

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



APLICACIÓN DE LA ATOMIZACIÓN Y LA
LIOFILIZACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE POLVO
Y SNACK DE POMELO

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Luis Alberto Egas Astudillo

Dirigida Por:

**Nuria Martínez Navarrete
María del Mar Camacho Vidal**

Valencia 29 de Julio, 2019



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

Dña. Nuria Martínez Navarrete, Doctora en Ciencias Biológicas, Catedrática de la Universidad Politécnica de Valencia y Dña. María del Mar Camacho Vidal, Doctora en Ciencia Químicas, Catedrática de la Universidad Politécnica de Valencia.

CERTIFICAN:

Que el trabajo de investigación “**Aplicación de la Atomización y la Liofilización para la obtención de polvo y Snack de pomelo**” que presenta D. Luis Alberto Egas Astudillo en la Universidad Politécnica de Valencia, ha sido realizado bajo nuestra dirección, en el Grupo de Investigación e Innovación Alimentaria (CUINA) de la Universidad Politécnica de València, reúne las condiciones para optar por el grado de Doctor en Ciencia, Tecnología y Gestión de Alimentos por la Universidad Politécnica de València.

Para que así conste a los efectos oportunos, firman el presente certificado en Valencia a 29 de Julio, 2019.

Fdo.Dra. María del Mar Camacho Vidal
Directora de Tesis

Fdo.Dra. Nuria Martínez Navarrete
Directora de Tesis

*“A la memoria de Ramiro Egas Calderón”
¡¡Mi amigo, mi héroe, mi padre, mi ejemplo!!*

Agradecimientos

Quisiera dar las gracias a mi familia, en especial a mis padres Ramiro† y Judith por todo su apoyo, y porque gracias a ellos he podido llegar a donde estoy hoy. Además, quisiera agradecer a mis hermanos, William, Mónica, Doris y Adriana, quienes siempre serán parte de cada uno de mis logros.

A la Secretaria de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT) de la República del Ecuador, por la ayuda económica otorgada (Contrato N°AR2Q-8550), que ha permitido la elaboración de esta tesis doctoral.

Al Departamento de Tecnología de Alimentos y a la Universidad Politécnica de Valencia, en especial al Grupo de Investigación e Innovación Alimentaria (CUIINA), por haberme brindado las facilidades para la elaboración y desarrollo de mi tesis doctoral.

A mis directoras María de Mar y Nuria por la oportunidad que me brindaron de ser parte de su equipo de investigación, por confiar en mí desde el principio, por todo lo que me han enseñado a lo largo de esta tesis y sobre todo por soportar mis locuras. Gracias por vuestra comprensión, paciencia y por todo lo que nos hemos reído. Su dedicación, complicidad, buenos consejos y apoyo en los momentos difíciles han hecho que este tiempo en el laboratorio sea una de las mejores etapas de mi vida.

A todos aquellos que forman parte del equipo de investigación, tesisas y compañeros de laboratorio, de una u otra manera son parte de esta experiencia: Marta, Eva, Javier, Alberto, Claudia, Andrea, Mariana, Freddy, Adrián, Ana, Danella, etc. A todos gracias.

A mis amigos y amigas, que he hecho, durante mi etapa en la Estación Experimental Santa Catalina (INIAP- Ecuador), que aunque lejos siempre estuvieron apoyándome para la consecución de esta meta, esta tesis también es de ustedes.

Por último gracias a todos aquellos que formaron parte de esta gran aventura, en especial a M.A.Q.V no solo por llenar mi vida de inolvidables momentos sino por permitirme compartir y conocer nuevas experiencias que enriquecieron mi vida y me hicieron mejor persona.

*Gracias a todos
Luis Alberto Egas Astudillo*

Resumen

Son muchos los estudios que vinculan el alto contenido en compuestos bioactivos de las frutas con un papel beneficioso para la salud. Por otra parte, el consumidor, cada vez más exigente, está concienciado del interés de contribuir a la mejora de su salud a través de la alimentación. No obstante, y a pesar de los intentos de la administración, no se consigue aumentar el consumo de fruta entre la población. Esto, en parte, es consecuencia del estilo de vida actual que resulta, en cierta medida, incompatible con alimentos que deben adquirirse casi a diario y que resultan incómodos en su manejo para su consumo. En este sentido, puede resultar interesante ofrecer productos de fruta de alta calidad en formatos que sean estables y de fácil consumo. Con este objetivo, en esta Tesis se plantea la obtención de un producto de pomelo en polvo y en snack. En ambos casos se parte del puré de pomelo formulado con diferentes biopolímeros que actúan como carriers y confieren estabilidad al producto final.

Así, la primera parte de la Tesis se centra en la caracterización física y comparación de polvos de pomelo obtenidos por dos diferentes métodos de deshidratación como son secado por liofilización y por atomización. Además, se ha estudiado el efecto la incorporación de biopolímeros en la calidad de los productos en polvo obtenidos y también reconstituidos. Según los resultados alcanzados, la liofilización se presenta como mejor proceso que la atomización para la obtención de un producto de pomelo, tanto en polvo como rehidratado. En cuanto a los biopolímeros, cuya incorporación es necesaria para facilitar el proceso y estabilizar al producto, parece que la combinación de los compuestos ensayados favorece algunas de las propiedades del polvo, tales como la solubilidad, higroscopicidad, el tiempo de mojado y la dispersabilidad.

Para la obtención del snack, se ha trabajado con la liofilización por tratarse de un proceso que proporciona productos de alta calidad y valor añadido. En este sentido, aunque es un proceso lento y energéticamente costoso, parece apropiado optimizarlo para obtener productos de fruta. Así, la segunda parte de la Tesis recoge los resultados del estudio realizado para evaluar el efecto de la velocidad de congelación, así como de la temperatura (ambiente, 25 y 40°C) y presión (0.05, 0.5 y 1 mbar) durante el secado en la duración del proceso y en la calidad del producto. En este caso se ha trabajado con el puré de pomelo formulado con goma Arábica y fibra de bambú. Además, se ha analizado la evolución de la temperatura del producto durante su liofilización. Las conclusiones obtenidas permiten proponer a la liofilización como técnica para obtener snacks de fruta con un color, textura y contenido en vitamina C adecuados, trabajando a 0.05 mbar y 40 °C, para acortar el tiempo de secado. Por su parte, el registro en continuo de la temperatura del producto puede utilizarse como herramienta para establecer el punto final del proceso.

Resum

Són molts els estudis que vinculen l'alt contingut en compostos bioactius de les fruites amb un paper beneficiós per a la salut. D'altra banda, el consumidor, cada vegada més exigent, està conscienciat de l'interés de contribuir a la millora de la seua salut a través de l'alimentació. No obstant això, i a pesar dels intents de l'administració, no s'aconsegueix augmentar el consum de fruita entre la població. Açò, en part, és conseqüència de l'estil de vida actual que resulta, en certa manera, incompatible amb aliments que han d'adquirir-se quasi diàriament i que resulten incòmodes en el seu maneig per al seu consum. En este sentit, pot resultar interessant oferir productes de fruita d'alta qualitat en formats que siguen estables i de fàcil consum. Amb este objectiu, en esta Tesi es planteja l'obtenció d'un producte de pomelo en pols i en snack. En ambdós casos es partix del puré de pomelo formulat amb diferents biopolímers que actuen com carriers i conferixen estabilitat al producte final.

Així, la primera part de la Tesi se centra en la caracterització física i comparació de pols de pomelo obtingut per dos diferents mètodes de deshidratació com són assecat per liofilització i per atomització. A més, s'ha estudiat l'efecte la incorporació de biopolímers en la qualitat dels productes en pols obtinguts i també reconstituïts. Segons els resultats aconseguits, la liofilització es presenta com a millor procés que l'atomització per a l'obtenció d'un producte de pomelo, tant en pols com rehidratat. Quant als biopolímers, la incorporació dels quals és necessària per a facilitar el procés i estabilitzar al producte, pareix que la combinació dels compostos assajats afavorix algunes de les propietats de la pols, com ara la solubilitat, higroscopicidad, el temps de mullat i la dispersabilidad.

Per a l'obtenció del snack, s'ha treballat amb la liofilització per tractar-se d'un procés que proporciona productes d'alta qualitat i valor afegit. En este sentit, encara que és un procés lent i energèticament costós, pareix apropiat optimitzar-ho per a obtindre productes de fruita. Així, la segona part de la Tesi arreplega els resultats de l'estudi realitzat per a avaluar l'efecte de la velocitat de congelació, així com de la temperatura (ambient, 25 i 40°C) i pressió (0.05, 0.5 i 1 mbar) durant l'assecat, en la duració del procés i en la qualitat del producte. En este cas s'ha treballat amb el puré de pomelo formulat amb goma Aràbiga i fibra de bambú. A més, s'ha analitzat l'evolució de la temperatura del producte durant la seua liofilització. Les conclusions obtingudes permeten proposar a la liofilització com a tècnica per a obtindre snacks de fruita amb un color, textura i contingut en vitamina C adequats, treballant a 0.05 mbar i 40 °C, per a acurtar el temps d'assecat. Per la seua banda, el registre en continu de la temperatura del producte pot utilitzar-se com a ferramenta per a establir el punt final del procés.

Abstract

There are many studies that link the high content of bioactive compounds in fruits with a beneficial role for health. On the other hand, the consumer, increasingly demanding, is aware of the interest of contributing to the improvement of their health through food. However, and despite the attempts of the administration, it is not possible to increase the consumption of fruit among the population. This, in part, is a consequence of the current lifestyle that is, to a certain extent, incompatible with foods that must be purchased almost daily and that are uncomfortable in their handling for consumption. In this sense, it can be interesting to offer high quality fruit products in formats that are stable and easy to consume. With this objective in mind, this Thesis proposes obtaining a grapefruit product both powdered and snack. In both cases, grapefruit puree was formulated with different biopolymers that act as carriers and confer stability to the final product. Thus, the first part of the Thesis focuses on the physical characterization and comparison of grapefruit powders obtained by two different methods of dehydration, such as freeze and spray drying. In addition, the effect of incorporating biopolymers on the quality of the obtained powdered products and also after rehydration has been studied. According to the results achieved, freeze-drying is presented as a better process than spray-drying to obtain a grapefruit product, both powdered and rehydrated. As for the biopolymers, whose incorporation is necessary to facilitate the process and stabilize the product, it seems that the combination of the compounds tested favors some of the properties of the powder, such as solubility, hygroscopicity, wetting time and dispersibility.

To obtain the snack, freeze-drying was selected because it is a process that provides products of high quality and added value. In this sense, although it is a slow and energetically expensive process, it seems appropriate to optimize it to obtain fruit products. Thus, the second part of the Thesis collects the results of the study conducted to evaluate the effect of the freezing rate, as well as the temperature (ambient, 25 and 40°C) and pressure (0.05, 0.5 and 1 mbar) during drying, in the duration of the process and the quality of the product. In this case we have worked with the grapefruit puree formulated with gum Arabic and bamboo fiber. In addition, the evolution of the temperature of the product during its freeze-drying has been analyzed. The conclusions obtained allow us to propose freeze-drying as a technique to obtain fruit snacks with a suitable color, texture and vitamin C content, working at 0.05 mbar and 40 °C, to shorten the drying time. On the other hand, the continuous recording of the temperature of the product can be used as a tool to establish the end point of the process.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	
II. OBTENCIÓN DE POMELO EN POLVO POR ATOMIZACIÓN Y POR LIOFILIZACIÓN	
II.1. JUSTIFICACIÓN	14
II.2. METODOLOGÍA.....	16
II.2.1. Materias primas	16
II.2.2. Preparación de la muestra y condiciones del proceso liofilización	17
II.2.3. Preparación de la muestra y condiciones del proceso de atomización	19
II.2.4. Rehidratación del producto en polvo obtenido por liofilización y atomización	21
II.2.5. Determinaciones analíticas	21
II.2.5.1. Humedad y sólidos solubles.....	21
II.2.5.2. Dispersabilidad.....	22
II.2.5.3. Solubilidad	22
II.2.5.4. Mojabilidad	23
II.2.5.5. Higroscopicidad	24
II.2.5.6. Grado de apelmazamiento.....	24
II.2.5.7. Porosidad.....	25
II.2.5.8. Color.....	26
II.2.5.9. Isotermas de sorción de agua	26
II.2.5.10. Comportamiento reológico	27
II.2.6. Análisis estadístico.....	28
II.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
II.3.1. Caracterización de las muestras licuadas, trituradas y sus formulaciones	29
II.3.1.1. Humedad y sólidos solubles.....	29
II.3.1.2. Color.....	30
II.3.1.3. Comportamiento reológico.	31
II.3.2. Caracterización del pomelo en polvo	33
II.3.2.1. Pomelo en polvo obtenido por liofilización	33
II.3.2.3. Pomelo en polvo obtenido por atomización.....	37
II.3.3. Comparación entre los productos en polvo obtenidos por liofilización y atomización.	39
II.3.4. Comportamiento de las muestras frente a la sorción de agua. Isotermas de sorción.	45
II.3.5. Rehidratación del polvo de pomelo liofilizado y atomizado.....	46
II. 4. CONCLUSIONES.....	51

III. OBTENCIÓN DE UN SNACK DE POMELO POR LIOFILIZACIÓN

III.1. JUSTIFICACIÓN	53
III.2. METODOLOGÍA	55
III.2.1. Materias primas y preparación de la muestra.....	55
III.2.2. Condiciones del proceso	56
III.2.2.1. Congelación	56
III.2.2.2. Secado	57
III.2.3. Propiedades analizadas.....	58
III.2.3.1. Humedad.....	58
III.2.3.2. Porosidad superficial. Número de poros y distribución de su tamaño	59
III.2.3.3. Color	60
III.2.3.4. Espesor.....	61
III.2.3.5. Porosidad volumétrica	61
III.2.3.6. Propiedades mecánicas	61
III.2.3.7. Contenido en vitamina C	62
III.2.4. Análisis estadístico.....	62
III.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	63
III.3.1. Efecto de las condiciones de liofilización en la evolución de la humedad, espesor, porosidad superficial y color del producto.....	63
III.3.1.1. Evolución de la humedad.....	63
III.3.1.2. Evolución del espesor	66
III.3.1.3. Evolución del número y tamaño de poros superficial	68
III.3.1.4. Evolución del color	78
III.3.2. Impacto de la incorporación de la goma arábica, fibra de bambú y temperatura de secado en la calidad del producto obtenido.....	81
IMPACT OF BIOPOLYMERS ADDED TO A GRAPEFRUIT PUREE AND FREEZE-DRYING SHELF TEMPERATURE ON PROCESS TIME REDUCTION AND PRODUCT QUALITY	82
III.3.3. Estudio de la evolución de la temperatura del producto durante la liofilización	105
III.3.3.1. Evolución de la temperatura del producto durante la congelación.....	105
III.3.3.2. Evolución de la temperatura del producto durante el secado	109
III.4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	118

IV. CONCLUSIONES GENERALES

V. BIBLIOGRAFÍA.....

I. INTRODUCCIÓN

Las frutas y verduras son componentes esenciales de una dieta saludable y un consumo diario suficiente podría contribuir a la prevención de enfermedades importantes, como las cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (OMS, 2013). Una de las familias de frutas más destacadas son los cítricos. En España, su consumo es muy habitual, tanto por su gran disponibilidad estacionaria, como por su alto valor nutricional. A nivel mundial, los cítricos se encuentran entre las especies más cultivadas, no sólo por su alto contenido en nutrientes (carbohidratos, fibras, minerales y vitaminas), sino también por su alto contenido de múltiples metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides, limonoides, carotenoides, ácidos fenólicos y aceites esenciales, que poseen una gran variedad de efectos fisiológicos antioxidantes, antiinflamatorios, antitumorales, etc. (Simpson et al., 2012). Existe mucha bibliografía en la que se pone de manifiesto que muchos de estos compuestos están asociados con la reducción de enfermedades cardiovasculares, cáncer de colón, de pecho, pulmón, párkinson y esclerosis (Chung et al., 2017; Eggersdorfer and Wyss, 2018; Hirahatake et al., 2019). En concreto, el pomelo (*Citrus paradisi*), según la (FAO, 2017), es el cuarto cítrico más producido a nivel mundial, por detrás de las naranjas, las mandarinas y los limones. Es un fruto que pertenece a la familia de las rutáceas y procede de una hibridación natural entre un naranjo dulce y un pummelo (*Citrus grandis*). Existen principalmente dos variedades: las blancas y las pigmentadas. Estas últimas son las más populares entre los consumidores, ya que poseen un color más intenso que otorga al producto un aspecto más vistoso que influye fuertemente en la decisión final del cliente de aceptarlo o rechazarlo. En España la variedad favorita es la Star Ruby (Fig. I.1), la cual se caracteriza por tener una pulpa y una corteza con un color más vivo, debido a la acumulación de pigmentos de carotenoides y licopeno (Matheyambath et al., 2015), una piel fácil de extraer, menor cantidad de semillas, alto contenido en zumo y un sabor menos amargo con respecto a otras variedades (Kimball, 1999).



Figura I.1. Pomelo (*C. paradisi*) de la variedad Start Ruby

El pomelo destaca por ser rico en vitamina A, B y C, polifenoles y ácido cítrico. Estos tres últimos son conocidos antioxidantes, muy beneficiosos para la salud, ya que actúan como secuestrantes de radicales libres en caso de estrés oxidativo. Este estrés oxidativo puede afectar negativamente al metabolismo celular, impidiendo que el organismo realice sus funciones fisiológicas con total normalidad (Coronado et al., 2015; Soledad, 2007). Por todo esto, el pomelo se convierte en un alimento muy interesante desde el punto de vista nutricional. Sin embargo, a pesar de sus múltiples propiedades funcionales, su consumo no es muy frecuente en España, debido a su característico sabor amargo. No obstante, también hay que tener en cuenta que el zumo de pomelo inhibe a la isoenzima CYP3A4 del citocromo P450 que más a menudo se ve implicada en el metabolismo de algunos medicamentos como las estatinas. Esto hace que aumenten las concentraciones plasmáticas de los medicamentos, creando un riesgo de sobredosis y de efectos adversos dependientes de la dosis (Bailey et al., 2013).

Por otra parte, el principal inconveniente para el consumo en fresco de cualquier fruta es su corta vida útil, sobre todo por su alto contenido en agua. Es por ello que se lleva a cabo el procesado de estos alimentos para la obtención de productos deshidratados menos perecederos. Así, puede resultar oportuno aprovechar los procesos aplicados para buscar nuevos formatos de producto que permitan potenciar el consumo de frutas, manteniendo su valor nutritivo y funcional. En la actualidad, para la obtención de alimentos deshidratados de alta calidad, se han descrito técnicas como el secado por atomización y la liofilización.

En este sentido, los productos de fruta en polvo constituyen una buena alternativa como productos alimenticios saludables o ingredientes para alimentos formulados, dado que ofrecen beneficios como la reducción del volumen o peso, el fácil manejo y transporte y la mayor vida útil durante el almacenamiento (Bhandari, 2013; Telis and Martínez-Navarrete, 2010). El producto en polvo podría consumirse como tal o previa rehidratación a modo de zumo. Así, su comportamiento al flujo, tanto en aire como en agua, su compresibilidad, su comportamiento frente a la rehidratación o su color, entre otras, serían propiedades a tener en cuenta.

Por otra parte, también se ha visto que una alternativa con mucha aceptación en la actualidad son los *snacks* saludables y por ello podrían ser también una opción con mucho

potencial. El término snack engloba a cualquier alimento que se pueda consumir fuera del horario de la comida principal, por lo general en la calle y en un periodo corto de tiempo (Hess and Slavin, 2018; Pedreschi et al., 2018). En el mercado coexisten principalmente dos tipos de snacks: salados y dulces. Dentro del primer grupo se encuentran mayoritariamente productos fritos elaborados a base de maíz y trigo o patatas, caracterizados por su alto contenido en grasas y sal. Por otro lado, los snacks dulces más conocidos son las golosinas, las chocolatinas, los lácteos o aquellos elaborados a partir de frutas y hortalizas (Netshishivhe et al., 2019; Potter et al., 2013). La demanda de este tipo de productos cada vez es mayor, debido al cambio en el estilo de vida que ha experimentado la población. En el mercado español, los snacks más consumidos son el chocolate, seguido de los frutos secos, las galletas y las patatas fritas. En este sentido, sería interesante dar un giro al concepto de snack, pasando de una percepción de alimento poco saludable a una oportunidad para llevar una dieta sana y equilibrada. Por este motivo, la industria alimentaria está buscando nuevos formatos para obtener snacks nutritivos y saludables y una opción que podría alcanzar mucha popularidad son los snacks de frutas deshidratadas. En éstos, la textura y el color se convierten en factores clave para la aceptación del producto por parte del consumidor. Para ser aceptados deben tener una textura crujiente, una estructura porosa y un color similar al producto fresco.

Sin embargo, estos productos, tanto los polvos como los snacks de frutas, pueden presentar problemas en algunas de sus propiedades, tales como una alta higroscopicidad, que dará lugar a fenómenos de pegajosidad y apelmazamiento, que finalmente pueden llegar al colapso, caracterizado por una pérdida de estructura y, en particular, una disminución drástica de la porosidad, que afecta a la retención de aromas y la capacidad de rehidratación, entre otros (Levi and Karel, 1995). El desarrollo de estos fenómenos en productos de fruta deshidratada se asocia a su composición, ya que la mayoría de sus solutos solubles son azúcares de bajo peso molecular, tales como la sacarosa, la glucosa y la fructosa, y ácidos orgánicos, como el cítrico, el málico y el ácido tartárico (Adhikari et al., 2009), los cuales presentan una baja temperatura de transición vítrea (T_g). Por debajo de la T_g , el estado vítreo asegura la estabilidad del alimento. No obstante, pequeños aumentos en la humedad o temperatura del mismo pueden suponer que se sobrepase la T_g y ocurra el cambio al estado gomoso. Esto supone una marcada disminución de su viscosidad y, consecuentemente, cambios muy importantes en las

propiedades mecánicas y difusionales. En este sentido, en el estado gomoso el producto comienza a ser inestable de forma que se inician fenómenos como el pardeamiento enzimático y no enzimático, pérdida de sustancias volátiles aromáticas y el colapso de la estructura, relacionado con el desarrollo de fenómenos de pegajosidad y pérdida de la estructura porosa (Roos, 1995). Además, Barbosa and Vega, (2000) aseguran que el colapso del material se traduce en una disminución de la velocidad de sublimación de hielo residual en el frente de sublimación del producto durante su liofilización.

Para evitar el colapso durante el secado de productos de fruta, se ha propuesto el uso de diferentes biopolímeros u otros agentes, unos de alto peso molecular, capaces de aumentar la temperatura de transición vítrea, y otros con un papel estérico retrasando la humectación, como las proteínas o compuestos inorgánicos (Barbosa-Canovas et al., 2005; Gabas et al., 2007; Sablani et al., 2008; Silva et al., 2006; Telis and Martínez-Navarrete, 2009). Algunos ejemplos de estos biopolímeros son la goma Arábiga, las maltodextrinas, los almidones, la gelatina, la metilcelulosa, los alginatos, las pectinas, el dióxido de silicio, el fosfato tricálcico y las mezclas de algunos de ellos (Igual et al., 2014b). Las proteínas también pueden minimizar el problema de la pegajosidad mediante la modificación de las propiedades superficiales de las gotas/partículas atomizadas (Bhusari et al., 2014). Las propiedades funcionales de los biopolímeros abarcan cualquier propiedad fisicoquímica que ejerza un efecto en las características de los alimentos a los que se han aplicado durante su producción, procesado, almacenamiento y/o consumo, contribuyendo así en su calidad final (Dehnad et al., 2016). Dichas propiedades incluyen la capacidad de retención de agua y aceite de los alimentos, las propiedades emulsionantes y espumantes, la solubilidad, la viscosidad, la porosidad, el hinchamiento y la elasticidad, entre otros (Fazaeli et al., 2012; Kinsella, 1979; Lin et al., 2018). En este estudio se han utilizado, como biopolímeros protectores, la goma Arábiga (GA), la fibra de bambú (FB), el almidón modificado anhídrido n-octenil succínico (OSA) y el aislado de proteína de suero de leche (WPI).

La goma Arábiga o *Acacia gum* es un polisacárido natural conocido en la industria alimentaria como E-414. Se extrae de la resina producida por los árboles subsaharianos *Acacia senegal* y *Acacia seyal* como consecuencia de la gomosis, una enfermedad que afecta a las plantas de tallo leñoso provocando la secreción de sustancias gomosas de tonalidad ámbar como mecanismo de defensa frente a las lesiones en el tronco producidas

por la asfixia radicular, el ataque de hongos o insectos masivos, entre otros (Mosquera et al., 2010; Franquesa, 2018) Esta resina destaca por su elevada solubilidad (aproximadamente 500 g/L) y baja viscosidad en agua, así como por su gran capacidad como emulsificante y texturizante (Badui, 2013; Mosquera et al., 2010). Su uso favorece el aumento de la Tg de los productos, reduciendo su higroscopicidad y pegajosidad y dando lugar a productos más fáciles de manejar durante su elaboración y transporte (C. Agudelo et al., 2017; Gabas et al., 2007). Además, afecta de manera poco notable al color con respecto a otros solutos. Si se agrupan todas las propiedades mencionadas, la goma Arábica se califica dentro del sector alimentario como un importante estabilizante de productos deshidratados. También se le reconocen otros atributos como la retención de sustancias volátiles, de suma importancia en alimentos procesados, y como antioxidante (Fazaeli et al., 2012; Gabas et al., 2007; Mosquera et al., 2010).

Con respecto a la fibra de bambú, es un polisacárido no amiláceo que se obtiene a partir de la fracción comestible del bambú. Esta fibra insoluble está compuesta principalmente por celulosa y se caracteriza por poseer una gran capacidad de retención de agua, independiente del pH y de la temperatura, garantizando así la distribución homogénea de la humedad en el producto final y evitando la sinéresis. Además, actúa como crioprotector y estabilizante en la congelación y descongelación de los alimentos, de esta forma se previene la formación de cristales de hielo, que puedan dañar su estructura. Otro atributo de interés es que aporta beneficios nutricionales relacionados con la salud (Chongtham et al., 2011; Lo et al., 2008; Xuhe, 2003). Por ejemplo, su alto contenido en silicio ayuda a reducir los problemas osteoarticulares o su bajo contenido calórico y su efecto laxante la hacen muy recomendable en dietas adelgazantes (Felisberto et al., 2017). Cabe mencionar, que la fibra de bambú no es tan conocida en alimentación como la goma Arábica. Sin embargo, cada vez se está expandiendo más su uso, sobre todo en repostería y productos cárnicos gracias a su poder como texturizante y antiaglomerante (Agudelo et al., 2017; Igual et al., 2014).

El almidón OSA, por otra parte, se ha utilizado ya como sustituto de algunos componentes alimenticios como las grasas y las proteínas y se caracteriza por ser un polímero anfifílico, obtenido mediante modificaciones químicas para mejorar las propiedades químicas, fisicoquímicas y funcionales del almidón nativo. La molécula de almidón, que tiene alta afinidad por el agua, baja solubilidad y baja viscosidad, gana

elementos hidrófobos (grupos octenilos) estabilizándose y facilitando su manipulación. Los almidones modificados, con propiedades mejoradas, alta solubilidad y relativamente baja viscosidad (Dokić et al., 2012), son cada vez más importantes, no sólo por sus numerosas aplicaciones industriales, particularmente en emulsificación, encapsulación, formación de películas y recubrimientos, elaboración de geles, etc., si no por su bajo coste sino (Altuna et al., 2018; Lin et al., 2018).

Cuando los gránulos de almidón OSA se disuelven en agua, migran a la interfase aire/agua formando una capa en la que los grupos hidrófobos se orientan hacia el aire mientras que el resto del almidón se dispersa en el agua, reduciendo así la tensión superficial y por tanto mejorando la humectabilidad. El resultado de las buenas propiedades del OSA es la amplia utilización en la elaboración de microcápsulas sólidas, como aceites esenciales, aceites de pescado, aceites de frutas y aceite de la dieta, que contienen compuestos hidrofóbicos. Hay estudios en que se compara el efecto encapsulante del OSA con las β -ciclodextrinas, maltodextrina y proteína de la leche, mostrando mejor rendimiento en la retención de compuestos (Li, 2014; Sweedman et al., 2013). También se ha observado que es un excelente protector de la vitamina C y otros compuestos bioactivos como el ácido linoleico, la vitamina A y algunos carotenoides (Gonçalves et al., 2016; He et al., 2016; Janiszewska-Turak et al., 2017; Li et al., 2018) y que no altera el sabor ni el aroma de la fruta, en estudios realizados con maracuyá, además de que es fácil de diluir en agua fría (Borrmann et al., 2013; Paim et al., 2016; Ramakrishnan et al., 2018). El almidón OSA es un aditivo (E-1450) permitido por la legislación incluso en alimentos para lactantes (Reglamento (CE) nº 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, sobre aditivos alimentarios). Tiene propiedades digestivas diferentes a las del sustrato nativo, sobre todo porque se digiere lentamente o es completamente resistente a la digestión.

Por su parte, el carácter anfifílico de las proteínas parece ofrecer mejores propiedades a la película formada alrededor de las partículas de polvo obtenido por deshidratación, evitando la pegajosidad de las mismas (Adhikari et al., 2009, 2007; Bhusari et al., 2014; Fang and Bhandari, 2012; Gharsallaoui et al., 2007). De hecho, diferentes autores han descrito que el uso de pequeñas cantidades de proteínas en la atomización de alimentos puede ser tan eficiente como el de una gran cantidad de carbohidratos en el rendimiento (Adhikari et al., 2007; Fang and Bhandari, 2012; Jiang

et al., 2013). El aislado de proteína de suero de leche ha sido muy utilizado con este fin (Çakır-Fuller, 2015; Madene et al., 2006; Murúa-Pagola et al., 2009; Osorio et al., 2014).

El secado por atomización, o secado en spray, es una operación de transferencia simultánea de calor y masa, e involucra la transformación de un alimento desde un estado líquido a un estado seco en forma de partícula (Keshani et al., 2015). En la Fig. I.2 se muestra el proceso general de atomización en el cual el líquido de alimentación, que puede ser una disolución, una emulsión o una suspensión, es atomizado en pequeñas gotas, las cuales entran en contacto con la corriente de gas, que generalmente es aire caliente, aunque también se puede usar gas inerte o nitrógeno (Goula and Adamopoulos, 2008). Es entonces cuando se establecen balances de temperatura y presión parcial de vapor entre la fase líquida y gaseosa.

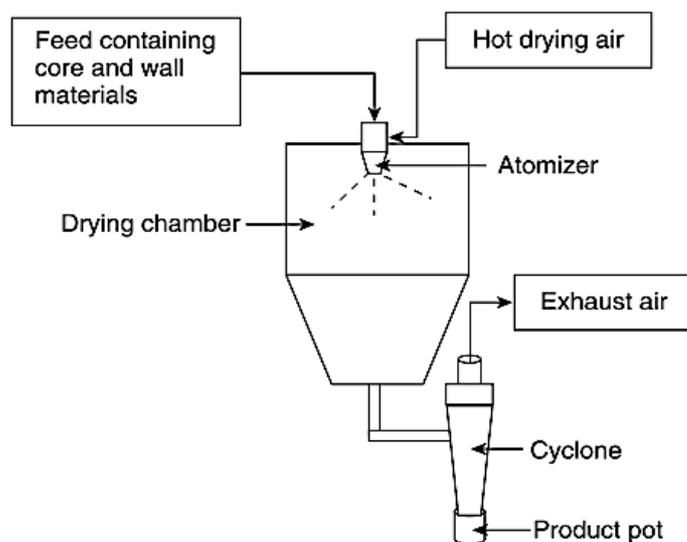


Figura I.2. Esquema del proceso de atomización (Chen and Mujumdar, 2008)

La transferencia de calor se produce desde el aire hacia el producto, mientras que la transferencia de agua es en dirección opuesta debido a la diferencia de presión de vapor. La temperatura de entrada del aire es alta, hasta 300 °C, y la evaporación ocurre instantáneamente por lo que los polvos secos son expuestos a temperaturas moderadas de (50 – 80 °C), lo que limita la degradación térmica. Las altas temperaturas utilizadas con esta técnica podrían ejercer un efecto negativo en diversos compuestos termolábiles y volátiles, de alto valor funcional y sensorial. Sin embargo, los tiempos de proceso son muy cortos, lo que contribuye a que estas pérdidas sean mínimas (Chen and Mujumdar,

2008). La atomización da lugar a polvos muy finos (10-50 μm) o partículas de gran tamaño (1-3 mm), dependiendo del material de entrada y de las condiciones de operación (Gharsallaoui et al., 2007; Woo and Bhandari, 2013).

La liofilización también es una técnica de secado utilizada en la industria de los alimentos, con el fin de estabilizar y conservar los productos, reduciendo la pérdida de compuestos lábiles de interés y por tanto aumentando su calidad (Cortés et al., 2015). El proceso consiste en una congelación previa del producto y, posteriormente, una deshidratación a baja presión que transcurre en dos etapas: secado primario o etapa de sublimación del agua congelada y secado secundario o de evaporación del agua no congelada (Tang and Pikal, 2004). Ambas etapas de secado se realizan, convencionalmente, a baja presión, lo que permite en ambos casos un cambio de estado del agua a bajas temperaturas (Barbosa and Vega, 2000).

La conservación de productos procesados a baja presión y temperatura se remonta a muchos años atrás. Ya 200 años a.C. los incas utilizaban este método para la fabricación del chuño (patata liofilizada) y charqui (carne de llama). Posteriormente los vikingos lo aplicaron para la conservación del arenque. En el siglo XIX, Pasteur y otros científicos comienzan a estudiar el proceso y a ponerlo en práctica, ante la necesidad de conservar tejidos animales y vegetales sin destruirlos. Finalmente, en 1943, el profesor Alexandre Fleming da nombre a este proceso de conservación con el nombre de Liofilización (Ramírez, 2006). La metodología utilizada en el proceso ha evolucionado a lo largo de su historia, teniendo sus raíces en la crio-desección. El término crio significa “frio” en griego y hace referencia a una fase previa de congelado, mientras que el término desecación hace referencia a una deshidratación del producto que corresponde con la fase posterior. Pues bien, las primeras técnicas utilizadas y estudios realizados se basaron en esta crio-desección. Fue a partir del siglo XIX cuando se empezó a buscar la mejora de las técnicas de secado, con el fin de preservar la calidad, así como de ralentizar las reacciones químicas que puedan ocurrir durante el proceso, buscando poder tratar al producto bajo condiciones controladas. Bacterias, virus y otros microorganismos fueron utilizados en estas primeras aplicaciones (Flosdorf et al., 1939).

La liofilización antes de 1905 no incluía el uso de vacío, ya que no se disponía de bombas de vacío mecánicas. Fue en 1905 cuando Benedict y Maning introdujeron el vacío en el proceso, para mejorar la técnica basada en la congelación previa y posteriormente

una deshidratación por sublimación y evaporación. En la segunda guerra mundial y durante la posguerra, la liofilización se desarrolló comercialmente ante la necesidad de conservar el plasma sanguíneo, trabajo realizado por Greaves, Henalf y Flosdorf, y de preparar antibióticos a base de penicilina. Los diversos estudios que se llevaron a cabo sobre el proceso revolucionaron el uso de esta técnica, facilitando su aplicación a productos alimenticios a partir de 1958 (Ramírez, 2006).

Los productos liofilizados presentan una humedad residual muy baja y, por tanto, el riesgo de deterioro químico, bioquímico o microbiológico es mínimo. Además, el hecho de que el proceso pueda realizarse a bajas temperaturas hace que los compuestos termolábiles se conserven en gran medida. Por su parte, el vacío hace que el peligro de oxidación del producto durante el proceso sea nulo. Además, la sublimación del hielo da lugar a la obtención de un producto poroso que permite una rehidratación o reconstitución rápida y eficaz (Ratti, 2013). Esto, junto con la innovadora presentación comercial que, de cara al consumidor, confiere el proceso de liofilización al producto, son unos de los motivos más destacables e interesantes para su aplicación a escala industrial (Casanova, 2016). Por otro lado, como todos los productos deshidratados, los liofilizados ocupan menos volumen y son de fácil manejo, características importantes para su transporte, almacenamiento y comodidad de consumo.

Actualmente, la liofilización es una técnica utilizada en distintos ámbitos, pero especialmente destaca su uso en la industria farmacéutica, aplicada a la conservación de compuestos termolábiles de la sangre, cepas de microorganismos, etc. (Rey and May, 2004; Tang and Pikal, 2004). También se utiliza en la elaboración de productos para la industria química, en el secado de materiales orgánicos como madera y flores, conservación de libros y documentos de interés. En la industria alimentaria, la liofilización se aplica a productos de alto valor añadido, como pueden ser alimentos destinados de manera exclusiva a colectivos concretos como, por ejemplo, astronautas, montañistas, militares o bebés o, también, a alimentos en los cuales es económicamente interesante conservar lo máximo posible su calidad organoléptica, como lo son el té, el café aromático, ingredientes de sopas deshidratadas, algunas frutas como frambuesas, fresas, etc. (Marques and Freire, 2005; Ramírez, 2006). De hecho, desde hace ya algunos años se apuntaba hacia el aumento en la oferta de alimentos liofilizados al consumidor

común, interesado en disponer de alimentos novedosos y con mejores características organolépticas (Ramírez, 2006).

En contraposición a las ventajas comentadas, se encuentra el coste de producción de los productos liofilizados, destacando como causa principal de este inconveniente la necesidad de aplicación de vacío y el largo tiempo necesario para llevar a cabo la operación, además del coste de inversión en equipamiento (Chen and Mujumdar, 2008). Si bien es cierto que la liofilización es un proceso largo y energéticamente costoso, su alto rendimiento en materia seca y la elevada calidad de los productos obtenidos lo ha convertido en el proceso de elección en productos como los comentados anteriormente. En este sentido, cualquier avance de la técnica que permita disminuir el tiempo de proceso y, por tanto, el coste del producto, contribuirá a potenciar su uso.

Como se ha comentado anteriormente, la liofilización comienza con una etapa de congelación. Según las leyes de la termodinámica, la formación de hielo durante la congelación de un alimento se inicia a una temperatura (T_m) que depende de su composición y supone la crioconcentración de su fracción líquida. Cuanto más hielo se forma, mayor es la concentración de la fase líquida y más disminuye T_m . La formación de hielo en los alimentos alcanza un valor máximo correspondiente al límite cinético para la cristalización del agua. La temperatura a la que se forma el último cristal de hielo se conoce como T_m' y la cantidad de agua presente en la matriz máximamente crioconcentrada es el agua no congelable (Wg') que, en los alimentos, se sitúa en torno a 20 g de agua/100 g disolución crioconcentrada (Roos, 1995). Si durante la congelación no se llega al punto de máxima crioconcentración ($T_m' - Wg'$), en el alimento quedará agua congelable sin congelar. En situaciones reales, alcanzar estos valores va a depender no sólo de la temperatura a que se llegue durante el enfriamiento sino también de la composición del producto y de la velocidad de congelación. El agua no congelada, junto con los solutos, forman una matriz amorfa, que estará en estado vítreo o gomoso dependiendo de su T_g (Fabra et al., 2009; Roos, 1995). La eliminación de agua del producto congelado tendrá que ser, por tanto, por sublimación del hielo formado y por evaporación del agua líquida no congelada.

