

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“DETERMINACIÓN DE UMBRALES SENSORIALES EN AIRE  
DE ALGUNOS COMPUESTOS AROMÁTICOS”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**INGENIERO QUÍMICO EN ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**YOSSELÍN CASTRO ISLAS**

**DIRIGIDA POR**

**Dr. PEDRO ALBERTO VAZQUEZ LANDAVERDE**

**SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2011.**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“DETERMINACIÓN DE UMBRALES SENSORIALES EN AIRE  
DE ALGUNOS COMPUESTOS AROMÁTICOS”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**INGENIERO QUÍMICO EN ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**YOSSELÍN CASTRO ISLAS**

**DIRIGIDA POR**

**Dr. PEDRO ALBERTO VÁZQUEZ LANDAVERDE**

**SINODALES**

**Dr. PEDRO ALBERTO VÁZQUEZ LANDAVERDE**  
DIRECTOR EXTERNO

**Dra. MA. ESTELA VÁZQUEZ BARRIOS**  
ASESOR INTERNO

**M. en C. BEATRIZ LILIANA ALVAREZ MAYORGA**  
SINODAL

**Q. en A. FCO. RAFAEL PÉREZ MUÑOZ**  
SINODAL

## ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
II.1. Olfato	2
II.2. Olor y Aroma	6
II.2.1. Parámetros de olor	7
II.3. Paneles de olor	8
II.3.1. Desarrollo del Panel	10
II.4. Umbral	10
II.4.1. La percepción en el umbral	14
II.4.2. Determinación de umbrales	15
II.4.3. Aplicación de la determinación de umbrales	16
II.5. Determinación de la concentración de olor empleando estándares	17
II.5.1. ASTM D1391	18
II.5.2. ASTM E679	18
II.5.3. EN13725	21
II.6. Instrumentos empleados en olfactometría	24
II.6.1. Olfactometría de Campo	24
II.6.2. Cromatografía de Gases con Olfactometría	25

II.6.3. Sniffin' Sticks	25
II.6.4. Bolsa de Olor	26
III. HIPÓTESIS	28
IV. OBJETIVOS	29
IV.1. General	29
IV.2. Específicos	29
V. METODOLOGÍA	30
V.1. Materiales	30
V.2. Métodos	30
V.2.1. Descripción del equipo utilizado	30
V.2.2. Entrenamiento de los panelistas empleando la metodología de n-butanol	30
V.2.3. Metodología para el Ácido Acético	33
V.2.4. Metodología para el Sulfuro de Dimetilo	34
V.2.5. Metodología para Heptanal	34
VI. RESULTADOS	37
VI.1. Evaluación del panel	37
VI.2. Determinación de Umbrales	37
VI.3. Análisis del Umbral Sensorial para Heptanal	39
VI.4. Análisis del Umbral Sensorial para el Ácido Acético	39
VI.5. Análisis del Umbral Sensorial para el Sulfuro de Dimetilo	40
VII. DISCUSIÓN	42
VII.1. Desarrollo de la metodología	42
VII.2. Implicaciones del equipo utilizado sobre los resultados	43
VII.3. Evaluación del panel de jueces entrenados	43

VII.4. Evaluación de los Umbrales Sensoriales	44
VII.5. Umbrales Sensoriales determinados en la literatura	45
VII.6. Metodologías empleadas para la determinación del umbral	47
VIII. CONCLUSIONES	50
IX. BIBLIOGRAFÍA	51

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1 Algunos valores de umbral típicos en aire	5
2 Concentración de las soluciones empleadas para cada compuesto aromático	35
3 Concentración de cada compuesto en el reactor	35
4 Resultados de la determinación de Umbrales Sensoriales en aire	44
5 Umbrales Sensoriales reportados en la literatura	46

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1 Anatomía del sistema olfativo humano	2
2 Noción convencional de un umbral absoluto	12
3 Gráfica típica de la determinación de umbral individual	12
4 Histograma típico del umbral de grupo	13
5 Gráfica de rango de probabilidad	14
6 Olfatómetro de dilución dinámica	19
7 Diagrama de los componentes del olfatómetro de campo	24
8 Cromatógrafo de Gases con Olfactometría	25
9 Prueba olfatométrica con Sniffin' Sticks	26
10 Método Triangular de la Bolsa de olor	27
11 Diagrama del equipo empleado para detectar el umbral sensorial	31
12 Equipo empleado para detectar el umbral sensorial	32
13 Hoja de respuestas para la detección del umbral	33
14 Gráfica de sensibilidad de panelistas con n-butanol	37
15 Gráfica del Umbral Sensorial para el Heptanal	38
16 Gráfica de Umbral Sensorial para el Ácido Acético	39
17 Gráfica de Umbral Sensorial para el Sulfuro de Dimetilo	40

## RESUMEN

En el área de producción de alimentos la presencia de olores en el producto final es básica, siendo esta característica parte importante del gusto que tienen ante el consumidor, debido a esto es de suma importancia cuidar la concentración necesaria a emplear en el proceso de elaboración. El estudio de las mediciones de olor cuenta con diversas complicaciones, una de ellas radica en la percepción mínima o umbral que cada persona tenga ante ciertos olores; sin embargo, para eliminar sesgos, el presente trabajo empleó un panel entrenado de 20 personas mediante el método de n-butanol como se indica en el estándar internacional de olores europeo EN13725, este panel se utilizó para la detección del umbral sensorial en el ácido acético, heptanal y sulfuro de dimetilo; para lo cual se trabajó con el método (3AFC) 3- Alternativas de Elección Forzada, que emplea el estándar ASTM E679, al cual se realizó una modificación. Se desarrolló e implementó un sistema cerrado de reactores encamisados de vidrio los cuales nos sirven para que el panelista seleccione y detecte, dentro de sus muestras, el reactor con olor diferente para finalmente analizar las respuestas y obtener el umbral de cada compuesto. Finalmente, se determinó que el compuesto con el umbral más bajo fue el heptanal, seguido del sulfuro de dimetilo y por último el ácido acético.

## I. INTRODUCCIÓN

La técnica de olfactometría es ampliamente empleada en el área de ambiental principalmente para la detección de contaminantes o tóxicos; sin embargo, en la industria alimentaria se ha implementando para la detección de compuestos que contengan un olor el cual pudiera perjudicar o por el contrario aportar sus beneficios en la producción de alimentos.

Un aspecto importante en la producción de alimentos es la vida de anaquel del producto final y los cambios fisicoquímicos que ocurren durante este periodo de tiempo, por lo que se tomaron como compuestos modelo, un aldehído de cadena corta, un compuesto azufrado y un ácido que es representativo de los productos que en vía de descomposición tienden a acidificarse.

Ejemplo de estos compuestos modelo se encuentra el sulfuro de dimetilo el cual se desprende a partir de la cocción de ciertos vegetales, especialmente maíz, repollo, remolacha y mariscos; posee un olor parecido a la col y llega a ser muy desagradable en concentraciones muy altas. El heptanal o también conocido como heptanaldehído es otro compuesto con un fuerte olor característico frutal, también se describe como un olor fresco o a verde, se utiliza como ingrediente y en sabores como manzana, jengibre y almendras. Otro olor importante es el ácido acético el cual tiene un olor característico a vinagre, este es muy empleado como aditivo en los alimentos.

Estos tres compuestos tienen la característica de presentar un olor muy intenso y el objetivo es conocer el comportamiento que presentan en espacios confinados ya sea en una alacena, en un empaque o en un refrigerador; es por ellos que se decidió realizar la prueba para la detección de umbral sensorial en una matriz de aire para hacer más representativo este estudio y asemejarlo más a la realidad.

## II. ANTECEDENTES

### II.1. Olfato.

De los cinco sentidos que tiene el ser humano, el sentido del olfato es el más complejo y único en estructura y organización. Está compuesto por dos nervios principales. El nervio olfativo el cual procesa la percepción de químicos y el nervio trigeminal (Figura 1) el cual procesa la irritación o pungencia de químicos (McGinley, 2000).

La detección de olores en los humanos ocurre en la cavidad nasal a través del nervio olfativo (Hau y Connell, 1998).

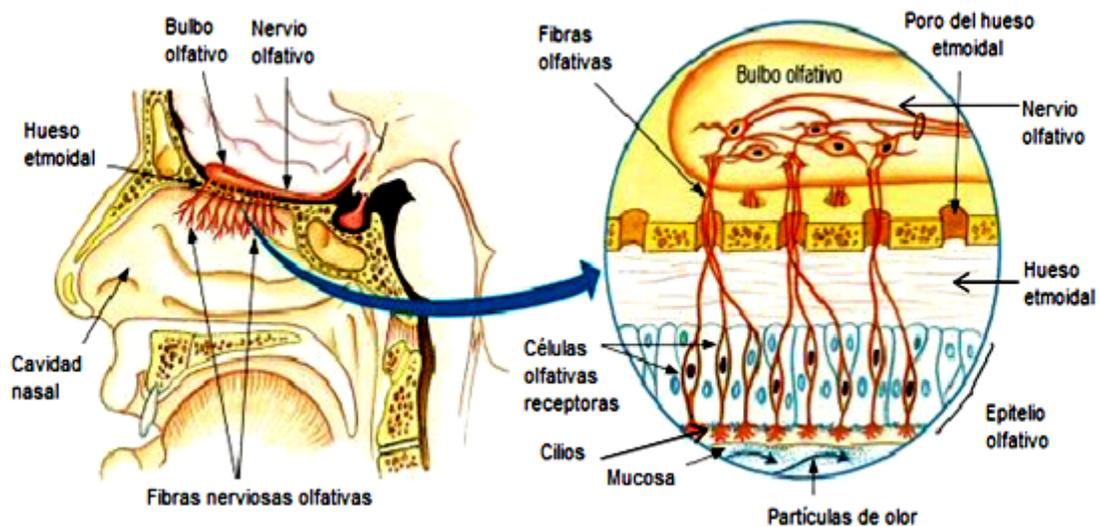


Figura 1. Anatomía del sistema olfativo humano.  
(look for diagnosis, 2009)

Durante la respiración normal, aproximadamente el 10% del aire inhalado pasa en el marco de los receptores olfativos de la parte superior y posterior de la cavidad nasal. Cuando se realiza la acción de oler, ya sea una inhalación involuntaria o voluntaria, más del 20% del aire inhalado es llevado cerca de los receptores olfativos. Estos receptores son de diez a veinticinco millones de células olfativas que forman el epitelio olfativo (Figura 1) en cada fosa nasal. Los cilios en la

superficie de este epitelio están en contacto con la superficie del receptor aproximadamente cinco centímetros cuadrados debido a la presencia de micro vellosidades (McGinley, 2000).

La magnitud olfativa puede no solo depender del propio olor, sino estar relacionado con el esfuerzo que se hace en la percepción con una olfateada. En un estudio se observó que la intensidad del olor se redujo cuando se incrementó la acción de oler mientras que el flujo nasal se mantenía constante (Damm y col., 2003).

Los cilios que surgen de la neurona olfativa y que salen del epitelio olfativo son por lo general tomados como el sitio de interacción con las moléculas con olor intenso que entran a la cavidad nasal (Hau y Connell, 1998). Alrededor de estos cilios se segrega un moco, el cual actúa como trampa para los compuestos químicos.

Los compuestos químicos que se encuentran en el aire y que son olfateados, pasan por el epitelio olfativo y son disueltos en el moco dependiendo de su solubilidad en agua. Cuanto más soluble en agua sea la muestra en cuestión, más fácilmente se disuelve en el moco (McGinley, 2000).

La anatomía de la nariz es tal que solo una pequeña fracción del aire olfateado alcanza el epitelio olfativo a través de las fosas nasales, o por la parte posterior de la boca al tragar (Meilgaard, 1999).

El sitio receptor en las células olfativas recibe ciertos compuestos químicos. La respuesta creada por la recepción de un químico depende de la concentración o del número de moléculas presentes. Cada receptor crea una respuesta eléctrica en los nervios olfativos. La suma de estas señales eléctricas conduce a un “potencial de acción”. Si este potencial de acción tiene una amplitud suficiente (un potencial de umbral), entonces la señal se propaga a lo largo del nervio, a través del hueso etmoidal entre la cavidad nasal y el compartimiento del cerebro, donde ocurre la sinapsis con el bulbo olfatorio.

Todas las señales olfatorias se encuentran en el bulbo olfatorio, donde se distribuye la información a dos partes diferentes del cerebro. Una vía importante de

información es el sistema límbico, sistema que procesa la emoción y la respuesta de memoria del cuerpo. La segunda vía importante de información es a la corteza frontal; aquí es donde tienen lugar las sensaciones conscientes, conforme la información es procesada con otras sensaciones y es comparada con las experiencias de vida acumuladas por el individuo para posiblemente reconocer el olor y tomar algunas decisiones en base a la experiencia. El viaje completo, desde la fosa nasal a la señal del cerebro, toma al menos unos 500 milisegundos (McGinley, 2000).

