es el costo de la materia prima. Es importante evaluar el costo en uso de cada uno de los materiales que van a ser usados en la formulación y su impacto en el producto terminado. Para la industria de bebidas que representa una participación el 23.6% en el sector de alimentos y bebidas, el cual está en crecimiento constante, y es un sector de innovación y lanzamiento de nuevos productos cada año (Rivera, Torres & García, 2020), el precio es un factor clave para el éxito en el mercado, ya que, la alta competencia y la necesidad de un buen mercadeo; hace que las ganancias se deban ver reflejadas en el costo de los materiales.

Tabla 6. Evaluación de costo de la nanoemulsión

Descripción	Cantidad (g/L)	Costo Unitario	Contribución
Agua	100.00	\$ 0.50	\$ 0.05
Sabor	160.00	\$ 90,000.00	\$ 14,400.00
Lecitina	10.00	\$ 6,500.00	\$ 65.00
PG	130.00	\$ 6,500.00	\$ 845.00
Sorbitol	400.00	\$ 6,500.00	\$ 2,600.00
Glicerina	200.00	\$13,000.00	\$2,600.00
	Otros		
Empaque Unidad	1.0	\$ 410.00	\$ 0.41
Gastos Indirectos Unidad	1.0	\$ 650.00	\$ 0.65
			\$ 20,511.11

La nanoemulsión desarrollada, tiene un costo aproximado de COP 21.000, tal y como se muestra en la tabla 6 con un margen de ganancia del 40%, el costo de la nanoemulsión puede ser de COP 35.000 y teniendo en cuenta la dosis recomendada el costo en uso es de 3.5 COP/L de producto terminado. Los saborizantes naturales, generalmente son de alto costo, debido a que los materiales usados no se sintetizan tan fácilmente o hacen parte de cultivos (caso de los cítricos), que pueden llegar a ser estacionales, causando variación en los costos; por esto, la nanoemulsión permite un fácil manejo del precio, debido principalmente a que contiene solventes y co-solventes de bajos costos y adicionalmente, por el proceso de la nanoencapsulación, el compuesto activo, en este caso el sabor oleosoluble, tiene mejor percepción sensorial, ya que se mantiene protegido por mayor tiempo, debido a que protege el principio activo por su pequeño tamaño de partícula (Gómez, 2014).

CONCLUSIONES

La técnica de nanoemulsión es funcional para la encapsulación de sabores oleosolubles, su desempeño en el producto terminado permite el desarrollo de una bebida traslucida y con características sensoriales agradables y que sean aceptadas por los consumidores. Las nanoemulsiones, por su contenido de solventes y co-solventes permite un ahorro significativo en el costo por dosis, lo que hace que sea un producto con alta viabilidad económica.

Adicionalmente, los co-solventes y el emulsificante usados en el desarrollo de la nanoemulsión son productos económicos y *commodities* que se pueden conseguir fácilmente en la industria

por lo que permite que la fabricación y comercialización del producto sea factible.

La técnica de alta energía para la síntesis de la nanoemulsión es un factor clave para la buena estabilidad de la emulsión, la homogenización por agitación de equipos como el ultra Turrax, permiten una nanoemulsión funcional, pero con poca estabilidad, ya que los valores de del tamaño de partícula aumentan rápidamente a medida que va pasando el tiempo, evidenciándose en la separación de las fases. Para este tipo de procesos, es indispensable el uso de ultrasonidos a altas presiones, que permitan romper con mayor facilidad el tamaño de partícula, con el fin de generar tamaños de partículas más pequeños y en una distribución menor, así generar una adecuada estabilidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adjonu, R., Doran, G., Torley, P., & Agboola, S. (2013). Whey protein peptides as components of nanoemulsions: A review of emulsifying and biological functionalities. *Journal of Food Engineering*, 15-27.
- Almeida, R. (2011). Usos y propiedades de las especies y condimentos. Universidad tecnica del Norte. Ibarra. 1-4.
- Anandharamakrishnan, C. (2014). *Chapter 2. Techniques for formation of nanoemulsions in Techniques for nanoencapsulation of food ingredients*. Springer.
- Augustin, M. A., & Sanguansri, P. (2009). Nanostructured materials in the food industry. *Advances in food and nutrition research*, 58, 183-213.
- Avilán, A. (2007). Implementación de surfactantes como método de tratamiento para aguas subterráneas contaminadas con dnapls.
- Barbosa, L & Duque, N (2017). Percepción, hábitos y consumo de alimentos nutricionales y saludables en Colombia. Universidad ICESI.
- Beckman Coulter, Inc., (2003). LS 13 320 Laser Diffraction Particle Size Analyzer Instrument Manual. Miami, FL, United States.
- Cámara de comercio de Cali, CCC. (2019). Dinámica mundial del segmento de Bebidas no Alcohólicas. Enfoque Económico. Informes Económicos #117.
- Cheong, A. M., & Nyman, K. L. (2016). Improvement of physical stability of kenaf seed oil-in-water nanoemulsions by addition of b-cyclodextrin to primary emulsion containing sodium caseinate and Tween 20. *Journal of Food Engineering*, 24-31.
- Chime, S.A, Kenechukwu, F.C & Attama, A.A. (2014). Nanoemulsions — Advances in Formulation, Characterization and Applications in Drug Delivery. Application of Nanotechnology in Drug Delivery.
- CODEX. Directrices para el uso de aromatizantes. CAC/GL 66-2008.
- COMECYT, Concejo Mexiquense de ciencia y tecnología. (s.f.). *Estudio de Tendencias y oportunidades para el sector de alimentos procesados del estado de México*. México.
- Couvreur, P., Dubernet, C., & Puisieux, F. (1995). Controlled drug delivery with nanoparticles: current possibilities and future trends. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, 41(1), 2-13.
- Delmas, T., Piraux, H., Couffin, A.-C., Texier, I., Vinet, F.-o., Poulin, P., . . . Bibette, J. (2010). How To Prepare and Stabilize Very Small Nanoemulsions. *Langmuir*, 1683-1692.
- Donsì, F., Annunziata, M., Vincensi, M., & Ferrari, G. (2012). Design of nanoemulsion-based delivery systems of natural antimicrobials: effect of the emulsifier. *Journal of biotechnology*, 159(4), 342-350.
- Ezhilarasi, P. N., Karthik, P., Chhanwal, N., & Anandharamakrishnan, C. (2013).

- Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(3), 628-647. Graveland-Bikker, J. F., & De Kruif, C. G. (2006). Unique milk protein based nanotubes: food and nanotechnology meet. *Trends in Food Science & Technology*, 17(5), 196-203.
- Farn, R. (2006). *Chemistry and Technology of Surfactants*. Australia: Blackwell Publishing Ltd.
- García, S. (2009). Los aromatizantes y los colorantes.
- Gómez, A. (2014). Formulación y caracterización de nano-emulsiones de aceite de parafina tipo agua-en-aceite (W/O). Centro de investigación de materiales avanzados.
- Gonçalves, Rodríguez-Rojoc, Paz, D., Mato, Martin, & Cocero. (2015). Production of water soluble quercetin formulations by pressurized ethyl acetate-in-water emulsion technique using natural origin surfactants. *Instituto de Tecnologia Química e Biológica Antonio Xavier, Universidade Nova de Lisboa*.
- Guerra, M. I., Morales, J., Ochoa, L. A., Trujillo, L., & Martin, O. (2015). Long-term stability of food-grade nanoemulsions from high methoxyl pectin containing essential oils. *Food Hydrocolloids*, 438-446.
- Gupta, A., Eral, B., Hattona, A., & S., D. P. (2015). Nanoemulsions: formation, properties and applications. *Royal Society of Chemistry*.
- He, X., & Hwang, H. M. (2016). Nanotechnology in food science: Functionality, applicability, and safety assessment. *Journal of Food and Drug Analysis*.
- Holmberg, K., Jönsson, B., Kronberg, B., & Lindman, B. (2002). *Surfactants and polymers in aqueous solution*. Inglaterra: John Wiley & sons, ltd.
- IAImentos. (2016). Las empresas que más venden. *IAImentos. Ed. 56*, 12-18.
- Ibañez, F., Torre, P., & Irigoyen, A. (2003). Aditivos alimentarios. *Publicaciones Sociedad Española de dietética y ciencias de la alimentación*, 1-10.
- Ibrahim, G. E., El-Ghorab, A. H., El-Massry, K. F., & Osman, F. (2012). Effect of Microwave Heating on Flavour Generation and Food Processing. *The Development and Application of Microwave Heating*, 17-44.
- Kaur, K., Kumar, R., Arpita, Goel, S., Uppal, S., Bhatia, A., & Mehta, S. K. (2016). Physicochemical and cytotoxicity study of TPGS stabilized nanoemulsion designed by ultrasonication method. *Ultrasonics Sonochemistry*, 173-182.
- Konan, Y. N., Gurny, R., & Allémann, E. (2002). Preparation and characterization of sterile and freeze-dried sub-200 nm nanoparticles. *International journal of pharmaceuticals*, 233(1), 239-252.
- Lee, D., Wang, C.-F., Yang, Y., & Vaccari, D. (2016). *Estados Unidos Patente n° WO2016064883A1*.
- Leong, T. S. H., Wooster, T. J., Kentish, S. E., & Ashokkumar, M. (2009). Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(6), 721-727.
- Li, P.-H., & Lu, W.-C. (2014). Effects of storage conditions on the physical stability of D-limonene nanoemulsion. *Elsevier*, 218-224.
- MERCOSUR. Reglamento técnico mercosur de aditivos aromatizantes/saborizantes. mercosur/gmc/res n° 46/93.
- McClements, D. J., & Rao, J. (2011). Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(4), 285-330.
- Montero, L. (2016). Tendencias globales del consumo alimentario en 2016 y su relación con la industria cunícola. *Boletín cunicultura*, 34-43.
- Moreno, B. (2013). Desarrollo de nanoemulsiones de aceites esenciales cítricos estabilizadas con gomas de origen natural. México.