Oetjen and Haseley (2018), indican que cada producto debe congelarse de una manera tal que se garantice que sufrirá pocas alteraciones en el proceso posterior de sublimación. Se debe conocer con precisión la temperatura a la que ocurre la máxima

formación de hielo, la velocidad óptima de enfriamiento y la temperatura mínima de fusión incipiente. Se busca que el producto ya congelado tenga una estructura sólida sin intersticios en los que haya líquido concentrado para propiciar que el máximo secado ocurra por sublimación. Un factor importante a considerar durante la congelación es el grado de cristalización del agua. Conforme los cristales de hielo van sublimando se van formando capilares en forma de largos poros en la masa congelada. A través de estos poros, el agua cristalizada de las capas más profundas va escapando hacia afuera por sublimación. La congelación lenta produce cristales grandes que favorecen la liofilización pero que alteran la estructura de los productos y la congelación rápida produce cristales pequeños que no llegan a producir daños mecánicos a las células. La selección de la velocidad de congelación óptima se hace complicada y dependerá de la composición del producto y del uso final de éste (Kasper et al., 2013; Mujumdar, 2015; Nireesha et al., 2013).

Dado que el principio en el que se basa la liofilización es la sublimación del hielo del alimento previamente congelado, esto sólo va a poder conseguirse de forma eficaz si la temperatura y la presión parcial de vapor del agua (hielo) son inferiores a las del punto triple (Fig. I.3), que en el caso del agua pura son $p = 6,104 \text{ mbar}$ y $T = 0.0099 \text{ }^\circ\text{C}$ (Roos, 1995). Así, una vez el producto se encuentre en condiciones inferiores a las del punto triple, ocurrirá la sublimación de todo el hielo, para lo cual absorberá el calor latente de sublimación, que es del orden de 680 kcal/kg de hielo (Heldman and Hartel, 1997). El aporte de este calor deberá controlarse de forma muy precisa, para evitar la fusión, aunque sea parcial, del alimento congelado (Hua et al., 2010). Por otra parte, el vapor de agua que se genera durante el proceso debe ser eliminado para así mantener la baja presión necesaria. De ello se encarga el condensador del liofilizador, que trabaja a baja presión y temperatura convirtiendo el vapor en hielo.

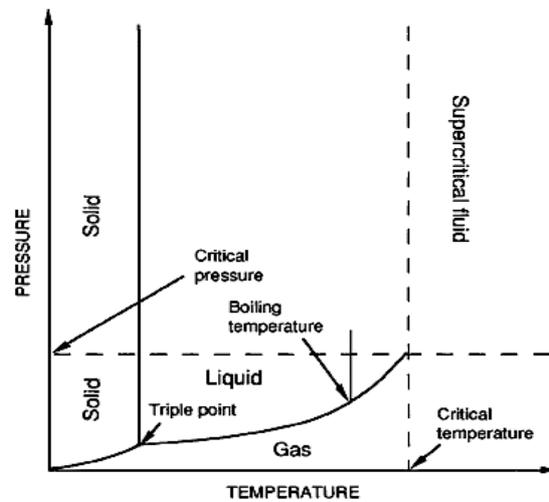


Figura I.3. Diagrama de fases del agua (Roos, 1995).

Según lo mencionado, el proceso de secado por liofilización implica transferencia de calor y de masa, en concreto de vapor de agua (Berk, 2013; Khalloufi and Ratti, 2003; Mujumdar, 2015). El vapor de agua se transfiere siempre desde el frente de sublimación, que separa la superficie de la capa seca del alimento de la congelada, hacia el condensador. Por su parte, la transferencia de calor hasta el frente de sublimación, se realiza bien por conducción a través de la parte todavía congelada o bien por radiación y/o conducción a través de la capa seca. En la Fig. I.4 se esquematiza lo comentado. Por otra parte, en la Fig. I.5 se muestra, de forma teórica, la evolución de la temperatura del producto durante las diferentes etapas del proceso.

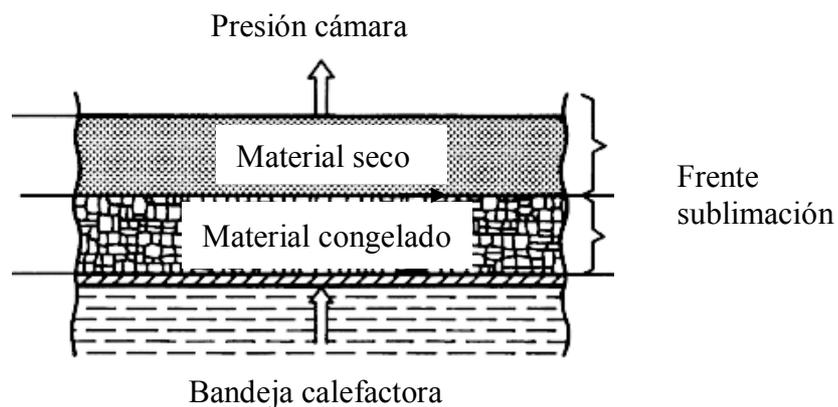


Figura I.4. Esquema de las capas formadas durante la liofilización. Oetjen and Haseley, (2018) con modificaciones.

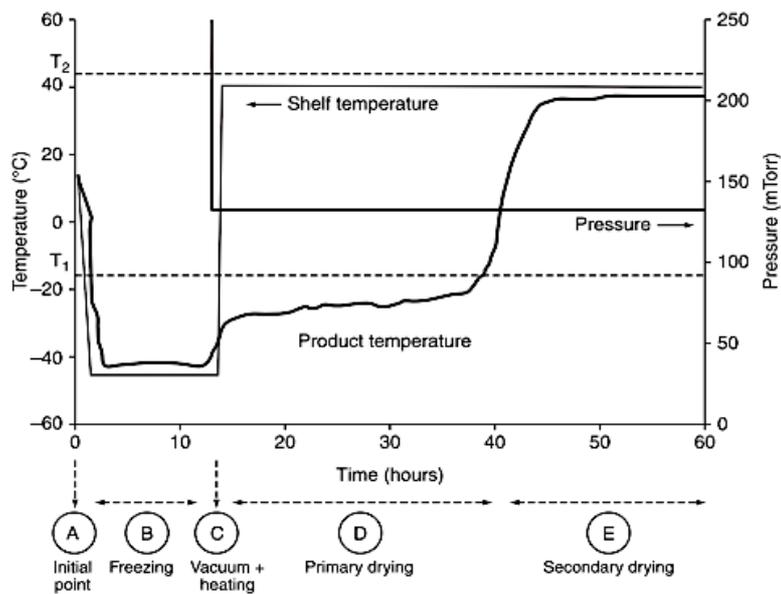


Figura I.5. Evolución de la temperatura del producto y etapas de secado por liofilización (Ratti, 2013)

La velocidad de sublimación puede estar limitada por la transferencia de vapor o de calor, así como por el espesor del producto. Si suponemos una situación en la que el producto se encuentra a presión atmosférica, en un ambiente muy seco y en el que la transferencia de calor sea relativamente fácil, la transferencia de vapor de agua a través de la capa seca será el factor que limite la velocidad global de deshidratación. En otro supuesto, como lo es la liofilización bajo vacío, el factor limitante en la velocidad global de deshidratación será la transferencia de calor a través de la capa seca y porosa. La transferencia de vapor se ve limitada cuando aumenta la presión en la cámara del liofilizador y ello repercute en una menor velocidad de secado. Por ello se trabaja bajo vacío.

Por otra parte, teniendo en cuenta que no toda el agua presente en un alimento es congelable, el secado primario solo disminuye el contenido de humedad del alimento hasta un cierto punto, que depende de su composición y de la congelación previa. La humedad residual será eliminada en la siguiente etapa, que corresponde con el secado secundario, por evaporación. Para ello se debe mantener el vacío realizado al comienzo del proceso y controlar la temperatura de la muestra durante todo el proceso, ya que ésta no debe sobrepasar su temperatura de colapso (Mujumdar, 2015). El colapso, como se ha

comentado, se asocia al cambio de la matriz amorfa del producto de vítrea a gomosa a alcanzar su T_g , la cual va aumentando a medida que el producto se va secando (Chen and Mujumdar, 2008; Martínez-Navarrete et al., 2000). El tiempo destinado al secado secundario depende, sobre todo, de la estructura que desarrolle el producto, puesto que el vapor de agua formado se elimina al difundirse a través del producto. Es por ello que una estructura en la cual exista una red de poros extensa y unida por canales supondrá un transporte de agua hacia el exterior más rápido que cuando el producto carezca de esta red de poros y canales. Por otro lado, el final de esta etapa, y por tanto de la liofilización, no es siempre obvio, puesto que el control de la humedad durante el proceso es difícil de llevar a cabo, ya que el producto no suele presentar una humedad uniforme, siendo sus zonas superficiales menos húmedas que su zona interior.

Una metodología interesante pero poco investigada en los procesos de liofilización de alimentos es la aplicación de calor, no sólo para disminuir el tiempo de proceso, lo cual tiene gran importancia económica, sino también para obtener un producto con menor humedad. Este calor aportado se consigue fijando una temperatura a las bandejas del liofilizador. Sin embargo, se trata de un método muy delicado que debe evitar, a toda costa, la fusión del hielo y el colapso de la estructura del producto seco (Pikal et al., 1984). Como la T_g aumenta a medida que la muestra se seca, es recomendable que, si se aplica calor, se haga de forma gradual (Oetjen and Haseley, 2018). Hay que tener en cuenta que mientras dure la sublimación del agua congelada, todo el aporte de calor se empleará en el cambio de estado, que ocurrirá, por tanto, de forma más rápida, y el producto se mantendrá frío, permaneciendo su temperatura por debajo de la de las bandejas. Al finalizar el secado primario, la temperatura del producto subirá bruscamente hacia la temperatura de las bandejas. Esta temperatura deberá optimizarse con el doble objetivo de minimizar el tiempo de secado, pero satisfaciendo la restricción de la transición vítrea. Por otra parte, también es posible modificar la presión de trabajo durante el secado. Las condiciones adecuadas de presión-temperatura se establecen, con frecuencia, a modo de ensayo y error y, normalmente, no coinciden las óptimas para el secado primario y secundario (Lopez-Quiroga et al., 2012).

II. OBTENCIÓN DE POMELO EN POLVO POR ATOMIZACIÓN Y POR LIOFILIZACIÓN

II.1. JUSTIFICACIÓN

Tanto la liofilización como el secado por atomización son dos técnicas que permiten obtener productos en polvo de fácil manejo y de alta calidad sensorial, nutritiva y funcional. Disponer de fruta en polvo para su uso, bien deshidratada o bien previamente rehidratada, permitiría su incorporación para la formulación de zumos, infusiones, postres, productos lácteos, ensaladas, helados, entre otros, con las ventajas de estabilidad y de logística que supone el almacenamiento de la fruta en polvo. Sin embargo, como ya se ha comentado en la Introducción de esta Tesis, ambos procesos se hacen dificultosos cuando se trata de aplicarlos a alimentos con un alto contenido en azúcares y ácidos como es el caso de las frutas. El parámetro que define la pérdida de calidad de estos productos, una vez deshidratados, consecuencia de su humectación, es el cambio en sus propiedades mecánicas, relacionado con el inicio de los fenómenos de apelmazamiento. Estos cambios ocurren en las muestras asociados a la transición vítrea y se dan antes que los cambios de color, que pueden asociarse a su pardeamiento, y también antes que las principales reacciones químicas y microbiológicas responsables de su deterioro que requieren, no sólo el estado gomoso del material, sino también la presencia de una cierta cantidad de agua disponible. Por tanto, mantener a los productos en polvo en estado vítreo es fundamental para asegurar su calidad y estabilidad. Los bajos valores de humedad y actividad del agua críticas, para la transición vítrea de los productos de fruta en polvo, hace necesaria la ya comentada incorporación de biopolímeros de alto peso molecular que aumenten su T_g . Con este fin, en el grupo de investigación donde se ha desarrollado la presente Tesis, se ha trabajado con maltodextrinas, goma arábiga, CMC, fibra de bambú y fosfato tricálcico, entre otros, aplicados a la obtención de frutas en polvo. Los resultados obtenidos, en base al color de los productos finales, tanto atomizados como liofilizados, las propiedades mecánicas, la higroscopicidad, la solubilidad, el contenido en fenoles totales, flavonoides y vitamina C y la actividad antioxidante, han permitido recomendar a la goma arábiga (GA) y a la fibra de bambú (FB) (Agudelo et al., 2017). Sin embargo, estos productos, en especial GA, son caros y muy heterogéneos en cuanto a sus propiedades, por su procedencia. En este sentido, parece adecuado profundizar en esta línea para ensayar otros solutos susceptibles de dar buenos resultados. Tal y como se ha comentado en la Introducción de esta Tesis (apartado I), el almidón modificado con

anhídrido octenil succínico (OSA) y el aislado de proteína de suero de leche (WPI) parece que podrían tener gran potencial por sus características funcionales.

Teniendo en cuenta todo lo comentado anteriormente, en este apartado se ha estudiado el efecto del proceso y de los biopolímeros incorporados en la calidad del producto en polvo obtenido y también reconstituido, a partir del análisis del comportamiento al flujo, tanto en aire como el agua, y su comportamiento frente a la rehidratación. Así, se han ensayado los dos procesos de deshidratación, atomización y liofilización, con triturado o licuado de pomelo sin y con biopolímeros añadidos, para su comparación. Además de las formulaciones con GA y FB optimizadas por Agudelo et al. (2017), se han planteado otras formulaciones, utilizando las mismas proporciones y sustituyendo la GA por OSA y la FB por WPI. Los polvos obtenidos se han caracterizado en cuanto a su higroscopicidad, porosidad, solubilidad, mojabilidad, dispersabilidad y color. Además, se han caracterizado, en cuanto al color y al comportamiento reológico, los polvos una vez reconstituidos hasta la humedad inicial para así poder analizar su comportamiento frente a la rehidratación.

II.2. METODOLOGÍA

II.2.1. Materias primas

El cítrico pomelo (*Citrus paradisi*) de la variedad pigmentada Star Ruby, utilizado para el estudio, se adquirió en un mercado local (Valencia, España). Se trabajó con un lote de pomelo para todas las experiencias de liofilización y con otro para todas las de atomización. Los frutos se seleccionaron en función de su tamaño, firmeza y ausencia de daño físico. Además, para aumentar la estabilidad física de los productos deshidratados, se emplearon diferentes biopolímeros de alto peso molecular (Bp): goma Arábica (GA, Scharlab), un aislado de proteína hidrolizada de suero de leche (WPI, Lacprodan® DI-9212), almidón modificado anhídrido octenil succínico (OSA, Roquette® Cleargum CO 01) y fibra de bambú (FB, Vitacel® BAF 200). Estudios previos realizados en el equipo de investigación en el que se lleva a cabo esta tesis doctoral pusieron de manifiesto que la incorporación de 4.2 g GA y 0.58 g de FB por cada 100 g de puré, además de un ajuste del contenido en agua hasta 90 g de agua/100 g de mezcla, en el caso

de la liofilización, y de 4 g de GA y 2 g de FB por cada 100 g de licuado, en el caso de la atomización, es suficiente y adecuada para obtener fruta en polvo con buena calidad nutritiva y sensorial, establecida en base a su color, propiedades mecánicas, higroscopicidad, solubilidad, fenoles totales, flavonoides, vitamina C y actividad antioxidante (Agudelo et al., 2017). Ésta será pues la concentración propuesta a añadir de los biopolímeros. En este estudio, además de la GA y FB, se han probado OSA y WPI utilizando las mismas proporciones propuestas por Agudelo et al. (2017).

II.2.2. Preparación de la muestra y condiciones del proceso liofilización

La Fig. II.2.1, muestra un esquema de la preparación de las muestras. De forma manual, el pomelo se peló y se le eliminó el albedo y el eje central. Se trituró durante 40s a velocidad 4 y durante otros 40s más a velocidad 9 en un robot de cocina Thermomix Vorwerk TM-21 (España). Al triturado obtenido (Tr) se le adicionó una cantidad determinada de biopolímeros, para obtener cuatro formulaciones diferentes: Tr(GA+FB): (4.2 g GA + 0.58) g FB/100 g puré, Tr(GA+WPI): (4.2 g GA + 0.58) g WPI/100 g puré, Tr(OSA+FB): (4.2 g OSA + 0.58 g FB)/100 g puré y Tr(OSA+WPI): (4.2 g OSA + 0.58 g WPI)/100 g puré. La homogenización de las muestras formuladas se realizó en el mismo robot de cocina mencionado anteriormente (velocidad 2, 300 s). Luego, a cada formulación se le ajustó la humedad a 90 g agua/100g mezcla (Agudelo et al., 2017). Una vez ajustada la humedad del formulado, éste se dispuso, con 0.5 cm de espesor, en bandejas de aluminio de 23 cm de diámetro. Las muestras fueron congeladas a -45°C durante 48h (Liebherr LGT 2325, Alemania) para posteriormente ser liofilizadas a 0.05 mbar de presión y -55°C en el condensador durante 48h (Telstar Lyo Quest 55, España). A cada una de las muestras obtenidas antes de liofilizar se le analizó la humedad (X_w , g agua/g producto), el contenido de sólidos solubles (°Brix), el color y el comportamiento reológico.

Las muestras obtenidas después de la liofilización se envasaron a vacío (EDESA VAC-20 SL, España) hasta su caracterización, con el fin de evitar la ganancia de agua. Éstas se trituraron hasta la obtención de un polvo (PL), en un robot Thermomix Vorwerk TM-21 (España), a velocidad 3 durante 10 s, y se tamizaron para asegurar un tamaño de partícula menor a 700µm. Todas las muestras en polvo fueron analizadas en cuanto a la

higroscopicidad (Hy), porosidad (ϵ), solubilidad (Sb), mojabilidad (Mo) y dispersabilidad (Ds). Además, se obtuvieron las isotermas de sorción.

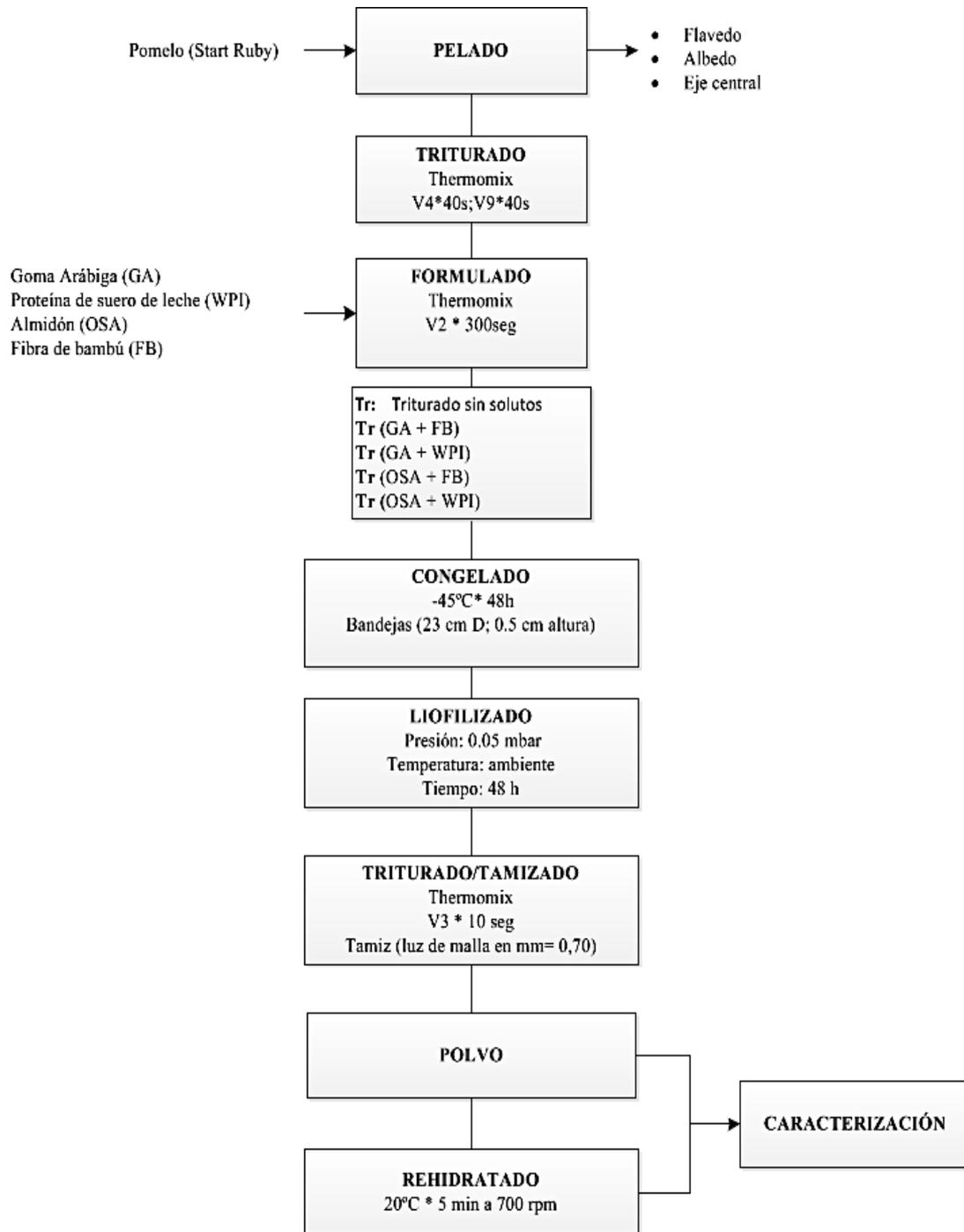


Figura II.2.1. Esquema de preparación y liofilización de las muestras.

II.2.3. Preparación de la muestra y condiciones del proceso de atomización

Para la preparación de las muestras, el pomelo se peló y separó del albedo y de su eje central para, posteriormente, ser licuado en un extractor eléctrico (DeLonghi KC280, Italia). Al licuado obtenido (Lc) se le adicionó una cantidad determinada de biopolímeros para obtener cuatro formulaciones Lc(GA): 4 g GA/100 g Lc, Lc(GA+WPI): (4 g GA + 2 g WPI)/100 g Lc, Lc(OSA): 4 g OSA/100 g Lc y Lc(OSA+WPI): (4 g OSA + 2 g WPI)/ /100 g Lc (Agudelo et al., 2017). A cada una de las muestras preparadas se le analizó el contenido de sólidos solubles (°Brix), el color y el comportamiento reológico. Para su atomización, los biopolímeros se disolvieron previamente en agua destilada a las concentraciones mencionadas mediante agitación magnética (OVAN, BasicMagMix, España) a 750 rpm y, posteriormente, se mezclaron con el licuado en la relación 1:1, obteniéndose así cada una de las formulaciones. Inmediatamente después, las muestras fueron congeladas a -20 °C (Liebherr GG 5210, Alemania) hasta su posterior atomización.

Veinticuatro horas antes de la atomización, las muestras se retiraron del congelador y se mantuvieron en nevera (Liebherr GKv 6410, Alemania) a 4 °C asegurando su descongelación. La atomización de las muestras se realizó en un atomizador Mini-Büchi B-290 (Alemania). En todos los casos, se trabajó en las condiciones siguientes: velocidad de aspiración de 35 m³/h, velocidad del flujo de aire de 473 L/h, velocidad de flujo de la bomba de 9 mL/min y temperatura de entrada del aire de 150 °C. La Fig. II.2.2, muestra un esquema del proceso de preparación explicado anteriormente. Los polvos obtenidos por atomización (PA), con un tamaño de partícula que varía entre 2- 25 µm (según el fabricante del atomizador), fueron igualmente envasadas a vacío hasta su caracterización. Todas las muestras en polvo, igual que en el caso de las muestras liofilizadas, fueron analizadas en cuanto a Hy, ε, Sb, Mo y Ds. Además, se obtuvieron las isotermas de sorción.

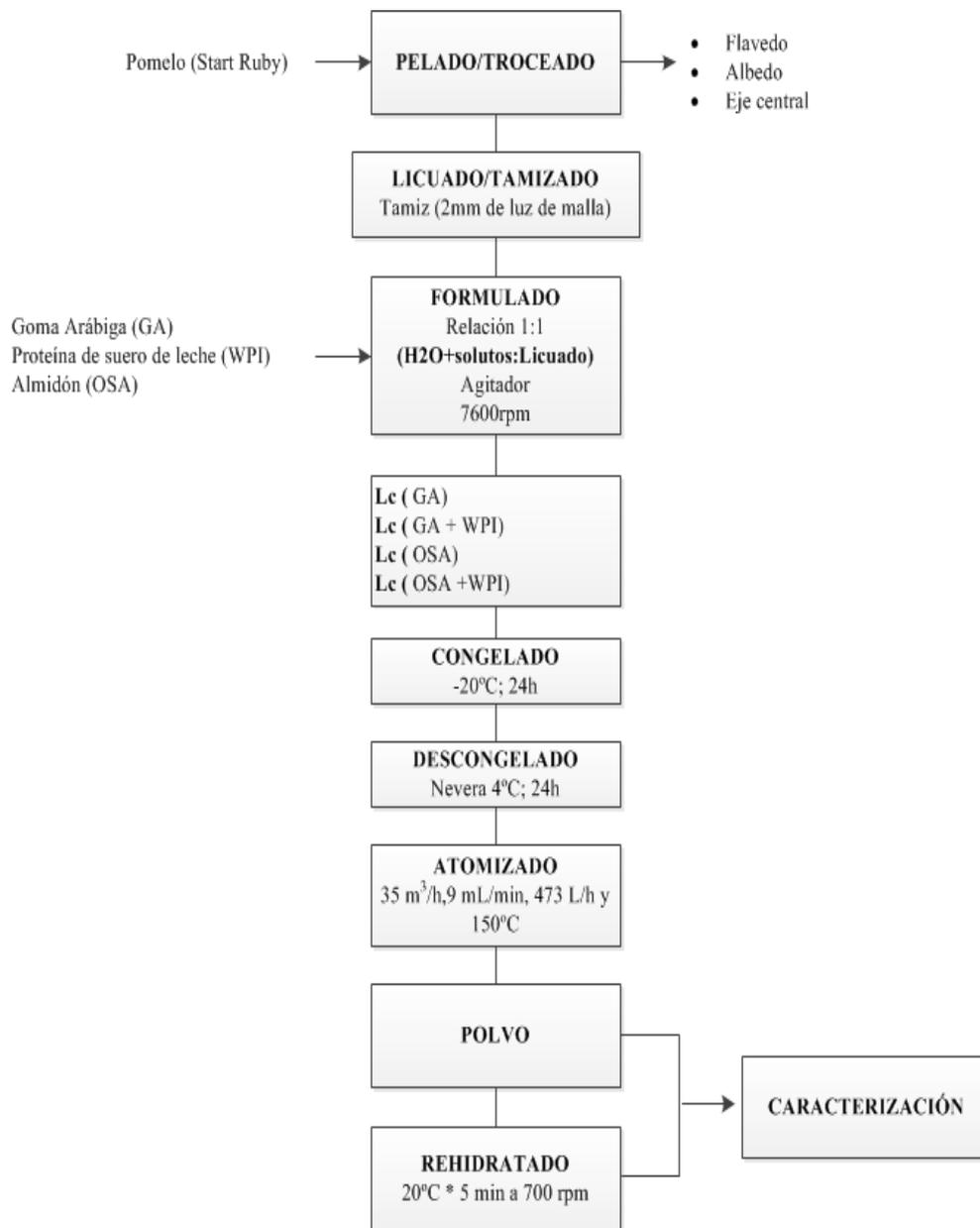


Figura II.2.2. Esquema de preparación y atomización de las muestras.

II.2.4. Rehidratación del producto en polvo obtenido por liofilización y atomización

PL y PA fueron rehidratados, al nivel de humedad de Tr y Lc formulados, respectivamente, para obtener las muestras Tr-Rh y Lc-Rh. La cantidad de agua a añadir se calculó mediante un balance de materia (Ec.II.2.1 y II.2.2) en base a la humedad del polvo obtenido y la humedad a la cual se requiere llegar (X_w^f), siendo ésta para los dos procesos la humedad de la muestra formulada.

$$m^{rh} = m^p + m^w \quad (\text{II. 2.1})$$

$$m^p * (1 - X_w^p) = m^{rh} * (1 - X_w^f) \quad (\text{II. 2.2})$$

Donde m^{rh} : masa producto rehidratado (g); m^w : masa de agua añadida (g); m^p : masa de pomelo en polvo (g); X_w^f : humedad de la muestra formulada (g agua/ g muestra formulada); X_w^p : humedad del pomelo en polvo (g agua/ g de polvo).

El procedimiento se realizó en vasos de precipitados de 50 mL provistos de doble camisa conectados a un baño a 20 °C (VWR North 1162A, U.S.A) y en agitación magnética constante (OVAN, BasicMagMix, España) a 750 rpm durante 5 min. A cada una de las muestras liofilizadas y atomizadas rehidratadas se les midió el contenido de sólidos solubles, el color y el comportamiento reológico.

II.2.5. Determinaciones analíticas

II.2.5.1. Humedad y sólidos solubles

La humedad se determinó por triplicado, mediante gravimetría, a partir de los pesos de la muestra antes y después de ser sometida a desecación en estufa de vacío (Vaciotem, J.P. Selecta S.A., España) a 60 ± 1 °C y una presión < 100 mmHg, hasta alcanzar peso constante. La fracción másica de sólidos solubles (X_s) se midió por

refractometría en °Brix a 20 °C (Mettler Toledo 30PX, España; Método AOAC 932.12), previa homogenización manual de la muestra, tomando tres medidas por muestra.

II.2.5.2. Dispersabilidad

Se determinó según la metodología descrita por Abdalla et al. (2010), con algunas modificaciones. Se añadió 1 g de polvo a 10 mL de agua destilada a 25 °C en un vaso de precipitados de 50 mL y se mantuvo bajo agitación magnética a 1050 rpm (Ovan, BasicMagMix, España), durante 5 min. La muestra obtenida se centrifugó (1000 rpm, Gyrozen 123GR, Korea) durante 5 min. Se midió la absorbancia del sobrenadante a 760 nm de longitud de onda utilizando un espectrofotómetro UV–visible (VWR V-1200 Spectrophotometer, China) tomando tres medidas por muestra. La dispersabilidad se expresó en términos de unidades de densidad óptica (DO).

II.2.5.3. Solubilidad

La solubilidad o fracción másica de solutos solubles respecto a los totales se calculó por triplicado, a partir de la Ec. (II.2.3) (Mimouni et al., 2009). Para la cuantificación del contenido en solutos totales (ST) y solutos solubles (SS), se adicionó 1 g de muestra a 9 mL agua destilada, a 20 °C bajo agitación magnética constante a 750 rpm (OVAN, BasicMagMix, España) durante 5 min. Los ST se determinaron por secado de una cantidad conocida de la mezcla (m_{rh}^1) en estufa de vacío (Vacioterm, J.P. Selecta, España) a 60 °C y con presión <100mm Hg durante 24 h, obteniendo el primer rehidratado seco (m_{rh}^{1s}). Para la determinación de los SS, otra parte del polvo rehidratado (m_{rh}^2) fue centrifugada (Gyrozen 123GR, Korea) a 10.000 rpm durante 10 min a 4°C. Todo el sobrenadante obtenido se filtró con filtro de jeringa con papel Whatman n°1, previamente pesado y, tanto el filtrado obtenido como el filtro, se secaron en las mismas condiciones descritas para los ST y se pesaron para obtener los solutos solubles (m_{rh}^{2s}).

$$SD = \frac{SS}{ST} = \frac{m_{rh}^{2s}/m_{rh}^2}{m_{rh}^{1s}/m_{rh}^1} \quad (II.2.3)$$

II.2.5.4. Mojabilidad

La mojabilidad del polvo se evaluó por triplicado, al medir el tiempo (s) requerido para lograr la humectación completa de una cantidad conocida de polvo vertida suavemente sobre la superficie del agua contenida en un recipiente, dejando que se sumerja espontáneamente sin agitación (Gea Niro, 2009). A mayor tiempo de mojado, menor mojabilidad. El tiempo de humectación se registró utilizando el método propuesto por Jinapong et al. (2008) con algunas modificaciones. Para lograr que el vertido del polvo sea uniforme se utilizó un brazo mecánico compuesto por un micro controlador (AT mega328, China) con un voltaje de operación de 5V y una velocidad del oscilador de 16 MHz, el cual controla un servo motor de 1.6 kg/cm y una velocidad de operación a 4.8 V sin carga, con giro de $60^\circ/0.12$ s, que se encarga de verter el polvo ubicado en un contenedor adjunto al eje del servomotor. Para el análisis, se utilizó un volumen de 100 mL de agua destilada a 25 °C, colocado en un vaso de precipitados de 500 mL y 85 mm de diámetro. Sobre el vaso de precipitados, se colocó un soporte que sujeta al servo-motor provisto del contenedor. La distancia entre el contenedor con la muestra (1 g) y la superficie del agua fue de 10 cm (Fig. II.2.3).

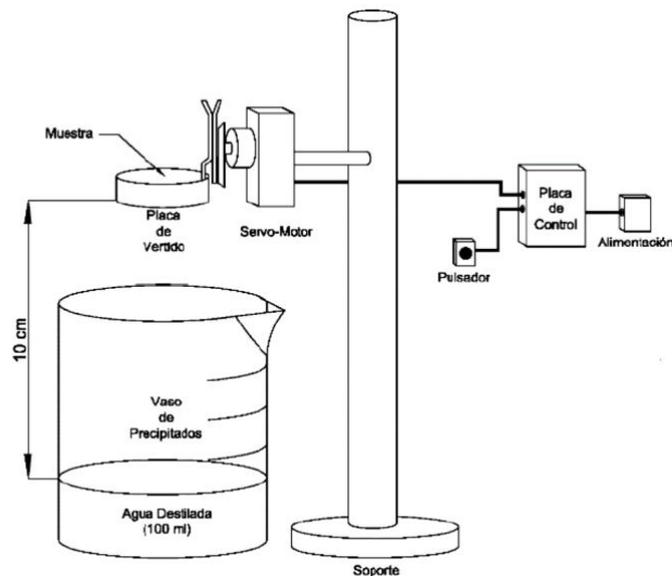


Figura II.2.3 Esquema del dispositivo utilizado para la determinación de la mojabilidad.

II.2.5.5. Higroscopicidad

Para la determinación de Hy se colocaron 1.5 g de polvo en un ambiente de un 81% de humedad relativa (HR), creado por una disolución saturada de Na₂SO₄ colocada en un desecador cerrado herméticamente, a temperatura ambiente durante 2, 24 y 48 h. La diferencia de peso en ese tiempo delimitó la cantidad de agua ganada por la muestra (Cai and Corke, 2000; Koç et al., 2014). Los resultados se expresaron como g de agua ganada/100 g de sólidos secos, según la Ec. (II.2.4), tomando tres medidas por muestra.

$$\text{Hy (\%)} = \frac{(m_1 - m_2)}{m_2(1 - X_w^p)} * 100 \quad (\text{II.2.4})$$

donde m₁: masa hidratada (g), m₂: masa de polvo inicial (g) y X_w^p : humedad inicial del polvo (g de agua/ g de muestra).

II.2.5.6. Grado de apelmazamiento

Para la determinación del grado de apelmazamiento se siguió el procedimiento descrito por Jaya and Das. (2004). La muestra hidratada para la determinación de la higroscopicidad se colocó en estufa (J.P. Selecta, España) a 102±1°C durante 1 h. Después de dejarla enfriar en un desecador, se pesó y se tamizó con un tamiz de 0.5 mm de luz de malla (CISA, España) con ayuda de una tamizadora (AMP0.40, CISA, España) durante 5 min a 50 Hz. El grado de apelmazamiento se calculó según la Ec. (II.2.5).

$$\text{Ap (\%)} = \frac{a}{b} * 100 \quad (\text{II.2.5})$$

donde a: masa muestra retenida en el tamiz (g) y b: masa muestra tamizada (g).

II.2.5.7. Porosidad

Para el cálculo de ε del polvo se utilizó la Ec. II.2.6 En esta ecuación, la densidad real (ρ) se calculó a partir de la composición en agua, carbohidratos y proteína de las muestras (Ec. II.2.7). La densidad aparente (Ec. II.2.8) se basó en la medida del volumen ocupado por una cantidad de muestra conocida después de haber sido sometida a una etapa de vibración a 1600 rpm durante 10 s (Infrared Vortex Mixer, F202A0175, España).

$$\varepsilon(\%) = \frac{\rho - \rho_a}{\rho} * 100 \quad (\text{II. 2.6})$$

donde ρ : es la densidad real (g/cc) y ρ_a : es la densidad aparente (g/cc)

$$\rho = \frac{1}{\frac{X_w^p}{\rho_w} + \frac{(1 - X_w^p) \left(\frac{x_{CH}^f}{1 - x_w^f} \right)}{\rho_{CH}} + \frac{(1 - X_w^p) \left(\frac{x_P^f}{1 - x_w^f} \right)}{\rho_P}} \quad (\text{II. 2.7})$$

siendo X_w^p : la humedad del polvo (g agua/g polvo obtenido); ρ_w , ρ_{CH} y ρ_P : densidad del agua (0.9976 g/cc), de los carbohidratos (1.4246 g/cc) y de la proteína (1.892 g/cc) (Choi and Okos, 1986); x_w^f : fracción másica de agua (determinada experimentalmente), x_P^f : fracción másica de proteína (WPI añadida según la formulación), x_{CH}^f : fracción másica de carbohidratos (por diferencia), en el triturado o licuado de pomelo formulados.

$$\rho_a = \frac{m^p}{V_f^p} \quad (\text{II. 2.8})$$

donde m^p : es la masa de polvo (g); V_f^p : volumen después de la etapa de vibración del polvo (cc).

II.2.5.8. Color

Para determinar el color de las muestras se utilizó un espectrocolorímetro (MINOLTA CM 2600-D, Japón), con una ventana de medida de 8 mm de diámetro. Las muestras antes de deshidratar y una vez rehidratadas se colocaron en una cubeta plástica de 3.8 cm de largo x 5 cm de alto x 2.2 cm de espesor. En el caso de las muestras en polvo, éstas se colocaron en una cápsula de aluminio de 11mm de diámetro y 6 mm de alto y colocando un vidrio óptico (CR-A51, Minolta Camera Co., Japan) sobre las muestras para realizar las medidas, tres por muestra. En todos los casos, se obtuvieron las coordenadas CIE $L^*a^*b^*$ utilizando como referencia el iluminante D65 y el observador 10°. El ángulo de tono (h_{ab}^*), croma (C_{ab}^*) y la diferencia de color entre muestras (ΔE) se calcularon a partir de las Ec. (II.2.9-II.2.11).

$$h_{ab}^* = \arctg \frac{b^*}{a^*} \quad (\text{II. 2.9})$$

$$C_{ab}^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{II. 2.10})$$

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (\text{II. 2.11})$$

II.2.5.9. Isotermas de sorción de agua

Las isotermas de sorción representan la relación entre el contenido de agua del alimento y su actividad del agua (a_w). Para su obtención, se acondicionaron diferentes cámaras herméticas a diferentes HR en un intervalo de 11 - 50% (Greenspan, 1977). Las disoluciones salinas sobresaturada utilizadas para ello fueron: LiCl ($a_w = 0.11$), CH₃COOK ($a_w = 0.22$), MgCl₂ ($a_w = 0.33$), K₂CO₃ ($a_w = 0.43$) y Mg (NO₃)₂ ($a_w = 0.52$). Las cámaras, en las que se introdujo aproximadamente 1 g de cada una de las muestras, se almacenaron a 4 °C (Nüve Test Gabinet TK129, Turquía). Se controló la evolución del peso de las muestras, hasta obtener un valor constante ($\Delta m < \pm 0.001$ g). En ese momento la a_w de cada muestra se asumió igual a la correspondiente HR/100. A cada muestra equilibrada se le analizó la humedad (X_{we}), la misma que se utilizó para el ajuste del

modelo matemático de Brunauer-Emmett-Teller (BET) (Ec. II.2.12), utilizando el software de análisis ORIGIN PRO versión 9.0 (OriginLab Corporation, Northampton, EE. UU).

$$X_{we} = \frac{W_o * C * k * a_w}{(1 - k * a_w) * (1 + (c - 1) * k * a_w)} \quad (\text{II. 2.12})$$

Donde X_{we} : contenido de agua en el equilibrio (g de agua / g sólido seco); a_w : actividad del agua del producto. Parámetros del modelo: W_o : humedad de la capa monomolecular (g de agua / g sólido seco); C : constante de Guggenheim, relacionada con el calor de sorción del agua de la monocapa.