El contacto óptimo se obtiene por el olfateo moderado durante 1 a 2 segundos. Al final del 2do segundo, los receptores se han adaptado al nuevo estímulo y hay que dar de 5 a 20 segundos o más para que se re-adapten ante un nuevo olor y que pueda producir una sensación (Meilgaard, 1999).

Una complicación pudiera ser que la sustancia odorífera llenara el lugar donde se realiza la prueba, esto reduciría la habilidad del sujeto a detectar un olor en particular o diferenciarlo de otro similar. Casos de total falta de detección al olor o anosmia son raros; pero existen casos más comunes de anosmia específica que es la incapacidad para detectar olores específicos. Por esta razón, los panelistas potenciales deben ser evaluados en su agudeza sensorial utilizando olores similares a aquellos que se desean evaluar.

Tomando en cuenta que se define al umbral como concentración más baja a la cual la respuesta sensorial es detectable, el sentido del olfato tiene problemas seleccionando una diferencia de 100 veces entre el umbral y la concentración la cual produce saturación de los receptores, lo cual depende de cada panelista.

La sensibilidad de los receptores a los diferentes productos químicos varía en un rango de  $10^{12}$  veces o más. Los umbrales típicos (Cuadro 1) varían de  $1.3 \times 10^{19}$  moléculas por milímetro de aire para el etano a  $6 \times 10^7$  moléculas por mililitro para el mercaptano alílico.

El método más sensible en el cromatógrafo de gases puede detectar aproximadamente  $10^9$  moléculas por mililitro. Esto significa que existen numerosas sustancias de olor, probablemente hay miles en forma natural, para el cual la nariz es 10- a 100- veces más sensible que el cromatógrafo de gases.

Cuadro 1. Algunos valores de umbral típicos en aire.  
(Meilgaard, 1999)

Sustancia Química	Moléculas /mL aire
Mercaptano alílico	$6 \times 10^7$
Vainillina	$2 \times 10^9$
Ácido butírico	$1.4 \times 10^{11}$
Acetaldehído	$9.6 \times 10^{12}$
Fenol	$7.7 \times 10^{12}$
Metanol	$1.1 \times 10^{16}$
Fenil etanol	$1.7 \times 10^{17}$
Etano	$1.3 \times 10^{19}$

La sensibilidad humana a varios olores puede ser medido por una olfactometría de flujo dual, utilizando n-butanol como estándar. Los panelistas muestran variedad en sensibilidad a los olores dependiendo del hambre, estado de humor, enfermedad o concentración de la muestra.

Dada la complejidad de los receptores y el rango tan grande de umbral para cada compuesto diferente, no es de sorprenderse que diferentes personas puedan recibir distintas percepciones para un olor determinado. Es por esto que para caracterizar o identificar un olor nuevo, se necesita un panel tan grande como sea posible para que los resultados tengan validez y sean representativos de una población (Meilgaard, 1999).

El olfato es claramente importante para evaluar mezclas complejas de alimentos donde el principal ingrediente es el aroma. Los componentes volátiles son típicamente percibidos antes de probar un alimento y juegan un papel clave en la evaluación de su calidad (Parr y Heatherbell, 2002).

## II.2. Olor y Aroma.

Frecuentemente se ha empleado como sinónimos los términos olor y aroma. El término olor se refiere a la percepción o experiencia percibida cuando uno o más químicos se ponen en contacto con los receptores en los nervios olfativos y lo estimulan (McGinley, 2000). El olor de un producto es detectado cuando sus compuestos volátiles entran a la fosa nasal y pasan por el sistema olfativo. Se habla acerca de un olor cuando los compuestos volátiles son olfateados a través de la nariz ya sea voluntaria o involuntariamente (Meilgaard, 1999).

El término aroma refiere a cualquier compuesto químico en el aire que es parte de la percepción del olor por la estimulación de los nervios olfativos, también se le conoce como aroma al olor que produce un producto alimenticio y se le llama fragancia al olor producido por un perfume o cosmético (McGinley, 2000).

La percepción de un olor puede ocurrir cuando uno o varios aromas (compuestos químicos) están presentes. Entre mayor sea el número de moléculas de aroma presentes (alta concentración), mayor será la intensidad de la percepción del olor (McGinley, 2000).

La cantidad de compuestos volátiles que se escapan de un producto se ve afectada por la temperatura y por la naturaleza de los compuestos. La presión de vapor de una sustancia aumenta exponencialmente con la temperatura según la siguiente fórmula:

$$\log p = -0.05223 a / T + b$$

donde p es la presión de vapor en mmHg, T es la temperatura absoluta, a y b son constantes de la sustancias. La volatilidad es también influenciada por la condición de la superficie es decir, a una cierta temperatura, los compuestos volátiles se escapan más de una superficie blanda, porosa y húmeda que de una dura, lisa y seca.

Las moléculas con fuerte olor pueden ser transmitidas por un gas, el cual puede ser la atmósfera, vapor de agua, o un gas industrial; y la intensidad con que se percibe

un olor es determinado por la proporción de dicho gas el cual entra en contacto con los receptores olfativos del individuo (Meilgaard, 1999).

Para poder percibir cualquier olor las sustancias deben estar en estado gaseoso por lo tanto la sustancia debe ser volátil, de esta manera las partículas pueden entrar a las fosas nasales durante el olfateo. Las sustancias deben ser solubles en agua para permitir que las partículas gaseosas se disuelvan en la mucosa de las células olfativas (Woods, 1998).

Los compuestos de sabor y olor son extensamente usados en los productos alimenticios. Estos productos contribuyen tanto a olores agradables como desagradables. Los compuestos por si solos se comportan diferentes en presencia de grasa, proteínas o carbohidratos, los cuales son los principales componentes de la mayoría de los productos alimenticios. No solo tienen diferente hidrofobicidad o hidrofiliidad, sino que también interactúan de manera diferente con la mayoría de los constituyentes. Esta interacción afecta la volatilidad de los compuestos con olor intenso de forma individual. La interacción de los compuestos que poseen olor en las matrices de alimentos puede llevar a un mejoramiento, sinergia o supresión, los cuales son los factores asociados con la intensidad de percepción sensorial (Adhikari y col., 2006).

#### II.2.1. Parámetros de olor.

Los parámetros empleados para percibir olor son:

- Concentración de olor: medido como una relación de dilución y es reportado como umbral de detección o como dilución a umbral (D/T), el cual es un término empleado en la olfactometría de campo (ver sección II.6.1).
- Intensidad de olor: reportado como partes por millón de equivalente de butanol, utilizando una referencia a escala de concentraciones discretas de butanol.
- Persistencia de olor: reportado como una función de dosis-respuesta, es una relación de concentración de olor e intensidad de olor.

- Descriptores de olor: relaciona el olor de la muestra a analizar con algún olor parecido empleando escalas numéricas.

Estos parámetros de olor son objetivos porque son medidos empleando técnicas o escalas de referencia tratando con el hecho de que no sean distorsionados por sensaciones o prejuicios personales.

Los parámetros subjetivos que miden la percepción del olor son:

- Tono hedónico: el cual se mide como agrado contra desagrado.
- Molestia: es la interferencia entre lo cómodo y disfrutar.
- Objetable: provoca que una persona evite el olor o causa efectos psicológicos.
- Resistencia: el rango empleado para este parámetro sería de “débil a fuerte”.

Estos parámetros son subjetivos porque los individuos dependen de su interpretación de escalas y de sus sentimientos personales, creencias, recuerdos y prejuicios para que reporten su resultado final (Air Quality Bureau, 2005).

### II.3. Paneles de olor.

Los orígenes de la evaluación sensorial y las pruebas nasales organolépticas comenzaron debido al comercio industrial, ya que los productos como perfumes, café, té, vinos, carnes y pescados eran olfateados o probados para determinar la calidad del producto. Eventualmente, los individuos se fueron catalogando como jueces expertos y fueron empleados para evaluar o calificar los productos (Air Quality Bureau, 2005).

Un laboratorio de olores es un espacio libre de olor y sin estimulaciones. Cada panelista, cuando trabaja en las calificaciones, se enfoca haciendo observaciones en la muestra presentada. El ruido y las actividades de distracción en el área de evaluación pueden romper la concentración del panelista. Una sesión de panel debe estar organizada y programada con el fin de mantener un tiempo estándar que no debe rebasar más de 3 hrs. Si se limita el tiempo se elimina la fatiga de los panelistas (Air Quality Bureau, 2005).

Los panelistas son reclutados de una gran población. De un grupo de panelistas, de cinco a doce son seleccionados para un panel programado. Los paneles consisten en panelistas o evaluadores que son seleccionados y entrenados siguiendo “La Guía para Selección y Entrenamiento de los Miembros del Panel Sensorial” y EN13725 (ASTM, 1981; CEN, 2003). Una persona que fuma, que esta embarazada, o que tiene alergias crónicas o asma son excluidos a ser miembros del panel de olor.

El entendimiento de las normas para el panel sensorial es parte del acuerdo que debe haber con cada asesor para participar en la evaluación. Los evaluadores:

- Deben estar libres de enfermedades como resfriados o condiciones físicas que puedan afectar el sentido del olfato.
- No deben masticar chicle, lavarse la boca o comer por lo menos 30 min. antes del panel de olores.
- Debe abstenerse de comer alimentos picantes antes del panel de olores.
- No debe usar perfume o colonia el día del panel.
- Debe usar desodorante sin perfume el día del panel.
- Debe evitar cosméticos o jabones con fragancias el día del panel.
- Sus manos deben estar limpias y libres de olores.
- Su ropa debe estar libre de olores.
- Debe mantener su trabajo en el panel de manera confidencial.
- No debe hacer comentarios con el resto de los panelistas para evitar sesgo.

Cada asesor es evaluado para determinar su sensibilidad olfativa individual utilizando estándares de olor, por ejemplo: n-butanol o sulfuro de hidrogeno. El asesor recibe entrenamiento que consiste en conciencia olfativa, técnicas de olfateo, descriptores normalizados y respuestas olfactométricas.

Con el entrenamiento adecuado de los panelistas, la comunicación entre los panelistas y el líder del panel es clara, concisa y eficaz. Una buena y eficiente organización garantiza un panel de calidad en su evaluación (Air Quality Bureau, 2005).

### II.3.1. Desarrollo del Panel.

El desarrollo de un panel sensorial merece una planificación con respecto a la disponibilidad y el interés de los candidatos del panel, la necesidad de pruebas de muestras de entrenamiento y referencias. En las industrias de alimentos, de fragancias y cosméticos, el panel sensorial es la herramienta más importante en la investigación, desarrollo y control de calidad. El éxito o el fracaso del proceso de desarrollo del panel dependerán de los estrictos criterios y procedimientos utilizados para seleccionar y formar el panel.

El objetivo del proyecto de cualquier problema sensorial determina los criterios de selección y entrenamiento de los panelistas. Anteriormente, en el ISO de 1979, el único criterio era un umbral bajo para uno o más de los sabores básicos. Hoy en día los analistas sensoriales utilizan una amplia selección de ensayos, seleccionados específicamente para corresponder a la propuesta de entrenamiento y el uso final del panel. Algunos de los aspectos más importantes es la capacidad de discernir y de describir una característica sensorial en particular dentro de otras impresiones digitales (Meilgaard, 1999).

### II.4. Umbral.

Las pruebas de umbrales son consideradas pruebas analíticas las cuales tienen como función específica, la determinación de umbrales. Un umbral es definido como la concentración más baja a la cual la respuesta sensorial es detectable. Los umbrales son aplicados principalmente para compuestos indeseables y para compuestos deseables en alimentos. Los umbrales pueden proveer de una herramienta poderosa en relacionar la percepción sensorial a un análisis instrumental para compuestos volátiles y no-volátiles (Drake, 2007).

Los umbrales también son definidos como los límites de las capacidades sensoriales. Es conveniente distinguir entre un umbral absoluto, un umbral de reconocimiento, un umbral de diferencia y un umbral terminal (Meilgaard, 1999).

- Umbral absoluto (umbral de detección o DT): es el estímulo más bajo capaz de producir una sensación y que pueda ser detectada. Para que los

compuestos de sabor o de olor puedan ser percibidos deben alcanzar el epitelio olfativo; esto ocurre ya sea vía orto nasal o retro nasal (Pickering y col., 2008). Para poblaciones o grupos, el umbral de detección es definido como la concentración en la cual el 50% del grupo puede detectar los olores o sabores (Cliff y Pickering, 2006).

- Umbral de reconocimiento: es el nivel de un estímulo en el cual, el estímulo específico puede ser reconocido e identificado. El umbral de reconocimiento por lo general es más grande que el umbral absoluto.
- Umbral de diferencia: es la magnitud de cambio en el estímulo necesario para producir una diferencia notable. Es usualmente determinado por la presencia de un estímulo estándar el cual es después comparado con un estímulo variable. El término diferencia notable (just noticeable difference, JND) es empleado cuando el umbral de diferencia es determinado por el cambio del estímulo variable por pequeñas cantidades por arriba o por debajo del estándar hasta que el panelista note alguna diferencia.
- Umbral terminal: es la magnitud de un estímulo por encima del cual no hay un aumento en la intensidad percibida de la calidad adecuada para el estímulo; encima de este nivel, el dolor se produce.