- Morales, L. A. (2007). Estudio del proceso de transferencia de calor convectivo en nanofluidos. *Fundación Universidad del Norte*.
- Olivares, F. & Lozano, G. (2019). Tendencia de consumo de la industria alimentaria. 2-6. *Perfumer & Flavorist*. (2015). 2015 Flavor & Fragrance Leaderboard. *Perfumer & Flavorist* vol. 40, 20-52.
- Piorkowski, D., & McClements, D. (2013). Beverage emulsions: Recent developments in formulation, production, and applications. Department of Food Science, University of Massachusetts, Amherst, MA 01003, USA.
- Rao, J., & McClements, D. J. (2011). Food-grade microemulsions, nanoemulsions and emulsions: Fabrication from sucrose monopalmitate & lemon oil. *Elsevier*, 1413-1423.
- Reis, C. P., Neufeld, R. J., Ribeiro, A. J., & Veiga, F. (2006). Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2(1), 8-21.
- Restrepo, J., Vinasco, L. E., Jaramillo, L., & Colmenares, A. (2009). Encapsulamiento de los aceites esenciales de citral (*cymbopogon citratus*) en β -ciclodextrinas usando CO₂ supercrítico. *Ingeniería y competitividad*, 9-19.
- Riquelme, N., & Arancibia, C. (2018). Obtención de nanoemulsiones utilizando saponinas de quillay como sustituto de un surfactante sintético.
- Rivera, J., Torres, A., & García, J. (2020) Análisis del desempeño financiero de la industria de bebidas no alcohólicas en Colombia. *Economía coyuntural*. 2-13.
- Robledo, T. (1998). Alcopops, bebida de diseño... y ¿Qué más? *Revista Especialista en Salud pública*.
- Silva, H & Cerqueira M. (2011). Nanoemulsions for Food Applications: Development and Characterization. *Food Bioprocess Technol*.
- Schramm, L., Stasiuk, E., & Marangoni, G. (2003). Surfactants and their applications. 3-48.
- Solè, I., Maestro, A., Pey, C. M., González, C., Solans, C., & Gutiérrez, J. M. (2006). Nano-emulsions preparation by low energy methods in an ionic surfactant system. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 288(1), 138-143.
- Su, D & Zhong, Q. (2015). Lemon oil nanoemulsions fabricated with sodium caseinate and Tween 20 using phase inversion temperature method. *Journal of Food Engineering*.
- Taylor, T. M., Weiss, J., Davidson, P. M., & Bruce, B. D. (2005). Liposomal nanocapsules in food science and agriculture. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(7-8), 587-605.
- Teixeira, M. C. (2013). Nanotecnologia: Do estudo do comportamento do consumidor ao desenvolvimento de aroma nanoencapsulado.
- Ulloa, C. (2006). Aromas y sabores andinos. *Botánica Económica de los Andes Centrales*, 313-328.
- Wang, T., Soyama, S., & Luo, Y. (2016). Development of a novel functional drink from all natural ingredients using nanotechnology. *LWT-Food Science and Technology*, 73, 458-466.
- Zhang, H., Dudley, G., E., & Harte, F. (2017). Critical synergistic concentration of lecithin phospholipids improve the antimicrobial activity of eugenol against *Escherichia coli*. *American Society for Microbiology*.
- Zhang, J., Bing, L., & Reineccius, G. (2015). Comparison of modified starch and Quillaja saponins in the formation and stabilization of flavor nanoemulsions. *Food Chemistry*, 53-59.
- Zhang, S., Zhang, M., Fang, Z., & Liu, Y. (2016). Preparation and characterization of blended cloves/cinnamon essential oil nanoemulsions. *LWT - Food Science and Technology*, 316-322.
- Zimet, P., & Livney, Y. D. (2009). Beta-lactoglobulin and its nanocomplexes with pectin as

vehicles for ω -3 polyunsaturated fatty acids. *Food Hydrocolloids*,23(4), 1120-1126.