II.2.5.10. Comportamiento reológico

Se obtuvieron las curvas de flujo al aplicar un barrido de gradiente de velocidad de 0 a 150 s^{-1} a una temperatura constante de 20 °C (Viscotherm VT 10, Physica, Alemania). Para ello se utilizó un reómetro (Rheolab MC 1, Paar Physica, Alemania) con geometría de cilindros concéntricos Z1 DIN para las muestras licuadas y atomizadas rehidratadas y Z2 DIN para las muestras trituradas y liofilizadas rehidratadas. Las curvas de flujo fueron ajustadas, bien al modelo de Ostwald-de-Waele (Ec. II.2.13), para obtener el índice de comportamiento al flujo (n) y el índice de consistencia (k) y con ellos calcular la viscosidad aparente a 100 s^{-1} (Ec. II.2.14), o bien al modelo de Newton (Ec. II.2.15), según los casos. Este procedimiento se realizó por triplicado.

$$\sigma = k * (\dot{\gamma})^n \quad (\text{II. 2.13})$$

$$\eta = k * (100)^{n-1} \quad (\text{II. 2.14})$$

$$\sigma = \mu * \dot{\gamma} \quad (\text{II. 2.15})$$

Donde σ : esfuerzo cortante (Pa), $\dot{\gamma}$: gradiente de velocidad (s^{-1}), n : índice de comportamiento al flujo, k : índice de consistencia ($Pa \cdot s^n$), η : viscosidad aparente (Pa.s), μ : viscosidad newtoniana (Pa.s).

II.2.6. Análisis estadístico

Los resultados se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA), aplicando el test LSD (*least significant difference*) al 95%. Para estudiar las relaciones entre las muestras y sus propiedades se aplicaron análisis multivariantes factoriales (FA) y de componentes principales (PC). Para el análisis estadístico se utilizó el software Minitab® 16.2.2.

II.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

II.3.1. Caracterización de las muestras licuadas, trituradas y sus formulaciones

II.3.1.1. Humedad y sólidos solubles

Tr y Lc presentaron humedades de 89.08 ± 0.02 y 88.00 ± 0.04 g de agua/100g muestra, respectivamente. Los °Brix fueron de 10.6 ± 0.3 para la muestra Tr y de 12.0 ± 0.2 para la Lc. La adición de Bp, como era de esperar, produjo un aumento significativo ($p < 0.05$) del contenido en sólidos solubles y una disminución de la humedad de las muestras (Tabla II.3.1).

Tabla II.3.1. Valores medios y desviación estándar, entre paréntesis, de los sólidos solubles (°Brix) y humedad (X_w , agua/100g muestra) en muestras de pomelo triturado (Tr), licuado (Lc) y sus formulaciones con goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA).

Muestra	°Brix	X_w
Tr	10.6(0.3)a	89.08(0.02)c
Tr(GA+FB)	14.37(0.06)d	85.63(0.06)a
Tr(GA+WPI)	14.23(0.06)c	85.77(0.06)a
Tr(OSA+FB)	13.87(0.06)b	86.13(0.06)b
Tr(OSA+WPI)	13.80(0.17)b	86.20(0.17)b
Lc	12.0(0.2)A	88.00(0.04)E
Lc(GA)	15.57(0.06)B	84.27(0.01)D
Lc(GA+WPI)	15.67(0.12)B	83.94(0.01)B
Lc(OSA)	15.53(0.12)B	84.16(0.03)C
Lc(OSA+WPI)	15.63(0.06)B	83.88(0.01)A

Letras minúsculas y mayúsculas distintas en columnas muestran diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las diferentes formulaciones del Tr y del Lc, respectivamente, para cada uno de los parámetros.

II.3.1.2. Color

Los valores de las coordenadas de color analizados, L^* , a^* y b^* , así como los atributos calculados a partir de estos, h_{ab}^* y C_{ab}^* en las muestras Tr, Lc y sus formulaciones, se muestran en las Tablas II.3.2 y II.3.3, respectivamente. La diferencia global de color (Ec. II.2.11) entre Tr y Lc fue de ± 17.5 unidades, lo que se relaciona con la diferente composición, sobre todo en cuanto a la pulpa del pomelo. La incorporación de los biopolímeros a los triturados provocó cambios de color de $\pm 8.6-9.8$ unidades y en los licuados de $\pm 6.3-7.1$.

Tabla II.3.2. Valores medios y desviación estándar, entre paréntesis, de las coordenadas L^* , a^* y b^* , del croma (C_{ab}^*) y del tono (h_{ab}^*) en las muestras de pomelo triturado (Tr) y sus formulaciones con goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA).

Muestra	L^*	a^*	b^*	h_{ab}^*	C_{ab}^*
Tr	31.81(0.11)a	18.26(0.09)c	22.37(0.04)c	50.78(0.17)e	8.88(0.04)c
Tr(GA+FB)	31.6(0.2)a	14.82(0.06)a	14.46(0.07)a	44.30(0.04)b	20.70(0.09)a
Tr(GA+WPI)	38.9(0.2)c	16.0(0.6)b	16.0(0.5)b	44.91(0.17)c	22.7(0.8)b
Tr(OSA+FB)	38.5(0.4)c	15.6(0.6)b	15.8(0.3)b	45.4(0.5)d	22.2(0.6)b
Tr(OSA+WPI)	35.0(0.3)b	14.87(0.04)a	14.31(0.09)a	43.9(0.3)a	20.64(0.04)a

Letras distintas en columnas muestran diferencia significativa entre muestras para cada uno de los parámetros ($p < 0.05$).

Tabla II.3.3. Valores medios y desviación estándar, entre paréntesis, de las coordenadas L^* , a^* y b^* , el croma (C_{ab}^*) y el tono (h_{ab}^*) en las muestras de pomelo licuado (Lc) y sus formulaciones con goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA).

Muestra	L^*	a^*	b^*	h_{ab}^*	C_{ab}^*
Lc	27.1(0.7)d	9.4(0.4)c	8.0(0.4)d	40.4(0.4)bc	12.3(0.6)c
Lc(GA)	21.7(0.2)a	5.87(0.15)b	5.14(0.16)c	41.2(0.3)bc	7.8(0.2)b
Lc(GA+WPI)	22.5(0.5)ab	5.22(0.02)a	4.66(0.04)b	41.78(0.19)c	7.00(0.03)a
Lc(OSA)	23.4(0.9)bc	5.36(0.14)a	4.3(0.4)ab	39(3)b	6.88(0.12)a
Lc(OSA+WPI)	24.3(0.9)c	5.51(0.07)ab	3.93(0.02)a	35.5(0.4)a	6.76(0.06)a

Letras distintas en columnas muestran diferencia significativa entre muestras para cada uno de los parámetros ($p < 0.05$).

II.3.1.3. Comportamiento reológico.

La Fig. II.3.1, presenta las curvas de flujo de las muestras trituradas de pomelo antes de liofilizar, Tr, y sus formulaciones. Todas ellas mostraron un comportamiento típico de los productos pseudoplásticos. Las curvas se ajustaron al modelo de Ostwald-de-Waele (Ec. II.2.13) y se obtuvieron los valores de n y k (Tabla II.3.4). El coeficiente de correlación (R^2) varió entre 0.991 y 0.998, lo que indica que el ajuste fue estadísticamente significativo en todos los casos.

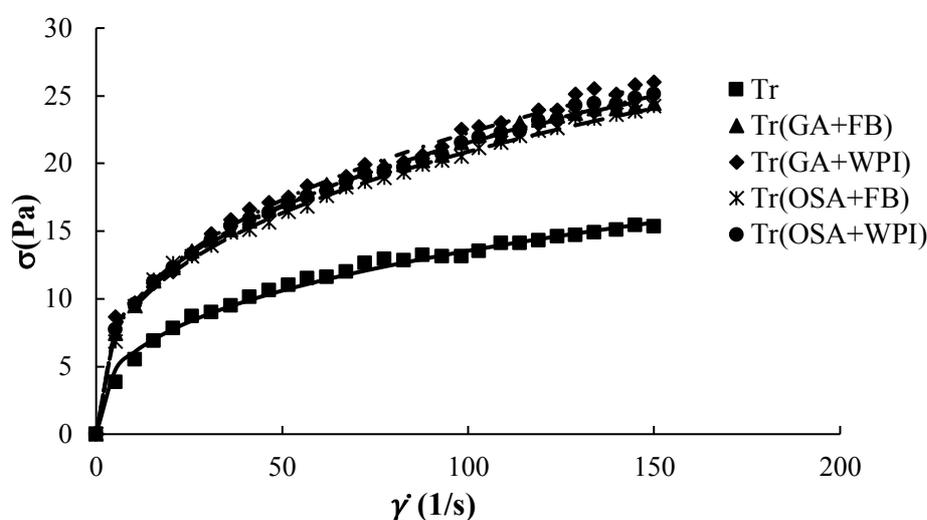


Figura II.3.1. Curvas de flujo del triturado de pomelo (Tr) y sus formulaciones con goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA).

A partir de los datos presentados en la Tabla II.3.4, se observa un índice de comportamiento al flujo $n < 1$ que confirma el comportamiento pseudoplástico de las muestras analizadas (Karataş and Arslan, 2016; Quek et al., 2013; Vandresen et al., 2009). En este tipo de fluidos, la viscosidad, parámetro fundamental que caracteriza el comportamiento reológico, disminuye cuando aumenta el gradiente de velocidad. A partir de los parámetros del modelo, se obtuvo la viscosidad aparente (η_{ap}) a 100 s^{-1} (Ec. II.2.14). La adición de biopolímeros al triturado de pomelo aumentó significativamente ($p < 0.05$) el índice de consistencia y la viscosidad de las muestras. En este sentido, Karataş and Arslan (2016), expresaron que n es casi independiente de la concentración de biopolímeros y de la temperatura, a diferencia de k .

Tabla II.3.4 Valores medios y desviación estándar entre paréntesis del índice de comportamiento de flujo (n), índice de consistencia (k) y viscosidad aparente (η_{ap}) en muestras de pomelo triturado (Tr) y sus formulaciones con goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA).

Muestra	n	k (Pa.s ⁻¹)	η_{ap} (Pa.s)
Tr	0.338(0.005) ab	2.78(0.02) a	0.132(0.004) a
Tr(GA+FB)	0.39(0.04) c	3.5(0.6) b	0.21(0.01) bc
Tr(GA+WPI)	0.37(0.01) bc	4.2(0.3) c	0.23(0.01) d
Tr(OSA+FB)	0.33(0.01) a	4.50(0.19) c	0.20(0.01) b
Tr(OSA+WPI)	0.353(0.008) ab	4.4(0.2) c	0.22(0.01) cd

Letras distintas en columnas muestran diferencia significativa entre muestras para cada uno de los parámetros ($p < 0.05$).

Para las muestras licuadas de pomelo y sus formulaciones, las curvas de flujo mostraron un comportamiento diferente a las muestras trituradas. En este caso, el licuado sin biopolímeros mostró un comportamiento newtoniano y la incorporación de los mismos supuso el cambio a un comportamiento pseudoplástico y con mayor viscosidad ($p < 0.05$). En este sentido, de Castilhos et al. (2018) mencionan que el comportamiento reológico de un fluido está influenciado por varios factores, principalmente por las fuerzas intermoleculares y la interacción agua-soluto, por lo que con la incorporación de biopolímeros a estas muestras cambiaría el comportamiento al flujo, su consistencia y viscosidad. Las muestras licuadas presentaron menor consistencia que las trituradas, asociado a su menor contenido en fibra propia del pomelo. La Tabla II.3.5, presenta los parámetros reológicos obtenidos del ajuste al modelo de Newton (Ec. II.2.15) y la viscosidad newtoniana en el caso de la muestra Lc y los parámetros del modelo de Ostwald-de-Waele (Ec. II.2.13) así como la viscosidad aparente calculada, a partir de éstos, a 100 s^{-1} , en el caso de los licuados formulados. El coeficiente de correlación (R^2), comprendido entre 0.993 y 0.997, indica que el ajuste fue estadísticamente significativo en todos los casos. Como puede observarse, GA confiere mayor viscosidad al licuado que OSA ($p < 0.05$).

Tabla II.3.5. Valores medios y desviación estándar entre paréntesis de viscosidad newtoniana o aparente (μ , η_{ap} , respectivamente), índice de comportamiento de flujo(n), índice de consistencia (k) en muestras de pomelo Licuado (Lc) y sus formulados con goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA).

Muestra	n	k (Pa.s ⁻¹)	μ/η_{ap} (Pa.s)
Lc	1d	0.0050(0.0005)a	0.0050(0.0005)a
Lc(GA)	0.60(0.03) a	0.096(0.008) d	0.0144(0.0004)d
Lc(GA+WPI)	0.73(0.06) bc	0.037(0.012) c	0.0104(0.0004) c
Lc(OSA)	0.75(0.02) c	0.028(0.003) b	0.0090(0.0001)b
Lc(OSA+WPI)	0.70(0.06) b	0.040(0.012) c	0.0099(0.0004)c

Letras distintas en columnas muestran diferencia significativa entre muestras para cada uno de los parámetros ($p < 0.05$).

II.3.2. Caracterización del pomelo en polvo

Para la caracterización de los productos en polvo obtenidos mediante las diferentes técnicas de deshidratación, se tuvieron en cuenta los parámetros relacionados con las características del polvo como tal y aquellos relacionados con su hidratación. La hidratación depende de la composición del polvo y de la afinidad existente entre sus componentes y el agua. Por otra parte, también está relacionada con la accesibilidad estérica del agua (porosidad y capilaridad) a la superficie de las partículas de polvo. Las propiedades relacionadas con la hidratación incluyen todas las etapas que conducen a la disolución total del polvo, siendo la humectabilidad, dispersabilidad y solubilidad los índices a tomar en cuenta. A menudo, se tiene en cuenta también la higroscopicidad, completando la descripción de las interacciones agua/partículas (incluida la forma de vapor del agua) (Schuck et al., 2012). Otro parámetro de calidad importante en los alimentos en general, y en este tipo de productos en particular, es el color, ya que la aceptabilidad del alimento por parte de los consumidores está relacionada con este parámetro.

II.3.2.1. Pomelo en polvo obtenido por liofilización

La Tabla II.3.6, muestra los resultados obtenidos del análisis de humedad, dispersabilidad, solubilidad, humectabilidad, higroscopicidad y porosidad de los

productos en polvo obtenidos por liofilización de pomelo triturado sin y con Bp adicionados.

Tabla II.3.6. Valores medios y desviación estándar (entre paréntesis) de la humedad (X_w : g agua/100 g polvo), dispersabilidad (D_s ; unidades de DO), solubilidad (S_b ; %), mojabilidad (M_o ; s), higroscopicidad (H_y ; %) y porosidad (ϵ ; %) de los polvos liofilizados obtenidos a partir del triturado sin formular (PL) y formulados con Goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA).

Propiedad	PL	PL(GA+FB)	PL(GA+WPI)	PL(OSA+FB)	PL(OSA+WPI)	
X_w	1.1(0.5)a	2.5(0.3)c	2.24(0.08)c	1.7(0.2)b	1.9(0.1)bc	
D_s	0.38(0.02)d	0.06(0.00)a	0.082(0.005)b	0.107(0.006)c	0.050(0.003)a	
S_b	83.4(0.01)a	84.60(0.010)b	83.8(0.004)ab	86.16(0.004)c	89.6(0.002)d	
M_o	57(2)c	12.6(0.3)a	17.4(0.8)b	15.6(0.9)b	15.9(1.1)b	
H_y	2h	4.00(0.07)b	2.7(0.2)a	2.7(0.2)a	2.9(0.5)a	3.16(0.12)a
	24h	18.4(0.4)c	16.3(0.5)b	15.35(0.18)a	15.1(0.7)a	15.3(0.3)a
	48h	27.4(0.4)c	23.9(1.1)b	23.7b(1.0)b	21.9(0.4)a	21.8(0.3)a
ϵ	74.0(0.6)d	66.6(0.6)a	68.9(0.2)b	71.1(1.7)c	69.0(1.4)b	

Letras distintas en filas muestran diferencia significativa entre muestras para cada uno de los parámetros ($p < 0.05$).

La adición de Bp aumenta significativamente ($p < 0.05$) la humedad de los productos en polvo obtenidos por liofilización (Tabla II.3.6), siendo este aumento menor en las formulaciones con OSA y mayor en las que contienen GA. Los resultados obtenidos del índice de dispersabilidad de las muestras liofilizadas en polvo muestran que, al añadir Bp, ésta disminuye significativamente ($p < 0.05$). Cabe indicar que, para comprobar que la medida no variaba con el tiempo, se realizó durante una hora a intervalos de 10 min. Dado que no existió variación en los resultados, en la Tabla II.3.6 se presenta los valores obtenidos a los 10 min de comenzar el ensayo.

La solubilidad es la velocidad y el grado en que los componentes de las partículas de polvo se disuelven en el agua. Ésta está directamente relacionada con la microestructura del polvo estudiado (Cano-Chauca et al., 2005). La solubilidad del pomelo liofilizado aumentó significativamente con la adición de Bp (Tabla II.3.6), siendo las formulaciones con GA las más parecidas a la muestra PL.

La mojabilidad se define como la capacidad de un polvo para ser penetrado por un líquido debido a las fuerzas capilares (Hogekamp and Schubert, 2003). Ésta es mayor

cuanto menor es el tiempo necesario para que las muestras se humecten. Según muestra la Tabla II.3.6, el tiempo que transcurrió hasta que las muestras formuladas obtenidas por liofilización se humectaran por completo fue entre 12.6 y 17.4 s. La adición de Bp disminuye el tiempo de humectación en todos los casos, siendo la muestra formulada con GA+FB la que se humecta más rápidamente. Por tanto, todos los Bp utilizados en este estudio pueden funcionar como agentes favorecedores de la mojabilidad del polvo obtenido. De todas maneras, los tiempos registrados en todos estos casos fueron muy cortos, por lo que a todos estos productos con Bp se les pueden catalogar como instantáneos

Tal y como se explicó en el apartado II.2.5.5, la higroscopicidad se determinó a las 2, 24 y 48h, para ver además la influencia del tiempo en este parámetro. Los valores de Hy obtenidos son del mismo orden que los determinados por Bazaria and Kumar. (2016) en zumo de remolacha atomizada. Desde el principio, como se observa en la Tabla II.3.6, la adición de Bp disminuye Hy de manera significativa y sin diferencias significativas entre formulaciones. Igual et al. (2014a), encontraron el mismo comportamiento para polvo de lulo formulado con GA y maltodextrina. Después de 24h y 48h, las formulaciones siguen siendo menos higroscópicas que la muestra sin Bp, siendo las muestras formuladas con OSA las que presentaron la menor Hy ($p < 0.05$). La alta higroscopicidad de los productos de fruta en polvo se debe a su alto contenido en azúcares. Los solutos podrían estar actuando compitiendo por las moléculas de agua, formando una barrera protectora frente a la ganancia de agua en la superficie de las partículas.

Según Molina et al. (2014), el aumento en el grado de apelmazamiento está relacionado con la cantidad de agua que el polvo absorbe durante el almacenamiento. El apelmazamiento del polvo es una reacción indeseable, que consiste inicialmente en la transformación de éste en un material aglomerado y pegajoso, y cuyo resultado provoca una disminución de la funcionalidad y la fluidez del polvo y por tanto, la pérdida de la calidad (Aguilera et al., 1995). Aunque es un parámetro importante, la metodología utilizada en este trabajo no resultó adecuada para su determinación, debido al tipo de muestra, con un contenido en azúcares muy alto. La temperatura de 100 °C que se aplicó a las muestras durante 1h para su determinación, provocó la caramelización de ésta. Esto hizo que el grado de apelmazamiento no se pudiera medir.

La porosidad desempeña un papel importante en la aglomeración de los alimentos en polvo. Una mayor porosidad o, lo que es lo mismo, una densidad aparente más baja, se corresponde con un polvo con un mayor volumen de aire distribuido entre las partículas y, por tanto, más fluido (Rahman, 2001). Los materiales liofilizados se caracterizan por los valores más bajos de densidad aparente y mayor porosidad respecto de otros productos deshidratados mediante secado por aire caliente (Caparino et al., 2012; Karam et al., 2016). Los resultados obtenidos presentaron valores entre el 66.6 y el 73.9% (Tabla II.3.6). Se observó que la incorporación de biopolímeros disminuye la porosidad de los polvos obtenidos por liofilización, siendo PL(GA+FB) el polvo menos poroso. La presencia de los Bp podría contribuir a la obtención de partículas más regulares en su forma con el triturado, lo que permitiría un mejor empaquetamiento.

Los parámetros de color estudiados para todas las muestras liofilizadas se presentan en la Tabla II.3.7. Como puede observarse, aunque hay diferencias significativas ($p < 0.05$) en algunos casos, éstas son pequeñas y sin ninguna tendencia clara. Por ello, para cuantificar el cambio global de color por la incorporación de los Bp, se calculó ΔE^* con respecto a la muestra PL. Los cambios de color observados están en el límite de lo percibido por el ojo humano, según Bodart et al. (2008), siendo la muestra PL(GA+FB) la más afectada.

Tabla II.3.7. Atributos de color luminosidad (L^*), coordenadas (a^* y b^*), tono (h_{ab}^*), croma (C_{ab}^*) y diferencia de color (ΔE^*) de los polvos obtenidos a partir del triturado sin formular (PL) y formulados con Goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA).

Atributo	PL	PL(GA+FB)	PL(GA+WPI)	PL(OSA+FB)	PL(OSA+WPI)
L^*	75.8(0.4)c	77.54(0.05)d	74.4(0.4)a	76.0(0.2)c	75.21(0.17)b
a^*	14.26(0.14)c	12.19(0.06)a	14.7(0.3)d	13.8(0.2)b	14.43(0.16)cd
b^*	24.98(0.15)b	23.84(0.14)a	23.8(0.8)a	24.5(0.3)ab	24.6(0.3)b
h_{ab}^*	60.28(0.11)c	62.92(0.03)e	58.39(0.3)a	60.7(0.05)d	59.63(0.12)b
C_{ab}^*	28.76(0.2)b	26.78(0.15)a	28.0(0.8)b	28.1(0.4)b	28.6(0.4)b
ΔE^*	---	3.24(0.11)	1.8(0.7)	1.0(0.9)	0.5(0.3)

Letras distintas en filas muestran diferencia significativa entre muestras para cada uno de los parámetros ($p < 0.05$).

II.3.2.3. Pomelo en polvo obtenido por atomización

La Tabla II.3.8, muestra los resultados obtenidos del análisis de humedad, dispersabilidad, solubilidad, humectabilidad, higroscopicidad y porosidad de los productos en polvo obtenidos por atomización del pomelo licuado y sus formulaciones.

Tabla II.3.8. Valores medios y desviación estándar (entre paréntesis) de la humedad (X_w : g agua/100 g polvo), dispersabilidad (D_s , unidades de DO), solubilidad (S_b ; %), mojabilidad (M_o : s), higroscopicidad (H_y : %) y porosidad (ϵ : %) de los polvos atomizados (PA) obtenidos a partir del licuado formulado con goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA).

Propiedad	PA (GA)	PA(GA+WPI)	PA(OSA)	PA(OSA+WPI)
X_w	2.86(0.10)b	3.47(0.12)bc	4.1(0.8)c	1.5(0.2)a
D_s	0.220(0.010)b	0.030(0.010)a	0.210(0.010)b	0.04(0.006)a
S_b	94.4(0.4)a	94.80(0.10)ab	96.70(0.10)c	95.3(0.2)b
M_o	294(6)c	223(11)b	149(11)a	216(15)b
H_y	2h 4.86(0.05)b	3.72(0.17)a	5.11(0.10)b	3.8(0.5)a
	24h 17.0(0.4)a	17.0(0.4)a	15.8(1.2)a	15.5(1.0)a
	48h 26.6(1.3)b	24.5(0.3)ab	25,2(1.2)b	23.9(1.5)a
ϵ	61.1(0.5)ab	66.0(1.3)b	64.1(4.4)b	58.3(3.9)a

Letras distintas en filas muestran diferencia significativa entre muestras para cada uno de los parámetros ($p < 0.05$).

Todas las muestras atomizadas presentaron valores de humedad entre 4.1 y 1.5 g agua/100 g polvo (Tabla. II.3.8). Aunque hubo diferencias significativas entre las muestras ($p < 0.05$) no parece que esto sea consecuencia de ninguno de los Bp en concreto. El índice de dispersabilidad de las muestras atomizadas fue menor para las muestras formuladas con cualquiera de las combinaciones de Bp que las que sólo presentaban un Bp en su formulación (Tabla II.3.8).

Aunque se encontraron diferencias significativas en los valores de solubilidad debido a la formulación, todos ellos fueron muy cercanos al 95% (Tabla II.3.8). En las muestras obtenidas mediante el proceso de atomización, los tiempos de mojado se encuentran entre 148.7 y 293.7 s (Tabla II.3.8). Los tiempos, por tanto, fueron largos en todos los casos, coincidiendo con los resultados obtenidos en otros estudios (Ji et al.,

2016) que afirman que la leche en polvo formulada con aislado de proteína de suero muestra una pobre humectabilidad. El proceso de atomización provoca un cambio en la superficie de las partículas del polvo que puede influir en su hidrofobicidad y, por tanto, en el comportamiento frente a la humectación (Fitzpatrick et al., 2016).

La higroscopicidad del pomelo en polvo obtenido por atomización aumentó de forma significativa ($p < 0.05$) con el tiempo, llegando hasta valores mayores del 25%, y fue menor cuando la muestra se formuló con una combinación de Bp. Como se ha mencionado anteriormente, los biopolímeros ayudan a disminuir la higroscopicidad del polvo y la mayor cantidad de ellos en las formulaciones combinadas puede favorecer este fenómeno.

De la misma manera que ocurrió en el caso de las muestras liofilizadas, el grado de apelmazamiento no se pudo determinar en las muestras atomizadas. Los valores de porosidad de las muestras atomizadas se encontraron en el intervalo 58-66%. Estos resultados se encuentran dentro del margen encontrado por Egas-Astudillo (2015), en otros polvos de pomelo obtenidos también por atomización. La Tabla II.3.9 muestra los parámetros de color obtenidos para las muestras de pomelo atomizadas.

Tabla. II.3.9. Coordenadas y atributos de color luminosidad (L^*), coordenadas (a^* y b^*), tono (h_{ab}^*) y croma (C_{ab}^*) de los polvos atomizados (PA) obtenidos a partir del licuado formulado con goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA).

Atributo	PA (GA)	PA(GA+WPI)	PA(OSA)	PA(OSA+WPI)
L^*	90.3 (0.2)a	91.77 (0.18)b	90.10 (0.15)a	91.5 (0.2)b
a^*	2.66 (0.16)c	1.49 (0.04)a	3.40 (0.15)d	2.36 (0.04)b
b^*	11.4 (0.5)c	9.02 (0.12)a	9.89 (0.19)b	8.57 (0.04)a
h_{ab}^*	76.9 (0.2)c	80.60 (0.18)d	71.0 (0.5)a	74.6 (0.3)b
C_{ab}^*	11.7 (0.5)c	9.14 (0.12)a	10.5 (0.2)b	8.89 (0.03)a

Letras distintas en filas muestran diferencia significativa entre muestras para cada uno de los parámetros ($p < 0.05$).

En la Tabla II.3.9 se observa que las formulaciones (GA+WPI) y (OSA+WPI) presentan la mayor luminosidad ($p < 0.05$) y los menores valores de a^* , b^* y C_{ab}^* , lo que indica que la combinación de biopolímeros y/o la adición de WPI influyen en mayor medida que la GA y la OSA por separado en los parámetros de color. Por otro lado, se

observa que el tono de las muestras aumentó de forma significativa ($p < 0.05$) al añadir WPI a las formulaciones.

II.3.3. Comparación entre los productos en polvo obtenidos por liofilización y atomización.

A partir de los resultados alcanzados en la caracterización del pomelo en polvo obtenido mediante los procesos de atomización y liofilización, se realizó una comparación para ver la influencia de la técnica de deshidratación en la calidad de éstos.

La humedad de los productos obtenidos varió entre 1.1 y 2.5 g de agua/100g de polvo para los productos liofilizados y entre 2.8 y 4.1 g de agua/100g de polvo para los atomizados. Así, los productos liofilizados fueron los que presentaron el menor contenido en agua ($p < 0.05$). No obstante, todos los polvos presentaron humedades normales para este tipo de productos.

La Fig. II.3.2a, muestra los valores de dispersabilidad obtenidos para todos los productos en polvo, liofilizados y atomizados. Se confirma cómo todos los Bp añadidos a las distintas formulaciones disminuyen la dispersabilidad ($p < 0.05$). Esta disminución es más acusada cuanto mayor es la cantidad de Bp añadida. Así, de todas las formulaciones, los polvos atomizados que llevaban sólo 4% de GA o de OSA fueron los de mayor Ds ($p < 0.05$) y los formulados con 4% de GA u OSA + 2% de WPI los de menor ($p < 0.05$). Los liofilizados que contenían un 4.76% de Bp en su formulación, mostraron Ds intermedias.

La solubilidad (Fig II.3.2b) se vio significativamente aumentada por la incorporación de Bp ($p < 0.05$), especialmente en el caso de los productos atomizados. Esto último podría explicarse por el presumible menor tamaño de partícula en estos casos y, por tanto, la mayor superficie de contacto con el agua. Las muestras atomizadas presentaron mayor tiempo de mojado ($p < 0.05$) que las liofilizadas (Fig. II.3.2c). De nuevo, el menor tamaño de partícula y la mayor superficie disponible justificaría este resultado.

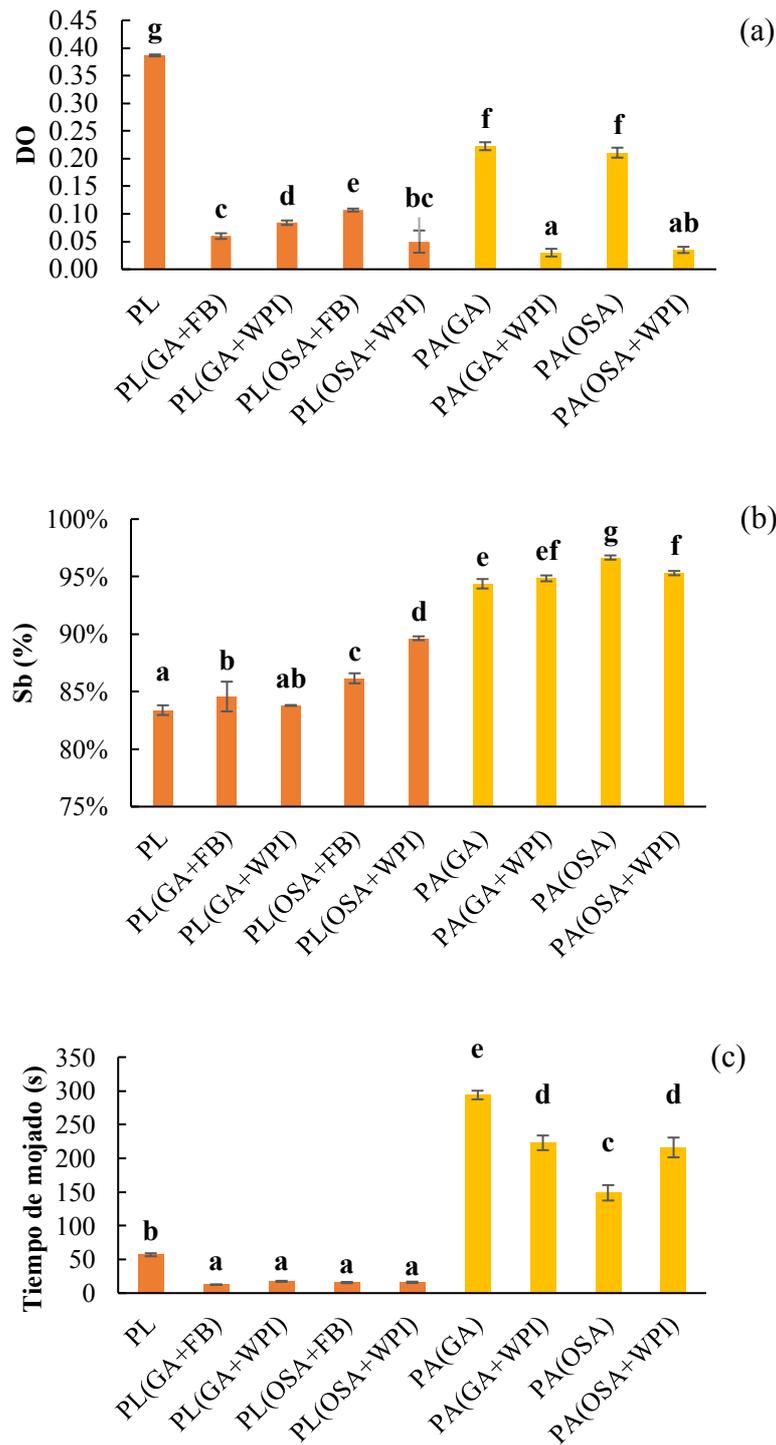


Figura II.3.2. Comparación de la dispersabilidad (a), solubilidad (b) y tiempo de mojado (c) en muestras de pomelo en polvo obtenidas por liofilización (PL, barras en naranja) y atomización (PA, barras en amarillo). Formulaciones con goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA). Letras distintas muestran diferencia significativa entre muestras para cada uno de los parámetros ($p < 0.05$).

La incorporación de Bp al licuado de pomelo provocó una disminución de la higroscopicidad de los correspondientes productos en polvo, en general, tanto mayor cuanto mayor es la cantidad de estos Bp ($p < 0.05$). Por su parte, los mayores valores de Hy de los productos atomizados, especialmente a tiempos cortos de humectación, pueden relacionarse, de nuevo, con su menor tamaño de partícula y mayor superficie disponible para la adsorción del agua (Tonon et al., 2008). Cuando aumenta el tiempo de humectación, las diferencias entre los dos tipos de productos disminuyen. Después de 48h, las muestras han ganado entre un 22 y un 27.4% de agua, presentando la menor higroscopicidad las muestras liofilizadas formuladas con OSA (Figura II.3.3).

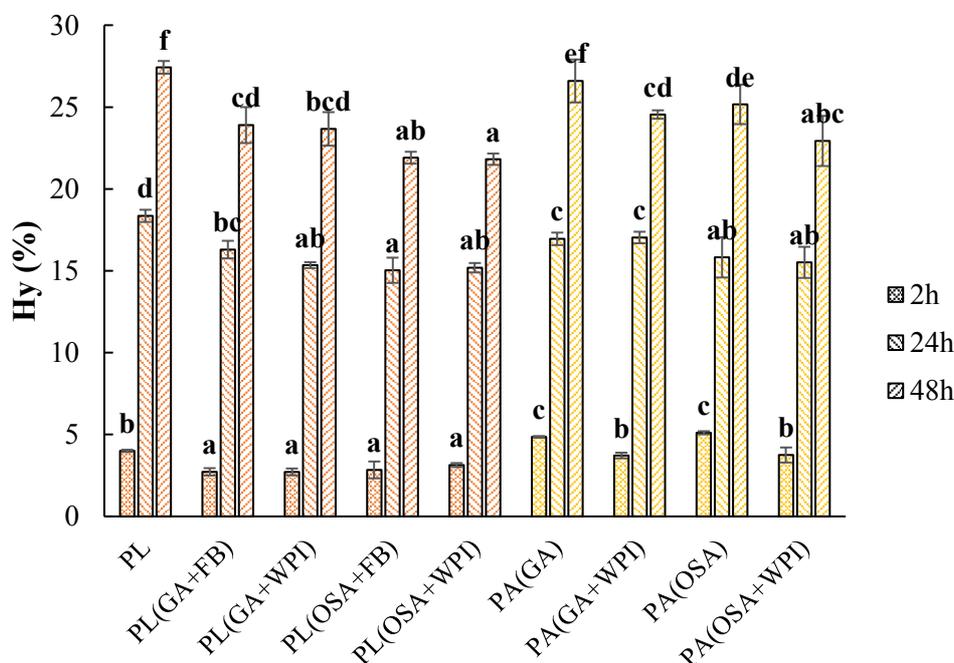


Figura II.3.3. Higroscopicidad (Hy) a diferentes tiempos (h) de los productos liofilizados (PL) y atomizados (PA). Formulaciones con Goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA). Letras distintas muestran diferencia significativa entre muestras ($p < 0.05$) para cada tiempo del ensayo.

Los productos liofilizados mostraron mayor porosidad que los atomizados ($p < 0.05$; Fig. II.3.4). Los mismos resultados encontraron Caparino et al. (2012) en polvos de mango liofilizado y atomizado. Autores como Karam et al. (2016) indican que los materiales liofilizados, en comparación con otros productos obtenidos mediante otros

métodos de deshidratación, se caracterizan por tener los valores más bajos de densidad aparente y mayor porosidad, debido a los poros que se generan por la sublimación del hielo formado, característica de la técnica.

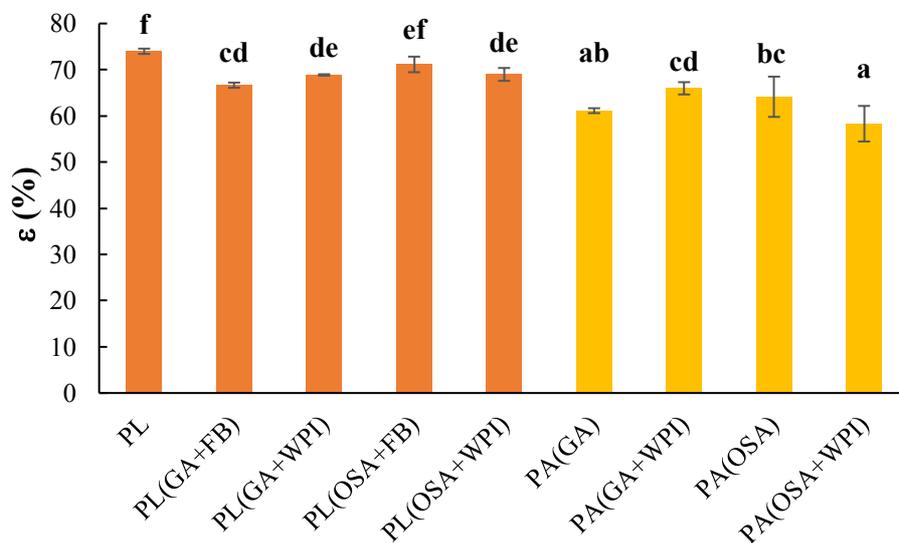


Figura II.3.4. Porosidad (ϵ) en muestras de pomelo en polvo obtenidas por liofilización (PL, barras en naranja) y atomización (PA, barras en amarillo). Formulaciones con goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA). Letras distintas muestran diferencia significativa entre muestras para cada uno de los parámetros ($p < 0.05$).

En la Fig. II.3.5 puede observarse cómo todos los polvos obtenidos por liofilización mostraron menor luminosidad (más oscuros), menor ángulo de tono (más anaranjados) y mayor pureza de color que los atomizados. El menor contenido en fibra natural de pomelo de los productos atomizados, junto con su menor tamaño de partícula y un posible efecto de la temperatura durante esta etapa en los carotenos responsables del típico color de este producto, pueden justificar las diferencias observadas.