Las diferencias notables incrementan conforme uno procede en la escala de concentraciones, y se han usado como grados en la escala de intensidad sensorial. Anteriormente se calculó que los panelistas podían distinguir unos 29 JNDs entre el umbral absoluto y el terminal. Sin embargo, los umbrales varían mucho de persona a persona y de grupo en grupo para la JND, la cual ha ganado aplicación práctica como una medida de la intensidad percibida.

La noción convencional de un umbral es la que se muestra en la Figura 2, en ella se muestra un ejemplo donde por encima de 5 ppm se puede detectar, y por debajo de 5 ppm no se puede detectar el olor del aire. Sin embargo, una persona empleando un olfactómetro de dilución produce una serie de resultados como se muestran en la Figura 3. La sensibilidad varía con las corrientes de aire sobre la

membrana del olfactómetro y con las variaciones momentáneas o biorritmo en la sensibilidad del sistema nervioso.

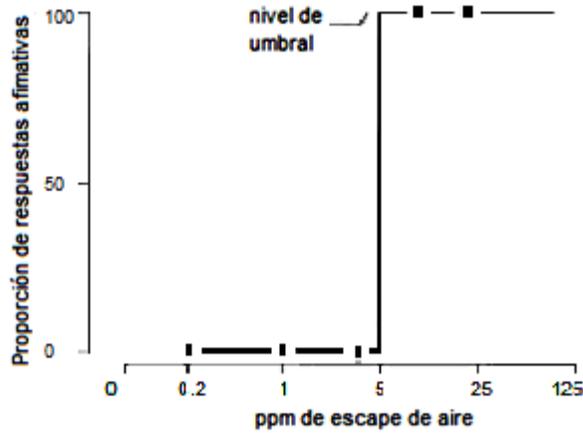


Figura 2. Noción convencional de un umbral absoluto. (Meilgaard, 1999)

El umbral no es un valor fijo, sino mas bien un valor en un continuo estímulo. Por convención, el umbral personal o individual es aquella concentración que la persona puede detectar el 50% de la veces, y no la concentración que él puede detectar con X% de significancia, un error cometido con frecuencia.

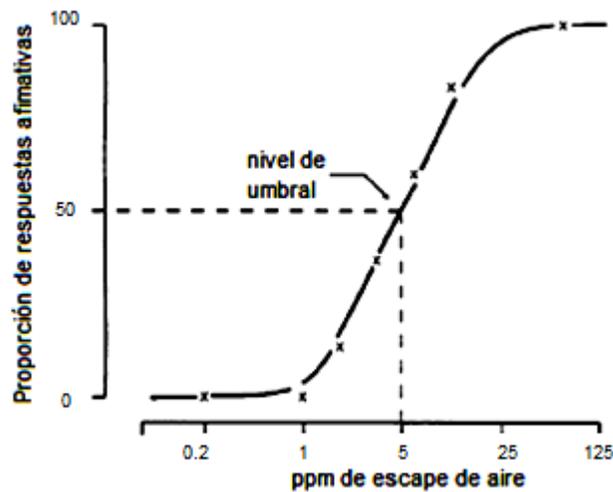


Figura 3. Gráfica típica de la determinación de umbral individual. (Meilgaard, 1999)

Por regla general, uno encuentra una curva Gausiana típica de dosis-respuesta de la cual el punto de 50% puede ser determinado con precisión después de la transformación de los puntos porcentuales experimentales.

Para ir de una colección de umbrales personales a umbrales de grupo, se observa que la distribución de frecuencia tiende a ser en forma de campana para la mayoría. Sin embargo, la cola derecha de la curva tiende a ser más larga que la izquierda como se observa en la Figura 4, porque la mayoría de los grupos contiene una proporción de individuos que muestran muy baja sensibilidad al estímulo en cuestión. La medida de tendencia central, la cual tiene más sentido para un grupo puede ser la media geométrica, ya que da menos peso a los umbrales más altos.

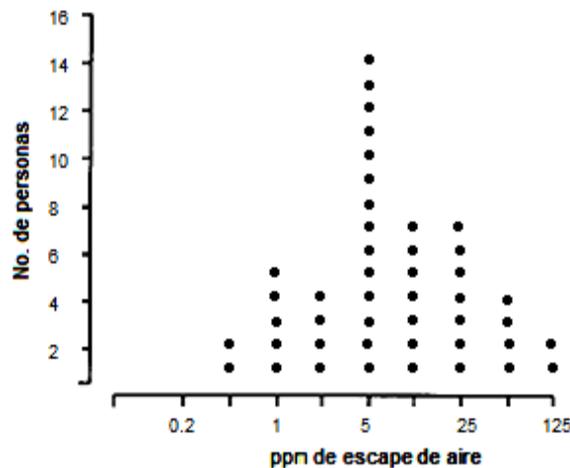


Figura 4. Histograma típico del umbral de grupo.  
(Meilgaard, 1999)

Un gráfico de rango de probabilidad (Figura 5) es una herramienta útil para probar si un set de umbrales individuales tiene distribución normal, que son unas líneas rectas que pueden pasar por los puntos. En este caso, el gráfico puede servir para localizar no solo el umbral de grupo como el 50%, sino también las concentraciones que, por ejemplo, el 5% o el 90% de la población puede detectar (Meilgaard, 1999).

El concepto de umbral sensorial es empleado en la industria alimentaria para determinar la mínima concentración de un compuesto de mal sabor u olor que puede ser detectado por el consumidor (Santos y Caplan, 2003).

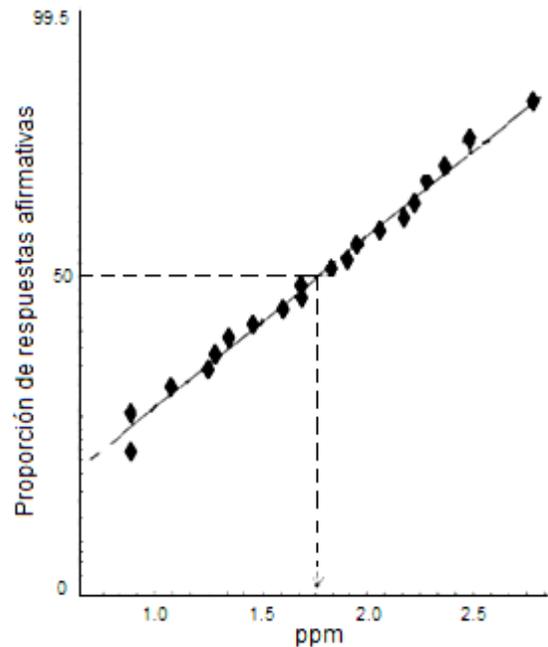


Figura 5. Gráfica de rango de probabilidad.  
(Meilgaard, 1999)

#### II.4.1. La percepción en el umbral.

El umbral no es una constante específica para una determinada sustancia, sino un punto de constante cambio en la continua evaluación sensorial desde no percibir a percibir fácilmente un olor.

Los umbrales cambian con el estado de ánimo, con el hambre y la saciedad. Los compuestos con umbrales idénticos pueden mostrar índices muy diferentes de aumento en la intensidad con la concentración, de ahí que el uso del umbral como un patrón de intensidad de la percepción debe ser tomado con cautela.

En los estudios en los que el objetivo es detectar los compuestos que desempeñan un papel en el sabor del producto, el umbral tiene alguna utilidad, siempre que el

rango empleado no se extienda demasiado lejos del umbral por ejemplo, del umbral de 0.5 x al umbral de 3x. Por encima de este rango, la intensidad del olor o el sabor deben ser medidos por escala (Meilgaard, 1999).

La olfactometría es una técnica que emplea los umbrales para medir los problemas relacionados con el sentido del olfato, como la anosmia e hiposmia. Sin embargo, no se han evaluado ciertos parámetros del entorno al momento de realizar esta evaluación como lo son la temperatura del cuarto, la humedad relativa y el pico de flujo inspiratorio nasal en personas normales en cuanto a sus umbrales, ya que esto podría afectar y causar variación en la decisión final (Philpott y col., 2004).

#### II.4.2. Determinación de umbrales.

Los umbrales sensoriales en teoría no están bien definidos. Una buena determinación requiere ciento de comparaciones con un control, y los resultados no se reproducen bien en todos (Meilgaard, 1999).

Los umbrales en aire, determinados por olfactometría de flujo automatizado, son usados para determinar grados de contaminación en el aire (CEN, 1997) y para establecer los límites legales permitidos para los contaminantes. Los umbrales de las sustancias añadidas son usadas con los suministros de agua, alimentos, bebidas, cosméticos, pinturas y solventes entre otros, para determinar el punto en el que los contaminantes conocidos comienzan a reducir la aceptabilidad. Estos son los usos de mayor importancia, y las pruebas pueden realizarse con cientos de panelistas con el fin de crear un mapa de distribución de la sensibilidad relativa de la población.

Los umbrales pueden ser empleados también como un medio de selección de los asesores, pero este puede no ser la base principal para la selección a menos que el objetivo de la prueba requiera detección de estímulos a muy bajos niveles. El umbral de la adición de sustancias deseables puede ser utilizado como una herramienta de investigación en la formulación de alimentos, bebidas, etc.

Los conceptos de Unidad de Olor o Unidad de Flavor utilizan el umbral como una medida de la intensidad del sabor. Por ejemplo, si se escapa de una botella H<sub>2</sub>S en un cuarto, cuando el nivel alcanza el umbral de detección se dice que la intensidad del olor es 1 unidad de olor (1 O.U.) y al doble del nivel de H<sub>2</sub>S, la intensidad es de 2 unidades de olor, y así sucesivamente. El uso de los umbrales exige mucha cautela y no es aplicable por encima de 3 a 6 O.U.

Los métodos por los cuales los umbrales olfativos se determinan pueden tener una profunda influencia en los resultados. En estudios anteriores se muestra que los flujos de olor por debajo del volumen habitual de inhalación de 1 a 2 L/seg darán lugar a umbrales demasiado bajos. También se ha encontrado que el uso de una botella más grande para el olfateo resulta en un umbral 10 a 20 veces mas bajo. El entrenamiento puede bajar los umbrales hasta unas 1000 veces.

La experiencia demuestra que con la práctica y el entrenamiento es posible obtener niveles de reproducibilidad de  $\pm 20\%$  para un panel determinado y  $\pm 50\%$  entre un panel de gran tamaño (>25) y otro (Meilgaard, 999).

La variabilidad del umbral puede surgir de diferentes fuentes como el modelo aplicado, la interpretación estadística y algunos factores sensoriales y no-sensoriales (Lee y Paterson, 2000).

#### II.4.3. Aplicación de la determinación de umbrales.

Los umbrales pueden ser medidos por una variedad de los diseños psicofísicos clásicos basados, por ejemplo, en el Método de los Límites, el Método de Error Promedio, o el Método de Frecuencia. En los últimos años, la tendencia de los psicofísicos ha sido elegir una ruta diferente a través de la Teoría de Detección de Señales, SDT. La SDT es un sistema de métodos basados en la idea de que el punto de interés no es el umbral en si, sino más bien “el tamaño de la diferencia psicológica entre los dos estímulos”, que tiene el nombre  $d'$ . La ventaja de SDT es que el proceso de decisión de la persona se hace más explícito y se puede modelar estadísticamente. Sin embargo, los procedimientos SDT consumen más tiempo que el umbral de diseño clásico, y se ha mostrado que para los métodos de

elección forzada de presentación de muestras, hay una relación 1:1 entre  $d'$  y el método clásico de umbrales.

Por estas razones, tanto la norma ASTM 1990, como la Organización Internacional de Normalización de 1999, han decidido seguir con el método de los límites y el que se conoce como 3-Alternativas de Elección Forzada (3-AFC) método que sirve para la presentación de tres muestras, en donde dos son los controles o blancos y la tercera contiene la sustancia bajo prueba. El método rápido de la ASTM (E679) tiene por objeto determinar un valor práctico cercano al umbral, basado en un mínimo de esfuerzo para evaluar (entre 50 a 150 presentaciones 3-AFC). Se hace una muy aproximada determinación del umbral de cada panelista. A cambio, el panel puede ser más grande, el umbral de grupo resultante y la distribución se vuelven cada vez más fiables por el hecho de que la variación entre individuos es mucho mayor (hasta 100 veces) que la variación entre las pruebas individuales (hasta 5 veces). La prueba puede verse sesgada si los panelistas caen en el límite superior o inferior del rango bajo prueba y no son reexaminados.

El método intermedio de ASTM (E1432) procede a determinar umbrales individuales, y consecuentemente los umbrales de grupo. Para ello, se requiere aproximadamente 5x presentaciones por panelista como en el método rápido. A cambio, el umbral de grupo y la distribución de los umbrales individuales estarán libres de sesgos (Meilgaard, 1999).

#### II.5. Determinación de la concentración de olor empleando estándares.

El parámetro de olor más común determinado por una prueba olfativa es la concentración de olor. La concentración de olor es determinada usando un instrumento llamado olfactómetro y es expresado como un factor de dilución. La concentración de olor es reportado como el Umbral de Detección (DT) y Umbral de Reconocimiento (RT).