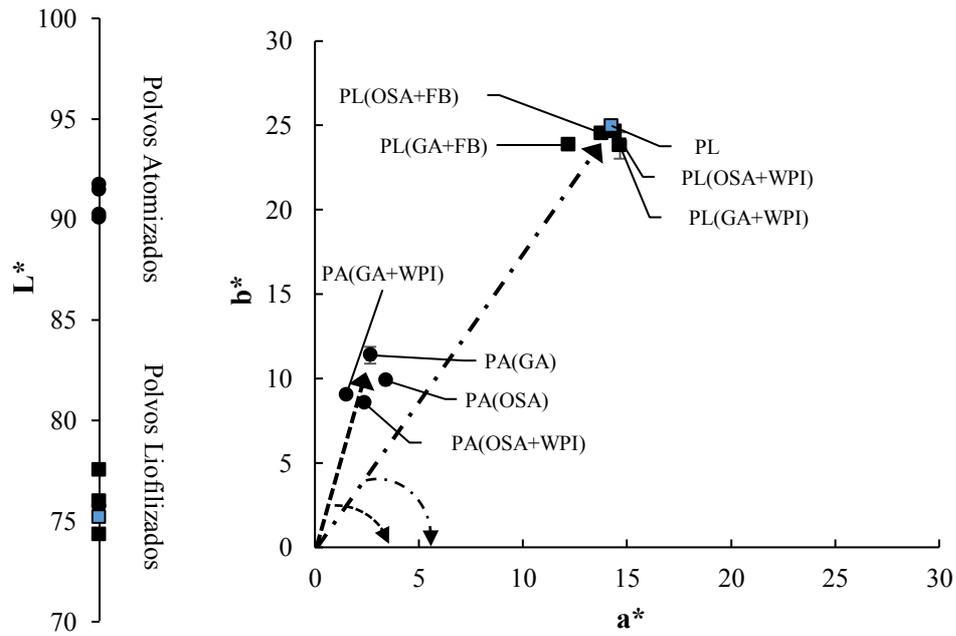


Figura II.3.5. Coordenadas y atributos de color L^* (luminosidad), a^* , b^* , C_{ab}^* (croma) y h_{ab}^* (tono) en las muestras de pomelo atomizadas (PA, círculos) y liofilizadas (PL, cuadrados), sin formular y formuladas con goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA). h_{ab}^* y C_{ab}^* aparecen indicados con flechas..

Las propiedades físicas en un producto en polvo y su evolución pueden determinar su posterior uso y manejo durante el almacenamiento. El análisis de los datos realizados hasta el momento permite establecer relaciones entre el procesado seguido para la obtención de los diferentes productos en polvo, tanto la formulación como el proceso, y sus propiedades físicas. Otra forma de visualizar estas relaciones es mediante un análisis factorial, herramienta que establece agrupaciones entre muestras, facilitando la interpretación de los resultados. En este caso, el análisis factorial nos permite relacionar los procesos con las propiedades de los productos obtenidos. Como se puede observar en la Fig. II.3.6, hay dos factores del análisis que representan el 92.1% de la variabilidad total. El primer factor (F1) representa el 73.5 % de la variabilidad y se encuentra asociado a L^* ($r=0.99$), a^* ($r=-0.99$), C^* ($r=-0.99$), b^* ($r=-0.98$), h^* ($r=0.96$), Mo ($r=0.94$), Sb ($r=0.93$), ϵ ($r=-0.81$). El factor 2 (F2) se encuentra asociado a Ds ($r=-0.94$) y Hy ($r=-0.92$), ambas en la parte negativa del eje. Se observan dos grupos diferentes correspondientes a las muestras liofilizadas (valores negativos de F1) y a las atomizadas (valores positivos de F1). Además, en el caso de los polvos liofilizados se puede diferenciar entre aquellos

que no llevan Bp (valores negativos de F2) y los que sí (valores positivos de F2). Para los atomizados también se observan dos grupos: los que incorporan en su formulación mezcla de biopolímeros (valores positivos de F2) y los que incorporan un solo biopolímero (valores negativos). Por tanto, esta metodología discrimina tanto el proceso (F1) como la formulación (F2). Este análisis de los datos confirma que los productos liofilizados se caracterizan por tener una mayor porosidad y valores mayores de a^* , b^* y Croma. La muestra más dispersable, pero también la más higroscópica fue PL. Sin embargo, los productos atomizados fueron más solubles, con mayor tiempo de mojado y presentaron valores superiores de tono y luminosidad, además de mayor higroscopicidad.

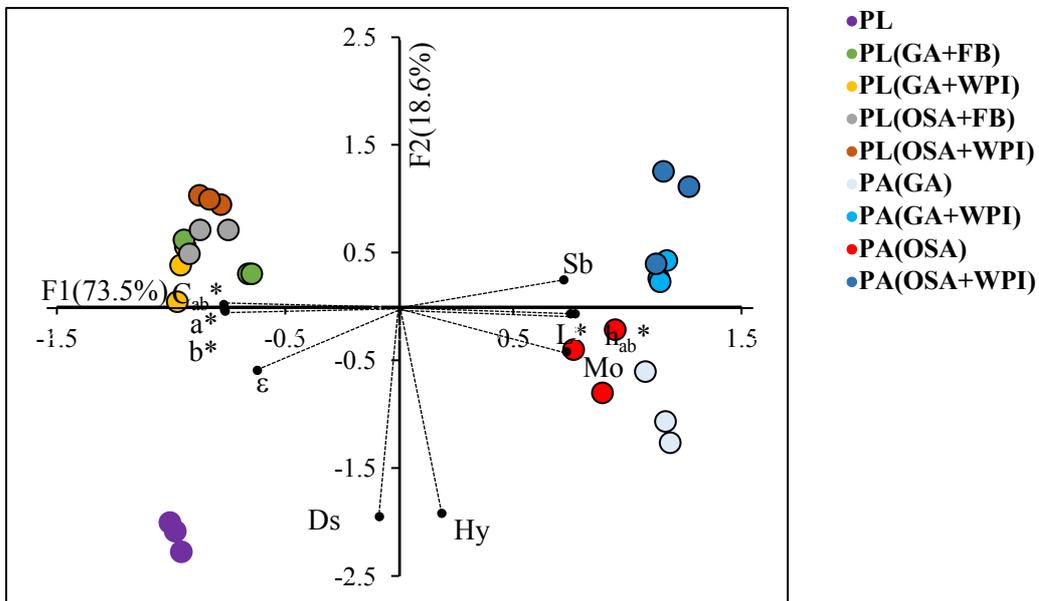


Figura II.3.6. Gráfico de análisis factorial para los productos en polvo obtenidos por liofilización (PL) y por atomización (PA): dispersabilidad (Ds), solubilidad (Sb), mojabilidad (Mo), higroscopicidad (Hy), porosidad (ϵ), luminosidad (L^*), coordenadas a^* y b^* , tono (h_{ab}^*) y croma (C_{ab}^*). Formulaciones con goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA).

II.3.4. Comportamiento de las muestras frente a la sorción de agua. Isotermas de sorción.

Los valores experimentales de humedad en el equilibrio a las diferentes HR de las muestras atomizadas y liofilizadas, que constituyen los datos de sorción de agua, se presentan en la Fig. II.3.7. El comportamiento sigmoidal presentado es el que se observa normalmente para alimentos (Roos, 1995; Yu and Li, 2012). La incorporación de Bp hace a las muestras menos higroscópicas, sin diferencias perceptibles entre ellas.

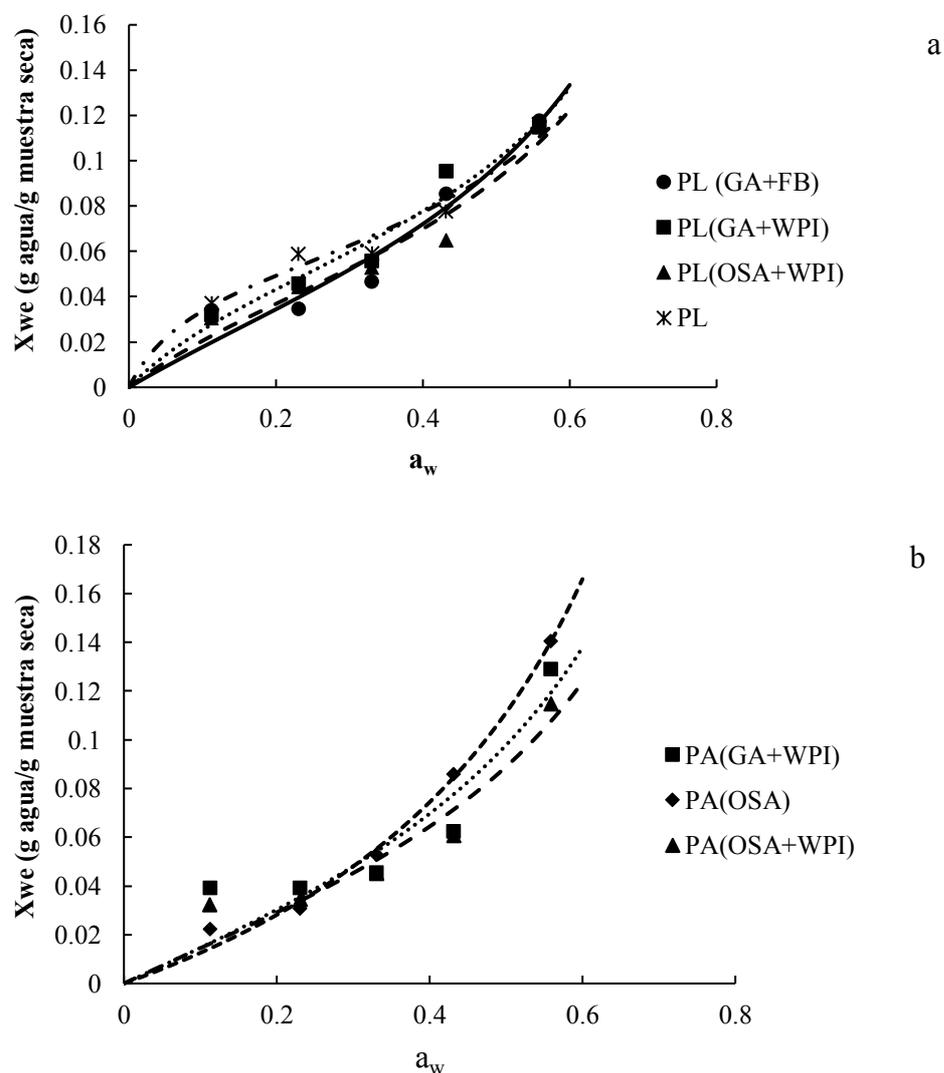


Figura II.3.7. Isotermas de sorción de los productos en polvo obtenidos por liofilización (PL) (a) y por atomización (PA) (b) de las formulaciones con goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA). Valores experimentales y modelo de BET ajustado.

Para poder predecir las propiedades de sorción de las muestras estudiadas, se ajustaron los valores experimentales al modelo de BET, tal y como se explicó en el apartado II.2.5.9, de materiales y métodos. La Tabla II.3.10, muestra los parámetros obtenidos del modelo. Los valores de R^2 (entre 0.84 y 0.99) indican la bondad del ajuste. La humedad de la monocapa (W_0) indica la cantidad de agua que se absorbe fuertemente a sitios activos de la superficie de los alimentos formando una única capa de moléculas y está, de alguna forma, relacionada con la estabilidad del alimento durante el almacenamiento (Goula and Adamopoulos, 2008). Los valores de C se relacionan con la fuerza de unión de las moléculas de agua a los sitios de unión primarios en la superficie del producto (Muzaffar and Kumar, 2016).

Tabla II.3.10. Parámetros del modelo BET (W_0 : contenido de agua en la primera capa (g de agua / g sólido seco); C : constante relacionada con la adsorción de calor de agua a la primera capa), y estadísticos del ajuste: coeficiente de determinación (R^2), suma del error al cuadrado (SSE), raíz del error cuadrático medio (RSME), para los polvos liofilizados PL y polvos atomizados PA.

Muestras	W_0 (g agua/g materia seca)	C	R^2	SSE	RMSE
PL(GA+FB)	0.066 (0.013)	2.9 (1.9)	0.930	3.8E-04	0.0112
PL(GA+WPI)	0.060 (0.007)	6 (3)	0.952	2.3E-04	0.0088
PL(OSA+FB)	0.039 (0.004)	2.1 (1.5)	0.883	2.5E-04	0.0091
PL(OSA+WPI)	0.056 (0.009)	4 (3)	0.934	2.9E-04	0.0098
PL	0.052 (0.004)	13 (7)	0.958	1.5E-04	0.0070
PA(GA)	0.055 (0.003)	6.6 (1.7)	0.988	5.0E-05	0.0041
PA(GA+WPI)	0.07 (0.03)	1.9 (1.9)	0.839	9.3E-04	0.0176
PA(OSA)	0.109 (0.016)	1.0 (0.3)	0.991	8.1E-05	0.0052
PA(OSA+WPI)	0.064 (0.017)	2.3 (1.8)	0.901	4.6E-04	0.0123

II.3.5. Rehidratación del polvo de pomelo liofilizado y atomizado

El pomelo en polvo obtenido por liofilización y atomización se rehidrató hasta el nivel de humedad de Tr y Lc formulados, añadiendo el agua perdida durante los correspondientes procesos, para obtener las muestras $Tr-Rh$ y $Lc-Rh$. Estas muestras presentaron un contenido en sólidos solubles de 12 °Brix en el caso del pomelo liofilizado y de 16 °Brix en el caso del atomizado. Se estudió el comportamiento frente a la

rehidratación de todas las muestras a partir del análisis del comportamiento reológico y de las propiedades ópticas.

La Figura II.3.8 presenta las curvas de flujo de las muestras Tr-Rh y Tr-Rh formuladas. Todas ellas mostraron un comportamiento pseudoplástico, de igual manera que las correspondientes muestras antes de liofilizar.

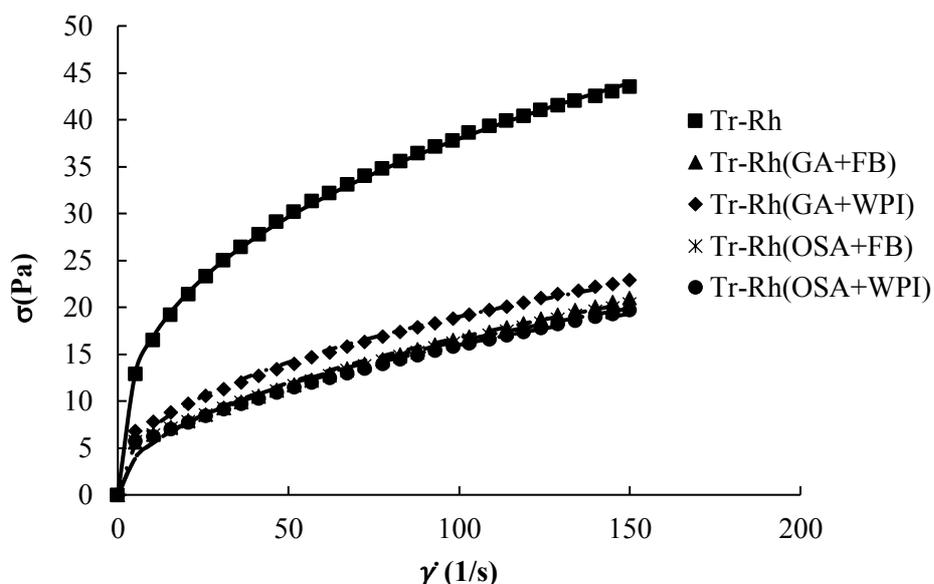


Figura II.3.8. Curvas de flujo del triturado de pomelo liofilizado y rehidratado (Tr-Rh) y sus formulaciones con goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA).

La Tabla II.3.11 muestra los parámetros reológicos obtenidos del ajuste del modelo de Ostwald-de-Waele (Ec. II.2.13) y los valores de viscosidad aparente calculados a partir de éstos a 100 s^{-1} (Ec. II.2.14). El coeficiente de correlación (R^2 entre 0.998 y 0.959) indica que el ajuste fue estadísticamente significativo en todos los casos. En todos los casos los valores de n fueron inferiores a 1, como era de esperar, confirmando el comportamiento pseudoplástico. k y η_{ap} presentaron valores menores, y sin apenas diferencias entre sí, en las muestras formuladas con Bp, que en la muestra Tr-Rh. Este comportamiento es inverso al de las muestras iniciales Tr y Tr formuladas (Tabla II.3.4). Por una parte, los mayores valores de viscosidad e índice de consistencia de las muestras formuladas antes de la liofilización podrían indicar que el proceso de liofilización, trituración y tamizado de los polvos influye en su viscosidad. No obstante, un estudio realizado anteriormente (Silva, 2015) demostró que el proceso de liofilización no tiene

una influencia significativa en la viscosidad del producto rehidratado; por lo que podemos atribuir esta disminución de la viscosidad al proceso de trituración de la torta liofilizada. De hecho, en otro trabajo anterior se pudo comprobar cómo a mayor tamaño de partícula después de la trituración, mayor viscosidad del producto rehidratado (Algarra et al., 2017). Por otra parte, las muestras formuladas liofilizadas y rehidratadas presentaron menor viscosidad que las liofilizadas y rehidratadas sin Bp. Esto podría indicar que los Bp favorecerían la trituración de la torta. Esto pudo ser comprobado en el laboratorio después de triturar y tamizar las diferentes muestras (datos no mostrados).

Tabla II.3.11. Valores medios y desviación estándar, entre paréntesis, del índice de comportamiento de flujo (n), índice de consistencia (k) y viscosidad aparente (η_{ap}) en muestras de pomelo triturado deshidratado (Tr-Rh) y sus formulaciones con goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA).

Muestra	n	k (Pa.s ⁻¹)	η_{ap} (Pa.s)
Tr-Rh	0.372(0.002) a	6.46(0.17) c	0.359(0.006) c
Tr-Rh(GA+FB)	0.429(0.006) d	2.17(0.08) a	0.157(0.007) a
Tr-Rh(GA+WPI)	0.402(0.009) b	2.8(0.2) b	0.181(0.007) b
Tr-Rh(OSA+FB)	0.424(0.003) cd	2.20(0.08) a	0.155(0.006) a
Tr-Rh(OSA+WPI)	0.418(0.004) c	2.23(0.10) a	0.153(0.004) a

Letras distintas muestran diferencia significativa ($p < 0.05$).

Las muestras Lc-Rh mostraron un comportamiento newtoniano. No hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la viscosidad de las diferentes formulaciones ($\mu = 0.0035 \pm 0.0002$ Pa.s), excepto en el caso de la muestra Lc-Rh(OSA+WPI) $\mu = 0.0028 \pm 0.0002$ (Pa.s). Todas ellas fueron significativamente ($p < 0.05$) menos viscosas que los licuados formulados preparados para atomizar. Por su parte, en general, las muestras licuadas y atomizadas-rehidratadas son menos viscosas que las trituradas y liofilizadas-rehidratadas.

En la Tabla II.3.12, se muestran los parámetros de color analizados de los productos en polvo obtenidos por liofilización y rehidratados. Las muestras formuladas y rehidratadas presentan mayores valores ($p < 0.05$) de a^* , b^* y C_{ab}^* y menores valores de L^* y h_{ab}^* que las muestras que no incluyen Bp en su formulación. Esto se traduce en que son más anaranjadas y más oscuras que las muestras sin Bp. Por otra parte, la diferencia

global de color entre las muestras rehidratadas formuladas y Tr-Rh presentaron valores del orden de 5.3 - 7.3 (Tabla II.3.13), >3 que, según Bodart et al. (2008) y You et al. (2018), es el valor a partir del cual empiezan a ser perceptibles por el ojo humano. Estos resultados confirman que la incorporación de biopolímeros afecta también al color de los productos rehidratados.

Tabla II.3.12. Valores medios y desviación estándar (entre paréntesis) de la luminosidad (L^*), las coordenadas a^* y b^* , el croma (C_{ab}^*), el tono (h_{ab}^*) y diferencia de color (ΔE^*) en muestras rehidratadas de pomelo liofilizado (Tr-Rh) y sus formulaciones con goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA).

Muestra	L^*	a^*	b^*	h_{ab}^*	C_{ab}^*	ΔE^*
Tr-Rh	34.1(0.5)c	12.92(0.15)a	19.2(0.5)a	56.1(0.6)d	23.2(0.4)a	
Tr-Rh(GA+FB)	32.13(0.19)b	17.93(0.07)c	21.38(0.13)d	50.02(0.07)c	27.90(0.14)c	5.8(0.4)
Tr-Rh(GA+WPI)	31.26(0.13)a	17.37(0.06)b	19.78(0.08)b	48.71(0.02)b	26.33(0.10)b	5.3(0.4)
Tr-Rh(OSA+FB)	33.74(0.09)c	19.78(0.08)e	21.8(0.3)d	47.8(0.3)a	29.4(0.3)d	7.3(0.5)
Tr-Rh(OSA+WPI)	31.75(0.04)b	18.83(0.04)d	20.63(0.11)c	47.62(0.1)a	27.93(0.11)c	6.5(0.3)

Letras distintas en columnas muestran diferencia significativa ($p < 0.05$).

En la Tabla II.3.13, se muestran los parámetros de color de los productos en polvo rehidratados obtenidos por atomización. Aunque se observan diferencias significativas en todos los casos ($p < 0.05$), no se observa una tendencia clara de la influencia del tipo de Bp.

Tabla II.3.13. Valores medios y desviación estándar (entre paréntesis) de las coordenadas L^* , a^* y b^* , y los atributos C_{ab}^* y h_{ab}^* en muestras rehidratadas de pomelo atomizado (Lc-Rh) y sus formulaciones con goma Arábica (GA), fibra de bambú (FB), aislado de proteína de suero de leche (WPI) y almidón modificado anhidro octenil succínico (OSA).

Muestra	L^*	a^*	b^*	h_{ab}^*	C_{ab}^*
Lc-Rh(GA)	20.18(0.005)a	5.24(0.02)c	11.66(0.06)b	65.80(0.19)b	12.78(0.05)b
Lc-Rh(GA+WPI)	21.93(0.09)b	4.34(0.09)a	11.8(0.3)b	69.80(0.07)d	12.57(0.30)ab
Lc-Rh(OSA)	23.00(0.15)c	6.65(0.01)d	12.48(0.001)c	61.96(0.01)a	14.13(0.01)c
Lc-Rh(OSA+WPI)	24.35(0.06)d	4.93(0.02)b	11.31(0.04)a	66.46(0.02)c	12.33(0.05)a

Letras distintas muestran diferencia significativa ($p < 0.05$).

Como otra forma de relacionar las muestras con los parámetros de color analizados se realizó, también en este caso, un análisis factorial (Fig. II.3.9).

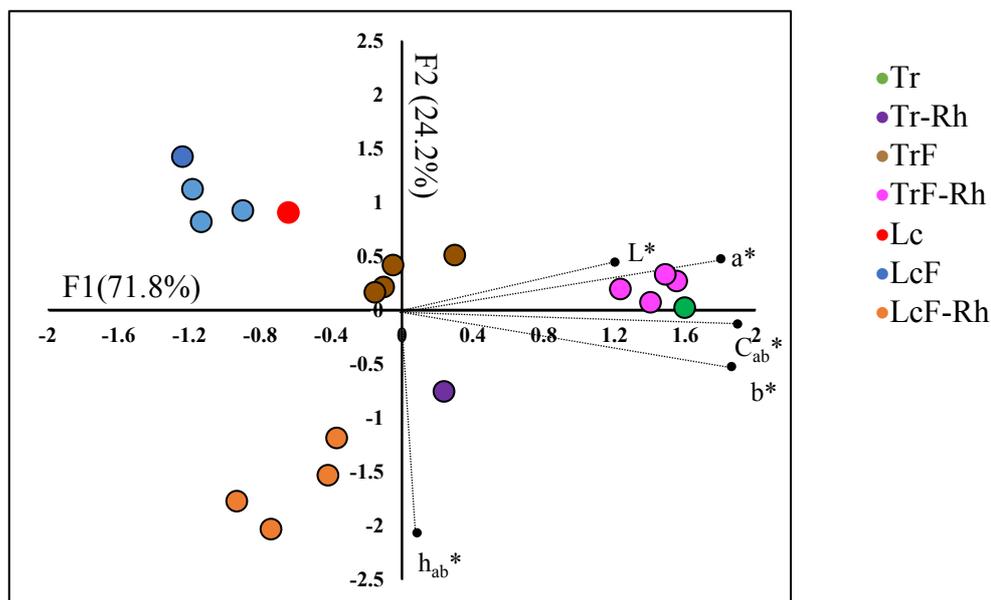


Figura II.3.9. Gráfico de análisis factorial para los productos triturados sin formular y formulados (Tr y TrF), liofilizados rehidratados sin formular y formulados (Tr-Rh y TrF-Rh), licuados sin formular y formulados (Lc y LF) y atomizados rehidratados (LcF-Rh). luminosidad (L^*), coordenadas a^* y b^* , tono (h_{ab}^*) y croma (C_{ab}^2).

De este análisis se obtuvieron dos factores que explican un 96 % de la variabilidad de los datos. El primer factor (F1) representa el 71.8 % de la variabilidad y está asociado a C_{ab}^2 ($r=0.98$), a^* ($r=0.98$), b^* ($r=0.94$) y L^* ($r=0.89$). El segundo factor (F2) representa el 24.2 % de la variabilidad y está principalmente asociado a h_{ab}^* ($r=-0.99$). F1 separa las muestras trituradas (valores positivos de F1) de las licuadas (valores negativos), presentando estas últimas menores valores de C_{ab}^2 , a^* , b^* y L^* . En general, las muestras trituradas sometidas a liofilización y posteriormente rehidratadas mostraron mayores valores de C_{ab}^2 , a^* , b^* y L^* , excepto el triturado rehidratado que no contiene biopolímeros. Por otro lado, F2 (asociado al tono de las muestras) separa las muestras licuadas (Lc) y las muestras sometidas a atomización y rehidratación después de ser licuadas (LcF-Rh), mostrando estas últimas mayores valores de tono.

II. 4. CONCLUSIONES

- El mayor contenido en fibra de las muestras trituradas, preparadas para la liofilización, frente a las licuadas, para la atomización, podría ser la causa de las diferencias encontradas entre ellas en cuanto al color y al comportamiento reológico. Éste fue pseudoplástico en el caso de los triturados y newtoniano en el caso de los licuados. Las muestras trituradas presentaron mayor consistencia que las licuadas.
- La incorporación de biopolímeros a las muestras, tanto licuadas como trituradas, provocó también un cambio de color significativo y un aumento de la consistencia, en todos los casos, sin observarse ninguna tendencia diferente en función del tipo de biopolímero.
- En el caso de los polvos obtenidos por liofilización, la incorporación de biopolímeros no afecta al color pero provoca un aumento de la humedad final. Por otra parte, tiene un efecto positivo sobre la dispersabilidad, la solubilidad, el tiempo de mojado y la higroscopicidad. Sin embargo, disminuye la porosidad, debido probablemente a que los biopolímeros podrían contribuir a la obtención de partículas más regulares en su forma, con el triturado, lo que permitiría un mejor empaquetamiento.
- Al comparar los polvos liofilizados con los atomizados, aunque todos los polvos presentaron humedades normales para este tipo de productos, los primeros son los más secos. La dispersabilidad parece más afectada por el contenido en biopolímeros que por el proceso. Ésta disminuye y de manera más acusada cuanto mayor es la cantidad de biopolímeros añadidos. Los polvos liofilizados presentaron mejor comportamiento al flujo en aire que los atomizados, con menor tiempo de mojado e higroscopicidad y mayor porosidad, aunque también presentaron menor solubilidad, debido probablemente a su mayor tamaño de partícula. Por otra parte, los polvos obtenidos por liofilización fueron más oscuros y más anaranjados que los atomizados. El menor contenido en fibra natural de

pomelo de los productos atomizados, junto con su menor tamaño de partícula y un posible efecto de la temperatura durante esta etapa en los carotenos responsables del típico color de este producto, pueden justificar las diferencias observadas.

- Los productos en polvo rehidratados mostraron, en todos los casos, menor viscosidad que antes de su deshidratación. Puesto que esto está relacionado con el tamaño de partícula, cuando se obtiene el polvo a partir del producto liofilizado es posible ajustar la viscosidad a lo deseado variando el grado de trituración. Por su parte, la presencia de los biopolímeros facilita esta trituración.
- Los resultados de esta parte del estudio permiten proponer a la liofilización como proceso para obtener un producto de pomelo con mejores propiedades, tanto en polvo como rehidratado, que el obtenido por atomización. Por su parte, si bien la incorporación de los biopolímeros es necesaria para facilitar el proceso y estabilizar al producto, no se han encontrado diferencias importantes entre las distintas formulaciones ensayadas, aunque sí que parece que su combinación favorece algunas de las propiedades del polvo, tales como la solubilidad, higroscopicidad, el tiempo de mojado y la dispersabilidad.

III. OBTENCIÓN DE UN SNACK DE POMELO POR LIOFILIZACIÓN

III.1. JUSTIFICACIÓN

En el apartado II se ha puesto de manifiesto que la liofilización parece proporcionar un producto en polvo de mejor calidad que la atomización. En esta parte del estudio, se ha considerado la posibilidad de obtener un producto liofilizado de pomelo tipo snack, con el fin de diversificar el proceso. Así, en este apartado se ha querido estudiar el impacto de las condiciones en que se lleve a cabo la liofilización en su duración y en la calidad del producto obtenido, tratando de disminuir el coste de la operación.

Entre las condiciones de liofilización, se han considerado tanto la velocidad de congelación y la presión y temperatura durante el secado, como la composición de la muestra. Por una parte, dado que la liofilización es una técnica de secado basada en la sublimación del agua de un producto previamente congelado, las condiciones en que se lleve a cabo la congelación van a condicionar la cantidad y tamaño de los cristales de hielo formados y, por tanto, la facilidad de su posterior eliminación lo que, a su vez, va a influir en las características del producto obtenido. Por otra parte, las condiciones durante la etapa de secado también van a afectar a su duración y a la calidad del producto. Como ya se ha comentado, para que ocurra la sublimación, es necesario trabajar por debajo del punto triple del agua, que es $p = 6.104 \text{ mbar}$ y $T = 0.0099 \text{ °C}$ (Roos, 1995). Además, para que se dé el fenómeno es necesario aportar, durante el proceso, el calor latente de sublimación. Esto puede permitir trabajar a temperaturas moderadas, con el fin de acortar el proceso, sin que la muestra modifique su temperatura durante esta etapa. No obstante, una vez terminada la sublimación la temperatura del producto comenzará a aumentar y su calidad podría verse afectada. Considerando ambos aspectos, es necesario estudiar la relación coste/beneficio del aumento de la temperatura durante el secado, siempre en relación con la presión de trabajo. Por último, por el problema de estabilidad que presentan los productos de fruta deshidratados ya comentado en la Introducción de esta Tesis, en relación con el colapso de su estructura, es necesaria la incorporación de biopolímeros u otros agentes estabilizantes. No obstante, éstos también pueden afectar a la cinética del proceso, además de al producto final.

El colapso es un fenómeno que incluye diferentes transformaciones estructurales dependientes del tiempo que ocurren, en alimentos en estado amorfo y en otros materiales biológicos, a temperaturas superiores a su temperatura de transición

vítrea. En muchas ocasiones, durante el secado de alimentos, éstos alcanzan un estado amorfo de no equilibrio termodinámico, gomoso o vítreo dependiendo de la temperatura a la que se encuentren en relación con su Tg. El estado vítreo se relaciona con una mayor viscosidad de la matriz que asegura mayor estabilidad. En el caso que nos ocupa, la pérdida de viscosidad asociada al estado gomoso se relaciona con la pérdida de la estructura del producto deshidratado, que supone cambios importantes de textura y el desarrollo de fenómenos de pegajosidad y apelmazamiento en el caso de productos en polvo. No obstante, se ha descrito que la viscosidad crítica que determina este colapso estructural se encuentra a una temperatura superior a Tg. Por ejemplo, en mezclas de sacarosa y fructosa, azúcares mayoritarios en las frutas, esto ocurre a aproximadamente 20 °C por encima de la temperatura al final de la transición vítrea (Roos, 1995). La Tg depende de la composición de la muestra, de manera que aumenta cuando aumenta el peso molecular promedio de los solutos y cuando disminuye su humedad. La Tg del pomelo deshidratado presenta valores bajos, del orden de las temperaturas convencionales de almacenamiento y consumo de estos productos a las correspondientes humedades relativas (Telis and Martínez-Navarrete, 2009). Es por eso que este producto en particular y las frutas en general, se encuentran en estado gomoso en estas condiciones, con el problema de calidad que esto supone. Como se ha mencionado en la Introducción, para evitar este problema, la incorporación de biopolímeros de alto peso molecular en su formulación se ha mostrado una técnica eficaz para el aumento de la Tg (Telis and Martínez-Navarrete, 2009). No obstante, si bien estos compuestos van a mejorar aspectos relacionados con el comportamiento reológico del producto, también pueden afectar a otras propiedades del mismo como su color.

Teniendo en cuenta todo lo anterior, es importante seleccionar la temperatura de liofilización para no sobrepasar la temperatura crítica antes mencionada, responsable del colapso estructural de la muestra formulada, teniendo en cuenta su humedad en cada momento del proceso. La Tg del pomelo anhidro está en torno a 45 °C y aumenta hasta casi 75 °C cuando se añade goma Arábica en proporción 1:1 respecto a los solutos propios del pomelo (Fabra et al., 2009; Telis and Martínez-Navarrete, 2009). Así, pensando en el caso más desfavorable, la temperatura crítica del pomelo anhidro y sin biopolímeros añadidos estaría próxima a 65 °C. Según los datos publicados por Telis and Martínez-Navarrete (2009), la Tg del zumo de pomelo con un 3 % de agua disminuye hasta 25 °C,

siendo entonces la temperatura conflictiva cercana a 45 °C. Teniendo en cuenta que, durante la liofilización, la temperatura del producto va aumentando hasta alcanzar la temperatura del ambiente y que 3 % es una humedad habitual en productos liofilizados, para este estudio se seleccionó 40 °C como la temperatura máxima de liofilización, asegurando la ausencia de colapso estructural en todo momento. Algunas experiencias previas permitieron confirmar este extremo.

En este Capítulo se ha estudiado, en primer lugar, el efecto de las condiciones de liofilización del puré de pomelo en la evolución de la humedad, espesor, porosidad y color del producto durante el proceso. En este caso se ha trabajado con el puré de la fruta sin biopolímeros añadidos. El objetivo perseguido en esta primera etapa era conocer el impacto de la velocidad de congelación y de la presión y temperatura durante el secado en la cinética del proceso y en la evolución de algunas propiedades del producto durante el mismo. Se trabajó a diferentes combinaciones de 2 velocidades de congelación, 3 presiones y 3 temperaturas. Los resultados obtenidos (apartado III.3.1) permitieron seleccionar algunas de estas combinaciones para abordar el estudio del impacto de la incorporación de goma Arábica y fibra de bambú (biopolímeros seleccionados en el) y de la temperatura durante el secado, en la cinética del proceso y en la calidad del producto obtenido. En este caso, como los resultados del apartado II de la Tesis no permitieron establecer diferencias importantes entre los distintos biopolímeros estudiados, se decidió continuar con la formulación con GA y FB, que fue la utilizada para la optimización de la misma (Agudelo et al., 2017). Los resultados correspondientes a esta parte son los que aparecen en el apartado III.3.2. Además, tratando de profundizar en los fundamentos de la liofilización aplicada a alimentos, se ha estudiado la evolución de la temperatura del producto durante el proceso, en función de las condiciones del mismo (apartado III.3.3).

III.2. METODOLOGÍA

III.2.1. Materias primas y preparación de la muestra

Se trabajó con pomelo (*Citrus paradisi*) de la variedad pigmentada Star Ruby, que se obtuvo en un mercado local (Valencia, España). Los frutos se seleccionaron en función de su tamaño, firmeza y ausencia de daño físico. Además, para las formulaciones,

se añadieron 2 biopolímeros de alto peso molecular goma Arábica (GA) Scharlab y Fibra de Bambú (FB) Vitacel® BAF 200.

De forma manual el pomelo se desprendió de su flavedo, albedo y eje central. Además de trocearlo, luego fue triturado a velocidad 4 por 40 s, seguido de velocidad 9 por 40 s, en un robot Thermomix Vorwerk TM-21 (España). El triturado se subdividió en dos partes: una se mantuvo tal cual, mientras que a la otra se le incorporaron los biopolímeros de acuerdo a una proporción previamente establecida (Agudelo et al., 2017): (4.2g GA + 0.58 g FB)/100 g puré pomelo. La homogenización de los biopolímeros con el triturado se realizó mediante un Thermomix Vorwerk TM-21 (España) a velocidad 2 por 300 s. De esta forma se consiguieron dos tipos de muestras: una sin biopolímeros añadidos (SB) y otra con (CB). Finalmente, se determinó la humedad (Estufa de vacío JP Selecta, España $60 \pm 1^\circ\text{C}$ y presión < 100 mm Hg) y el contenido en sólidos solubles (Refractómetro Mettler Toledo 30 PX, España).

III.2.2. Condiciones del proceso

III.2.2.1. Congelación

Para ello, las muestras se distribuyeron en bandejas de aluminio de 5.8 cm de diámetro y 1 cm de alto, con un peso aproximado de 27 g por recipiente. Se trabajó con dos equipos que, según Mascheroni (2012), aplican diferentes sistemas de congelación: un arcón congelador (sistema de congelación convencional por contacto indirecto) Liebherr LGT 2325 (Alemania), donde se mantuvieron las muestras durante 6 horas a -45°C (muestras codificadas con la letra c) y un abatidor (sistema rápido de congelación de contacto por aire) Hiber RDM051S (Italia) durante 3 horas a -38°C (muestras a). Durante la congelación, se registró la evolución de la temperatura cada 30 s, mediante un sistema inalámbrico que consta de un emisor de datos Datanet Logger DNL910A Fourtec (España) al cual se le acopla un termopar tipo K de 0.5 mm de diámetro (Thermocoax, España) que se coloca en el centro geométrico de la muestra a una altura de 0.5 cm y un receptor de datos Datanet Repeater DNR900 Fourtec (España) conectado a un ordenador (Fig.III.2.1). Este registro se hizo a 2 bandejas de cada muestra y proceso de secado, según se describe a continuación. Las muestras congeladas en el abatidor se almacenaron posteriormente en el arcón a -45°C hasta el secado.

III.2.2.2. Secado

Las muestras congeladas fueron secadas, a distintos tiempos (1.5, 3, 5, 7, 9, 12, 15, 18, 21 y 24 h, según los casos), en una cámara cilíndrica estándar (diámetro 215 x 300 mm de altura) de material acrílico, con tres estantes calefactados, acoplada a un liofilizador (Telstar Lyo Quest-55, España). En cada experiencia se secaron 3 bandejas, preparadas según lo descrito en el apartado III.2.2.1, que se colocaron en el estante central.

- *Primer ensayo*

En este primer ensayo se trabajó con puré de pomelo sin biopolímeros añadidos. Se utilizaron tres condiciones diferentes para realizar el secado, una sin calentar los estantes (secado a temperatura ambiente, muestras TA) y las otras dos calentándolos a 25 y 40 °C (muestras 25 y 40, respectivamente). Además, se trabajó con tres presiones en la cámara de secado (0.05, 0.5 y 1 mbar) y con los dos equipos de congelación descritos. En concreto, se procesaron seis tipos de muestras: (TA)c-0.05, (25)c-0.05, (40)c-0.05, (40)c-0.5, (40)c-1 y (40)a-0.05. A todas las muestras obtenidas se les analizó la humedad y se midió la porosidad superficial, el color y el espesor según se describe a continuación.