El umbral de detección (DT) es un estimado del número de diluciones necesarias para hacer la emisión del olor no detectable. El umbral de reconocimiento (RT)

representa el número de diluciones necesarias para hacer ligeramente reconocible a la muestra de olor.

El umbral de detección de una muestra de aire con olor intenso es más grande que el valor del umbral de reconocimiento, porque se necesitan más diluciones del aire libre de olor para hacer que el olor no sea detectable en comparación con hacer ligeramente reconocible al olor. Un valor grande de concentración de olor (DT o RT) representa un olor fuerte. Un valor pequeño de la concentración de olor representa un olor débil.

Ha habido una serie de avances en la tecnología y en forma práctica en los últimos 50 años, se comenzó con la publicación de un nuevo estándar internacional aceptado para la determinación de la concentración de olor.

#### II.5.1. ASTM D1391

En 1957, el ASTM Comité de Evaluación Sensorial Internacional E-18 aprobó y publicó un método para medir los olores del medio ambiente en un laboratorio, lo cual fue desarrollado originalmente por el Distrito de Control de Contaminación de Los Ángeles. El estándar ASTM D1391 fue llamado, "Medición de Olor en Atmósferas". El estándar D1391 se conoció como el método de dilución de la jeringa estática porque utilizaba jeringas de vidrio de 100 mL para diluir el olor del aire con aire libre de olor. La práctica consistía en la presentación al panelista de las jeringas con muestras de aire y con muestras de aire libre de olor. El panelista entonces podría reportar cual jeringa contenía la muestra de olor.

La lentitud de los métodos de dilución estática, como el ASTM D1391, condujeron al desarrollo de olfactómetros dinámicos, que fueron diseñados para realizar diluciones del aire con fuerte olor automáticamente y continuamente.

#### II.5.2. ASTM E679

En 1979, ASTM Internacional publicó el E679-79, "Práctica Estándar para la Determinación del Umbral de Olor y Sabor por el Método Límite de Concentraciones Ascendentes Seriales de Elección Forzada". Este método estaba

basado en el uso de la olfactometría dinámica para el desarrollo automático de las diluciones del aire con olor intenso y después presentar la mezcla de diluciones a los panelistas.

El procedimiento del ASTM E679 esta basado en la presentación del método llamado 3-Alternativas de Elección Forzada (3-AFC) o elección-forzada-triangular (TFC). Cada panelista realiza la evaluación de olor por olfateo de la muestra diluida en un olfactómetro. El panelista olfatea tres muestras presentadas; una contiene el olor diluido mientras que las otras dos son blancos (aire libre de olor). La Figura 6 muestra a un panelista (izquierda) olfateando de la mascara del olfactómetro mientras que el administrador de la prueba (derecha) opera el olfactómetro. El panelista es forzado a escoger uno de los tres presentados. El panelista reconoce su elección como adivinanza, una detección o reconocimiento. De acuerdo a lo definido por E679 la respuesta de detección se determina si la selección es diferente de las otras dos, y una respuesta de reconocimiento es cuando la muestra huele a un compuesto específico, el cual es reconocido.



Figura 6. Olfactómetro de dilución dinámica (Meilgaard, 1999)

Después, al panelista se le presenta el siguiente nivel de dilución, con tres muestras a elegir, una de ellas es la muestra diluida de olor; sin embargo, este nuevo nivel de dilución presenta el olor a una concentración más alta (ejemplo: dos

veces más alto). El primer nivel de dilución presentado al panelista esta debajo del umbral de olor (sub-umbral). El asesor procede a niveles más altos de la muestra presentada siguiendo este método. El enfoque estadístico de incrementar la concentración es llamada “serie ascendente de concentración”.

La convención de calcular los factores de dilución de olfactometría en laboratorio esta basado en la relación del Flujo Volumétrico Total dividido por el Flujo de la Muestra con Olor Intenso:

$$\text{Factor de Dilución} = ((V_d + V_o) / V_o) = Z$$

Donde  $V_d$  es la tasa del flujo volumétrico del aire libre de olor o aire de dilución y  $V_o$  es la tasa del flujo volumétrico de la muestra de aire con olor intenso. El factor de dilución  $Z$ , es utilizado en honor a H. Zwaardemaker, un científico holandés e investigador en olfactometría.

Como alternativa utilizada en la terminología incluye: Dilución a Umbral (D/T), Unidades de Olor (OU), y la Dosis Efectiva en 50% de la población (ED50) (Air Quality Bureau, 2005).

El umbral de detección (DT) es un estimado del número de diluciones necesarias para hacer la emisión del olor no detectable y puede definirse para fines prácticos, como la solución a la que los panelistas indican claramente como diferente a la muestra identificada como blanco pero que no necesariamente reconocen el estímulo. El umbral de reconocimiento (RT) representa el número de diluciones necesarias para hacer ligeramente reconocible a la muestra de olor, definiéndose como la solución a la cual el panelista indica claramente el tipo de estímulo, sabor u olor (Gómez y col., 2004).

El umbral de detección de una muestra de aire con olor intenso es más grande que el valor del umbral de reconocimiento, porque se necesitan más diluciones del aire libre de olor para hacer que el olor no sea detectable en comparación con hacer ligeramente reconocible al olor. Un valor grande de concentración de olor (DT o RT)

representa un olor fuerte. Un valor pequeño de la concentración de olor representa un olor débil.

El panel de olor que emplea el procedimiento de ASTM E679 consta de 5-12 panelistas entrenados y con experiencia. Los panelistas son reclutados de una población general como individuos con hipersensibilidad no específica o anosmia (falta de sensibilidad) al olor.

Los panelistas son seleccionados y entrenados siguiendo el procedimiento estándar (ASTM, 2004; CEN, 2003). La concentración de olor es un número derivado, a partir de la respuesta del panel que evalúan la muestra de aire olorosa diluida en el laboratorio.

### II.5.3. EN13725

Durante 1980, los países Europeos comenzaron a desarrollar estándares de olfactometría. Algunos de estos estándares desarrollados y publicados se encuentran:

Francia	AFNOR X-43-101 (redactado en 1981 y revisado en 1986)
Alemania	VDI 3881, Partes 1-4 (redactado en 1980 y revisado en 1989)
Países Bajos	NVN 2820 (redactado en 1987 y terminado en 1995)

Diversos estudios entre laboratorios, así como proyectos de colaboración que envuelven pruebas de olor múltiples en los 80's mostraron que los resultados de los laboratorios tienen diferencias significativas aún con las prácticas estándar.

El desarrollo del proyecto de estandarizar la prueba de olor en los Países Bajos llevó a un Laboratorio Internacional de Comparación de estudio organizada en 1989. El n-butanol y el sulfuro de hidrógeno se utilizaron como estándares de olor para este estudio. A través de 1990 a 1992, los resultados del estudio inter laboratorios holandés condujo al desarrollo de estrictos criterios de rendimiento para los asesores. Van Harresveld presenta una conclusión clara de los resultados de este estudio en su publicación de 1999 en el Journal of the Air & Waste Management Association, "A Review of 20 Years of Standardization of Odor

Concentration Measurement by Dynamic olfactometry in Europe”. Afirma que: “El concepto de que el panel debe ser representativo de la población en general fue claramente abandonada.” Los investigadores encontraron que la única manera de cumplir con el acuerdo sobre los criterios de repetibilidad fue para controlar el instrumento sensorial, el asesor humano, seleccionando a los panelistas que tengan sensibilidad similar.

Las normas se establecieron después del rendimiento de un panelista a un estándar de olor, n-butanol. Sólo los panelistas que reunían determinados criterios de repetibilidad y precisión se les permitió continuar como panelistas (promedio de umbral de olor en n-butanol de 20 a 80 ppb. Durante los siguientes dos años, estos criterios fueron implementados en cada laboratorio que estaba involucrado con el estudio.

El estudio holandés inter-laboratorios de 1989 a 1993 mostró una convergencia hacia el acuerdo sobre el umbral de referencia del n-butanol a través de una mejoría en repetición de los resultados. Los resultados en marzo de 1993 mostraron el beneficio de implementar los criterios de los laboratorios para la selección de los panelistas.

El trabajo de este estudio inter laboratorios llevó a la norma final holandesa publicada en 1995 y sentó las bases para el desarrollo de una nueva norma Europea de pruebas de olor.

Un grupo de trabajo formado en el Comité Europeo de Normalización (CEN), El Comité Técnico 264- “Calidad de Aire”, para desarrollar un estándar olfatométrico Europeo unificado. Este grupo de trabajo vio una necesidad de ayudar a la industria y desarrollar una base reguladora consistente para monitorear y probar olores, y por lo tanto ayudar a determinar el potencial por malos olores. Esto se logra mediante el desarrollo de un método que:

- Mejore la consistencia dentro de cada laboratorio (repetibilidad).
- Logre resultados comparables entre los laboratorios (reproducibilidad).

- Vincule los resultados a un material de referencia, ej. N-butanol (precisión).

Para lograr estos objetivos, el comité se centró en las siguientes cuestiones:

- Los procedimientos de muestreo.
- Los contenedores de muestras.
- Operación y construcción del olfactómetro.
- El olfactómetro.
- La sala de pruebas de olor.
- Métodos de procesamiento de datos.
- Panel de selección, formación y rendimiento.

El primer borrador de la norma de olfactometría fue lanzado en 1995. En 1996, diecinueve laboratorios de cinco países participaron en un estudio de Comparación Inter laboratorios de Olfactometría (“ICO”). El propósito de este estudio fue validar los requerimientos, métodos, y procedimientos descritos en la norma. Las conclusiones de este estudio fueron:

Todos los requerimientos de calidad y criterios de rendimiento se pueden lograr para todos los métodos de prueba estudiados (de elección forzada y yes/no).

Los laboratorios que cumplan con la norma durante el mayor periodo de tiempo tendrán los mejores resultados en cuanto a precisión y repetibilidad (Air Quality Bureau, 2005).

La norma CEN de olfactometría fue lanzada al público a finales de 1999 a través de la organización de normalización de cada país participante. La norma fue lanzada como propuesta de norma CEN #13725 (prEN13725) “Calidad del aire- Determinación de la Concentración de Olor por Olfactometría Dinámica” (CEN, 1999). La norma fue aprobada y publicada en 2003 (CEN, 2003).

La aprobación de esta versión final de la norma CEN, EN13725, obliga a todos los países de la Unión Europea a adoptar la norma y evitar cualquier conflicto. Estos países incluye: Australia, Bélgica, Dinamarca, Finlandia, Francia, Grecia, Alemania,

Islandia, Irlanda, Italia, Luxemburgo, Países Bajos, Noruega, Portugal, España, Suecia y Reino Unido (Air Quality Bureau, 2005).

## II.6. Instrumentos empleados en olfactometría.

### II.6.1. Olfactometría de Campo.

El olfactómetro de campo es un instrumento nasal avanzado en el campo de la olfactometría para medir y cuantificar directamente la intensidad de los olores en el ambiente mediante la técnica de “Dilución a Umbral” (D/T).

El olfactómetro de campo permite crear una serie de diluciones mezclando un volumen de los olores presentes en el ambiente ( $V_1$ ) con un volumen de aire libre de olor o limpio ( $V_2$ ) que pasa por un filtro de carbono, como se observa en la siguiente formula:

$$\text{Factor de Dilución} = ((V_2)/(V_1)) = D/T$$

La olfactometría de campo define el factor de dilución como “Dilución a Umbral (D/T)”, esta relación es una medida del número de diluciones necesaria para hacer que el olor presente en el ambiente no se detecte.

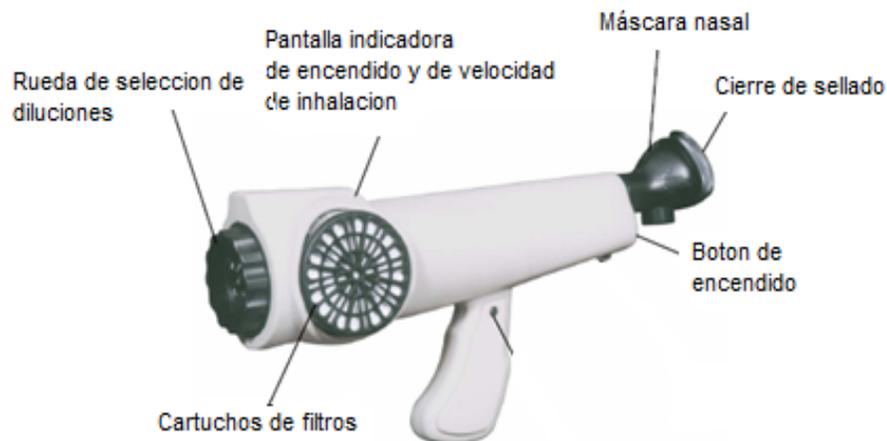


Figura 7. Diagrama de los componentes del olfactómetro de campo. (McGinley, 2003)

La olfactometría de campo es una herramienta que puede emplearse para el control en línea de actividades molestas o para la verificación del cumplimiento de los estándares de calidad ambiental en el perímetro de las instalaciones emisoras de olores o bien en las comunidades afectadas (McGinley, 2003).