- *Segundo y tercer ensayo*

En estos 2 ensayos se trabajó con puré de pomelo sin y con biopolímeros añadidos que se congelaron siempre en el arcón. Se utilizaron dos condiciones diferentes para realizar el secado, una sin calentar los estantes (muestras TA) y la otra calentándolos a 40 °C (muestra 40). En ambos casos se mantuvo la presión de la cámara a 0.05 mbar. En este caso se procesaron cuatro tipos de muestras: SB(TA), SB(40), CB(TA) y CB(40). En el segundo ensayo se procesaron muestras a diferentes tiempos de secado, para estudiar su cinética. A las muestras obtenidas se les analizó, de nuevo, la humedad, la porosidad superficial, el color y el espesor según se describe en el apartado III.2.3.

Con los resultados obtenidos, se seleccionó, en cada caso, un tiempo de proceso para obtener un producto con una humedad entre un 2 y un 3 %. En el tercer ensayo se procesaron muestras a los tiempos seleccionados y se analizó su humedad, porosidad volumétrica, el color, propiedades mecánicas y vitamina C (en el apartado III.2.3). Además, en este ensayo se registró la evolución de la temperatura de las muestras de forma similar a la explicada en el punto anterior (Fig.III.2.1).

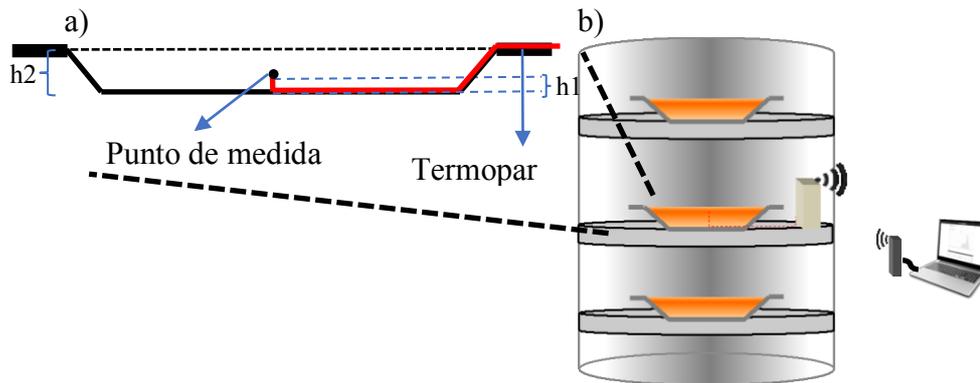


Figura III.2.1. a) Disposición del termopar (línea roja) en la bandeja durante la congelación y la liofilización (h2: espesor de muestra (1 cm); h1: ubicación del termopar (0.5 cm)). b) Disposición de la muestra en la cámara del liofilizador para el monitoreo de la temperatura durante el proceso.

III.2.3. Propiedades analizadas

III.2.3.1. Humedad

Al concluir cada experiencia de liofilización se determinó el contenido en agua de las muestras. Para ello, éstas se pesaron, con una precisión de 0.0001 g (Mettler Toledo XS204, España), inmediatamente después de sacarlas del liofilizador. La humedad fue determinada, por triplicado, aplicando la Ec. (III.2.1).

$$X_{wt} = \frac{m_o * X_w^o - (m_o - m_t)}{m_o * (1 - X_w^o)} \quad (\text{III. 2.1})$$

donde X_{wt} es la humedad de la muestra liofilizada a cada tiempo del proceso (g agua/g de solutos secos en la muestra liofilizada); m_o y X_w^o es la masa (g) y la humedad (g agua/g de muestra) de la muestra que entra al liofilizador, respectivamente; m_t es la masa (g) de la muestra liofilizada.

Las muestras, después de ser pesadas, se mantuvieron durante 15 min en un desecador con silicagel antes de proceder al análisis de las propiedades que se describen a continuación.

III.2.3.2. Porosidad superficial. Número de poros y distribución de su tamaño

Para poder establecer si existe relación o no entre la porosidad superficial de las muestras y las etapas del secado durante la liofilización (secado primario y secundario), se evaluó la cantidad y el tamaño (área) de los poros formados a cada tiempo de liofilización.

Para ello, se hicieron fotografías de las muestras a cada tiempo de liofilización, dos por experiencia de secado, con la ayuda de una cámara digital Canon EOS 350D, la cual se colocó en un soporte iluminado Kaiser RS2XA (Alemania), que permitió mantener las condiciones de distancia entre cámara y muestra (23 cm) y una iluminación diurna estándar (luz blanca de 6500K, Charbonnier et al., 2015) (Fig. III.2.2). Las imágenes se adquirieron con una abertura focal de 55 mm (Lente EFS 18-55) y en modo automático. Éstas se analizaron mediante el software Image J 1.51g (USA) (Broeke et al., 2015; Russ, 2005; Sahin and Gülüm, 2006), el cual utiliza el contraste entre las dos fases (poro y parte sólida) de la imagen. La calibración, en las condiciones utilizadas, fue 1 mm = 53.50 píxeles. En primer lugar, se realizó un sondeo general de las imágenes tomadas durante los diferentes tiempos de liofilización, tanto a condiciones (TA) como a 40 °C en el estante, para definir lo que se consideraría como poro, que finalmente fue todo aquello con un área comprendida entre 0.01- 2 mm² y una circularidad entre 0.35 – 1, donde 1 es un círculo perfecto. La imagen a color se transformó a escala de grises (8 bit), para luego aplicar un proceso de segmentación, que permitió la determinación del área de los poros formados. Para establecer las diferentes clases de intervalos de tamaño de poro a considerar, se seleccionó el valor mínimo y máximo de todas las áreas contabilizadas y se estableció una serie geométrica entre ellos considerando 18 intervalos. A partir de estos datos, se calculó el área media de los poros (Ec. III.2.2).

$$\bar{A} = \frac{\sum_i (A_i * F_i)}{\sum_i F_i} \quad (\text{III.2.2})$$

Donde \bar{A} es el área media (mm²), A_i es el área más grande del intervalo de área correspondiente (mm²), F_i es la frecuencia o número de poros de cada intervalo de área.

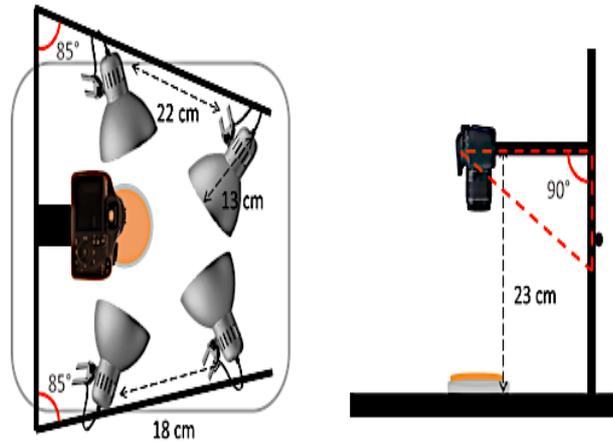


Figura III.2.2. Disposición de la cámara fotográfica y sistema de iluminación respecto a la muestra: vista superior y vista lateral.

III.2.3.3. Color

El color de las muestras se midió por triplicado. Se utilizó un espectrofotómetro de color MINOLTA CM 2600-D (Japón), provisto con una ventana de medición de 8 mm de diámetro, y colocando un vidrio óptico (CR-A51, Minolta Camera Co., Japan) sobre la muestra. Las coordenadas CIE $L^*a^*b^*$ se obtuvieron utilizando el iluminante D65 y el observador 10° como referencia. Con ellas se calcularon los atributos de color ángulo de tono (h_{ab}^*) y croma (C_{ab}^*), además de la diferencia global de color entre muestras (ΔE^*) (Ec. III.2.3-5, Hutchings, 1999).

$$h_{ab}^* = \arctg \frac{b^*}{a^*} \quad (\text{III.2.3})$$

$$C_{ab}^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{III.2.4})$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2} \quad (\text{III.2.5})$$

III.2.3.4. Espesor

A continuación, se midió el espesor de las muestras mediante un calibrador Vernier tipo CM (0.02 mm; 1/1000"). Para ello, después de su liofilización, se retiró la torta de la bandeja que la contenía y se procedió a medir su espesor, aleatoriamente, en diferentes puntos de la muestra (diez en total), calculando su valor medio.

III.2.3.5. Porosidad volumétrica

La porosidad (ε) de las muestras se estimó a partir de la densidad aparente (ρ_a) y la densidad real (ρ) mediante el uso de las ecuaciones (III.2.6-8) (Datta, 2007). Para determinar la densidad aparente (Ec.III.2.7), se usó un sacabocados cilíndrico de 12 mm de radio (r) para obtener una pieza de cada muestra que se pesó (W , balanza analítica Mettler Toledo XS204, España) y a la que se midió, por triplicado, la altura (h), con ayuda de un calibrador Vernier CM (0.02 mm; 1/1000 "). Esto se realizó por triplicado. La densidad real de cada muestra se calculó a partir de la fracción másica y la densidad, a 20 °C, del agua (X_w (apartado III.2.3.1); $\rho_w=0.9976$ g/cc) y carbohidratos ($X_{CH}=1-X_w$; ρ_{CH} 1.4246 g/cc) (Ec. III.2.8,Choi and Okos, 1986).

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho} \quad (\text{III. 2.6})$$

$$\rho_a = \frac{W}{\pi * r^2 * h} \quad (\text{III. 2.7})$$

$$\frac{1}{\rho} = \frac{X_w}{\rho_w} + \frac{X_{CH}}{\rho_{CH}} \quad (\text{III. 2.8})$$

III.2.3.6. Propiedades mecánicas

A las muestras liofilizadas se les realizó un análisis de punción-compresión mecánica, a 20 °C, utilizando un analizador de textura TA-XT Plus (Stable Micro Systems, Ltd., Reino Unido), provisto de una sonda cilíndrica (P/1KD) de 10 mm de diámetro. Las mismas piezas de cada muestra obtenidas para la medición de la densidad aparente se comprimieron uniaxialmente a lo largo del eje vertical hasta el 80% de su

espesor a una velocidad de 1 mm/s. El análisis de las curvas de fuerza en función de la distancia se realizó con el software Exponent 6.1.11.0. Cada muestra se midió por triplicado.

III.2.3.7. Contenido en vitamina C

La vitamina C (VC) se determinó, por duplicado, mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) (Jasco, Italia). Para el análisis se procedió a la reducción del ácido dehidroascórbico al ácido ascórbico, usando DL-ditiotreitol (Scharlab SL, España) como reactivo reductor, y a la extracción con ácido oxálico al 0.1 % (Scharlab SL, España) (Igual et al., 2014b; Xu et al., 2008). Las condiciones del HPLC fueron: columna KROMAPHASE100-C18 de 5 mm (4.6 x 250 mm) (Scharlab S.L, España); fase móvil 0.1% de ácido oxálico, inyección de volumen 20 µL, caudal de 1 ml/min, detección a 243 nm (detector UV-visible MD - 1510 DAD) y a 25 °C. El contenido de vitamina C se calculó como mg de ácido ascórbico por 100 g de solutos propios del pomelo (mg AA/100 gGS, Agudelo et al., 2017).

III.2.4. Análisis estadístico

Con el fin de analizar las diferencias significativas ($p < 0.05$) entre procesos y muestras, se realizaron análisis de la varianza (ANOVA) aplicando el test LSD al 95% (least significant difference). Se utilizó el programa software Minitab® 16.2.2

III.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.3.1. Efecto de las condiciones de liofilización en la evolución de la humedad, espesor, porosidad superficial y color del producto

La formación del frente de sublimación empieza en la superficie del producto y avanza hacia su interior a medida que avanza el secado. El vapor generado durante la sublimación del núcleo congelado y por desorción durante el secado secundario, tiene que escapar de la matriz. A este proceso se le denomina resistencia de la torta seca al flujo de vapor de agua (Pikal, 1994). Esta resistencia va a condicionar la cinética del proceso y la evolución de algunas propiedades morfogeométricas de la torta liofilizada.

Los resultados que se muestran en este apartado corresponden al primer ensayo descrito en el apartado III.2.2.2 de material y métodos. Como figura en ese apartado, esta parte del estudio se llevó a cabo con muestras de puré de pomelo que fueron congeladas, bien en arcón o bien en abatidor, y secadas a diferentes combinaciones de presión (1, 0.5 ó 0.05 mbar) y temperatura en el estante del liofilizador (ambiente, 25 ó 40 °C). La humedad y sólidos solubles de los diferentes lotes de triturado de pomelo utilizados para esta parte del estudio variaron entre 88.2 ± 0.6 - 86.7 ± 0.2 g agua / 100 g muestra y 10.73 ± 0.06 - 12.34 ± 0.06 °Brix, respectivamente. Se liofilizaron muestras a distintos tiempos de secado, con el fin de conocer su cinética y la evolución de las propiedades mencionadas durante el mismo.

III.3.1.1. Evolución de la humedad

La variación de la humedad de las muestras permitió modelizar la cinética de secado en base a la evolución de la relación de humedad a cada tiempo respecto a la inicial (Ec. III.2.1 y III.3.1). Para ello se utilizó el modelo de Page modificado (Ec. III.3.2). Algunas pruebas preliminares realizadas en este estudio demostraron que éste era el mejor modelo en nuestro caso. Este modelo también se ha utilizado, por ejemplo, en el caso del secado de naranja, aronia negra (*Aronia melanocarpa*) o ciruelas enteras (Calín-Sánchez et al., 2014; Michalska et al., 2016). La humedad de equilibrio (X_{we}) en la (Ec. III.3.1) se supuso despreciable ya que las muestras, después de 24h de secado, mostraron una humedad entre 1.6 y 1.8 g agua/100 g muestra, lo cual es suficientemente bajo como para

considerar que no afecta prácticamente al valor de MR (Azzouz et al., 2002; Simal et al., 2005; Simpson et al., 2017). El ajuste se realizó utilizando el software MATLAB R2015b.

$$MR = \frac{X_{wt} - X_{we}}{X_{wo} - X_{we}} \approx \frac{X_{wt}}{X_{wo}} \quad (\text{III. 3.1})$$

Donde X_{wt} , X_{wo} y X_{we} indican el contenido de agua (g agua / g solutos secos en la muestra) en el tiempo t de secado (valor medio de las 3 repeticiones), tiempo 0 y en el equilibrio, respectivamente.

$$MR = a * e^{-k*t^n} \quad (\text{III. 3.2})$$

Donde k , n y a son las constantes del modelo y t el tiempo de secado (h).

La evolución experimental de MR durante el secado de las muestras procesadas en las distintas condiciones se presenta en la Fig. III.3.1.1, junto con los valores predichos por el modelo modificado de Page ajustado (Ec. III.3.2).

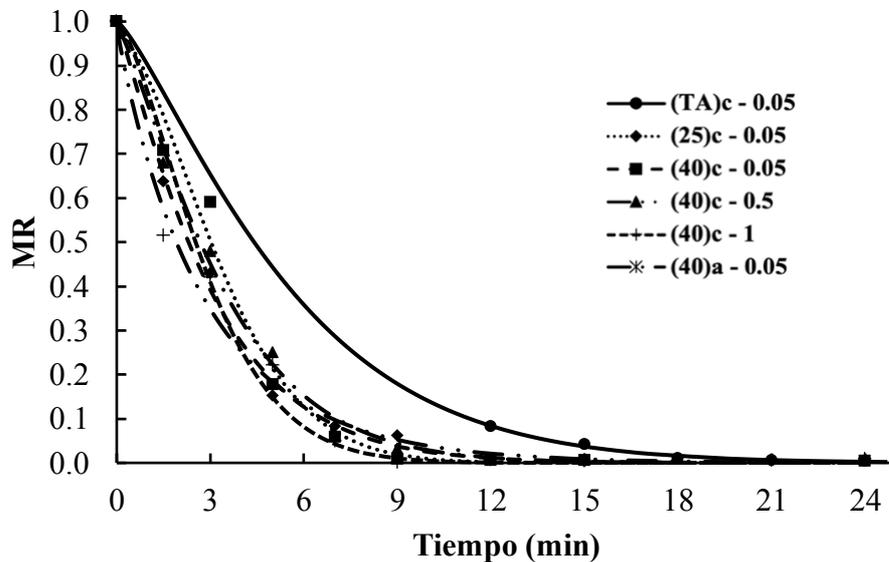


Figura III.3.1.1. Evolución de la humedad relativa (MR, Ec. III.3.1) con el tiempo de secado por liofilización en función de las condiciones de proceso. Valores experimentales y predichos por el modelo de Page modificado. Congelación en arcón (c) o en abatidor (a); secado a temperatura ambiente (TA), 25 °C (25) ó 40 °C (40) en el estante del liofilizador y presión 1, 0.5 ó 0.05 mbar.

Conviene remarcar en este punto que para la experiencia realizada a temperatura ambiente sólo se consideraron 5 tiempos de secado a partir de las 12 h, mientras que, por la evolución de MR observada en este caso, para el resto de experiencias se obtuvieron muestras también a tiempos de secado más cortos.

Los parámetros del modelo ajustado a la media de las 3 bandejas liofilizadas a cada tiempo de secado, junto con los estadísticos, se muestran en la Tabla III.3.1.1 El coeficiente de determinación (R^2) se encuentra entre 0.999 y 0.983 y los valores de la suma del error al cuadrado (SSE) y de la raíz del error cuadrático medio (RSME) son muy próximos a 0, lo que indica la bondad del ajuste. La constante k del modelo de Page modificado se relaciona con la velocidad del secado y la constante n representa una modificación empírica del tiempo de proceso (Simal et al., 2005). Ambos parámetros dependen del proceso, del tipo de muestra y de su resistencia al transporte de masa hacia el exterior, consecuencia de su microestructura y porosidad (Benlloch-Tinoco et al., 2013; Calín-Sánchez et al., 2014). Valores altos de k y de n suponen mayor velocidad de secado (Benlloch-Tinoco et al., 2013). La constante a está relacionada con la relación entre el contenido de agua de la muestra cuando comienza el proceso de secado por liofilización respecto al presente en el momento de colocarla en el liofilizador. Valores de $a < 1$ pueden estar relacionados con el proceso de enfriamiento al vacío, similar a la evaporación instantánea, que permitirían una pérdida de agua al inicio del secado más rápida de lo esperado (Brutin, 2015).

Tabla III.3.1.1 Constantes del modelo de Page modificado (k , n y a) en función de las condiciones de proceso; coeficiente de determinación (R^2), suma del error al cuadrado (SSE), raíz del error cuadrático medio (RSME) del modelo. Tiempo (t) necesario para alcanzar 0.03 g de agua/ g de muestra.

Condiciones^(*)	k	n	a	R^2	SSE	RSME	t (h)
(TA)c-0.05	0.105	1.272	1.000	0.9999	0.00005	0.004	22.4
(25)c-0.05	0.266	1.143	0.998	0.9984	0.00170	0.016	13.8
(40)c-0.05	0.109	1.630	0.972	0.9931	0.00799	0.036	11.0
(40)c-0.5	0.199	1.251	0.991	0.9937	0.00453	0.039	14.1
(40)c-1	0.371	0.942	0.990	0.9839	0.01518	0.050	17.0
(40)a-0.05	0.172	1.494	0.996	0.9955	0.00464	0.030	10.0

^(*) Congelación en arcón (c) o en abatidor (a); secado a temperatura ambiente (TA), 25 °C (25) ó 40 °C (40) en el estante del liofilizador y presión durante el secado 1, 0.5 ó 0.05 mbar.

Como puede observarse en la Tabla III.3.1.1, los valores más altos de k no se corresponden con los más altos de n , por lo que resulta difícil, sólo con estos valores, aventurar en qué casos es más o menos rápida la cinética de secado. Por este motivo se calculó el tiempo necesario para conseguir en las muestras una humedad de 0.03 g agua/g muestra (Tabla III.3.1.1), ya que la humedad habitual en productos liofilizados está entre un 2 y un 3 %. El menor tiempo obtenido corresponde a los procesos de secado realizados a la presión más baja y temperatura más alta, sin que se observe un efecto importante de la velocidad congelación. Tanto la disminución de la temperatura como el aumento de la presión suponen mayor tiempo de proceso. Considerando los tiempos calculados para conseguir el 3 % de humedad en el producto liofilizado, el hecho de secar a 25 °C supone un aumento de tiempo respecto a hacerlo a 40 °C del mismo orden que el hecho de secar a 40 °C y aumentar la presión de 0.05 a 0.5 mbar: 25 y 28 % respectivamente. Por su parte, secar a temperatura ambiente aumenta el tiempo en un 104 % respecto a hacerlo a 40 °C, mientras que aumentar la presión hasta 1 mbar manteniendo 40 °C incrementa en un 55 % el tiempo de secado. Por lo tanto, mantener la presión de trabajo tan baja como sea posible es importante para minimizar la duración del proceso y con ello su coste. En este mismo sentido, lo que parece menos recomendable es secar a temperatura ambiente. Conviene aplicar calor durante esta etapa, si bien, en este caso, el límite de temperatura vendrá dado por su efecto en la calidad del producto. Aspectos como el impacto en compuestos termolábiles o como el posible colapso de la estructura del producto al trabajar a temperaturas superiores a su temperatura de transición vítrea tendrán que ser tenidos en cuenta. En el apartado III.3.2. se abordan estas cuestiones.

III.3.1.2. Evolución del espesor

El avance del frente de sublimación en el producto, desde el exterior hacia el interior de la torta, pudo identificarse por la formación de una película seca que, a tiempos cortos del secado, pudo retirarse del resto, aún congelado, con relativa facilidad. Esto fue así antes de las primeras 5 h de secado en todas las muestras excepto en la secada a temperatura ambiente, que pudo separarse la película hasta antes de las 12 h. A partir de esos tiempos, la torta, aunque en algunos casos seguía parcialmente congelada, ya podía desmoldarse con relativa facilidad de la bandeja, lo que permitió medir su espesor (Figura

III.3.1.2). Como puede observarse en la Figura, todos los valores se encuentran por debajo de 1 cm, que era el espesor de la muestra antes de su liofilización, especialmente los tiempos más cortos. Este comportamiento responde al estado parcialmente congelado de estas muestras y al hecho de que la medida de espesor se hacía aproximadamente 15 min después de haber sido sacadas del liofilizador. Durante este tiempo, el hielo presente fundía y la muestra perdía espesor. A medida que avanza el tiempo de secado, se observa un aumento del espesor tanto mayor cuanto menor es la cantidad de hielo residual. En este sentido, es de esperar que el valor asintótico de espesor máximo se alcance cuando haya terminado la etapa de sublimación. De hecho, esto ocurre antes en las muestras secadas a 40 °C que en las de 25 °C y TA. En todos los casos el espesor final fue inferior al inicial, en relación con la pérdida de agua de la muestra y el desarrollo de la porosidad. En concreto, al secar a 40 °C las muestras quedaron con un espesor de aproximadamente 0.9 cm, en tanto que muestras procesadas a temperatura ambiente quedaron con 0.77 cm. Esto estaría indicando una mayor porosidad en las muestras al aumentar la temperatura de secado. Por su parte, los resultados nos muestran un efecto de la velocidad de congelación. Una congelación más rápida, como supuestamente es la del abatidor, permitirá la formación de cristales de hielo de menor tamaño que sublimarán con mayor facilidad, lo que se corresponde con espesores mayores alcanzados a tiempos de secado intermedios. En el caso de la presión, no se observa un efecto claro.

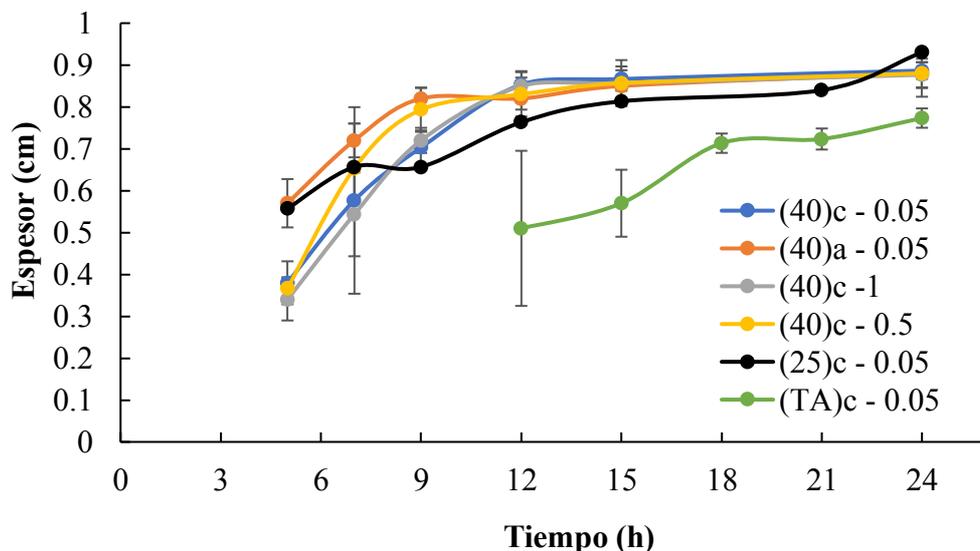


Figura III.3.1.2. Evolución del espesor de las muestras con el tiempo de liofilización a las diferentes condiciones: congelación en arcón (c) o en abatidor (a); secado a temperatura ambiente (TA), 25 °C (25) ó 40 °C (40) en el estante del liofilizador y presión durante el secado 1, 0.5 ó 0.05 mbar.

III.3.1.3. Evolución del número y tamaño de poros superficial

Como ya se ha mencionado, la liofilización es una técnica que daña mínimamente la estructura celular de los alimentos (Khalloufi and Ratti, 2003). Además, una característica propia de este tipo de productos es su elevada porosidad, la cual puede verse estrechamente afectada por las condiciones de proceso empleadas, tanto durante la congelación como durante el secado (Kasper and Friess, 2011). La porosidad superficial, es decir el número y el tamaño de poros observados en la superficie, está relacionada con la porosidad global de la muestra y podría proporcionar información sobre el estado del producto durante el proceso de una manera sencilla. Con el fin de disponer de información en este sentido, se tomaron imágenes del producto a diferentes tiempos de secado para su análisis en cuanto al desarrollo de la porosidad superficial.

En primer lugar, en la Figura III.3.1.3, se muestra el procesamiento de la imagen por parte del software utilizado: transformación de la imagen a color (Fig. III.3.1.3a), a escala de grises (Fig. III.3.1.3b) y posterior segmentación. Este proceso nos permite obtener una máscara, la cual se somete a un proceso de reducción de ruido para eliminar valores atípicos. El acople de la máscara con la imagen inicial permitió la determinación del área de los poros formados (Fig. III.3.1.3c).

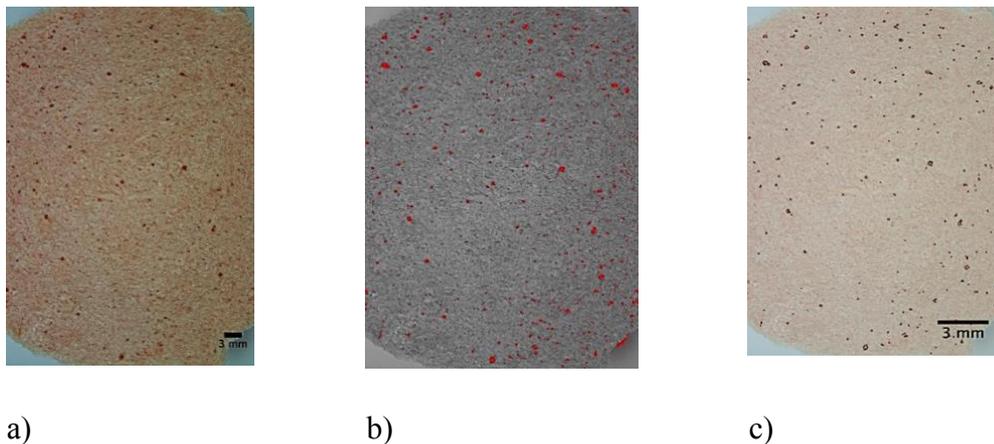


Figura III.3.1.3. Ejemplo del procesamiento de la imagen por el software ImageJ 1.51g para su análisis: imagen original (a), transformada a escala de grises (b) y tras el proceso de segmentación y reducción del ruido (c).

La Figura III.3.1.4, muestra la distribución del tamaño de poro superficial de cada una de las muestras estudiadas a cada tiempo de liofilización. Cabe mencionar que, para las muestras secadas sin aplicar calor al estante y las procesadas a 25 °C, sólo pudieron tomarse imágenes a partir de las 12 y 5 h de proceso, respectivamente, por lo que para ellas se consideró, adicionalmente, la imagen tomada a 18 y/ó 21 h. Para mostrar con mayor detalle la evolución de la formación de los poros se muestran, como ejemplo, la Figura III.3.1.5, que presenta la evolución del tamaño de poro superficial a diferentes tiempos de liofilización para las muestras (40)c-0.05 y (40)c-1, y la Figura III.3.1.6, correspondiente a la distribución del tamaño de poro superficial de las diferentes muestras estudiadas, en concreto, las secadas durante 12 ó 15 h. Además, en la Tabla III.3.1.2, se muestra la evolución del número total de poros con el tiempo. Con toda esta información se caracterizó, para cada muestra y tiempo de secado, la moda y mediana de su correspondiente distribución de tamaño de poro y se calculó el tamaño medio de poro (Tabla III.3.1.2).

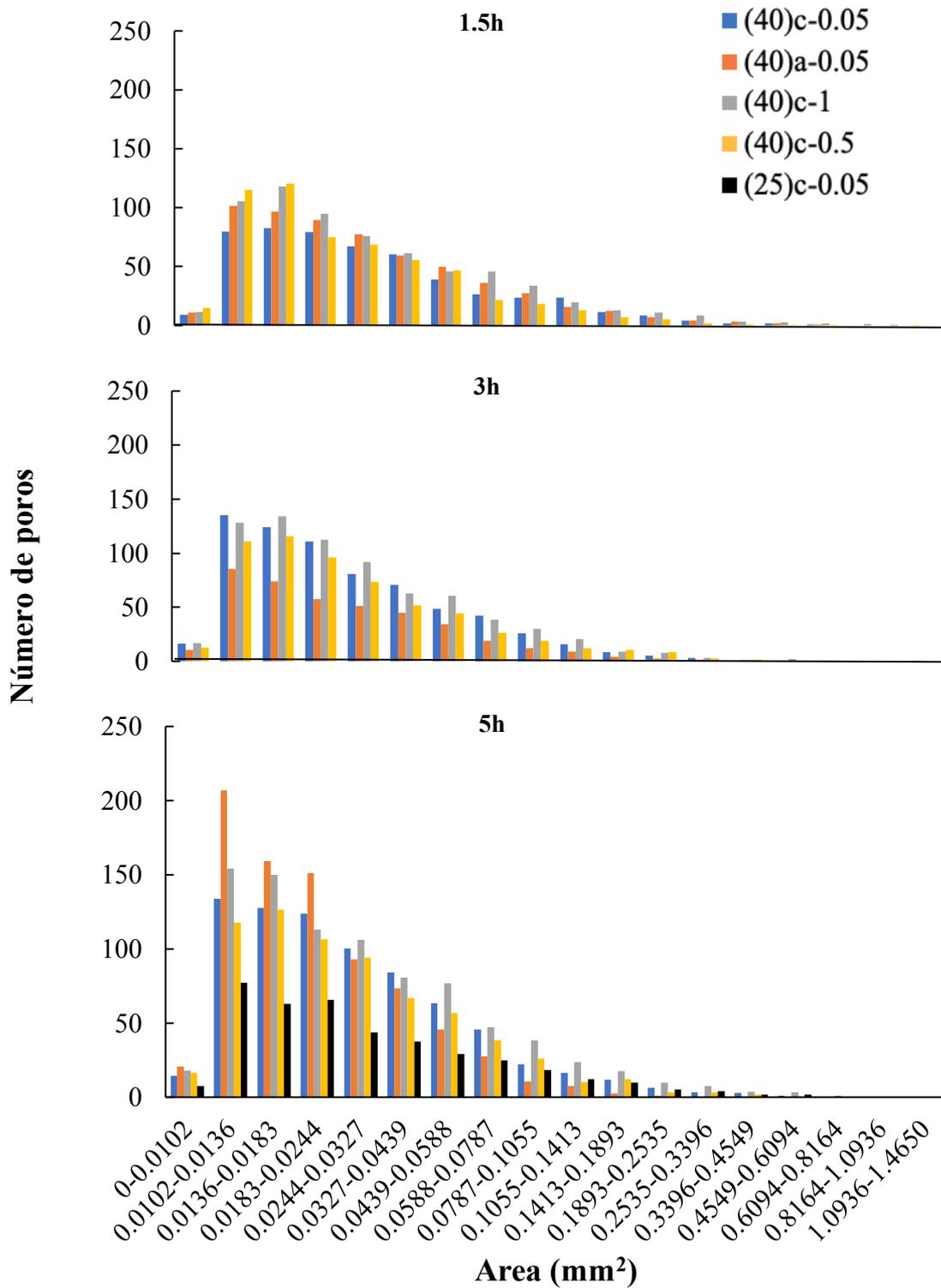


Figura III.3.1.4. Distribución del tamaño de poro superficial en las muestras liofilizadas durante diferente tiempo a las diferentes condiciones: congelación en arcón (c) o en abatidor (a); secado a temperatura ambiente (TA), 25 °C (25) ó 40 °C (40) en el estante del liofilizador y presión durante el secado 1, 0.5 ó 0.05 mbar.

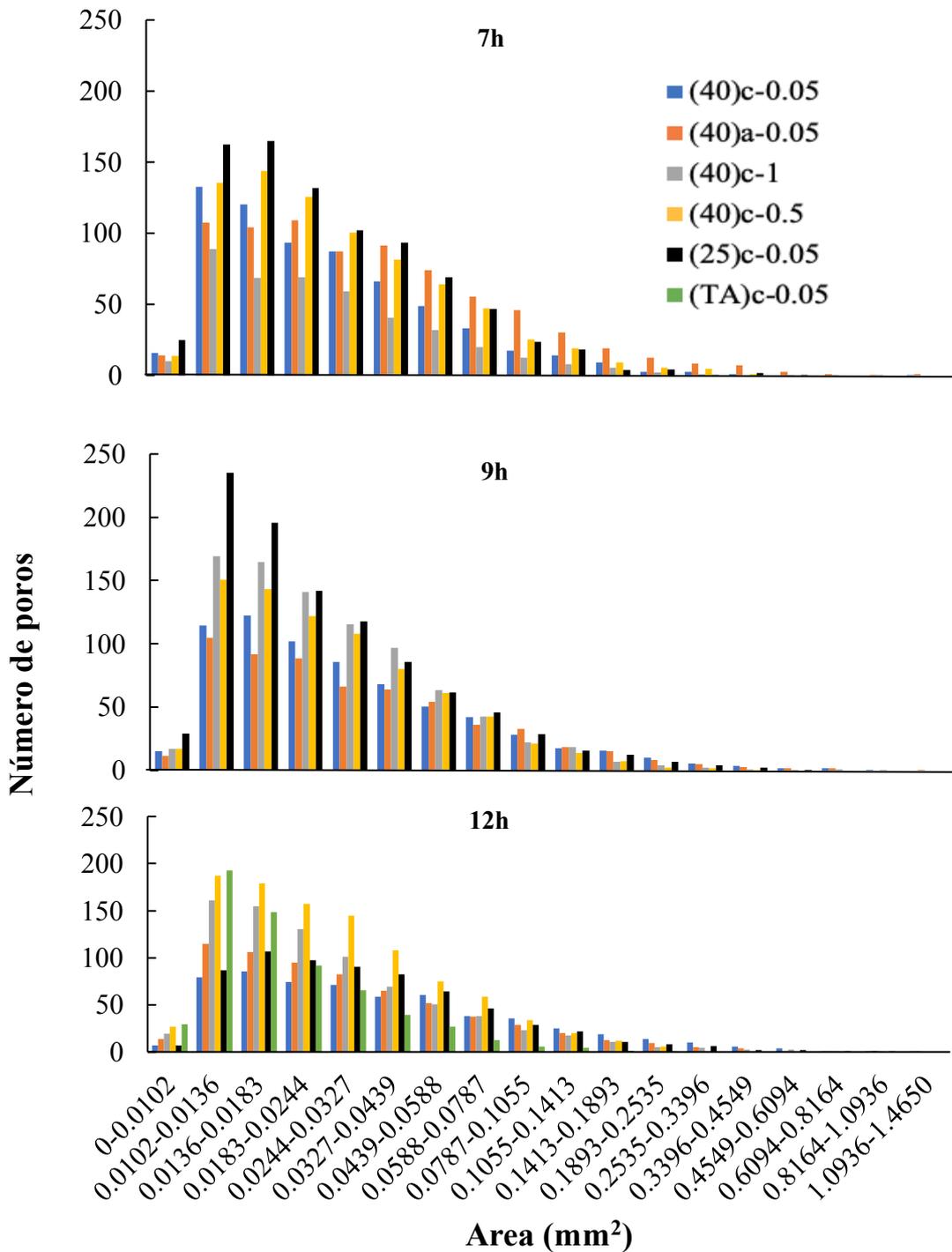


Figura III.3.1.4. (Cont.) Distribución del tamaño de poro superficial en las muestras liofilizadas durante diferente tiempo a las diferentes condiciones: congelación en arcón (c) o en abatidor (a); secado a temperatura ambiente (TA), 25 °C (25) ó 40 °C (40) en el estante del liofilizador y presión durante el secado 1, 0.5 ó 0.05 mbar.

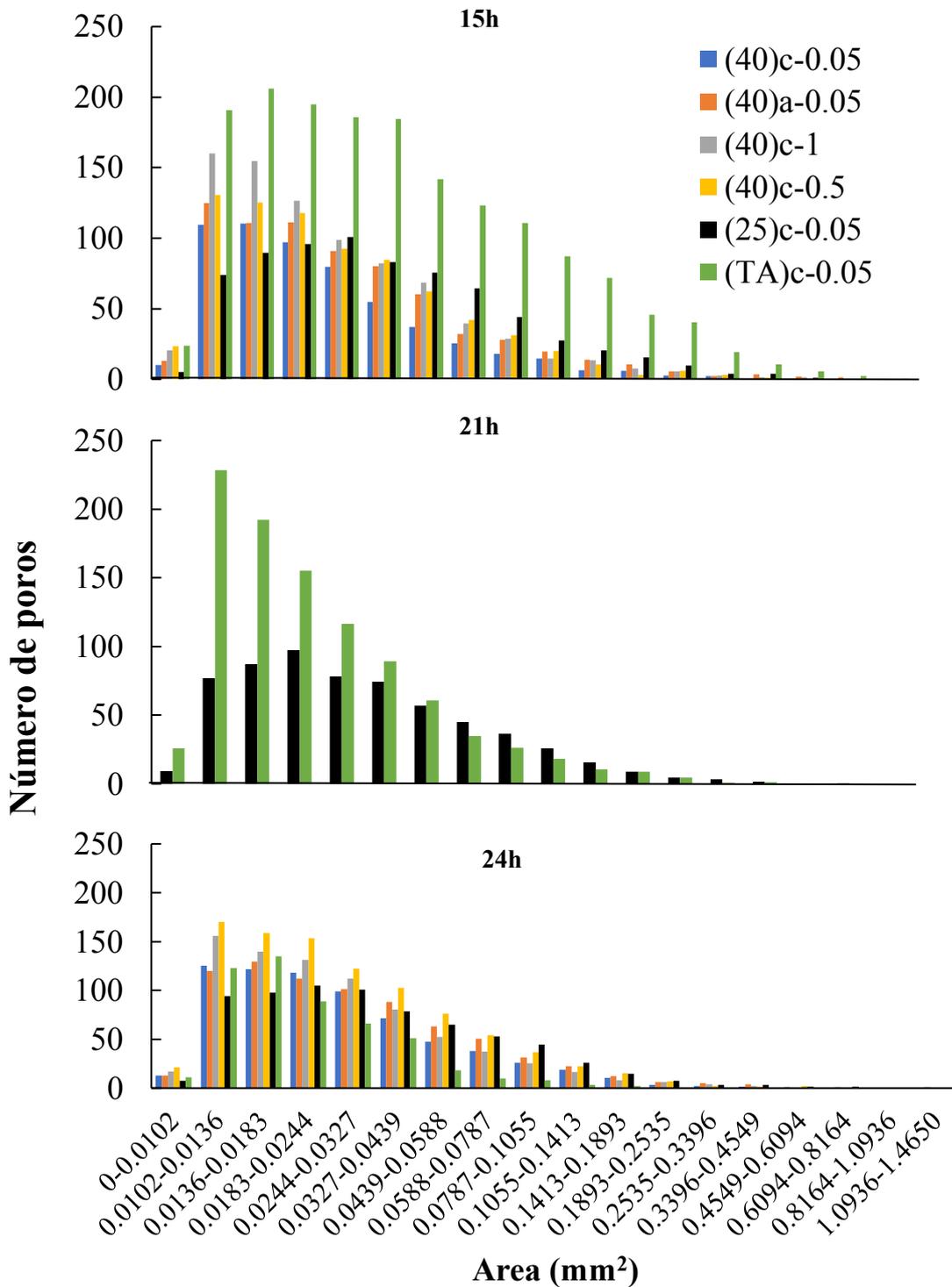


Figura III.3.1.4. (Cont.) Distribución del tamaño de poro superficial en las muestras liofilizadas durante diferente tiempo a las diferentes condiciones: congelación en arcón (c) o en abatidor (a); secado a temperatura ambiente (TA), 25 °C (25) ó 40 °C (40) en el estante del liofilizador y presión durante el secado 1, 0.5 ó 0.05 mbar.

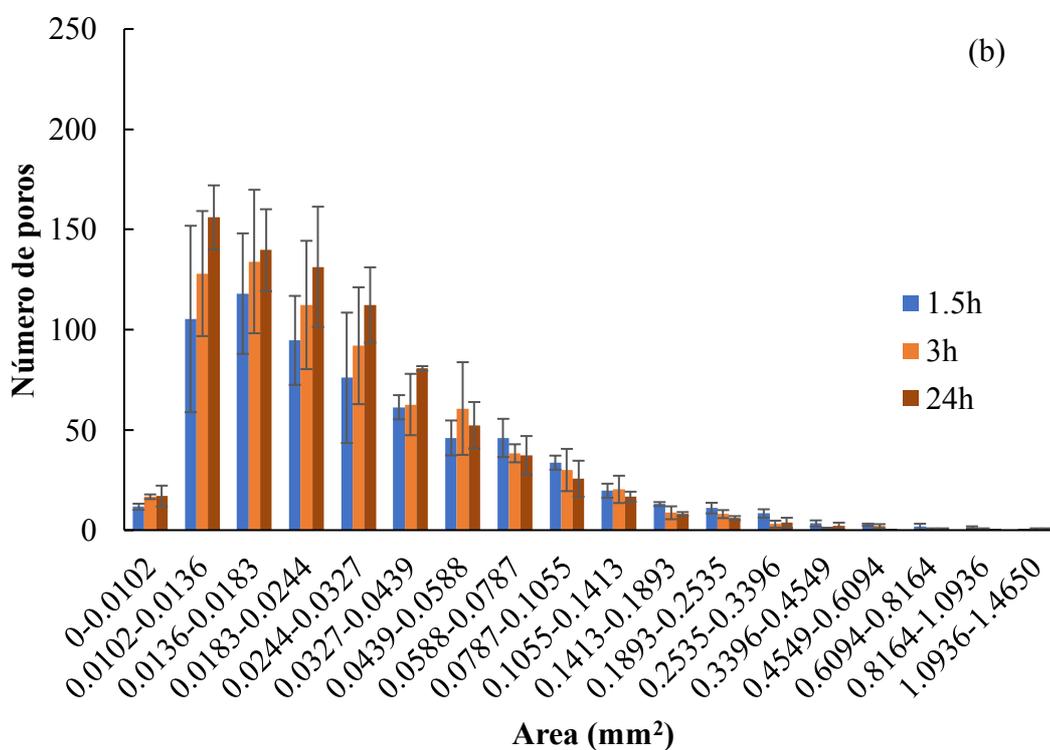
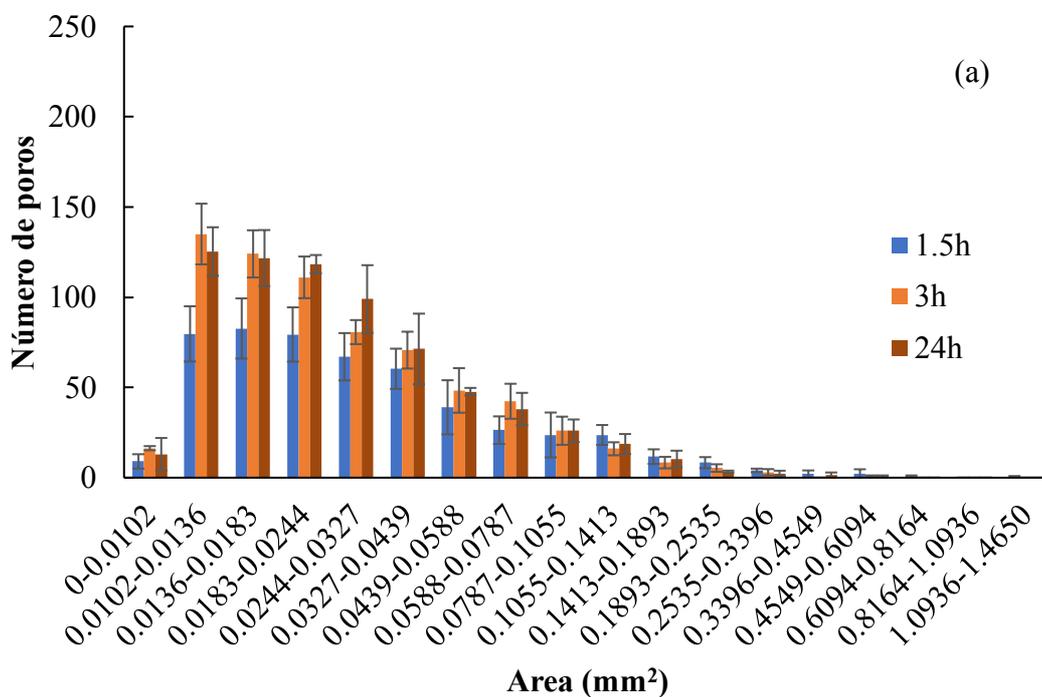


Figura III.3.1.5. Distribución del tamaño de poro superficial (valor medio y desviación estándar) en la muestra congelada en arcón y secada a 40 °C en el estante del liofilizador durante 1.5, 3 y 24 h, a presión 0.05 mbar (a) y 1 mbar (b).

La distribución del número de poros de cada tamaño observados en las Figuras III.3.1.4 y III.3.1.5, para cada una de las muestras y tiempos de secado, fue similar en todos los casos. Las altas desviaciones no permitieron identificar una evolución clara del tamaño medio de poro con el tiempo de secado (Tabla III.3.1.2). No obstante, sí que se observa que los poros se forman desde el principio del secado, desarrollándose un patrón de distribución de tamaños de poro que se mantiene con el tiempo: se forman pocos poros con tamaño < 0.0102 mm, aumenta de forma muy acusada el número de poros que se forman de los siguientes intervalos de tamaño considerados y, posteriormente, se observa una disminución gradual del número de poros a medida que aumenta el tamaño. Este patrón, en el caso de las muestras secadas a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Figura III.3.1.6), permite detectar como el aumento del número de poros de cada uno de los tamaños con el tiempo de secado, fue más brusco a baja presión y más progresivo a medida que ésta aumenta, a lo que puede contribuir la mayor rapidez de la sublimación a mayor vacío generado.

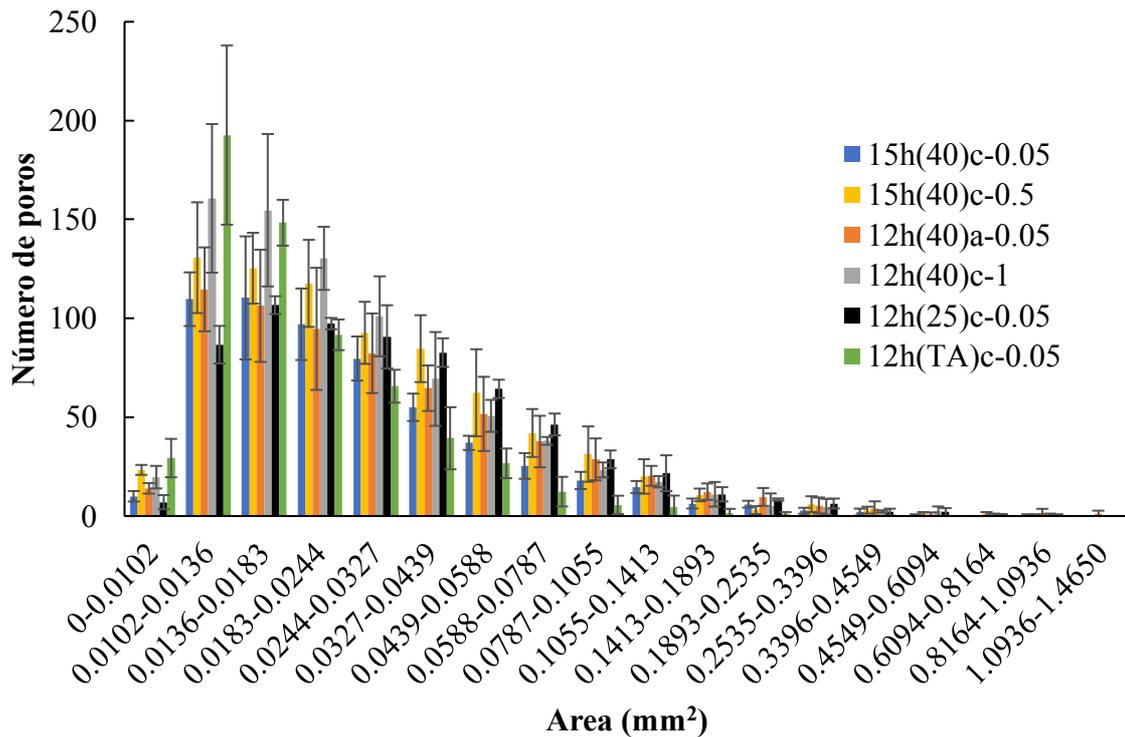


Figura III.3.1.6. Distribución del tamaño de poro superficial (valor medio y desviación estándar) en las muestras liofilizadas durante 12 ó 15 h a las diferentes condiciones: congelación en arcón (c) o en abatidor (a); secado a temperatura ambiente (TA), $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (25) ó $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (40) en el estante del liofilizador y presión durante el secado 1, 0.5 ó 0.05 mbar.

Tabla III.3.1.2. Evolución del número de poros superficial (media y desviación estándar entre paréntesis) y su área media (mm²), así como de la moda y mediana de su distribución de tamaño en las muestras liofilizadas durante diferente tiempo a las diferentes condiciones: congelación en arcón (c) o en abatidor (a); secado a temperatura ambiente (TA), 25 °C (25) ó 40 °C (40) en el estante del liofilizador y presión durante el secado 1, 0.5 ó 0.05 mbar.

Muestra	t(h)	n° poros	Área media	Moda	Mediana
(TA)c-0.05	12	619 (344)	0.0224	0.0102-0.0136	0.0136-0.0183
	15	1643 (389)	0.0685	0.0136-0.0183	0.0327-0.0439
	18	1024 (178)	0.0385	0.0136-0.0183	0.0183-0.0244
	21	973 (112)	0.0327	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	24	516 (100)	0.0239	0.0136-0.0183	0.0136-0.0183
(25)c-0.05	5	402(270)	0.0462	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	7	847(212)	0.0317	0.0136-0.0183	0.0183-0.0244
	9	984(28)	0.0326	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	12	663(46)	0.0459	0.0136-0.0183	0.0244-0.0327
	15	715(418)	0.0551	0.0244-0.0327	0.0244-0.0327
	21	622(28)	0.0494	0.0183-0.0244	0.0244-0.0327
	24	703(52)	0.0467	0.0183-0.0244	0.0244-0.0327
(40)c-0.05	1.5	520(115)	0.0463	0.0136-0.0183	0.0244-0.0327
	3	688(68)	0.0353	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	5	757(176)	0.0362	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	7	644(180)	0.0347	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	9	685(112)	0.0457	0.0136-0.0183	0.0183-0.0244
	12	589(42)	0.0598	0.0136-0.0183	0.0244-0.0327
	15	574(100)	0.0388	0.0136-0.0183	0.0183-0.0244
	24	697(57)	0.0359	0.0136-0.0183	0.0183-0.0244
(40)c-0.5	1.5	565(71)	0.0347	0.0136-0.0183	0.0183-0.0244
	3	586(291)	0.0393	0.0136-0.0183	0.0183-0.0244
	5	680(111)	0.0362	0.0136-0.0183	0.0183-0.0244
	7	776(50)	0.0355	0.0136-0.0183	0.0183-0.0244
	9	771(88)	0.0317	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	12	1009(76)	0.0329	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	15	754(122)	0.0383	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	24	946(248)	0.0375	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
(40)c-1	1.5	654(151)	0.0507	0.0136-0.0183	0.0183-0.0244
	3	719(184)	0.0396	0.0136-0.0183	0.0183-0.0244
	5	851(126)	0.0439	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	7	417(90)	0.0337	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	9	867(142)	0.0331	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	12	792(125)	0.0379	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	15	825(194)	0.0379	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	24	789(90)	0.0350	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
(40)a-0.05	1.5	593(220)	0.0433	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	3	408(68)	0.0361	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	5	800(121)	0.0249	0.0102-0.0136	0.0136-0.0183
	7	771(11)	0.0537	0.0183-0.0244	0.0183-0.0244
	9	604(241)	0.0475	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	12	650(160)	0.0466	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	15	709(122)	0.0460	0.0102-0.0136	0.0183-0.0244
	24	761(71)	0.0433	0.0136-0.0183	0.0183-0.0244

Por otra parte, al comparar la muestra congelada en abatidor con la del arcón (Figura III.3.1.7), puede observarse que en el primer caso se forman menos poros de tamaño pequeño, aunque esto ocurre de forma rápida, y más de tamaño grande, aunque esto sea más lento. Parece que el menor tamaño de los cristales de hielo que presumiblemente se forman en el abatidor subliman con mayor facilidad. Sin embargo, la mayor temperatura del abatidor respecto a la del arcón y la mayor rapidez del proceso limita la cantidad de hielo formado, lo que alargaría la etapa de secado secundario respecto al primario (Matheus, 2018). La mayor cantidad de agua a eliminar por desorción estaría relacionada con los poros de mayor tamaño que se formarían, especialmente, hacia el final del secado.

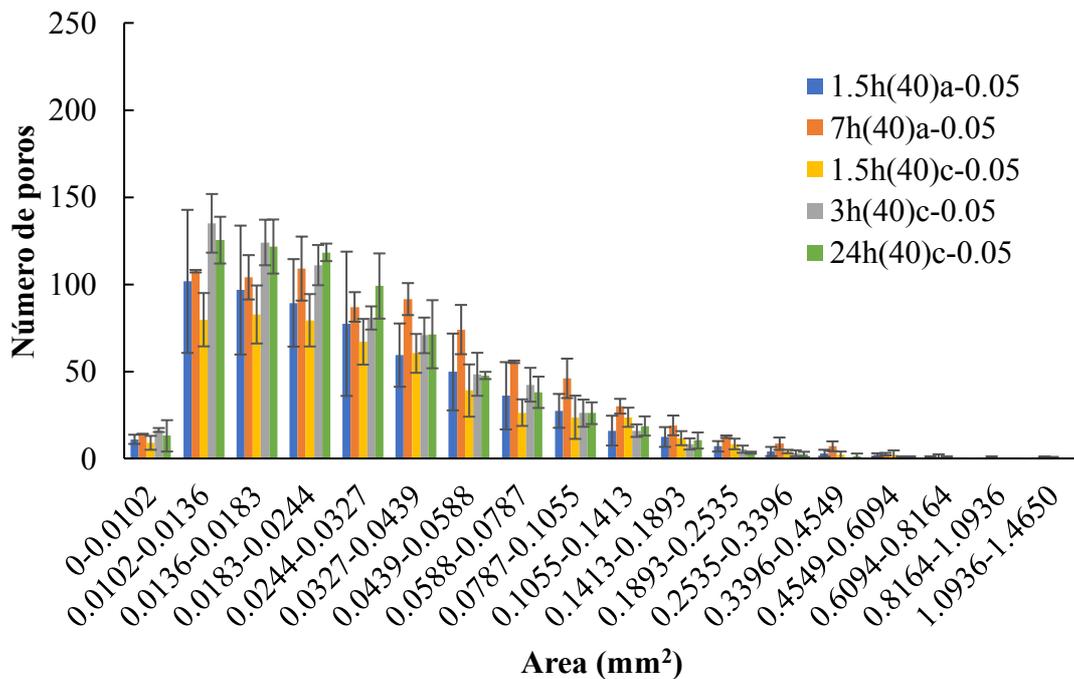


Figura III.3.1.7. Distribución del tamaño de poro superficial (valor medio y desviación estándar) en la muestra congelada en arcón (c) o en abatidor (a) y secada a 0.05 mbar y 40 °C en el estante del liofilizador durante diferentes tiempos

En general, para todas las muestras, se encontró mayor cantidad de poros con áreas comprendidas entre aproximadamente 0.0102 y 0.0183 mm², siendo el intervalo de tamaños 0.0183-0.0244 mm² el que más frecuentemente deja al 50 % de los poros con un

tamaño inferior o superior a él (Tabla III.3.1.2). En la Figura III.3.1.8 se compara el número de poros y su tamaño medio al final del proceso para las diferentes muestras

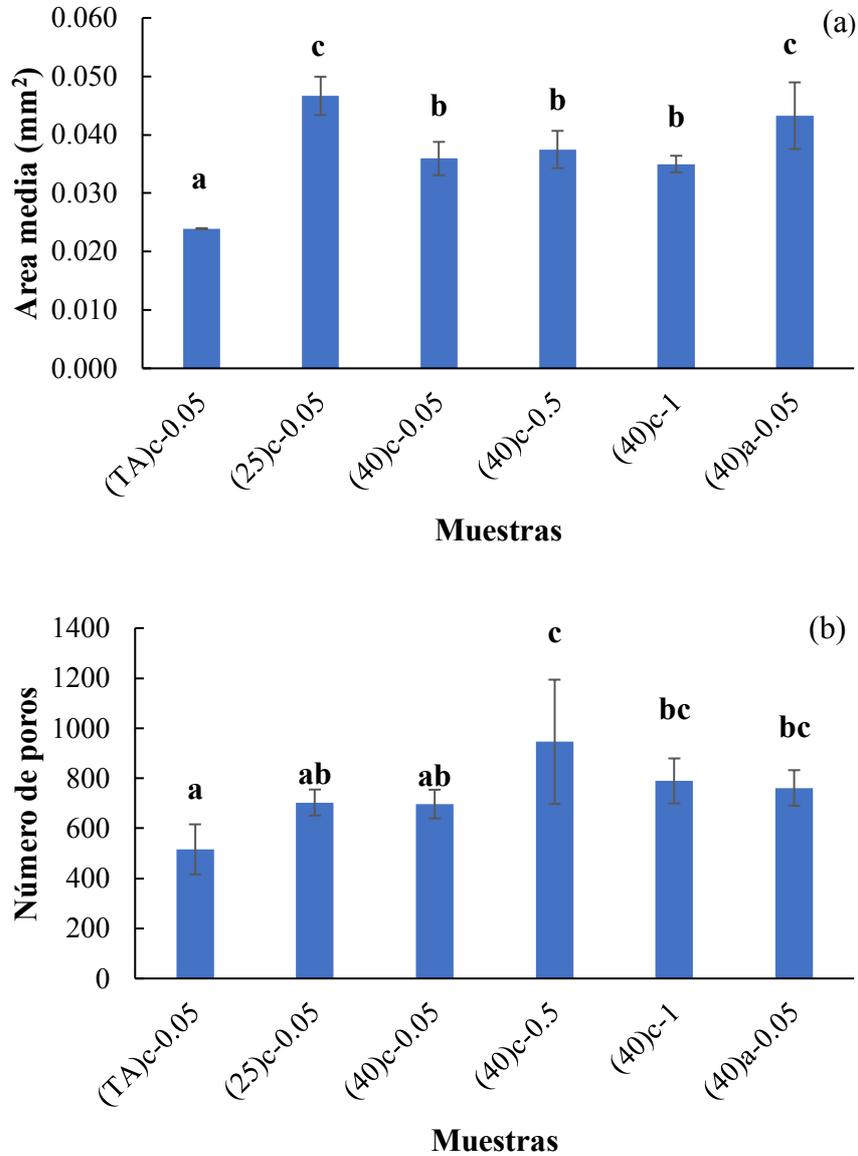


Figura III.3.1.8. Tamaño medio de los poros (a) y número de poros (b) formados al final del secado para las muestras liofilizadas a las diferentes condiciones: congelación en arcón (c) o en abatidor (a); liofilización a temperatura ambiente (TA), 25 °C (25) ó 40 °C (40) en el estante del liofilizador y presión durante el secado 1, 0.5 ó 0.05 mbar, $p < 0.05$.

Como muestra la Fig. III.3.1.8, sólo se observó un tamaño menor en el caso de las muestras secadas a temperatura ambiente ($p < 0.05$). En cuanto al número de poros, aunque también se forman menos poros en este caso, las diferencias no fueron significativas

($p > 0.05$). Desde este punto de vista, el aumento de temperatura durante esta etapa contribuiría a la obtención de un producto más poroso. En este sentido, estas condiciones parecen más adecuadas para la obtención de un producto tipo snack. Además, una mayor porosidad contribuye a una mayor capacidad de rehidratación, lo que también podría ser deseable si su consumo final fuera a ser a modo de zumo (Harnkarnsujarit et al., 2016).

III.3.1.4. Evolución del color

Pensando en la posibilidad de que las tortas de pomelo liofilizadas pudieran ser ofertadas al consumidor como un snack de fruta saludable, su color va a ser muy importante. Un alimento de color inadecuado, de manera general, es rechazado. En este sentido la medida del color es un parámetro muy utilizado en controles de calidad de diferentes industrias para cuantificar diferencias significativas entre muestras y establecer tolerancias que aseguren la aceptabilidad del producto. Su aplicabilidad se debe también a que supone una determinación mucho menos laboriosa y costosa que los análisis químicos. Se han publicado múltiples estudios que relacionan el efecto de distintas reacciones sobre el color de las frutas procesadas térmicamente. Las más frecuentes son las originadas por la degradación de pigmentos como los carotenoides, las reacciones de pardeamiento enzimático, las reacciones de Maillard o la oxidación del ácido ascórbico, entre otros (Igual et al., 2014b; Lachowicz et al., 2018; Raj et al., 2019).

La evolución de los atributos de color de las diferentes muestras a lo largo del secado, calculados a partir de las coordenadas, se muestra en la Figura III.3.1.9. No obstante, conviene mencionar que la comparación entre muestras hay que tomarla con cuidado porque cada muestra corresponde a un lote de pomelo. En el caso de las muestras (25)c-0.05 y (TA)c-0.05, éste sólo pudo medirse a partir de las 5 y 12 horas del proceso, respectivamente. En general, para todas las muestras, se observó un ligero aumento de L^* al principio, que con el tiempo tiende a estabilizarse en un valor constante. Por su parte, entre las muestras secadas a menor presión, la luminosidad parece aumentar al aumentar la temperatura y entre las procesadas a 40 °C, las obtenidas a menor presión parecen las más luminosas. Los valores del tono variaron entre 47.17 y 51.21 sin que se observe una tendencia clara ni con el tiempo ni entre muestras.

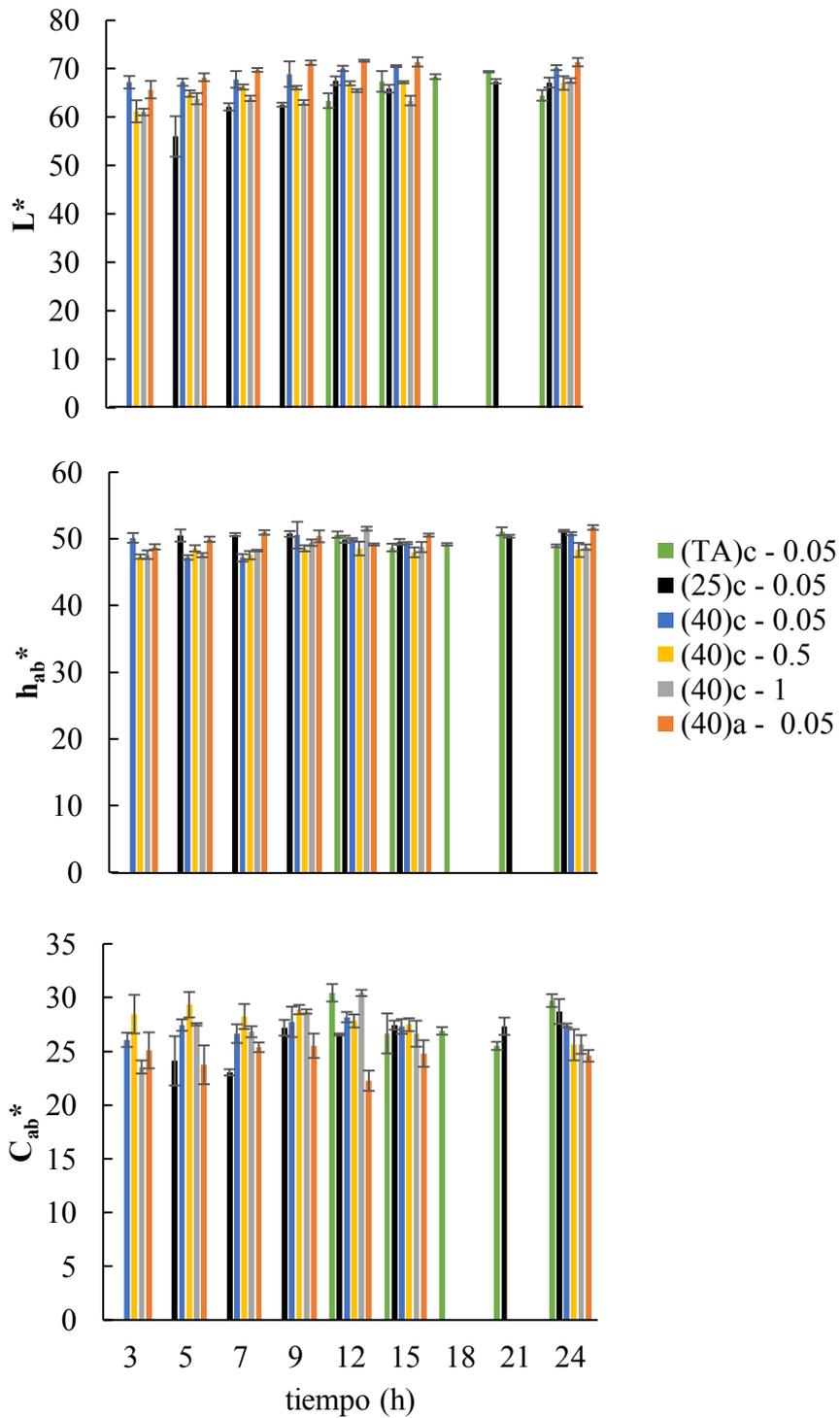


Figura III.3.1.9. Valores medios y desviación estándar de los atributos de color luminosidad, tono y croma (L^* , h_{ab}^* y C_{ab}^*) de las muestras liofilizadas durante 24 h a las diferentes condiciones de proceso: congelación en arcón (c) o en abatidor (a); secado a temperatura ambiente (TA), 25 °C (25) ó 40 °C (40) en el estante del liofilizador y presión durante el secado 1, 0.5 ó 0.05 mbar.

Por su parte, el croma osciló en torno a un valor constante entre 23.05 y 30.46, según las muestras, también sin diferencias importantes entre ellas. La diferencia de color calculada entre 1.5 y 24 h para las muestras congeladas en arcón y secadas a 40 °C fue de 5 ± 1 , 7 ± 2 y 23 ± 5 unidades al aumentar la presión de 0.05 a 0.5 y 1 mbar, respectivamente. En el caso de la muestra congelada en abatidor fue de 11 ± 5 unidades.

Con el fin de estudiar la posible influencia de las condiciones de liofilización en el color de las tortas obtenidas, se realizó un ANOVA para cada una de las coordenadas y atributos de color de las muestras obtenidas al final del proceso de liofilización (Tabla III.3.1.3). Los resultados obtenidos permiten confirmar un aumento significativo ($p < 0.05$) de L^* , h_{ab}^* y C_{ab}^* al disminuir la presión hasta 0.05 mbar, en las muestras secadas a 40 °C, siendo las diferencias de color cuantificadas en este caso de entre ± 3.33 y 3.82 unidades. Así mismo, se observó un aumento de L^* y h_{ab}^* y una disminución de C_{ab}^* ($p < 0.05$) al aumentar la temperatura manteniendo la presión en 0.05, lo que supuso un $\Delta E = \pm 3.06$ a 25 °C y $\Delta E = \pm 6.23$ a 40°C. Por su parte, las muestras que fueron congeladas en abatidor mostraron mayor h_{ab}^* y menor C_{ab}^* ($p < 0.05$) que las secadas en iguales condiciones, pero congeladas en el arcón, de manera que, entre ellas, la diferencia de color fue $\Delta E = \pm 3.08$. Como ya se ha comentado, diferencias de color $> \pm 3$ empiezan a ser perceptibles por el ojo humano (Bodart et al., 2008; You et al., 2018). En este sentido, cuando se liofiliza habiendo congelado en abatidor y con los estantes calentados a 40 °C, es cuando se perciben mayores cambios de color con respecto a las muestras congeladas en arcón y secadas a temperatura ambiente ($\Delta E = \pm 8.66$).

Tabla III.3.1.3. Valores medios (y desviación estándar) de las coordenadas (L^* , a^* , b^*) y atributos de color tono y croma (h_{ab}^* y C_{ab}^*) de las muestras liofilizadas durante 24 h a las diferentes condiciones de proceso.

Condiciones(*)	L^*	a^*	b^*	h_{ab}^*	C_{ab}^*
(TA)c-0.05	64.5(1.1)c	19.5(0.3)a	22.4(0.5)a	49.0(0.2)c	29.7(0.6)a
(25)c-0.05	67.2(1.0)b	18.0(0.7)b	22.4(0.9)a	51.2(0.2)ab	28.7(1.2)ab
(40)c-0.05	70.2(0.5)a	17.3(0.2)b	21.2(0.1)b	50.8(0.2)b	27.4(0.2)b
(40)c-0.5	67.1(1.4)b	17.0(1.2)b	19.1(0.9)c	48.4(1.1)c	25.6(1.4)c
(40)c-1	67.6(0.5)b	16.9(0.7)b	19.3(0.5)c	48.8(0.4)c	25.6(0.9)c
(40)a-0.05	71.4(0.9)a	15.2(0.4)c	19.3(0.4)c	51.7(0.4)a	24.6(0.5)c

Letras a. b. c en columnas indican diferencias significativas entre muestras, ($p < 0.05$).

(*)Congelación en arcón (c) o en abatidor (a); secado a temperatura ambiente (TA), 25 °C (25) ó 40 °C (40) en el estante del liofilizador y presión durante el secado 1, 0.5 ó 0.05 mbar.

III.3.2. Impacto de la incorporación de la goma arábica, fibra de bambú y temperatura de secado en la calidad del producto obtenido

En el punto anterior de este apartado se ha abordado el estudio de cómo afectan las condiciones de liofilización a la evolución del puré de pomelo durante su liofilización. En este sentido, se ha estudiado la influencia de la velocidad de congelación y de la presión y temperatura durante el secado en la cinética del mismo y en el cambio del espesor del producto, su porosidad y color. El análisis de los resultados obtenidos ha permitido seleccionar la menor de las velocidades de congelación estudiadas y también la menor de las presiones para el secado. En cuanto a la temperatura en esta etapa, si bien ha quedado patente el impacto que tiene su aumento en la disminución del tiempo de proceso, parece necesario profundizar en el estudio de cómo ésta pueda afectar a algunas características de calidad del producto obtenido que no han sido consideradas por el momento, como son su textura y el contenido en vitamina C, como compuesto bioactivo termolábil que muchas veces se utiliza como marcador (Rubiolo, 2000) .

Por otra parte, el trabajo realizado hasta el momento se ha llevado a cabo con puré de pomelo como materia prima. No obstante, como ya se ha comentado a lo largo de este documento, los productos de fruta deshidratados presentan problemas de estabilidad física relacionados con el colapso de su estructura. Por ello se consideró importante estudiar el impacto de la incorporación de goma Arábica y fibra de bambú tanto en el desarrollo del proceso como en la calidad del producto obtenido. Para llevar a cabo esta parte del estudio, se realizaron el segundo y tercer ensayos descritos en el apartado III.2.2.2 de material y métodos. En este caso, y por los resultados comentados en el apartado anterior, todas las muestras se congelaron en el arcón y, para el secado, se fijó la presión en 0.05 mbar y se trabajó tanto a temperatura ambiente como a 40 °C. El segundo ensayo se programó de forma similar a lo descrito en el apartado III.3.1, para estudiar la influencia de los biopolímeros en la cinética del proceso, además de en la porosidad superficial, color y espesor del producto obtenido. El objetivo del tercer ensayo fue conocer el impacto de las condiciones del proceso en otros aspectos de la calidad del producto final como la porosidad volumétrica, las propiedades mecánicas y su contenido en vitamina C.

Toda esta parte del trabajo se ha organizado en forma de publicación y se ha enviado a la revista *Food and Bioproducts Processing* donde se encuentra, en estos momentos, en fase de revisión. El artículo enviado es el que se adjunta a continuación.

IMPACT OF BIOPOLYMERS ADDED TO A GRAPEFRUIT PUREE AND FREEZE-DRYING SHELF TEMPERATURE ON PROCESS TIME REDUCTION AND PRODUCT QUALITY

Egas-Astudillo, L.A; Martínez-Navarrete, N.; Camacho, M.M.*

Departamento de Tecnología de Alimentos. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s/n, 46022, Valencia, Spain.

* Corresponding author e-mail address: mdmcamvi@tal.upv.es

Abstract

Freeze-drying provides high quality foods, despite the long time involved in the operation. Shortening the process time by increasing the heat necessary for sublimation to occur could affect the product quality. In this study, the impact of adding gum Arabic and bamboo fiber to a grapefruit puree and of heating the sample to 40 °C during freeze-drying has been considered. The increase in temperature allows a 57.5% time reduction and promotes a porosity increase without any impact on the cake's color and vitamin C content. Biopolymers do not affect the drying kinetics and allow a crunchier and firmer cake to be obtained, despite the color changes and the fact that vitamin C becomes less available. From these results, what should be recommended for the purposes of obtaining a freeze-dried grapefruit snack-type product is both biopolymer addition and the heating of the sample to at least 40 °C.

Keywords: gum Arabic; bamboo fiber; porosity; mechanical properties; color, vitamin C.

1. Introduction

The growing consumer demand to expand the diversity of food products has led to a rapid development of the dehydrated food market. Most of these food products form part of the daily diet and the technologies involved in their production are growing in importance, since their quality and functionality strictly correspond to the efficiency of the production processes (Karam et al., 2016; Michalska et al., 2016).

The quality of a dehydrated product depends to a large extent on the drying conditions, as well as on the composition and physical properties (Hua et al., 2010; Karam et al., 2016). Within this context, freeze-drying emerges as a gentle dehydration technique that represents the ideal process for the production of high value dry products. This technique is known for its ability to maintain the quality of the product (color, shape, aroma and nutritional value) greater than many other drying methods, due to both its low processing temperature and the virtual absence of oxygen during the operation, which minimizes degradation reactions (Hammami and René, 1997). Other prominent factors include the structural rigidity exhibited by the previously frozen food, as well as the limited mobility of the frozen water, which prevents the collapse and contraction of the solid matrix when drying (Kasper and Friess, 2011; Nireesha et al., 2013). This opens the opportunity to take advantage of freeze-drying to obtain products with a crunchy and porous structure. From this point of view, the freeze-dried cake obtained from a fruit puree could be offered to the consumer as a healthy snack type product, avoiding, for example, steps such as frying. The negative part of freeze-drying is the use of low pressures and the length of the process, which makes the technique more expensive. However, a study that compares the industrial cost of using freeze-drying rather than spray-drying to obtain powdered fruit concludes that the cost of the latter is up to 2.5 times higher than that of freeze-drying due to its low product yield (Camacho et al., 2018). In this sense, it seems interesting to optimize the freeze-drying conditions so that the process time can be shortened while maintaining the quality of the obtained product. Increasing the temperature of the process can be an alternative in this regard.

The drying step in the freeze-drying process is governed by two transport mechanisms: (i) the transport of energy to transform the ice into water vapor (between -21 °C and -30 °C, approximately 2850 kJ/kg); and (ii) transporting the water vapor from the sublimation surface through the already dried product through the drying chamber to

the steam condensation or absorption system (Hammami and René, 1997; Karam et al., 2016; Kasper and Friess, 2011; Nireesha et al., 2013; Oetjen and Haseley, 2018). The amount of energy needed for sublimation can be supplied in four different ways: a) the radiation of heated surfaces, b) the conduction from heated plates or gases, c) the convection gas and d) the dielectric losses of ice in high frequency fields. After the ice has been sublimated (primary drying), the remaining adsorbed water is desorbed from the solid (secondary drying). This process is governed by laws other than those regulating primary drying. During secondary drying, energy transport does not play an important role, since the amount of remaining water usually represents less than 10% of the solids. However, secondary drying over time can be an important part of the total process and take half or the same length of time as the primary drying (Oetjen and Haseley, 2018).

As regards the stability of dehydrated products, important changes in their diffusional and physical properties will occur above the glass transition temperature (T_g) of its amorphous matrix. In this sense, the increase in molecular mobility when the temperature of the product is higher than the T_g may result in a loss of the porous structure developed while drying. When looking for a crunchy type product, this would eventually result in a rejection of the product. From this point of view, on the one hand raising the temperature of the product during primary drying should be controlled in order to not exceed the T_g . On the other hand, the product T_g increases the lower the water content and the higher the solutes molecular weight. In this sense, it is necessary to point out the low T_g exhibited by the dried fruit products due to their large amount of both low molecular weight carbohydrates, such as sucrose, fructose and glucose, and organic acids (Telis and Martínez-Navarrete, 2010; Fongin et al., 2017). For this reason, the addition of high molecular weight biopolymers trying to rise the T_g is recommended for the purposes of preventing collapse phenomena (Telis and Martínez-Navarrete, 2010).

The aim of this study was to determine the impact of both adding high molecular weight gum Arabic and bamboo fiber and increasing the shelf temperature to 40 °C during the freeze-drying of a grapefruit puree in order to obtain a cake that could be offered as a crunchy snack-type product. The effect on the drying kinetics, volumetric and surface porosity, color, mechanical properties and vitamin C content of the obtained cake has been studied.

2. Materials and methods

2.1. Sample preparation

The citrus grapefruit (*Citrus paradisi*) of the pigmented variety Star Ruby was purchased in a local market (Valencia, Spain). The fruits were selected according to their size, firmness and absence of physical damage. Complex carbohydrates of high molecular weight, that henceforth we will refer as biopolymers, were used to stabilize the powdered product: Gum Arabic (GA, Scharlab, Spain) and Bamboo Fiber (BF, Vitacel® BAF 200, Spain).