### II.6.2. Cromatografía de Gases con Olfactometría

La Cromatografía de Gases acoplado con Olfactometría (GCO) se emplea para el análisis de la extracción de aroma por dilución (AEDA) y el análisis dinámico de dilución del espacio libre (DHDA) son técnicas muy empleadas las cuales han servido como herramienta muy útil en la investigación de sabores para identificar y clasificar los olores clave en varios alimentos (Song y Cadwallader, 2008). Un ejemplo del equipo empleado para la cromatografía se muestra en la Figura 8.



Figura 8. Cromatógrafo de Gases con Olfactometría.

La cromatografía de gases con olfactometría permite correlacionar cada compuesto químico con su descriptor olfativo (aroma) y de esta manera identificar los compuestos de mayor relevancia olfativa y cuantificar su aporte al aroma global. Este análisis se puede realizar en cualquier tipo de producto en distintas matrices.

### II.6.3. Sniffin' Sticks

El "sniffin' sticks" es un prueba nasal quimiosensorial desarrollado en base a la apariencia de una pluma como un artefacto dispensador de olor. Consiste en tres

pruebas de función olfativa, usadas para las pruebas de umbral de olor, discriminación de olor e identificación de olor.

Las plumas tienen una longitud de 14 cm y un diámetro interno de 1.3 cm, en vez de que contenga tinta se sustituyo con 4 mL del líquido con olor disuelto en propilen glicol. Para realizar la prueba, la tapa es removida por 3 segundos y se coloca a una distancia de la nariz aproximada de 2 cm, se puede observar un ejemplo en la Figura 9. Se emplea la metodología 3-AFC por lo que para la determinación del umbral y la evaluación del panel se presentan 3 dispensadores en un orden aleatorio, donde 2 de ellas van a contener el solvente y la tercera contendrá el olor. Estos tripletes se presentan en un tiempo de 20 segundos y el panelista tendrá que identificar el olor que contenga la pluma (Hummel y col., 2007).



Figura 9. Prueba olfactométrica con Sniffin' Sticks.

#### II.6.4. Bolsa de Olor

La bolsa de olor es otra herramienta empleada principalmente en Japón, la cual utiliza el método triangular por lo que a esta metodología la llaman Método Triangular de la Bolsa de Olor (Bag Method), consta de una bolsa de poliéster con un volumen de 3L (Figura 10), las muestras diluidas se preparan dentro de la misma bolsa rellenándola de gas nitrógeno e inyectando una cantidad determinada

de la muestra con olor, se emplea un cono como dispositivo que facilita la percepción de la muestra, el panel se compone de 6 personas.

Para realizar la evaluación del panel se utilizan como estándares 5 odorantes con los cuales se le aplica al panel el método 5-2, el cual consiste en presentar 5 papelitos a los panelistas, 2 de ellos conteniendo la muestra con olor y los otros 3 deben presentar una muestra libre de olor, se utiliza parafina.

Una vez que las bolsas han sido llenadas con las muestras se dejan reposar por 2 horas para lograr que se establezca la concentración en el gas.

Para realizar la prueba sensorial se emplea la prueba triangular con el objetivo de eliminar influencias en el panel. A cada panelista se les presentan diluciones que irán de la más fácilmente percibida a la más difícilmente percibida con un factor de dilución de 3, así hasta que el panelista marque alguna respuesta negativa. De esta manera se evita el riesgo de coincidencia de la concentración ascendente (Iwasaki y Nagata, 2003).



Figura 10. Método Triangular de la Bolsa de olor (Iwasaki y Nagata, 2003).

### **III. HIPÓTESIS**

- Es posible determinar de manera experimental el umbral de detección de compuestos aromáticos a través de un sistema cerrado a temperatura controlada y panel de jueces.

## IV. OBJETIVOS

### IV.1. General

- Determinar el umbral sensorial en aire de tres compuestos aromáticos con un sistema cerrado a temperatura controlada y panel de jueces.

### IV.2. Específicos

- Revisión de normas y metodologías publicadas para su adecuación y utilización.
- Entrenamiento del panel de jueces para la determinación del umbral por el método de n-butanol.
- Determinar el umbral sensorial de ácido acético, sulfuro de dimetilo y heptanal empleando el panel de jueces entrenados.

## V. METODOLOGÍA

### V.1. Materiales

Para los experimentos se empleó un sistema cerrado compuesto por ocho reactores de vidrio enchaquetados, un recirculador con termostato marca PolyScience modelo 9106A11B, un horno marca Binder. Como reactivos se utilizó n-butanol de la marca Sigma-Aldrich, ácido acético glacial marca J.T. Baker grado HPLC, sulfuro de dimetilo anhidro marca Sigma-Aldrich con 99% de pureza y heptanaldehído marca Sigma-Aldrich con 95% de pureza.

### V.2. Métodos

#### V.2.1. Descripción del equipo utilizado.

Para realizar la prueba de umbral sensorial, se fabricaron reactores de vidrio enchaquetados con un volumen aproximado de 1L (Figura 11 y 12). A cada reactor se le midió el volumen que contenía de aire; al inicio se trataron con un horneado en estufa durante tres horas a 120°C para eliminar cualquier olor que pudieran contener de fábrica.

Una vez limpios los reactores se conectaron en serie para realizar las pruebas de umbral, entre cada prueba se realizó un horneado in-situ con ayuda del recirculador a una temperatura de 90°C durante 30 min para el n-butanol y 2 hrs para el ácido acético, heptanal y sulfuro de dimetilo ya que estos son compuestos con olor más intenso.

#### V.2.2. Entrenamiento de los panelistas empleando la metodología de n-butanol.

Se reunió un grupo de panelistas compuesto por 20 personas las cuales durante un lapso de un mes se entrenó con la prueba de n-butanol.

La evaluación con n-butanol se basa en la prueba estándar EN13725, la cual señala que nuestro panel debe encontrarse en un rango de umbral de entre 20 y 80 ppb por lo que se prosiguió a preparar diluciones (Cuadro 2) de 10 000, 20 000 y 40 000 ppm las cuales al ser diluidas a un volumen promedio de 1L se obtuvo una

dilución en la matriz (Cuadro 3) de 20, 40 y 80 ppb respectivamente dentro de cada reactor.

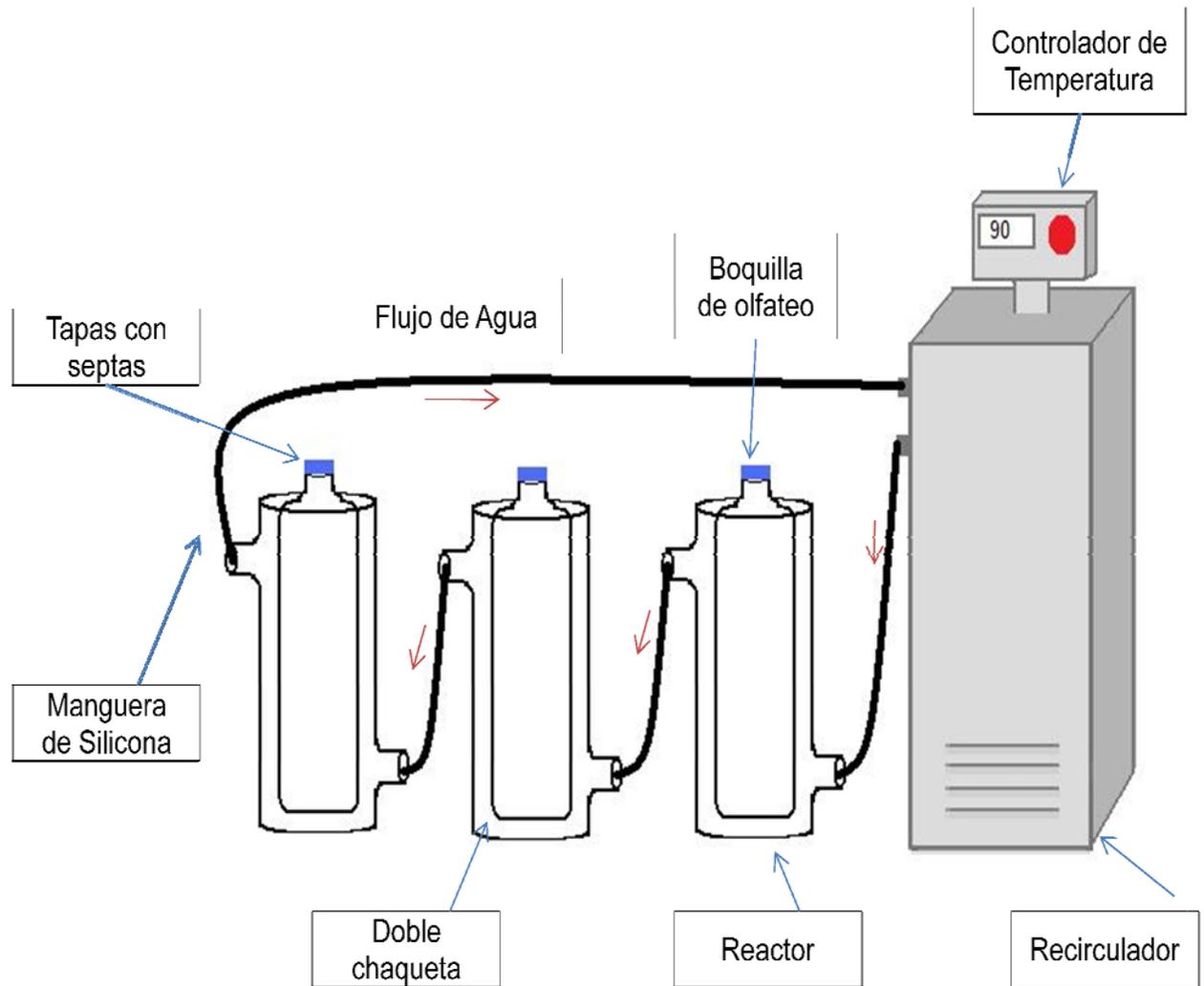


Figura 11. Diagrama del equipo empleado para detectar el umbral sensorial.

En un principio a todos los panelistas se les hizo pasar una tira de papel con muestra de n-butanol a 100 000 ppm, una dilución muy concentrada, para que se familiaricen con este compuesto; el ejercicio se realizó durante una semana.



Figura 12. Equipo empleado para detectar el umbral sensorial.

La prueba de n-butanol se realizó de la siguiente manera:

- A cada panelista se le asignó tres reactores, de los cuales uno de ellos contenía una dilución al azar de entre 20, 40 y 80 ppb que le correspondía para ese día, y los otros dos reactores contenían una muestra de etanol puro, a estos reactores se les conoce como blancos. Se empleó etanol puro como blanco ya que las diluciones de n-butanol se hicieron con etanol como diluyente.
- Para agregar la muestra al reactor, se colocó una alícuota de 2  $\mu\text{L}$  sobre un trozo de vidrio de un tamaño máximo no mayor a la boquilla del reactor para poder introducirlo; este vidrio estaba libre de olor.
- Una vez que se tuvieron todas las muestras dentro de cada reactor, se encendió el recirculador y se programó para calentar el agua a 90°C, que se pasó a través de los reactores encaquetados, con lo cual se facilitó la evaporación del compuesto y con esto el desprendimiento del aroma.
- Cuando alcanzó la temperatura de 90°C se pasó al panelista programado para esa prueba. El panelista debía estar bien concentrado y enfocado en realizar únicamente la prueba.
- El panelista abrió los reactores de uno en uno y se acercó a la boquilla para lograr percibir cada olor que se desprendían del reactor.
- Cuando ya percibió el olor de cada uno de los reactores, el panelista era capaz de identificar en que reactor se encontraba la muestra de n-butanol

por el método 3-AFC de elección forzada entre los tres reactores y asignar con una cruz en la hoja de respuesta (Figura13), proporcionada al inicio de la prueba, el número de reactor donde percibió la muestra.

- Al terminar la evaluación, los reactores se hornearon durante 30min. a una temperatura de 90°C para eliminar el olor.
- Posteriormente, los reactores se enfriaron durante una hora hasta alcanzar la temperatura de 35°C; temperatura a la cual el reactor se encontraba listo para poder realizar la siguiente prueba, que comenzaba al colocar la dilución que correspondía a cada panelista.

Esta prueba se realizó una sola vez a cada miembro del panel con las tres concentraciones de referencia: 20, 40 y 80 ppb.

**Nombre:** \_\_\_\_\_  
**Muestra:** \_\_\_\_\_  
**Instrucciones:** **Marcar con una cruz el reactor que contenga la muestra que detectes.**



Figura 13. Hoja de respuestas para la detección del umbral.

### V.2.3. Metodología para el Ácido Acético.

Para iniciar la prueba con el ácido acético, se emplearon varias diluciones en distintas concentraciones, con el fin de detectar un umbral presuntivo; en este caso las diluciones que se usaron son de 10 000, 100 y 1 ppm de ácido acético en etanol, con las cuales se realizó una prueba rápida en los reactores para detectar el posible umbral sensorial; se encontró que el umbral se delimitaba entre 10 000 y 100 ppm por lo que se decidió emplear las diluciones del Cuadro 2.

Empleando las concentraciones del Cuadro 2 correspondientes al ácido acético, se aplicó la técnica del n-butanol variando el tiempo de horneado in-situ a 2 hrs para este compuesto.

En el Cuadro 3 se muestran las mismas diluciones que en el Cuadro 2 pero con las unidades en ppb debido a que al hacer el cálculo tomando en cuenta la dilución a 1L con aire presente en el reactor, hace que la dilución de 10 000 ppm de ácido acético se diluyan a 17.10 ppb de ácido acético.

#### V.2.4. Metodología para el Sulfuro de Dimetilo.

Para iniciar la prueba con el sulfuro de dimetilo, se emplearon varias diluciones en distintas concentraciones, con el fin de detectar un umbral presuntivo; en este caso las diluciones que se usaron son de 10 000, 100 y 1 ppm de sulfuro de dimetilo en etanol, con las cuales se realizó una prueba rápida en los reactores para detectar el posible umbral sensorial; se encontró que el umbral se delimitaba entre 10 000 y 100 ppm por lo que se decidió emplear las diluciones del Cuadro 2.

Empleando las concentraciones del Cuadro 2 correspondientes al sulfuro de dimetilo, se aplicó la técnica del n-butanol variando el tiempo de horneado in-situ a 2 hrs para este compuesto.

En el Cuadro 3 se muestran las mismas diluciones que en el Cuadro 2 pero con las unidades en ppb debido a que al hacer el cálculo tomando en cuenta la dilución a 1L con aire presente en el reactor, hace que la dilución de 10 000 ppm de sulfuro de dimetilo se diluyan a 17.10 ppb de sulfuro de dimetilo.

#### V.2.5. Metodología para Heptanal.

Para iniciar la prueba con el heptanal, se emplearon varias diluciones en distintas concentraciones, con el fin de detectar un umbral presuntivo; en este caso las diluciones que se usarán son de 10 000, 100 y 1 ppm de heptanal en etanol, con las cuales se realizó una prueba rápida en los reactores para detectar el posible umbral sensorial; se encontró que el umbral se delimitaba entre 100 y 1 ppm por lo que se decidió emplear las diluciones del Cuadro 2.

Empleando las concentraciones del Cuadro 2 correspondientes al heptanal, se aplicó la técnica del n-butanol variando el tiempo de horneado in-situ a 2 hrs para este compuesto.

En el Cuadro 3 se muestran las mismas diluciones que en el Cuadro 2 pero con las unidades en ppt debido a que al hacer el cálculo tomando en cuenta la dilución a 1L con aire presente en el reactor, hace que la dilución de 100 ppm de heptanal se diluyan a 171 ppt de heptanal.

Cuadro 2. Concentración de las soluciones empleadas para cada compuesto aromático.

n-butanol (ppm)	Heptanal (ppm)	Ácido Acético (ppm)	Sulfuro de Dimetilo (ppm)
40 000	100	10 000	10 000
20 000	50	5 000	5 000
10 000	20	2 000	1 000
	10	1 000	500
	5	500	100
	1	200	50
	0.1	100	10

Cuadro 3. Concentración de cada compuesto en el reactor.

n-butanol (ppb)	Heptanal (ppt)	Ácido Acético (ppb)	Sulfuro de Dimetilo (ppb)
80	171	17.10	17.10
40	42.75	8.55	8.55
20	34.20	3.42	1.71
	17.10	1.71	0.855
	8.55	0.855	0.171
	1.71	0.342	0.043
	0.171	0.171	0.0171

Empleando las diluciones del Cuadro 3 y la técnica 3-AFC con 3 alternativas a elección, el panelista escogió el reactor que contenía un olor diferente, siendo solo

una la respuesta acertada. De los resultados obtenidos por todos los panelistas en cada compuesto, se graficó la concentración del Cuadro 3 contra el % de respuestas acertadas; a partir de esta gráfica se realizó una interpolación entre la concentración que corresponda con el 50% de respuestas acertadas, lo cual nos indicó el umbral de detección de grupo del compuesto de acuerdo con su definición.

## VI. RESULTADOS

### VI.1. Evaluación del panel

Para elegir a los panelistas se les aplicó una evaluación de sensibilidad al n-butanol obteniendo como resultado la Figura 14 donde se puede observar que el panel empleado para este estudio se encontraban dentro del rango establecido por la norma EN 13725.

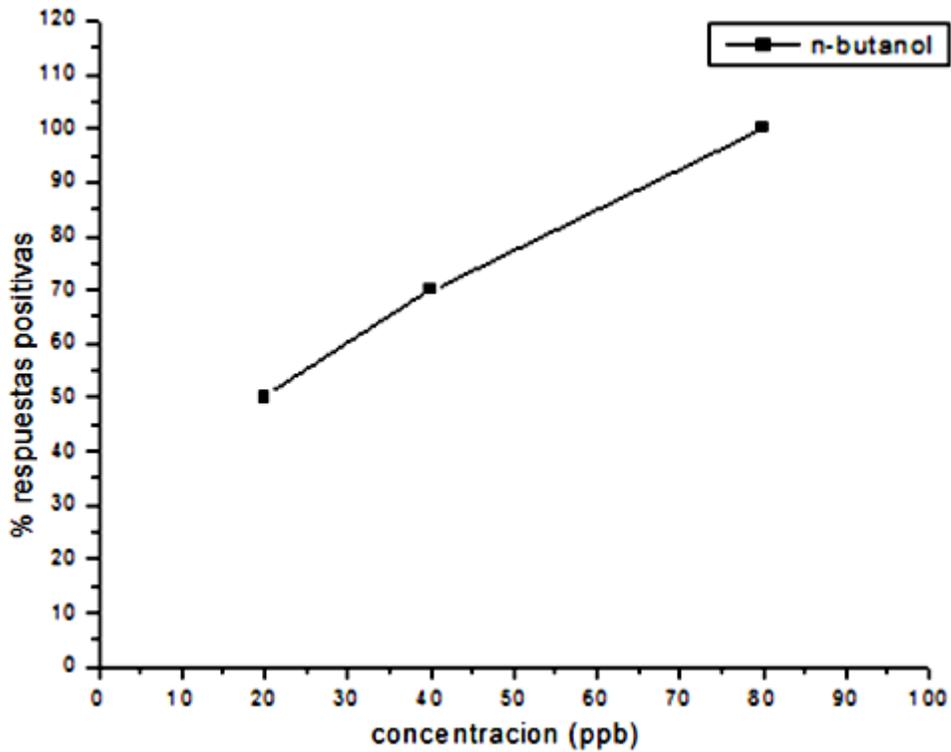


Figura 14. Gráfica de sensibilidad de panelistas con n-butanol.

### VI.2. Determinación de Umbrales

Para realizar la determinación de los umbrales sensoriales, se graficó por medio de una curva sigmoideal, con ajuste tipo Boltzman el cual tiene como fórmula general la Ecuación 1.

\_\_\_\_\_

Ecuación 1

Donde  $y$  es el porcentaje de respuestas positivas,  $A_2$  es el valor final a la derecha de la asíntota horizontal,  $A_1$  es el valor inicial a la izquierda de la asíntota horizontal,  $x_0$  es el punto de inflexión y  $dx$  es la anchura.

Despejando  $x$  para obtener los valores de la concentración correspondiente al umbral se obtiene la siguiente fórmula (Ecuación 2):

Ecuación 2

Este fue el procedimiento que se siguió para determinar el umbral sensorial de cada uno de los compuestos problema. El modelo empleado fue tomado del software Origin versión 6.0, para el análisis y determinación de los valores de umbral. La curva sigmoideal, empleada para montar los datos recogidos en el experimento fue utilizada por primera vez por Powers y Ware en 1976 y después por Adhikari y col. en el 2006.

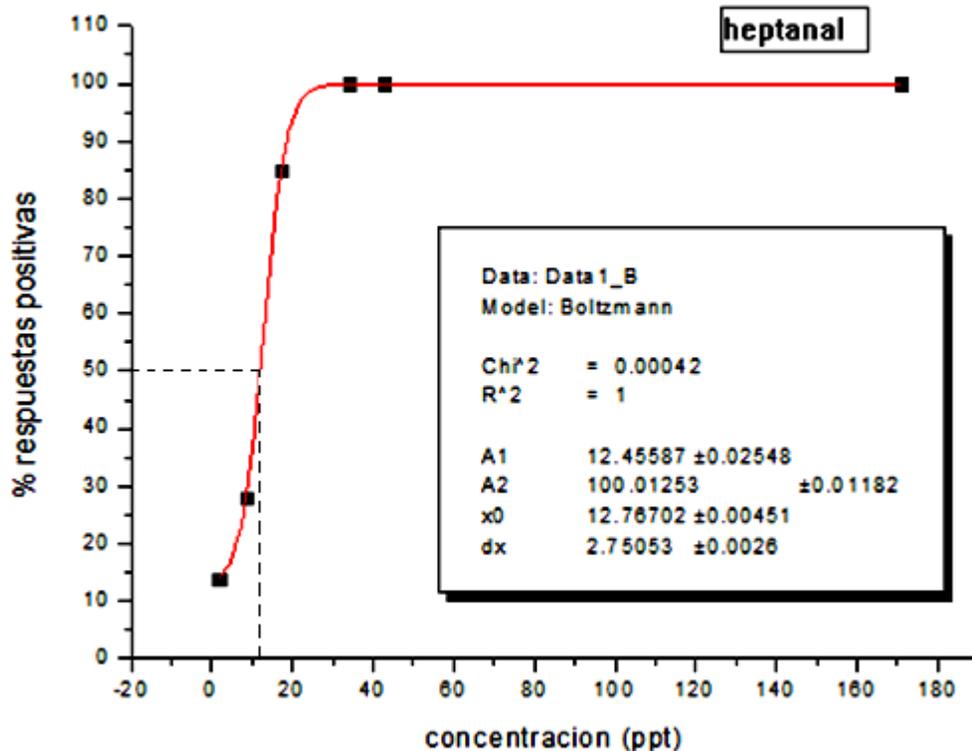


Figura 15. Gráfica del Umbral Sensorial para el Heptanal.

### VI.3. Análisis del Umbral Sensorial para Heptanal

De acuerdo con los valores obtenidos en la curva de heptanal (Figura 15) la ecuación de la curva resultante es:

Despejando  $x$  (ecuación 2) y sustituyendo el valor de 50 correspondiente al 50% de respuestas positivas, que equivale al umbral sensorial de grupo, se obtiene un valor de 11.9783 ppt.

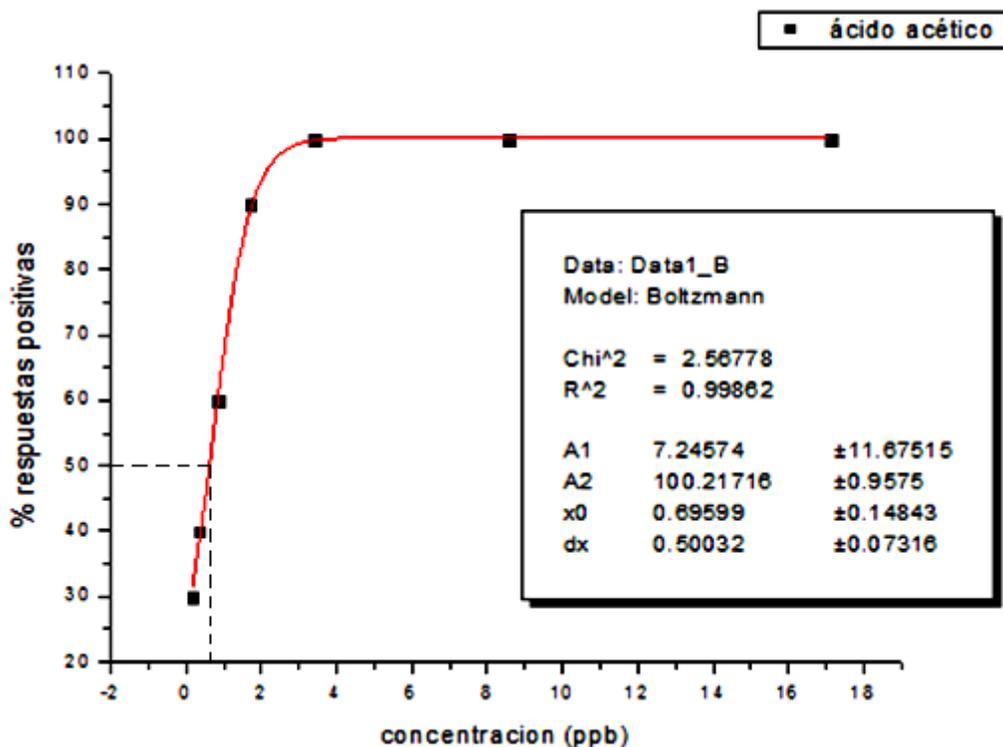


Figura 16. Gráfica de Umbral Sensorial para el Ácido Acético.