The peel, albedo and central axis were detached manually from the grapefruit before being crushed (Thermomix Vorwerk TM-21, Spain, working at speed 4 for 40 s, followed by speed 9 for 40 s) as to ensure an homogeneous batch to carry out all the experiments. Two samples of grapefruit puree were prepared, one without the addition of biopolymers (G) and another one with the addition of 4.2 g GA and 0.58 g FB /100g puree (GB) (Thermomix Vorwerk TM-21, Spain, working at speed 2 for 300 s) (Agudelo et al., 2017). Both samples were characterized as to the water (vacuum oven JP Selecta, 60 ± 1°C and pressure <100 mm Hg) and soluble solid (Mettler Toledo 30PX refractometer, Spain) content. Samples G and GB were placed in aluminum trays of 5.8 cm in diameter, 1 cm thickness (≈27 g) and after they were frozen (Liebherr LGT 2325, Germany) at -45 °C for 6h.

2.2. Process conditions and freeze-drying kinetics

The frozen samples were freeze-dried for different times, from 1.5 to 21 h, in a Telstar Lyo Quest-55 (Spain) freeze-dryer provided with a standard cylindrical acrylic chamber (Ø 215x300mm) with three heated shelves. The samples were placed only on the central shelf. Two different conditions were used, the pressure of the chamber (0.09 mbar) was maintained in both of them and the temperature of the shelves was varied: without applying any heat to the shelves (samples RT, room temperature) and applying 40 °C (samples 40). In this way, four samples were processed: G(RT), G(40), GB(RT) and GB (40). For each sample, four replicates of the freeze-drying (FD) process were carried out at each time. Samples obtained at the different FD times were weighed, with an accuracy of 0.0001 g (Mettler Toledo XS204, Spain). No mean values were considered

for any sample, but each of the 4 pieces of data obtained at each FD time were considered together for the drying kinetics study.

The drying kinetics was studied on the basis of the sample mass loss. The residual water content present in the obtained samples was calculated based on (Eq. 1) and used to obtain the moisture ratio (MR) evolution (Eq. 2).

$$X_{wt} = \frac{m_o * X_w^o - (m_o - m_t)}{m_o * (1 - X_w^o)} \quad (1)$$

where X_{wt} is the water content of the freeze-dried sample at each process time (g water / g freeze-dried sample, db); m_o and X_w^o is the mass (g) and the water content (g water / g sample) of the sample that enters the freeze-dryer, respectively; m_t is the mass of the freeze-dried sample (g).

$$MR = \frac{X_{wt} - X_{we}}{X_{wo} - X_{we}} \approx \frac{X_{wt}}{X_{wo}} \quad (2)$$

Where X_{wt} , X_{wo} and X_{we} indicate the water content (g water / g sample, db) at time t, time 0, and at equilibrium, respectively. The equilibrium water content values are usually very low, and Eq. (2) is often simplified, assuming $X_{we} = 0$ without a significant change in the MR value (Azzouz et al., 2002; Calín-Sánchez et al., 2014; Simal et al., 2005; Simpson et al., 2017).

Preliminary tests conducted in this study proved that what best fitted our data was the modified Page model (Eq. 3). This model has been previously reported for slices of orange, black aronia (*Aronia melanocarpa*) or whole plums (Michalska et al., 2016; Calín-Sánchez et al., 2014). The MATLAB R2015b software was used to fit the drying model. For each sample, the 4 MR values (Eq. 2) obtained at each FD time were fitted to the model.

$$MR = a * e^{-k*t^n} \quad (3)$$

Where k, n and a are the constants of the model and t the freeze-drying time (h).

2.3. Quality of the freeze-dried samples

Taking into account the kinetic results, the time needed to obtain freeze-dried samples with 2 g water/100 g sample (db) was calculated. Each of the four studied samples was prepared as described in section 2.1 and freeze-dried in duplicate as described in section 2.2 just for the corresponding calculated time. The obtained samples were weighed, with an accuracy of 0.0001 g, and their water content was analyzed as described in Section 2.2.(Eq. 1). Immediately afterwards, two images per sample were taken using a Canon EOS 350D (Spain) digital camera with a focal aperture of 55 mm (Lens EFS 18-55) and in automatic mode. The camera was placed in a Kaiser RS2XA support (Germany), at 23 cm from the sample, and illuminated with a standard white light (6500K). As described below, the images were submitted to posterior image analysis so as to characterize the superficial porosity by means of the pore number and size distribution. The volumetric porosity, color, mechanical properties and vitamin C content of the cakes were also characterized.

2.3.1. Volumetric porosity

The porosity (ε) of the samples was estimated from both the apparent (ρ_a) and the real (ρ) density by using Eq. (4-6) (Datta, 2007). To determine the apparent density (Eq. 5), a 12 mm radius (r) cylindrical punch was used to obtain, in triplicate, a piece of each sample, whose height (H) was also measured in triplicate with a Vernier caliper CM (0.02 mm; 1/1000") and weighed (W) using an analytical balance (Mettler Toledo XS204, Spain). The real density of each sample was calculated from the mass fraction and density at 20 °C of water (X_w , w/w; $\rho_w=0.9976$ g/cm³) and carbohydrates (X_{CH} , w/w; ρ_{CH} 1.4246 g/cm³) (Eq. III.2.1.5, Choi and Okos, 1986).

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho} \quad (4)$$

$$\rho_a = \frac{W}{\pi * r^2 * H} \quad (5)$$

$$\frac{1}{\rho} = \frac{X_w}{\rho_w} + \frac{X_{CH}}{\rho_{CH}} \quad (6)$$

2.3.2. Superficial porosity. Number and pore size distribution

The pore size distribution was based on the area of the superficial pores formed in the samples. This area was analyzed from the images taken as described above. Images were analyzed by means of the software image J, 1.51, which uses the contrast between the two phases (pore and solid part) in the image (Broeke et al., 2015; Russ, 2005; Sahin and Gülüm, 2006). The calibration used was 1 mm = 53.5 pixel. The color image was transformed into a gray scale (8bit) (Fig. 1a) in order to then apply a thresholding process (Fig.1b), which allowed the measurement of the area of the pores formed. The frequency or number of pores formed of each size was established based on a geometric distribution of the areas containing the minimum and the maximum values found from the image analysis and considering 30 area intervals. From this data, the mean area of the pores was also calculated (Eq. 7).

$$\bar{A} = \frac{\sum_i (A_i * F_i)}{\sum_i F_i} \quad (7)$$

Where \bar{A} is the mean area (mm²), A_i is the greatest area of the corresponding area range (mm²), F_i is the pore frequency at each area range.

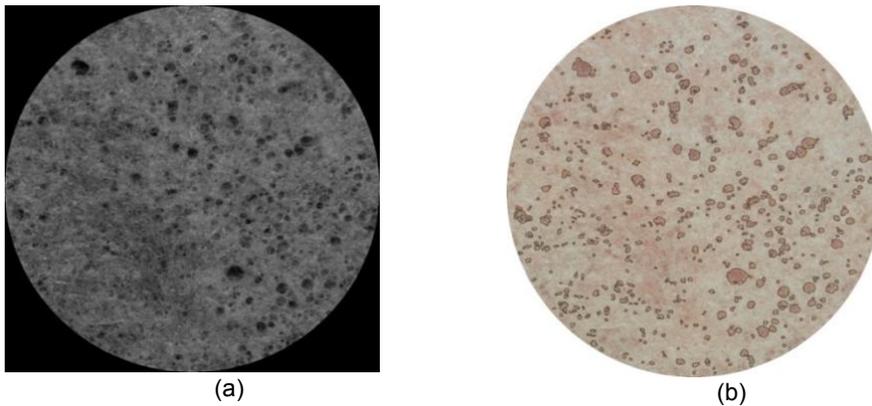


Figure 1. Example of gray-scale transformation (a) and thresholding (b) of an image belonging to a sample without added biopolymers and freeze-dried at room temperature for 9 h.

2.3.3. Color

The color of the samples was measured in triplicate 15 min after leaving the freeze-dryer using a MINOLTA CM 2600-D color spectrophotometer (Japan), coupled with a measuring window of 8 mm in diameter, and placing a reflective glass over the sample. The CIE L*a*b* coordinates were obtained using the D65 illuminant and the 10° observer as reference. The hue angle (h_{ab}^*), chroma (C_{ab}^*) and total color difference (ΔE^*) were obtained (Eq. 8-10, Hutchings, 1999).

$$h_{ab}^* = \arctg \frac{b^*}{a^*} \quad (8)$$

$$C_{ab}^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (9)$$

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (10)$$

2.3.4. Mechanical Properties

Mechanical compression tests were performed at 20 °C using a texture analyzer TA-XT Plus (Stable Micro Systems, Ltd., United Kingdom), provided with a cylindrical probe (P/1KD) of 10 mm diameter. The same pieces of each sample obtained for the apparent density measurement were uniaxially compressed along the vertical axis to 80% of their thickness at a test speed of 1 mm/s. The analysis of the force vs. distance curves was performed using the Exponent 6.1.11.0 software. Each sample was measured in triplicate.

2.3.5. Vitamin C

Vitamin C (VC) was determined by high-performance liquid chromatography (HPLC) (Jasco, Italy). For the analysis, 0.075 g of powder was used. The procedure employed was the reduction of dehydroascorbic acid to ascorbic acid, using DL-dithiothreitol (Scharlab S.L, Spain) as the reductant reagent, and extraction with oxalic acid (Scharlab S.L, Spain) (Igual et al., 2014; Xu et al., 2008). The HPLC conditions were: KROMAPHASE100-C18, 5mm (4.6x250mm) column (Scharlab S.L, Spain);

mobile phase 0.1 % oxalic acid, volume injection 20 μ L, flow rate 1mL/min, detection at 243 nm (detector UV-visible MD-1510) and at 25 °C. A standard solution of L(+) ascorbic acid (Scharlab S.L, Spain) solution was prepared. The vitamin C content was calculated as mg of ascorbic acid per 100 g of the grapefruit's own solutes (mg AA/100gGS, Agudelo et al., 2017).

3.Results and Discussion

3.1.Drying kinetics

The water and soluble solute contents of the grapefruit puree used in the study were 87.6 ± 0.4 g water/100 g sample and 11.47 ± 0.12 °Brix, respectively. They changed to 83.0 ± 0.1 g water/100 g of sample and 15.23 ± 0.06 °Brix after GA and BF addition. For each sample, this water content was considered the corresponding X_w^0 (Eq. 1). The evolution of MR (Eq. 2) throughout the freeze-drying of the different processed samples is presented in Fig. 2. As can be observed, the drying time was greatly reduced when a shelf temperature of 40 °C was applied. It was not the mean value that was used but rather each of the 4 replicates of the kinetic data for each sample and FD time which was fitted to the modified Page model (Eq. 3, Table. 1).

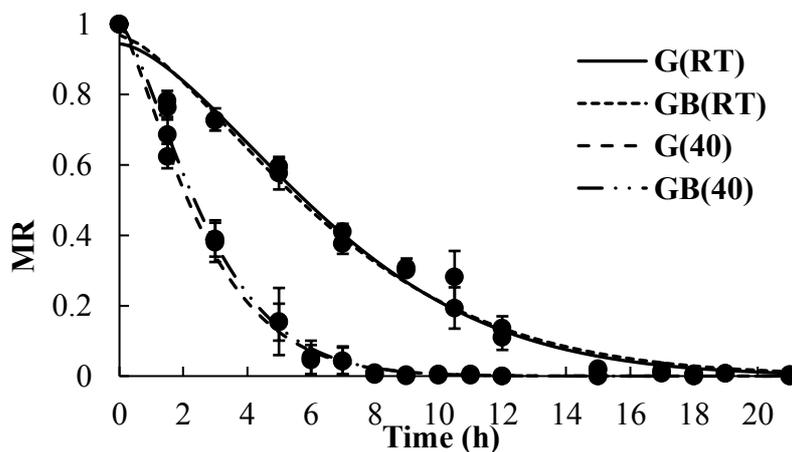


Figure 2. Mean experimental data and predicted (modified Page's model) moisture ratio (MR) evolution throughout freeze-drying. G(RT): grapefruit puree freeze-dried at room temperature; GB(RT): grapefruit puree with added biopolymers and freeze-dried at room temperature, G(40): grapefruit puree freeze-dried at 40 °C on the shelf, and GB(40): grapefruit puree with added biopolymers and freeze-dried at 40 °C on the shelf.

Table 1. Values and confidence intervals in brackets of the constants of the modified Page model (k , n and a). Adjusted regression coefficient (R^2), root mean square error (RMSE) and time (t) needed to obtain a sample with 0.02 g water/g sample (db).

Sample ^(*)	k (s ⁻ⁿ)	n	a	R^2	RSME	t (h)
G(RT)	0.040 (±0.015)	1.57 (±0.17)	0.94 (±0.04)	0.985	0.042	23.4
GB(RT)	0.055 (±0.020)	1.44 (±0.16)	0.97 (±0.04)	0.982	0.046	24.3
G(40)	0.281 (±0.018)	1.29 (±0.05)	1.000 (±0.013)	0.998	0.013	10.6
GB(40)	0.236 (±0.014)	1.39 (±0.05)	1.000 (±0.012)	0.999	0.012	9.7

(*)G(RT): grapefruit puree freeze-dried at room temperature; GB(RT): grapefruit puree with added biopolymers and freeze-dried at room temperature, G(40): grapefruit puree freeze-dried at 40 °C on the shelf, and GB(40): grapefruit puree with added biopolymers and freeze-dried at 40 °C on the shelf.

This model incorporates the constant a , which is related to the ratio between the sample's water content when the freeze-drying process starts ($t = 0$) and that of the sample when placed in the freeze-dryer. Under these conditions, $a=1$ represents an experimental water content when the freeze-drying starts equal to the water content of the sample when placed in the freeze-dryer, while $a<1$ supposes that the water content of the sample when the freeze-drying process starts is lower than the initial one. This may be related with the process of vacuum cooling, similar to flash evaporation, which points to a faster water loss than is normally expected (Carle and Brutin, 2015). The handling of the samples while being moved from the freezer to the freeze-drier causes the ice to start the process of melting. When the vacuum is switched on, the temperature drops and the melted water forms ice again. The sublimation will start sooner, when the sample temperature is nearest to the sublimation temperature at work pressure. This temperature will be reached more quickly by the sample that is being freeze-dried without heating the shelves. For this reason, samples G and GB showed a value of the constant $a<1$. The fact that the sublimation starts somewhat later in the case of samples G(40) and GB(40), allows us to predict a slower water loss in this first stage of freeze-drying. This more progressive initial water loss can be related to the value of $a=1$, obtained for the samples that are freeze-dried while heating the shelves.

Fig 3. shows an example of the different behavior of the sample's temperature evolution at the beginning of freeze-drying. The vacuum cooling of the samples when the process starts may be observed. When it actually occurs, water sublimation also contributes to this cooling. To sublimate the ice, the sample needs to absorb the latent

heat of sublimation, which must be supplied from the product or from the environment, which is consequently cooled (Sun and Zheng, 2006). When the shelves are heated, the sample is not cooled to such an extent (Fig. 3).

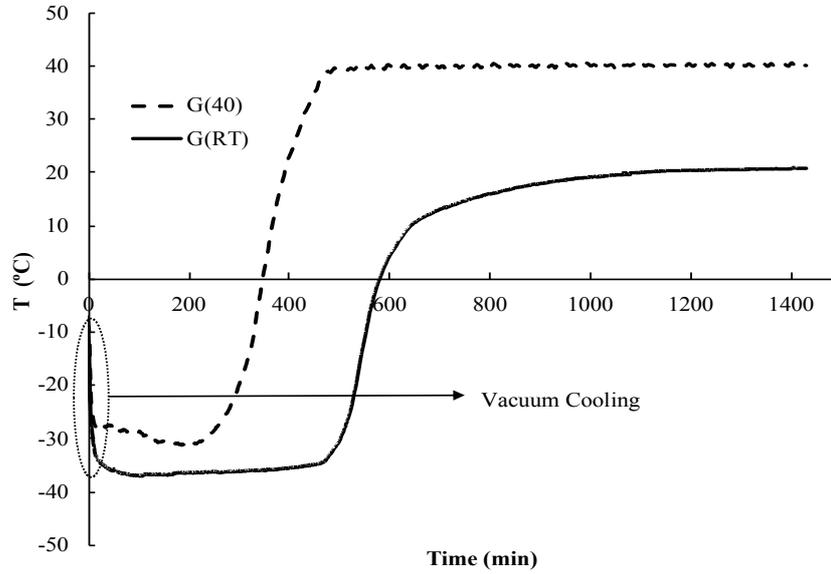


Figure 3. Example of the evolution of the temperature (T) of the grapefruit puree during the freeze-drying process at room temperature (sample G(RT)) and at 40 °C on the shelf (sample G(40)).

Table 1, shows the modified Page model constants. The k and a parameters were lower and n higher when the freeze-dryer shelves were not heated. This behavior is related with the enhanced heat transfer that is promoted when the shelves are heated, which is linked to an increased sample drying rate and a shorter drying time (Azzouz et al., 2002; Benlloch-Tinoco et al., 2013). Small differences were observed between the samples with and without biopolymers. Fig. 4. shows, as an example, the experimental and predicted water contents of the samples G(RT) and GB(40) over time, together with the error limits of the model. The ratio of experimental to predicted water content is also shown. The high R^2 value obtained in each of the 4 samples, over 0.9803, allows the model to be validated.

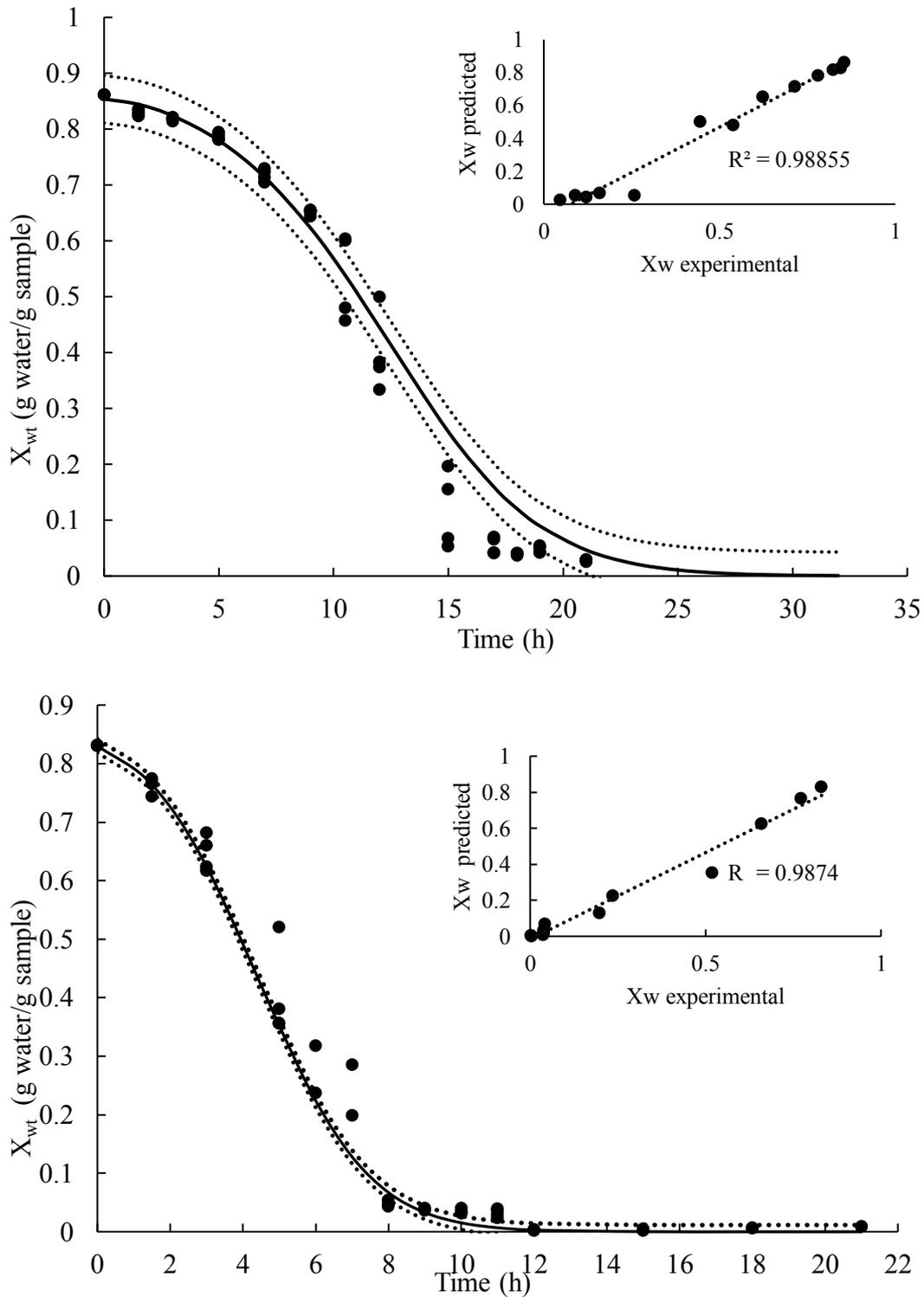


Figure 4. Experimental and predicted water content based on the Page’s fitted modified model. The dotted line represents the limit of the model based on the RSME value. Superior: grapefruit puree with added biopolymers and freeze-dried at room temperature (sample GB(RT)); inferior: grapefruit puree freeze-dried at 40 °C on the shelf (sample G(40)). The inner graph shows the ratio of experimental to predicted water content.

Table 1, shows the predicted drying time needed to achieve a target water content of 0.02 g water/g sample, assumed to be a normal water content for this kind of product. As no important differences were observed in the model parameters as a result of biopolymer addition, considering the confidence intervals, a mean time value was taken into account to process the two samples freeze-dried at room temperature and another one for the two treated at 40 °C on the shelf, this being 23.9 h and 10.15 h, respectively. It has been established that simply heating the shelves to 40 °C during freeze-drying considerably shortens the process time by more than 50 %. New samples were processed at these times and characterized so as to analyze the product quality change due both to the presence of GA and BF and the heating of the shelves. The obtained results are discussed in the next section.

3.2. Quality of the target freeze-dried samples

The experimental water content of the freeze-dried samples was 0.030 ± 0.001 , 0.025 ± 0.004 , 0.013 ± 0.002 and 0.018 ± 0.007 g water/g sample for G(RT), GB(RT), G(40), GB(40), respectively, these values being within the error limits of the considered model (Fig. 4).

3.2.1. Porosity

The porosity (Table.2.) of the G(RT) and G(40) samples was greater than that shown by the corresponding GB(RT) and GB(40) samples, with added biopolymers. This behavior was not dependent on the shelf temperature in the freeze-dryer. This result suggests that the incorporation of GA and BF exerts an effect on the degree of contraction of the sample during the freeze-drying process, enhancing the union between the fruit's own solutes and those added. This could also be related with a certain cryoprotective effect of the biopolymers, decreasing the amount of ice formed (Telis and Martínez-Navarrete, 2010). Raising the shelf temperature also promotes an increase in porosity, which is counteracted by the biopolymer effect.

Table 2. Porosity (ε), deformability (d), fracture force (Fx) and vitamin C content (VC). Mean values \pm standard deviation. G(RT): grapefruit puree freeze-dried at room temperature.

Sample ⁽¹⁾	ε (%)	d (N/mm)	Fx (N)	VC (mg AA/100g _{GS} ⁽²⁾)
G(RT)	0.81 \pm 0.02 ^b	6 \pm 2 ^a	8 \pm 4 ^a	357 \pm 27 ^b
GB(RT)	0.78 \pm 0.02 ^a	28 \pm 6 ^c	24 \pm 3 ^c	301 \pm 7 ^a
G(40)	0.83 \pm 0.01 ^c	9.4 \pm 1.8 ^a	17 \pm 4 ^b	361 \pm 27 ^b
GB(40)	0.79 \pm 0.01 ^{ab}	19 \pm 7 ^b	36 \pm 5 ^d	336 \pm 20 ^{ab}

⁽¹⁾G(RT): grapefruit puree freeze-dried at room temperature; GB(RT): grapefruit puree with added biopolymers and freeze-dried at room temperature, G(40): grapefruit puree freeze-dried at 40 °C on the shelf, and GB(40): grapefruit puree with added biopolymers and freeze-dried at 40 °C on the shelf. ⁽²⁾grapefruit's own solutes. Different letters (a, b, c) in columns indicate non-homogeneous groups established by the ANOVA ($p < 0.05$).

3.2.5. Superficial porosity. Number and pore size distribution

Fig. 5, shows the number of superficial pores in each area range considered. A similar pore number distribution was observed for each of the four samples. The total number of pores formed was similar in the samples without added biopolymers, G(RT) and G(40), with 415 and 419 pores, respectively. A lower number of superficial pores appeared in GB(RT) and GB(40) samples with 312 and 270, respectively. This coincides with the porosity results (Table 2) and could be related with the cryoprotective effect of the biopolymers and the formation of a more structured matrix, as commented on previously. The freeze-drying temperature was not observed to have any clear effect on the number of pores formed.

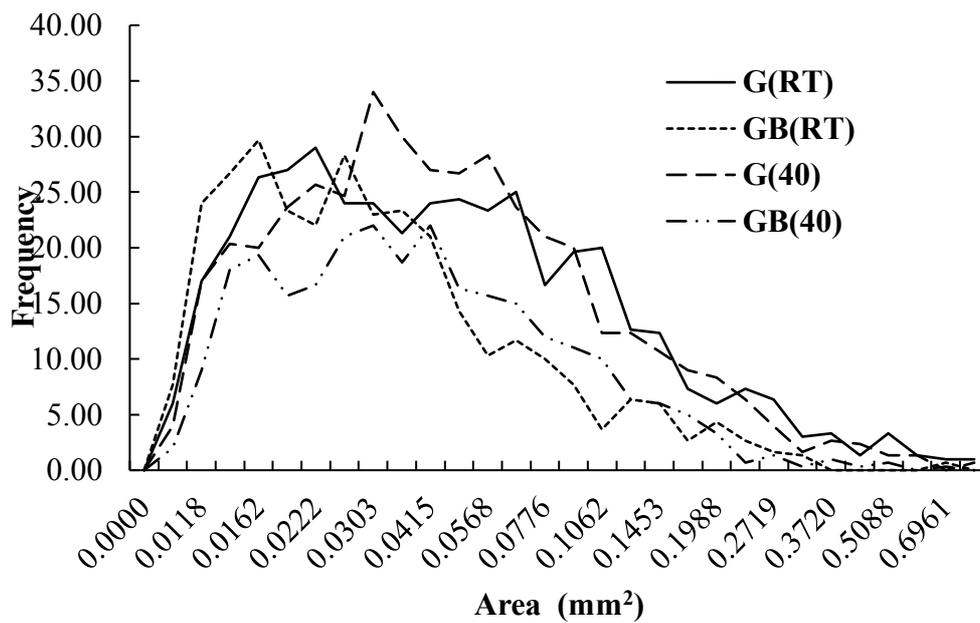


Figure 5. Number of pores (frequency) formed in each area range considered. G(RT): grapefruit puree freeze-dried at room temperature; GB(RT): grapefruit puree with added biopolymers and freeze-dried at room temperature, G(40): grapefruit puree freeze-dried at 40 °C on the shelf, and GB(40): grapefruit puree with added biopolymers and freeze-dried at 40 °C on the shelf.

The mean pore size was calculated for each sample (Fig. 6), together with the median and mode of the pore size distribution. Each of the three properties behaved similarly. As can be observed, the samples freeze-dried at 40 °C exhibited a greater mean pore size than when processed at room temperature, especially when no biopolymers were added. In this sense, the G(40) sample was the one in which more and bigger pores were formed, which agrees with the greater porosity exhibited (Table 2).

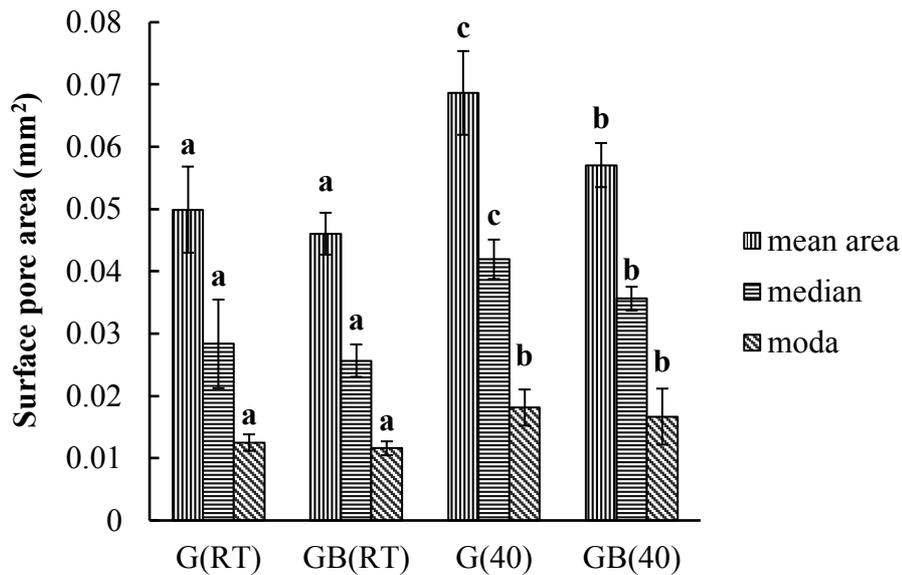


Figure 6. Mean area of the pores formed. Median and mode of the pore size distribution. G(RT): grapefruit puree freeze-dried at room temperature. G(RT): grapefruit puree freeze-dried at room temperature; GB(RT): grapefruit puree with added biopolymers and freeze-dried at room temperature, G(40): grapefruit puree freeze-dried at 40 °C on the shelf, and GB(40): grapefruit puree with added biopolymers and freeze-dried at 40 °C on the shelf. Different (a-c) letters by property indicate non-homogeneous groups established by the ANOVA ($p < 0.05$).

3.2.2. Color

The color co-ordinates and attributes (Fig. 7) varied significantly ($p < 0.05$) as a consequence of the incorporation of biopolymers. The luminosity (L^*) and the hue angle (h^*) increased and the chroma (C^*) decreased. The addition of biopolymers has led to similar behavior described by other authors (Raj et al., 2018; Lachowicz et al., 2018; González et al., 2018). Heating the samples to 40 °C during the FD process does not affect the color of the cake. To quantify the global color differences between freeze-dried samples, ΔE was calculated. When the color of the samples with and without biopolymers was compared without taking the temperature into account, the ΔE were found to lie between 8.71 and 9.87. Nevertheless, the ΔE was 0.66 or 1.24 for GB(RT)-GB(40) and G(RT)-G(40) samples, respectively. From these results, it may be observed that it is the biopolymers that exert the predominant effect on the color change of the sample during FD rather than the temperature. As has been mentioned, ΔE values of ≤ 3 are not perceived by the human eye (Bodart et al., 2008; Buvé et al., 2018).

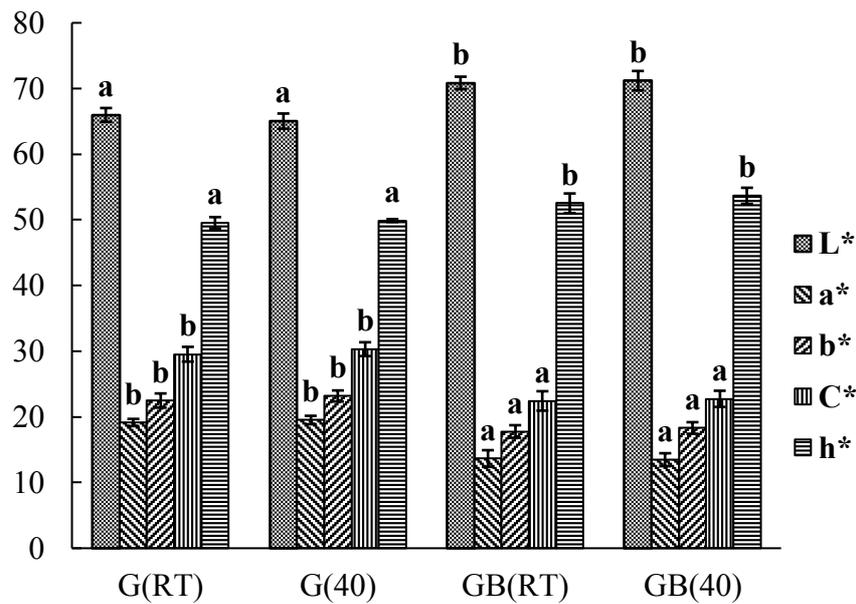


Figure 7. CIE L*a*b* color co-ordinates, chroma (C*) and hue angle (h*). G(RT): grapefruit puree freeze-dried at room temperature; GB(RT): grapefruit puree with added biopolymers and freeze-dried at room temperature, G(40): grapefruit puree freeze-dried at 40 °C on the shelf, and GB(40): grapefruit puree with added biopolymers and freeze-dried at 40 °C on the shelf. Different (a, b) letters by attributes indicate non-homogeneous groups established by the ANOVA ($p < 0.05$).

3.2.3. Mechanical properties

Fig. 8 shows, as an example, the force-distance curves obtained from the compression test. Two different behavior were observed for the samples with or without added biopolymers. Every sample with added biopolymers showed greater force values and multiple fracture peaks from the beginning of the test, while a mild increase in the compression force was observed in the samples without GA and BF. This behavior may be related with the Tg of the samples, greater when high molecular weight solutes are present (Roos, 1995). In this way, at the temperature at which the mechanical test was carried out, the G(RT) and G(40) samples may be expected to have a more rubbery state. It is known that the degree of fracture serves as a measurement of crunchiness (Hackl and Ermolina, 2016).

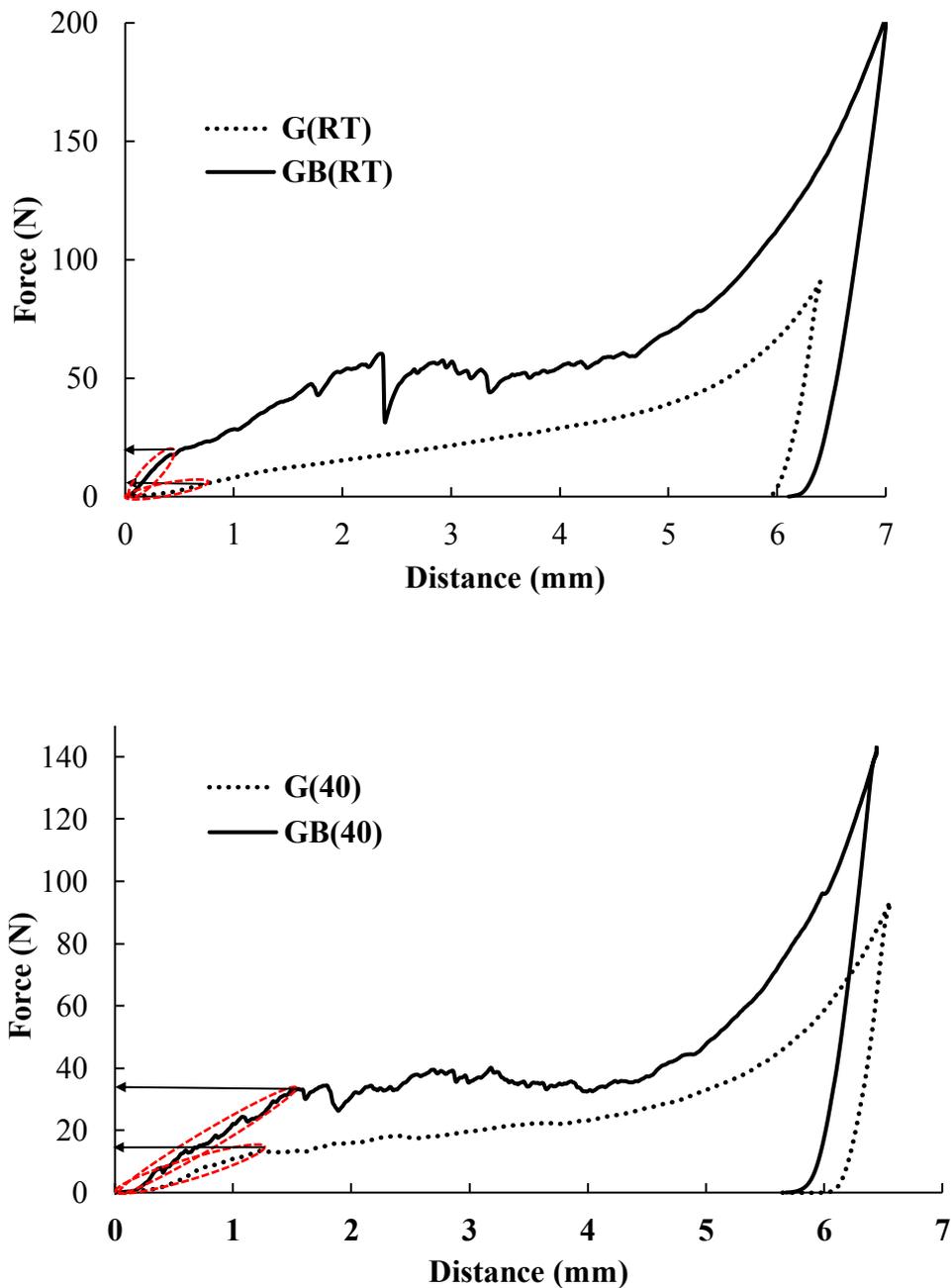


Figure 8. Example of a compression force (N) vs. distance (mm) curve for one of the samples obtained under the different process conditions: at room temperature (RT) and at 40 °C on the shelf (40), without (G) and with (GB) the addition of polymers. The circle drawn with the continuous line indicates the data considered to evaluate the fracture or yield force (value indicated by the arrows) and the one with the dashed line represents the data used for deformability analysis

Every force-distance curve (Fig. 8) shows an initial force increase related to the deformability of the sample; the higher the slope, the lower the deformability. The sample's surface is deformed until a significant fracture (samples GB) or yield point (samples G) is observed. From this moment, the fracture of the internal part of the GB samples continues and no more force increase is observed until the fractured sample remaining under the probe is compressed, which leads to a sharp increase in the force. In the case of the G samples, the less fracturable behavior leads to an initial mild, continuous force increase until the compression under the probe is clearly observed at which point the force increases sharply.

The beginning of the curve, visually selected, was considered so as to evaluate the fracture force or yield point (F_x). This point was provided by the texture analyzer software program fitted to a force threshold of 0.049 N or by the linear behavior change, respectively. To evaluate the deformability (d) of the sample, the slope of the straight line fitted from the origin to F_x was considered. Fig. 8 shows, as an example, the procedure used to analyze the F_x and d values. The obtained values appear in Table 2. As can be observed in Table 2, the added biopolymers give rise to the obtaining of samples that are less deformable and more resistant to fracture ($p < 0.05$), in line with what is expected in the glassy state. Heating the samples during FD led to the obtained cake exhibiting a greater resistance to fracture and the samples with added biopolymers ($p < 0.05$) having a greater degree of deformability. A correlation was observed between the mechanical properties and the porosity of the samples (Table 2). Thus, the GB(RT) and GB(40) samples, which were those with the lowest porosity, were also the crunchiest and the firmest. Bearing in mind both this mechanical behavior and also the significantly shorter process time involved when freeze-drying at 40 °C, it is recommended to add biopolymers and to heat the freeze-dryer shelves for the purposes of obtaining a crunchy snack-type product.

3.2.4. Vitamin C

The samples with added GA and BF had a significant ($p < 0.05$) lower vitamin C content (Table 2). This may be due to the fact that biopolymers help to create a network that exerts a retention-protection effect which hinders the extraction of the vitamin (Agudelo et al., 2017). On the other hand, heating the shelves to 40 °C does not

significantly affect ($p < 0.05$) the vitamin C content of the samples (Table 2). In other studies, carried out on apple or mango purees, it has also been described how the vitamin C content is not affected in processes carried out at up to 80 °C (Herbig et al., 2017; Xanthakis et al., 2018).