### VI.4. Análisis del Umbral Sensorial para el Ácido Acético

De acuerdo con los valores obtenidos en la curva de ácido acético (Figura16) la ecuación de la curva resultante es

---

Despejando  $x$  (ecuación 2) y sustituyendo el valor de 50 correspondiente al 50% de respuestas positivas, que equivale al umbral sensorial de grupo, se obtiene un valor de 0.6155 ppb.

---

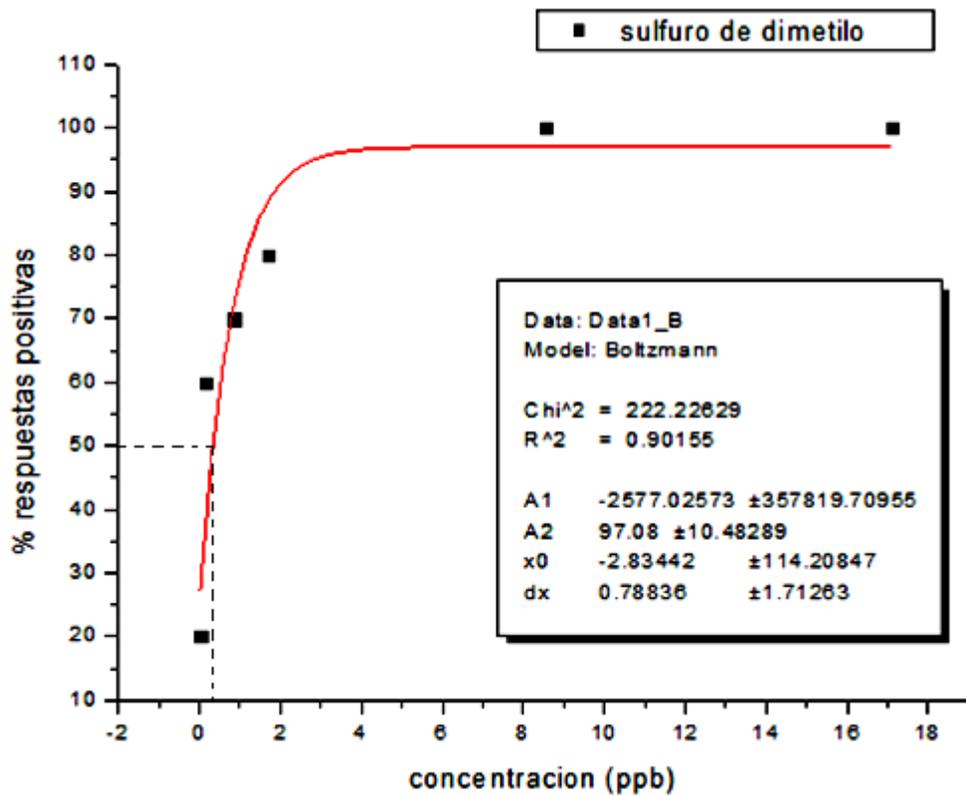


Figura 17. Gráfica de Umbral Sensorial para el Sulfuro de Dimetilo

#### VI.5. Análisis del Umbral Sensorial para el Sulfuro de Dimetilo

De acuerdo con los valores obtenidos en la curva de sulfuro de dimetilo (Figura 17) la ecuación de la curva resultante es

---

Despejando  $x$  (ecuación 2) y sustituyendo el valor de 50 correspondiente al 50% de respuestas positivas, que equivale al umbral sensorial de grupo, se obtiene un valor de 0.3361 ppb.

$$x = -2.83442 + \left[ \ln\left(\frac{-2577.02573 - 97.08}{50 - 97.08} - 1\right) \right] (0.78836) = 0.3361 \text{ ppb}$$

## VII. DISCUSIÓN

### VII.1. Desarrollo de la metodología

La metodología empleada esta basada en los estándares Europeos para la prueba de olor EN13725 donde señala que el panel debe ser evaluado con un estándar, en este caso se uso n-butanol, en un rango de 20 a 80 ppb; esto se puede comprobar en los resultados en la Figura 14.

El rango de diluciones empleado para cada compuesto a evaluar, fue determinado de manera experimental, se realizaron primero unas diluciones preliminares que fueron desde 1 ppm, 100 ppm hasta 10 000 ppm de cada compuesto probándose, de manera rápida con personal entrenado y acostumbrado al olor de cada compuesto, el rango más estrecho de donde podría encontrarse el umbral de manera aproximada y se prosigió a tener diluciones seriales de 7 puntos para tener una mejor gráfica. Para el caso del n-butanol, únicamente se evaluaron 3 puntos que fueron las concentraciones de 20, 40 y 80 ppb las cuales formarían el rango en el cual debía estar el panel de acuerdo al estándar europeo. Se tomó esta decisión porque la evaluación de los panelistas no es para seleccionar aquellos que tienen un excelente sentido del olfato, sino aquellos que tienen un sentido del olfato promedio, (Iwasaki y Nagata, 2003).

En el estándar europeo, se menciona que la distribución de las muestras debe hacerse de manera ascendente en cuanto a las concentraciones presentadas a los panelistas al momento de evaluar; sin embargo, en esta metodología se determinó que una mejor forma de observar los resultados de los panelistas sería presentándoles las concentraciones de manera aleatoria a cada miembro del panel, de tal modo que no siguieran un orden ascendente o descendente en concentraciones y así el panelista no estaría prevenido a percibir un olor más intenso o menos intenso, con lo que se eliminaría cierto error al impartir su respuesta.

## VII.2. Implicaciones del equipo utilizado sobre los resultados.

Para la implementación del equipo se tomó la decisión de crear unos reactores enchaquetados de vidrio para poder realizar un horneado In-Situ y de esta manera eficientar más la metodología de limpiado del equipo. La creación de los reactores enchaquetados fue en base a las metodologías ya existentes de extracción (SPME, head-space tanto estático como head-space dinámico y purga y trampa) para el análisis de sabores y aromas. Estas metodologías utilizan calor para extraer los compuestos volátiles en un espacio cerrado, los cuales posteriormente son sacados del espacio cerrado para ser analizados.

El material empleado para la fabricación de los reactores es vidrio ya que tiene la propiedad de resistir altas temperaturas, alrededor de unos 500°C sin que sufra alguna deformación. Los reactores se fabricaron con un volumen de 1L para tener una medida de referencia estándar. Todos los reactores fueron cerrados con tapas por medio de septas, lo cual las hace ser casi herméticas y con esto evitar que se pierdan los compuestos volatilizados. Para las mangueras se empleó el material de silicona ya que también resiste altas temperaturas.

Se determinó que la metodología para el horneado in-situ fuera de 2 horas para los compuestos con olor más intenso a una temperatura de 90°C; sin embargo, para limpiar los reactores entre cada compuesto el horneado tiene que ser más profundo empleando temperaturas de 180°C durante 3 horas en horno.

## VII.3. Evaluación del panel de jueces entrenados.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la evaluación de sensibilidad del panel al n-butanol, se puede observar en la Figura 14 que para la concentración de 20 ppb alrededor de un 50% de las respuestas dieron positivo y para la concentración más alta de 80 ppb obtuvimos alrededor de un 100% de respuestas positivas, lo cual nos indicó que el panel estaba formado por personas que contaban con un sentido del olfato promedio, con lo que hacía ser al panel una muestra más representativa de la población.

#### VII.4. Evaluación de los Umbrales Sensoriales

En base al cuadro 4 se puede observar que el heptanal es el compuesto con el olor más fuerte ya que el umbral sensorial es de 11.9783 ppt, siendo el más bajo detectado de los tres compuestos presentados; esto indica que el panel es capaz de detectar el heptanal incluso a concentraciones muy bajas, siguiéndole el sulfuro de dimetilo con 336.1 ppt y finalmente con 615.5 ppt para el ácido acético.

Cuadro 4. Resultados de la determinación de Umbrales Sensoriales en aire.

Compuesto	Concentración	
	(ppb)	(ppt)
Heptanal	0.0119	11.9783
Ácido acético	0.6155	615.5
Sulfuro de dimetilo	0.3361	336.1

Por lo que el orden en cuanto a intensidades de olor queda de la siguiente manera: heptanal > sulfuro de dimetilo > ácido acético siendo el heptanal el que encabeza la lista presentando el olor más fuerte. Estos resultados se pueden comparar con los obtenidos en la literatura del Cuadro 5, donde se reporta que el heptanal requiere concentraciones de 3 000 ppt para ser detectado (Leffingwell, 1991), seguido del sulfuro de dimetilo con 3 ppb y finalmente el ácido acético con 6 ppb (Iwasaki y Nagata, 2003).

A partir de estos resultados podemos decir que aquellos compuestos que presenten un olor más fuerte para las personas, va a reflejar que tienen un umbral muy bajo en ese compuesto en específico; sin embargo, pueden tener un umbral más alto para otros compuestos. Este fenómeno se presentó durante el experimento en donde personas con mayor experiencia en cuanto a los olores pudieron percibir más fácilmente ciertos olores que otros, y viceversa personas con menor experiencia en el área de aromas pudieron percibir más fácilmente aquellos compuestos que para otros fueron más complicados.

### VII.5. Umbrales Sensoriales determinados en la literatura

Una vez obtenidos los resultados del experimento, se buscó en la literatura acerca de determinaciones anteriores del umbral sensorial en los compuestos a estudiar, heptanal, ácido acético y sulfuro de dimetilo. Sin embargo, como se puede observar en el Cuadro 5, hay valores reportados por ejemplo para el heptanal en el cual el rango de umbral varía desde 3 000 ppt hasta 100 000 ppt, esto nos puede indicar que el método empleado para cada análisis fue diferente, que el panel no se encontraba entrenado o que no fue entrenado de la misma manera por lo tanto el rango de variación aumentó considerablemente; la matriz donde se realizó el análisis cambia entre cada experimento, en algunos casos la matriz de olor fue aire, y en otros emplearon agua; esto influye bastante ya que las interacciones de cada compuesto con la matriz dependerán del estado en el que se encuentre; pudiendo, de esta manera, retrasar el tiempo necesario para lograr un equilibrio de la muestra dentro del recipiente usado para la aspiración. El comportamiento se ve influenciado por la naturaleza del compuesto y se afectará dependiendo de cada matriz pudiendo, por ejemplo, aumentar el umbral de olor para ciertos compuestos en agua o por el contrario disminuir su umbral de olor. Este mismo comportamiento puede ocurrir en las distintas matrices empleadas, es por ello la importancia de reportar en las tablas de umbral el medio empleado para su análisis.

En esta investigación el experimento se corrió en una matriz de aire, por lo que de manera directa se puede comparar con los datos reportados por 3M (2010) y Northeastern University (2006) donde se observa una gran diferencia, ya que en el método de estudio (metodología de reactores) se pudieron realizar mediciones de umbral a concentraciones mucho más bajas; para el ácido acético se obtuvo un valor de 0.615 ppb, mientras que en la literatura se reportaron valores de 16 ppb y 2000 ppb, siendo entre ellos mismos un rango muy amplio de variación, además de estar muy por arriba del calculado por nuestro método. Lo mismo ocurre para el sulfuro de dimetilo donde el único valor reportado en la literatura con los métodos comparados es de 2.5 ppb, que sigue siendo un valor por arriba del detectado con la metodología de los reactores. Esto nos dice que el método desarrollado y el

equipo diseñado en el presente estudio, cuenta con una mayor sensibilidad comparado con los empleados anteriormente.

En el caso del ácido acético fue difícil encontrar valores reportados en la literatura para el umbral sensorial de manera olfateada, sino más bien se reportaban umbrales sensoriales empleando la boca, por lo que también lo hace más complicado realizar una buena comparación entre referencias ya que al momento de probar la sustancia se estaría involucrando el sabor de ella y en este estudio únicamente se estudió la percepción del panelista a través de la nariz. Otra desventaja de la información reportada es que no en todas las tablas de umbrales se indica la metodología empleada para la determinación del umbral sensorial por lo que nos hace más complicada una buena comparación de nuestros resultados contra la literatura.

Cuadro 5. Umbrales Sensoriales reportados en la literatura

Heptanal	Compuesto		Matriz de Olor	Metodología	Referencia
	Ácido Acético	Sulfuro de Dimetilo			
11.978 ppt	0.615 ppb	0.336 ppb	Aire	Reactores	Esta tesis, 2011.
180 ppt	6 ppb	3 ppb	Nitrógeno	Bolsa de olor	Iwasaki, 2003.
NR	16 ppb	2.5 ppb	Aire		3M, 2010.
NR	2 000 ppb	NR	Aire		Northeastern University, 2006.
3 000 ppt	NR	0.3 -1 ppb	Agua		Leffingwell, 1991.
100 000 ppt	NR	NR	Agua		Sancho, 2002.
3 000-60 000 ppt	NR	0.3 -10 ppb	NR		Burdock, 2010.
3 000 ppt	NR	0.3 - 1 ppb	NR		Flavor Base, 2010.

NR= No Reportado

En las últimas cuatro referencias presentadas en el Cuadro 5 se aprecian valores reportados para el sulfuro de dimetilo que se acercan bastante a las obtenidas en

este estudio; sin embargo, se reporta un rango de umbral que va de 0.3 ppb a 1 ppb en algunos casos y 0.3 ppb a 10 ppb para otro caso. Estos resultados no registran un valor absoluto de umbral sino que lo reportan como un rango de valores, con lo que se puede interpretar que el valor podría encontrarse entre estos valores y ser dependiente de ciertas variables. Para el caso del heptanal que también está reportado su umbral para estas últimas cuatro referencias, se aprecian valores con una diferencia entre ellos muy grande, el umbral detectado más bajo es de 3 000 ppt y el más alto de 100 000 ppt. Sin duda la sensibilidad de estas cuatro metodologías empleadas es muy baja, ya que necesitaron una mayor cantidad de muestra para que sus panelistas pudieran percibirlo.

Finalmente, en la referencia de Iwasaki y Nagata (2003) reportan que la metodología empleada fue la de bolsa de olor, la cual está explicada en los antecedentes, donde se emplea como matriz gaseosa al nitrógeno el cual funge como vehículo de dilución. En el Cuadro 5 se puede observar que los valores que se reportan muestran un aumento aproximado de 10 veces el valor obtenido en este estudio. Con lo que se puede concluir que la metodología de bolsa de olor es 10 veces menos sensible que la metodología de los reactores diseñados en este estudio.

#### VII.6. Metodologías empleadas para la determinación del umbral.

En la literatura existen reportados varios métodos para la determinación del umbral, dentro de ellos se encuentra la metodología de Sniffin' Sticks la cual como se menciona en los antecedentes, es una prueba quimiosensorial la cual está basada en la percepción del olor de los compuestos a través de unas plumas como dispensadores; sin embargo esta metodología presenta una serie de desventajas como: el poco volumen de la jeringa, el material de la jeringa adsorbe olor, requiere mucho tiempo de preparación de las diluciones, se perciben sensaciones extrañas al oler por medio del dispositivo de la jeringa, existe una influencia en la respuesta del panel y finalmente los valores obtenidos son muy dispersos por lo que esta metodología podría emplearse únicamente para hacer estimaciones del umbral.

Otra metodología es la que emplea el olfactómetro de campo, el cual se emplea mezclando volúmenes del olor con aire limpio en proporciones predeterminadas; sin embargo este método es empleado para medir la intensidad de olor en el medio ambiente y no específicamente para determinar el umbral que tienen ciertos compuestos, como es el caso específico de este estudio, por lo que no pudiera ser una buena herramienta para este experimento.

La cromatografía de gases acoplado a la olfactometría es otra herramienta que puede usarse para identificar al compuesto químico además permite correlacionarlo con su aroma característico; la olfactometría también permite detectar concentraciones muy bajas y de esta forma cuantificar con gran precisión la cantidad presente del compuesto en la muestra. Sin embargo, la CG-O emplea un flujo constante de gas a elevadas temperaturas que se perciben directamente en la nariz lo cual puede afectar el resultado final, por otro lado en el presente estudio se buscó que se realizaran olfateadas en un volumen determinado de aire eliminando el uso del CG-O.

La cromatografía de gases con olfactometría permite correlacionar cada compuesto químico con su descriptor olfativo (aroma) y de esta manera identificar los compuestos de mayor relevancia olfativa y cuantificar su aporte al aroma global. Este análisis se puede realizar en cualquier tipo de producto en distintas matrices

Por lo que al comparar estas metodologías podemos ver que existen ciertas ventajas y desventajas que presenta cada uno; sin embargo, la metodología más acertada para la determinación de umbrales sería la metodología triangular de la bolsa de olor. Comparando este método con el empleado en el presente trabajo se pueden observar que el diseño de equipo desarrollado tiene la ventaja de ser de vidrio, el cual es un material que puede ser horneado y re usarse entre cada muestra, al mismo tiempo puede ser reciclado más fácilmente; una desventaja que se presentó durante la experimentación era el manejo cuidadoso de los reactores, así como también vigilar la temperatura del medio ambiente, con el fin de que no fuera tan grande la diferencia de temperatura con respecto al reactor, de lo

contrario provocaría fracturas en el vidrio. El volumen en ambos casos es lo suficientemente grande como para que pueda ser percibido mejor el olor. La influencia del panel se eliminó en ambos casos ya que se empleó la técnica 3-AFC. Una ventaja muy importante que presenta el equipo desarrollado es que cuenta con una regulación de temperatura y durante todo el experimento se mantuvo a una temperatura controlada de 90°C, con lo que se aseguró que todas las partículas de la muestra dentro del reactor se encontraban evaporadas y dispersas, sin presentar condensación dentro del reactor lo que favorece a tener un equipo con muy buena sensibilidad y poder detectar umbrales más bajos. Esta ventaja que presenta la metodología de los reactores es la que hace que los valores obtenidos sean 10 veces menores a los obtenidos en la metodología de la bolsa de olor que se observa en el Cuadro 5.

Otra ventaja que tiene la metodología de los reactores es que el gas de dilución empleado dentro de ellos es el propio aire del ambiente y no contiene ningún flujo que pueda afectar o alterar los resultados. En la metodología de la bolsa se presentan las diluciones de las más fácilmente percibidas por el panelista hasta las más difíciles, esto podría conllevar a errores en las respuestas ya que el panelista podría estar predispuesto a percibir olores cada vez menos intensos; esto se eliminó en la metodología de los reactores presentando las muestras de manera aleatoria en cada panelista y entre ellos mismos, de esta manera el panelista no podría asumir que las diluciones subsecuentes serían cada vez menores.

## VIII. CONCLUSIONES

Se desarrolló una metodología para determinación de umbrales basado en los estándares EN 13725 y ASTM E679 empleando un diseño de equipo nuevo.

La metodología cuenta con una sensibilidad muy alta, permitiendo detectar concentraciones a niveles de ppt, lo cual en el área de sabores es muy bueno.

La metodología desarrollada, debido al diseño de equipo, permite que sea aplicable en cualquier laboratorio a bajo costo con respecto a otros equipos empleados anteriormente.

Se logró obtener el compuesto con el umbral más bajo el cual es el heptanal, ya que se requiere de una concentración más baja para que el 50% de los panelistas pudieran detectar el reactor correcto, para así encontrar el umbral sensorial.

Se determinó que por medio de la metodología de los reactores en matriz de aire, que el compuesto con el umbral más bajo es para el heptanal, siguiéndole el sulfuro de dimetilo y por último el ácido acético.

Con la metodología de los reactores se detecta fácilmente el umbral sensorial, de cualquier compuesto que presente olor.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

**3M. 2010.** Occupational Health and Environmental Safety Division. Respirator Selection Guide. 15- 42.

**Adhikari, K., Hein K., Elmore JR. 2006.** Flavor threshold as affected by interaction among three dairy-related flavor compounds. Journal of Sensory Studies. Vol. 21: 626-643.

**Air Quality Bureau. 2005.** A Review of The Science and Technology of Odor Measurement. St. Croix Sensory, Inc., Iowa: 4-6.

**ASTM International. 1978.** D1391-78: Standard Method for Measurement of Odor in Atmospheres (Dilution Method). Philadelphia, USA.

**ASTM International. 1979.** E679-79: Standard Practice for Determination of Odor and Taste Threshold by a Forced-Choice Ascending Concentration Series Method of Limits. Philadelphia, USA.

**ASTM International. 1981.** Guidelines for the Selection and Training of Sensory Panel Members. Philadelphia, USA.

**ASTM International. 1990.** E1432: Defining and Calculating Sensory Thresholds from Forced-Choice Data Sets of Intermediate Size. Philadelphia, USA.

**ASTM International. 2004.** Guidelines for the Selection and Training of Sensory Panel Members. Philadelphia, USA.

**Burdock G., 2010.** Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients. CRC Predd. New York. 12,13,190,790,1386.

**CEN, Committee for European Normalization. 1999.** prEN13725: Proposed Draft Standard: Air Quality – Determination of Odour Concentration by Dynamic Olfactometry, Brussels, Belgium.

**CEN, Committee for European Normalization. 2003.** EN13725: Air Quality – Determination of Odour Concentration by Dynamic Olfactometry. Brussels, Belgium.

**CEN, European Committee for Standardisation. 1997.** Air Quality. Determination of Odour Concentration by Dynamic Olfactometry.Brussels, Belgium.

**CEN, European Committee for Standardisation. 2010.** [www.cen.eu](http://www.cen.eu)

**Cliff M., Pickering G. 2006.** Determination of odour detection thresholds for acetic acid and ethyl acetate in ice wine. *Journal of Wine Research*. Vol. 17: 45-52.

**Damm M., Jungehulsing M., Eckel H. 2003.** Olfactory changes at threshold and suprathreshold levels following septoplasty with partial inferior turbinectomy. *Ann otol Rhinol Laryngol*. Vol. 112: 91-97.

**Drake, M. 2007.** Sensory Analysis of Dairy Foods. *Journal of Dairy Science*. Vol. 90: 4925-4937.

**Flavor Base. 2010.** [www.leffingwell.com](http://www.leffingwell.com)

**Gómez F., Cassís-NosthasnL., Morales-de-Leon JC., Bourges H. 2004.** Detection and recognition thresholds to the 4 basic tastes in Mexican patients with primary Sjogren's syndrome. *European Journal of Clinical Nutrition*. Vol. 58: 629-636.

**Hau K., Connell D. 1998.** Quantitative Structure-Activity Relationships (QSARs) for odor Thresholds of Volatile organic Compounds. *Indoor AIR*. Vol. 8: 23-33.

**Hummel T., Kobal G., Gudziaol H. 2007.** Normative data for the "Sniffin ' Sticks" including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: an ungrade based on a group of more than 3000 subjects. *Eur Arch otorhinolaryngol*. Vol. 264: 237-243.

**Iwasaki, Y., Nagata Y. 2003.** The History of Odor Measurement in Japan and Triangle Odor Bag Method. *Odor Measurement Review*. Ministry of the Environment, Government of Japan. 35- 47, 118-127.

**Lee, M., Paterson, A., 2000.** Measurement of Thresholds for Reference Compounds for Sensory Profiling of Scotch Whisky. *Journal of The Institute of Brewing*. Vol. 106: 287-294.

**Leffingwell J.C. 1991.** Gras Flavor Chemicals-Detection Thresholds. *Perfumer & Flavorist*. Vol. 16: 1-19.

**Look for diagnosis. 2009.** [www.sobiologia.com.br/figuras/Corpo/olfato.jpg](http://www.sobiologia.com.br/figuras/Corpo/olfato.jpg)

**Manual de operacion. 2004.** Olfactómetro de Campo Nasal Ranger. St. Croix Sensory. Minnesota: 2-10.

**McGinley, M. 2000.** Elements of Successful Odor / Odour Laws. WEF Odor/ VOC Specialty Conference, Cincinnati, OH: 4-6.

**McGinley, M. 2003.** [www.nasalranger.com/espanol/importance.cfm#odorm](http://www.nasalranger.com/espanol/importance.cfm#odorm)

**Meilgaard, M. 1999.** Sensory Evaluation Techniques. 3rd edition, Ed. CRC Press, New York: 3, 7-10,13-15, 530-532, 641-642,

**Northeastern University. 2006.**

[http://www.ehs.neu.edu/laboratory\\_safety/chemical\\_hygiene/exposure\\_limits/](http://www.ehs.neu.edu/laboratory_safety/chemical_hygiene/exposure_limits/)

**Odournet Holding Bv. 1999.** [www.odournet.com/olfactometer.html](http://www.odournet.com/olfactometer.html)

**Parr, W., Heatherbell, D. 2002.** Demystifying Wine Expertise: olfactory Threshold, Perceptual Skill and Semantic Memory in Expert and Novice Wine Judges. Chemical Senses. Vol. 27: 747-755.

**Philpott C., Goodenough P., Passant C., Robertson A. 2004.** The effect of temperature, humidity and peak inspiratory nasal flow on olfactory thresholds. Clinical Otolaryngology. Vol. 29: 24-31.

**Pickering G.J., Karthink A., Inglis D., Sears M., Ker K. 2008.** Detection thresholds for 2-isopropyl-3-methoxy pyrazine in Concord and Niagara grape juice. Journal of Food Science. Vol. 73: 262-266.

**Powers. J.J., Ware. G. O. 1976.** Comparison of sigmoid plot, probit, and extreme-value methods for the analysis of threshold data. Chem. Senses. Vol. 2: 241-253.

**Sancho, J., Bota. E. 2002.** Introducción al Análisis Sensorial de los Alimentos. Ed. Alfaomega. España. 203.

**Santos, M., Caplan, Y. 2003.** Sensory Threshold of off-flavors Caused by Proteolysis and Lipolysis in Milk. Journal of Dairy Science. Vol. 86: 1601-1607.

**Song H., Cadwallader K.R. 2008.** Aroma Components of America Country Ham. Journal of Food Science. Vol. 73: 29- 35 .

**Woods, M. 1998.** Taste and Flavour perception. Proceedings of Nutrition Society. Vol. 57: 603-607.