4. Conclusions

When the freeze-drying process is used to obtain a grapefruit snack-type product, heating the shelves just to 40 °C during freeze-drying considerably shortens the process time (by 57.5 %), leaves the color and vitamin C content of the product unaffected and promotes samples with a greater mean pore size. Although the presence of GA and FB in the fruit puree does not affect the drying kinetics, they do change the color and interact with the grapefruit puree matrix. This interaction makes it more difficult to extract vitamin C and results in a less porous, crunchier and firmer structure of the freeze-dried cake. Raising the shelf temperature to 40 °C counteracts the biopolymer effect. These conclusions allow us to recommend both incorporating GA and FB into the grapefruit puree and also heating the freeze-dryer shelves to 40 °C in order to shorten the process time and obtain a firm, crunchy cake that could be consumed as a snack.

Acknowledgments

The authors thank the Ministerio de Economía y Competitividad and the Ministerio de Economía, Industria y Competitividad for the financial support given through the Projects AGL 2012-39103 and AGL 2017-89251-R (AEI/FEDER-UE), respectively. Egas-Astudillo, L.A thanks the Secretary of Higher Education, Science, Technology and Innovation (SENACYT) of the Republic of Ecuador for the contribution to this research.

References

- Agudelo, C., Barros, L., Santos-Buelga, C., Martínez-Navarrete, N., Ferreira, I.C.F.R., 2017. Phytochemical content and antioxidant activity of grapefruit (Star Ruby): A comparison between fresh freeze-dried fruits and different powder formulations. *LWT - Food Sci. Technol.* 80, 106–112.
- Agudelo, C., Igual, M.M., Camacho, M.M., Martínez-Navarrete, N., 2017. Effect of process technology on the nutritional, functional, and physical quality of grapefruit powder. *Food Sci. Technol. Int.* 23, 61–74. <https://doi.org/10.1177/1082013216658368>.
- Azzouz, S., Guizani, A., Jomaa, W., Belghith, A., 2002. Moisture diffusivity and drying kinetic equation of convective drying of grapes. *J. Food Eng.* 55, 323–330. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00109-7](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00109-7)
- Benlloch-Tinoco, M., Moraga, G., del Mar Camacho, M., Martínez-Navarrete, N., 2013. Combined Drying Technologies for High-Quality Kiwifruit Powder Production. *Food Bioprocess Technol.* 6, 3544–3553. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-1030-3>
- Bodart, M.; de Peñaranda, R.; Deneyer, A., Flamant, G., 2008. Photometry and colorimetry characterisation of materials in daylighting evaluation tools. *Building and Environment.* 43, 2046-2058.
- Broeke, J., Pérez Mateos, J.M., Pascau, J., 2015. *Image Processing with ImageJ: Extract and analyze data from complex images* (2th ed., pp. 130-138). Publishing Packt, Birmingham, UK. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Carle, F., Brutin, D., 2015. Liquid and Vapor Propertie. In Brutin, D. (Ed). *Droplet Wetting and Evaporation from Pure to Complex Fluids* (1th ed., pp. 129-138). Academic Press, Marseille, France. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-18955-6>
- Buvé, C., Kebede, B.T., De Batselier, C., Carrillo, C., Pham, H.T.T., Hendrickx, M., Grauwet, T., Van Loey, A., 2018. Kinetics of colour changes in pasteurized strawberry juice during storage. *J. Food Eng.* 216, 42–51. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.08.002>
- Camacho, M.M., Casanova, M.A., Fenollosa, L., Ribal, J., Martínez-Lahuerta, J.J., Martínez-Navarrete, N., 2018. Economic feasibility of freeze-drying to obtain powdered fruit. In *Proceedings of 21 st International Drying Symposium*. Valencia, Spain. <http://dx.doi.org/10.4995/IDS2018.2018.8877>
- Calín-Sánchez, Á., Kharaghani, A., Lech, K., Figiel, A., Carbonell-Barrachina, Á.A., Tsotsas, E., 2014. Drying Kinetics and Microstructural and Sensory Properties of Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) as Affected by Drying Method. *Food Bioprocess Technol.* 8, 63–74. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1383-x>
- Choi, Y., Okos, M., 1986. Effects of temperature and composition on the thermal properties of foods. In M. LeMaguer, P. Jelen, (Eds), *Food Engineering and Process Applications* (pp. 93-101). Applied Science, London.
- Datta, A.K., 2007. Porous media approaches to studying simultaneous heat and mass transfer in food processes. II: Property data and representative results. *J. Food Eng.* 80, 96–110. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.05.012>

- Fongin, S., Kawai, K., Harnkarnsujarit, N., Hagura, Y., 2017. Effects of water and maltodextrin on the glass transition temperature of freeze-dried mango pulp and an empirical model to predict plasticizing effect of water on dried fruits. *J. Food Eng.* 210, 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.025>
- González, F., Igual, M., Camacho, M.M., Martínez-Navarrete, N., 2018. Impact of Temperature, Gum Arabic and Carboxymethyl Cellulose on Some Physical Properties of Spray-Dried Grapefruit. *Int. J. Food Eng.* 14. 20170387. <https://doi.org/10.1515/ijfe-2017-0387>
- Hackl, E. V., Ermolina, I., 2016. Using Texture Analysis Technique to Assess the Freeze-Dried Cakes in Vials. *J. Pharm. Sci.* 105, 2073–2085. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2016.05.016>
- Hammami, C., René, F., 1997. Determination of freeze-drying process variables for strawberries. *J. Food Eng.* 32, 133–154. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(97\)00023-X](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(97)00023-X)
- Herbig, A.L., Maingonnat, J.F., Renard, C.M.G.C., 2017. Oxygen availability in model solutions and purées during heat treatment and the impact on vitamin C degradation. *LWT-Food Sci. Technol.* 85, 493–499. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.09.033>
- Hua, T.-C., Liu, B.-L., Zhang, H., 2010. Freezing- and Drying-Induced Perturbations of Protein Structure and Mechanisms of Protein Protection by Stabilizing Additives. In Carpenter, J.F., Izutsu, K. and Randolph, T.W. (Eds), *Freeze-Drying of Pharmaceutical and Food Products* (1th ed, pp. 170-183). Woodhead Publishing, Cambridge, UK. <https://doi.org/10.1533/9781845697471.141>
- Hutchings, J.B., 1999. *Food Colour and Appearance* (1th ed., pp. 265-268). Springer Science, Bedfor, UK. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2373-4>
- Igual, M., Ramires, S., Mosquera, L.H., Martínez-Navarrete, N., 2014. Optimization of spray drying conditions for lulo (*Solanum quitoense* L.) pulp. *Powder Technol.* 256, 233–238. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2014.02.003>
- Karam, M.C., Petit, J., Zimmer, D., Baudelaire Djantou, E., Scher, J., 2016. Effects of drying and grinding in production of fruit and vegetable powders: A review. *J. Food Eng.* 188, 32–49. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.05.001>
- Kasper, J.C., Friess, W., 2011. The freezing step in lyophilization: Physico-chemical fundamentals, freezing methods and consequences on process performance and quality attributes of biopharmaceuticals. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 78, 248-63. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2011.03.010>
- Lachowicz, S., Oszmiański, J., Kalisz, S., 2018. Effects of various polysaccharide clarification agents and reaction time on content of polyphenolic compound, antioxidant activity, turbidity and colour of chokeberry juice. *LWT - Food Sci. Technol.* 92, 347–360. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.054>
- Michalska, A., Wojdylo, A., Lech, K., Lysiak, G.P., Figiel, A., 2016. Physicochemical properties of whole fruit plum powders obtained using different drying technologies. *Food Chem.* 207, 223–232. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.075>
- Nireesha, G., Divya, L., Sowmya, C., Venkateshan, N., Babu, M.N., Lavakumar, V., 2013. Lyophilization/freeze drying-a review. *Int. J. Nov. Trend Pharm. Sci.* 3,87–98.
- Oetjen, G.W., Haseley, P., 2003. Foundations and Process Engineering: Section 1.1 (Freezing), In Oetjen, G.W., & Haseley, P (Eds), *Freeze-Drying* (2th ed. pp. 60-77). Willey-VCH, New York, USA. <https://doi.org/10.1002/9783527612482>

- Raj, A.S., Chakraborty, S., Rao, P.S., 2019. Thermal assisted high-pressure processing of Indian gooseberry (*Embilica officinalis L.*) juice – Impact on color and nutritional attributes, *LWT - Food Science and Technology*, 99, 119-127. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.09.051>
- Roos, Y.H., 1995. *Phase Transitions in Foods*. Academic Press, San Diego, USA.
- Russ, J.C., 2005. *Image analysis of food microstructure*. CRC PRESS, New York, USA.
- Sahin, S., Gülüm, S., 2006. *Size, Shape, Volume, and Related Physical Attributes*, in: *Physical Properties of Foods* (th ed. pp 1-33), Springer Science, Ankara, Turkey.
- Simal, S., Femenia, A., Garau, M.C., Rosselló, C., 2005. Use of exponential, Page's and diffusional models to simulate the drying kinetics of kiwi fruit. *J. Food Eng.* 66, 323–328. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.03.025>
- Simpson, R., Ramírez, C., Nuñez, H., Jaques, A., Almonacid, S., 2017. Understanding the success of Page's model and related empirical equations in fitting experimental data of diffusion phenomena in food matrices. *Trends Food Sci. Technol.* 62, 194–201. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.01.003>
- Sun, D.W., Zheng, L., 2006. Vacuum cooling technology for the agri-food industry: Past, present and future. *J. Food Eng.* 77, 203–214. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.06.023>
- Telis, V.R.N., Martínez-Navarrete, N., 2010. Application of compression test in analysis of mechanical and color changes in grapefruit juice powder as related to glass transition and water activity. *LWT - Food Sci. Technol.* 43, 744–751. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.12.007>
- Xanthakis, E., Gogou, E., Taoukis, P., Ahrné, L., 2018. Effect of microwave assisted blanching on the ascorbic acid oxidase inactivation and vitamin C degradation in frozen mangoes. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 48, 248–257. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2018.06.012>
- Xu, G., Liu, D., Chen, J., Ye, X., Ma, Y., Shi, J., 2008. Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. *Food Chem.* 106, 545–551. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.046>

III.3.3. Estudio de la evolución de la temperatura del producto durante la liofilización

El seguimiento de la evolución de la temperatura de las muestras, tanto durante la congelación como durante el secado, se hizo a dos de las tres bandejas de las muestras sin y con biopolímeros añadidos que se liofilizaron congelando en arcón y en abatidor y secando a temperatura ambiente o a 40 °C.

III.3.3.1. Evolución de la temperatura del producto durante la congelación

La Figura III.3.3.1. muestra, como ejemplo, una curva con la evolución de la temperatura del puré de pomelo sin y con biopolímeros añadidos durante su congelación. Tal y como establece la bibliografía, estas curvas permitieron identificar las 5 etapas que, generalmente, se observan durante la congelación de un alimento (James and James, 2014). En primer lugar, ocurre el enfriamiento de la muestra antes del inicio de la formación de los cristales de hielo. Durante esta etapa (E1), se observa una disminución lineal de la temperatura, siendo la pendiente de este tramo proporcional a la velocidad de enfriamiento de la muestra. Ésta va a depender del equipo utilizado y de las propiedades térmicas y geométricas de la muestra (Heldman and Hartel, 1997). En el momento en que se inicia el cambio de estado del agua, a una temperatura dependiente de la cantidad y tipo de solutos presentes en el alimento, se observa una disminución muy importante de la pendiente. La cristalización del agua es un proceso exotérmico que desprende calor, de manera que el sistema de enfriamiento que se esté utilizando deberá esforzarse en eliminar ese calor desprendido para asegurar que en el equipo se mantiene la temperatura programada. En equipos convencionales, la eliminación de este calor extra no permite que la muestra siga enfriándose a la misma velocidad que antes del inicio de la congelación. Esta segunda etapa (E2) se extiende hasta que termina la formación de hielo en la muestra. A partir de este momento, vuelve a aumentar la velocidad de enfriamiento del producto que ahora ya está congelado (etapa E3), hasta alcanzar el equilibrio con la temperatura a la que se encuentra el equipo utilizado para la congelación (etapa E4). Conviene recordar en este punto que no toda el agua presente en un alimento es congelable. La progresiva crioconcentración de la fracción líquida del alimento hace que su temperatura de congelación sea cada vez menor. Ambos factores suponen un incremento importante de la viscosidad de la matriz no congelada que acaba limitando la

movilidad molecular del agua que aún permanece en estado líquido y se acaba impidiendo su cristalización. Así, la disolución residual máximamente crioconcentrada, en estado amorfo, queda atrapada entre los cristales de hielo que se hayan formado. Esta estructura asegura una gran estabilidad del sistema alimenticio justamente por la inmovilización del agua líquida residual y la baja temperatura.

Además de estas 4 etapas, en algunos casos se observó un subenfriamiento de la muestra (Fig. III.3.3.1), que se da cuando la velocidad de enfriamiento es mayor que la de cristalización, de manera que el producto puede encontrarse puntualmente a temperatura inferior a la de inicio de congelación sin que se haya formado el primer cristal de hielo. El producto subenfriado se encuentra en un estado meta-estable de no equilibrio termodinámico, que podría interpretarse como algo similar a una energía de activación necesaria para el proceso de nucleación (Kasper et al., 2013). No obstante, cuando comienza la cristalización, el calor desprendido provoca un aumento también puntual de la temperatura de la muestra hasta alcanzar la que termodinámicamente corresponde a la de cristalización del agua.

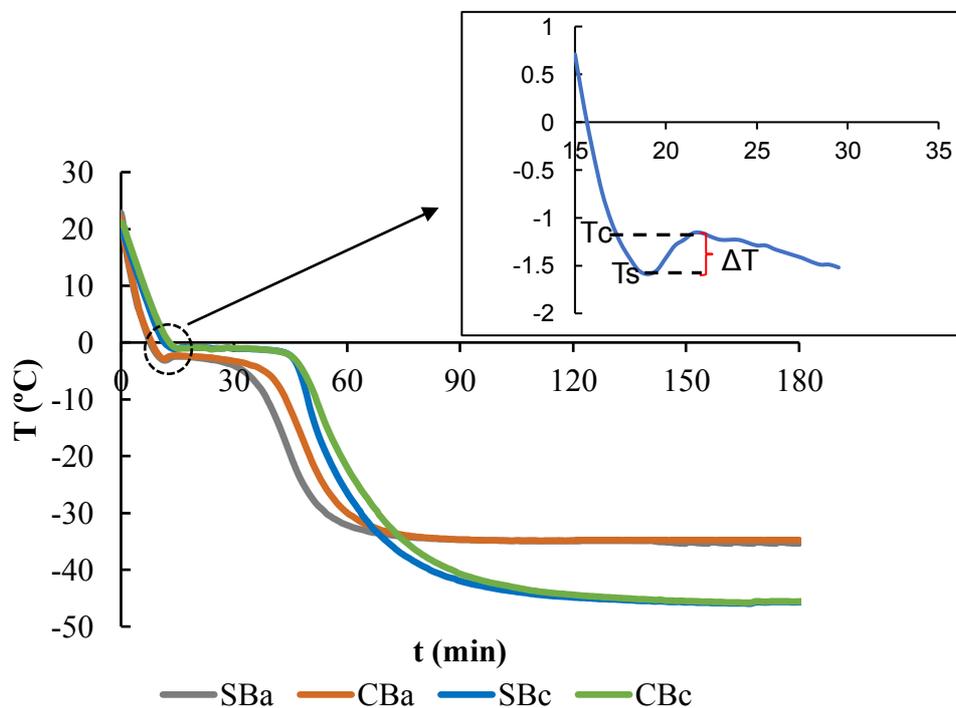


Figura III.3.3.1. Evolución de la temperatura (T) del triturado de pomelo sin y con biopolímeros (SB y CB, respectivamente) durante su congelación en arcón (c) o en abatidor (a).

Para cada una de las curvas obtenidas, se caracterizó la pendiente ($^{\circ}\text{C}/\text{min}$) y duración (min) de los tres tramos de enfriamiento descritos anteriormente (Fig. III.3.3.2): antes del inicio de la formación de hielo (E1), durante la congelación (E2) y en el enfriamiento del producto congelado (E3)

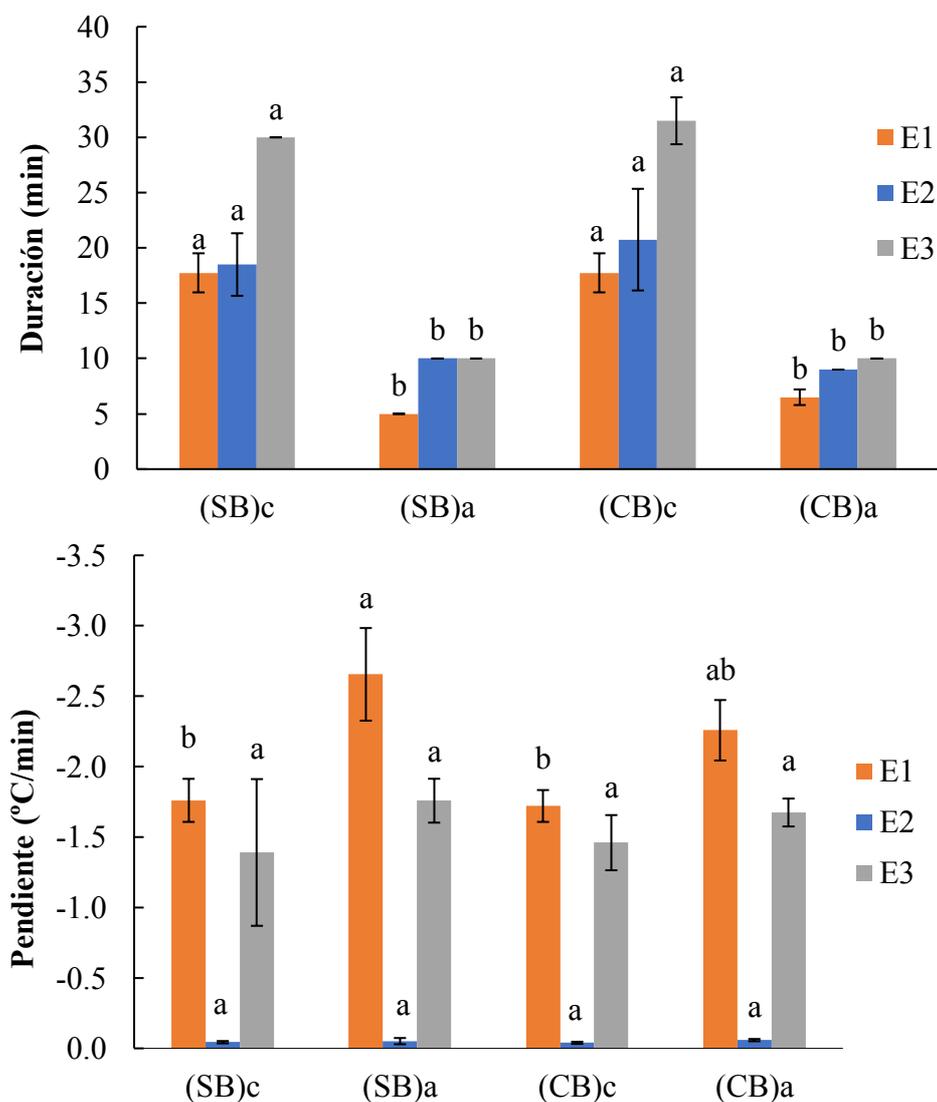


Figura III.3.3.2. Pendiente ($^{\circ}\text{C}/\text{min}$) y duración (min) del enfriamiento antes del inicio de la formación de hielo (E1), durante la congelación (E2) y durante el enfriamiento del producto congelado (E3) para las muestras de triturado de pomelo sin y con biopolímeros (SB y CB, respectivamente) durante su congelación en arcón (c) o en abatidor (a). Letras diferentes (a, b, c) por colores denotan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre muestras, para cada etapa.

La pendiente de los dos tramos donde se da el enfriamiento más acusado de las muestras (E1 y E3) va a estar especialmente relacionada con el sistema de enfriamiento utilizado. Como puede observarse en la Fig. III.3.3.2, y como era de esperar, estas pendientes y, por tanto, la velocidad de enfriamiento fue, para cada muestra, mayor cuando se utilizó el abatidor que el arcón, si bien esta diferencia sólo fue significativa ($p < 0.05$) para el enfriamiento antes de la congelación, cuando la diferencia de temperatura entre la muestra y el entorno es mayor. En ningún caso se observó un efecto significativo de la presencia de los biopolímeros añadidos en la velocidad de enfriamiento de las muestras ($p > 0.05$). Por su parte, aunque se observó un enfriamiento más rápido de las muestras antes que después de la formación del hielo, especialmente cuando éstas se enfriaron en el abatidor, este efecto no fue significativo ($p > 0.05$). En cualquier caso, esta diferencia podría justificarse por el hecho de que la velocidad de enfriamiento es función, además de la resistencia del alimento a la transferencia de calor, de la diferencia de temperatura entre el producto y el medio en que se encuentra (Degner et al., 2013). La menor diferencia de temperatura entre la muestra congelada y la del entorno, especialmente en el caso del abatidor, contribuye a la mayor lentitud del enfriamiento en este caso.

Por su parte, la etapa E2 en la que se da el cambio de estado marca la cinética de la nucleación y crecimiento de los cristales de hielo. Esto determina el estado físico y la morfología de la muestra congelada y, en consecuencia, las propiedades finales del producto liofilizado (Kasper and Friess, 2011). En esta morfología influirá la temperatura de congelación, la naturaleza de los solutos presentes y su concentración (Searles et al., 2001). Respecto al subenfriamiento, observado en todas las muestras, se identificó su temperatura mínima (T_s) y la temperatura de inicio de la congelación (T_c) (Fig. III.3.3.1). No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las diferentes muestras, siendo el valor medio de T_s -2.2 ± 0.8 °C y el de T_c -1.7 ± 0.8 °C. Esto permite concluir que la temperatura de inicio de la congelación del puré de pomelo en las condiciones de este estudio es -1.7 ± 0.8 °C y no se ve afectada ni por la presencia de goma arábiga y fibra de bambú en la muestra ni por el sistema de congelación.

Por su parte, la pendiente de la etapa E2 sería, desde un punto de vista estricto, la velocidad de congelación de las muestras, que varió, como media, entre -0.0379 y -0.0669 °C/min para las muestras congeladas en el arcón y en el abatidor, respectivamente.

Aunque la congelación fue más rápida en el abatidor, no hubo diferencias significativas en las pendientes ($p > 0.05$), en relación con mayor influencia de la entalpía de congelación del agua en esta etapa (Degner et al., 2013).

Teniendo en cuenta que la duración de las diferentes etapas anteriormente descritas mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$), en cada una de las etapas, por efecto del tipo de congelación empleado, pero no ($p > 0.05$) por la presencia de biopolímeros (Fig. III.3.3.2), se calculó la velocidad de enfriamiento general promedio de las muestras consideradas en nuestro estudio, desde 20 hasta $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$, considerando el tiempo necesario, en cada caso, para conseguir esa disminución de temperatura (Degner et al., 2013). Ésta fue de -0.58 ± 0.07 y $-0.92 \pm 0.09\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ para arcón y abatidor, respectivamente. Según Degner et al. (2013), valores de velocidad de congelación, calculados en este intervalo de temperaturas, superiores a $0.11\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ya pueden considerarse velocidad de congelación rápida. Esto puede justificarse por el pequeño tamaño de las muestras congeladas en nuestro caso.

III.3.3.2. Evolución de la temperatura del producto durante el secado

Como se ha comentado en la Introducción de la Tesis, durante el secado por liofilización se identifica un primer periodo en el que la temperatura del producto se mantiene baja, próxima a la temperatura del producto congelado, y constante y un segundo periodo en que esta temperatura aumenta rápidamente hasta alcanzar la temperatura de la cámara de secado (Barbosa and Vega, 2000). El primer periodo se identifica con el secado primario, en el que ocurre la sublimación y el segundo con el secado secundario que se corresponde con la desorción del agua no congelada. Sin embargo, la separación entre secado primario y secundario no siempre es tan clara, cuando se procesan alimentos y, además, la evolución de la temperatura de las muestras cambia cuando la congelación y el secado se llevan a cabo en equipos diferentes, como ha sido el caso en este trabajo.

En la Fig. III.3.3.3. puede observarse, para cada muestra, un ejemplo de la evolución de su temperatura durante la etapa de secado por liofilización. Como puede apreciarse, las muestras, inicialmente, se encuentran a una temperatura de aproximadamente -45°C , temperatura a la que se encontraban en el arcón congelador. Una vez que las muestras se introducen en el liofilizador y éste se pone en marcha, la

temperatura de la muestra empieza a subir rápidamente debido a la diferencia de temperatura que existe entre los estantes del liofilizador y la de las muestras congeladas. Cuando comienza a hacerse el vacío en la cámara del liofilizador (tiempo 0 del proceso de secado), la progresiva disminución de la presión, hasta que se estabiliza a la presión programada, hace que la temperatura del producto disminuya de nuevo hasta estabilizarse, permaneciendo a esta temperatura mientras predomina la sublimación (etapa de secado primario). A partir de un determinado momento la temperatura de las muestras empieza a aumentar y las curvas adquirieron pendientes más o menos acusadas, dependiendo de las condiciones del secado. Por lo que ha podido observarse durante el desarrollo de este trabajo, en la parte del estudio cinético (apartados III.3.1 y III.3.2), durante este tiempo aún ocurre la sublimación, aunque probablemente ya solapada con la desorción del agua no congelada. Finalmente, la temperatura de la muestra aumenta cada vez más lentamente hasta alcanzar la temperatura de la cámara, durante lo que sería ya la etapa de secado secundario, donde predomina la desorción (Alted, 2015). En todos los casos, el efecto de la temperatura del estante se hace evidente en la duración tanto del secado primario como del secundario.

Como nos muestra la Fig. III.3.3.3, las experiencias realizadas a temperatura ambiente supusieron, para las muestras, alcanzar una temperatura de 20 °C. Como era de esperar, al calentar las bandejas del liofilizador a 40 °C, la muestra alcanza antes la temperatura de la cámara, lo que permite acortar el tiempo de proceso. Esto se refleja en una menor duración de la primera etapa, al haber mayor cantidad de calor disponible para la sublimación, y también en una mayor velocidad de aumento de la temperatura de la muestra durante la segunda etapa.

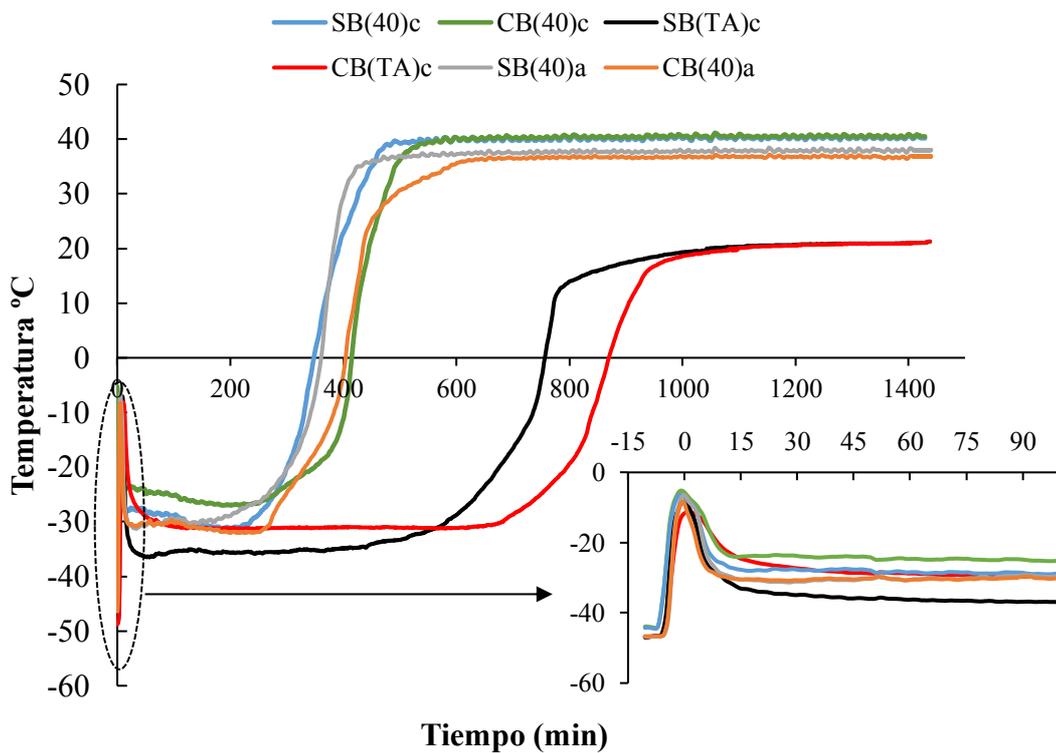


Figura III.3.3.3. Evolución de la temperatura de las muestras durante el secado en el liofilizador. Muestras sin o con biopolímeros añadidos (SB y CB, respectivamente), congeladas en arcón (c) o en abatidor (a), y secadas a temperatura ambiente (TA) o calentando a 40 °C el estante del liofilizador (40).

Tratando de poder identificar de mejor manera ambas etapas y los fenómenos predominantes en cada momento, los datos de temperatura de la muestra durante el secado (T_t), desde el momento que el liofilizador alcanza la presión establecida, se normalizaron respecto a la temperatura final alcanzada por la muestra (T_f). Además, se analizó la velocidad de cambio de temperatura de la muestra calculada a partir de la relación entre el incremento de temperatura de la misma entre 2 datos consecutivos y el correspondiente incremento de tiempo ($\Delta T/\Delta t$). La Fig. III.3.3.4 muestra ambas relaciones y su evolución con el tiempo de secado. La curva $\Delta T/\Delta t$ vs. t permite identificar una primera fase donde el cambio de temperatura con el tiempo se mantiene constante. Esto es coherente con el hecho de que durante este tiempo ocurre la sublimación de una cantidad importante del hielo de la muestra, de manera que el calor que la muestra congelada obtiene del ambiente se invierte en la sublimación y no se modifica la temperatura de la muestra. Cuando a la muestra ya le queda poco hielo, se observa cómo su temperatura aumenta cada vez más

rápido hasta alcanzar un valor máximo. Cuando ya prácticamente no queda hielo y sólo se produce evaporación por desorción, la temperatura de la muestra está cada vez más próxima a la de la cámara, de manera que su velocidad de calentamiento es cada vez menor. Con este análisis de la curva de temperatura, podría identificarse el secado primario hasta el momento en que se alcanza el valor máximo de $(\Delta T/\Delta t)$ y, a partir de él, el secado secundario.

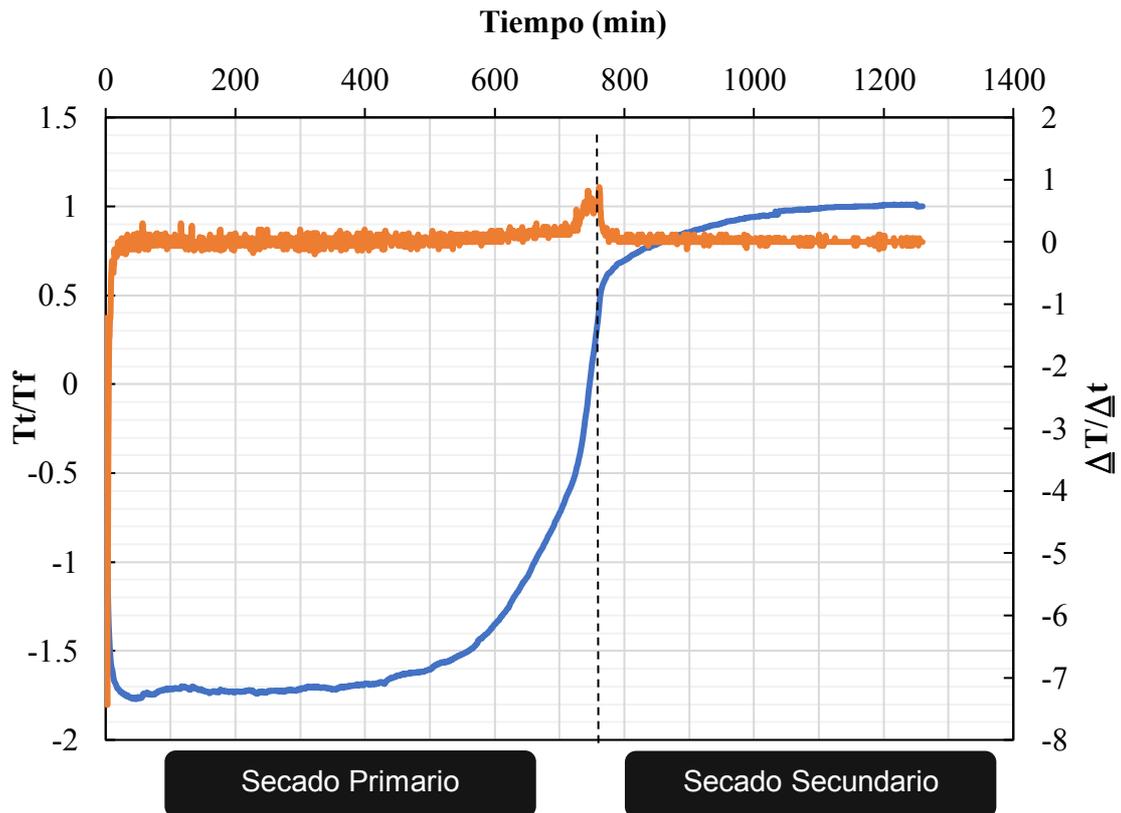


Figura III.3.3.4. Evolución de $\Delta T/\Delta t$ (curva naranja) y T_t/T_f (curva azul) en la muestra sin biopolímeros añadidos, congelada en el arcón, durante su secado a temperatura ambiente. La línea negra punteada marca el final del secado primario y el comienzo del secado secundario. T_t : temperatura de la muestra a cada tiempo del secado; T_f : temperatura final; $\Delta T=(T_t-T_f)$; Δt = incremento de tiempo entre dos datos consecutivos.

Según se ha podido observar en diferentes experiencias realizadas durante este estudio, la duración del secado secundario es clave para obtener un producto con la calidad adecuada, pues si se acorta en exceso, se corre el riesgo de obtener un producto con mayor humedad de la deseada. En este sentido, es importante disponer de alguna herramienta que permita identificar el punto final de esta segunda etapa. A pesar de la

bondad del modelo cinético utilizado en los apartados III.3.1 y III.3.2, es cierto que su aplicación resulta poco práctica pues no permite un seguimiento en continuo del proceso, ya que, para conocer la humedad de la muestra en cada momento, hay que detener el secado. Por este motivo, se quiso estudiar la posibilidad de utilizar la evolución de la temperatura de la muestra para poder identificar, en continuo, el punto final del mismo. Según las curvas de temperatura registradas en las experiencias descritas en este apartado y en otras previas, todas ellas obtenidas durante el secado a 40 °C, en todos los casos pudo comprobarse que cuando el producto alcanza una temperatura próxima a la cámara de secado, éste se encuentra perfectamente seco. Por lo tanto, el punto final del proceso podría identificarse cuando se registra el valor $(T_t/T_f)=1$. Considerando este criterio, se identificó, para las diferentes muestras procesadas, la duración del secado (Tabla III.3.3.1). Si se compara este tiempo con el que predice el modelo ajustado en el apartado III.3.2 para conseguir un producto con una humedad del 3 %, en los casos en que se dispone de condiciones de liofilización similares, se observa que cuando el secado se realiza a temperatura ambiente, conviene incrementar el tiempo en aproximadamente un 15 % respecto al previsto. En cambio, cuando se trabaja calentando los estantes del liofilizador, el criterio planteado se aproxima más e incluso permite asegurar un secado del producto por exceso, de manera que nunca se vaya a ver comprometida su calidad. Teniendo en cuenta lo anterior, el punto final del secado por liofilización podría estar relacionado con que la muestra alcance una temperatura objetivo determinada. En este sentido, si se liofiliza a una T inferior a esta T objetivo, la muestra nunca la alcanzará y por ello, una vez que se llegue la temperatura de la cámara, el secado tendrá que alargarse un cierto tiempo más hasta que la muestra consiga obtener, del entorno, el calor necesario para la desorción. Si se liofiliza a una T superior a la T objetivo, podrá detenerse el proceso incluso antes de que la muestra llegue a la T de la cámara. En el presente trabajo, esta temperatura parece estar entre 20 y 40 °C, sin que con la información disponible haya podido determinarse con exactitud. Para poder confirmar esta hipótesis, se recomienda programar una serie de experiencias en el entorno de estas temperaturas, deteniendo el proceso cuando la muestra alcance temperaturas en ese intervalo y analizando su humedad.

Tabla III.3.3.1. Duración del secado por liofilización de las muestras sin y con biopolímeros añadidos (SB y CB, respectivamente), congeladas en arcón (c) o en abatidor (a) y secadas a temperatura ambiente (TA) o a 40 °C. Coeficientes (a, b, c) y estadísticos del modelo ajustado en la etapa del secado secundario (Ec. III.3.3.1).

Muestra	Duración(h)		Coeficientes			Estadística		
	Tt/Tf =1 ⁽¹⁾	Xw = 3% ⁽²⁾	a	b(min-1)	c	SSE	R ²	RMSE
CB(TA)c	19.86	23.0	1.046	1.3E+03	0.991	0.491	0.997	0.023
CB(TA)c			0.999	5.7E+06	0.982	0.449	0.995	0.027
SB(TA)c	19.91	22.3	0.957	1.9E+02	0.991	2.323	0.980	0.041
SB(TA)c			0.957	2.5E+05	0.983	2.091	0.923	0.051
CB(40)c	11.84	9.1	1.000	1.9E+04	0.977	0.148	0.996	0.014
CB(40)c			0.996	5.5E+03	0.973	0.245	0.985	0.019
SB(40)c	11.65	10.0	1.004	2.8E+02	0.984	0.544	0.992	0.030
SB(40)c			0.986	6.6E+04	0.961	0.036	0.991	0.008
CB(40)a	12.01		0.974	4.9E+03	0.979	0.443	0.982	0.028
CB(40)a			0.997	3.7E+05	0.970	0.122	0.985	0.014
SB(40)a	11.69	10.0	0.981	3.1E+06	0.959	0.045	0.997	0.009
SB(40)a			0.994	1.8E+07	0.951	0.034	0.998	0.008

⁽¹⁾Duración del secado hasta que la temperatura de la muestra (Tt) alcanza la temperatura de la cámara de secado (Tf); ⁽²⁾Duración del secado hasta que la muestra alcanza una humedad de 3 g agua/ 100 g muestra, según el modelo ajustado en el capítulo III.3.2 (Table 1); (*) coeficiente de determinación (R²), suma del error al cuadrado (SSE), raíz del error cuadrático medio (RSME) del modelo.

Asumiendo el tiempo de secado en base al criterio antes mencionado y estableciendo el límite entre el secado primario y secundario cuando se alcanza el valor máximo de ($\Delta T/\Delta t$), se identificó, para las diferentes muestras procesadas, la duración de estas dos etapas (Figura III.3.3.5). El secado secundario ocupó entre un 33 y un 55 % del tiempo total del secado. En general, la mayor duración relativa del secado secundario se observó en las muestras secadas a 40°C, en las que, obviamente, la sublimación se ve facilitada. En cualquier caso, esto indica que, aunque la sublimación es lo que más tiempo ocupa, la etapa de desorción es también una parte importante del proceso. El ANOVA realizado para analizar las diferencias en la duración de cada etapa en función de las muestras (Fig. III.3.3.5) mostró que el secado se alarga de forma significativa ($p < 0.05$) cuando se realiza a temperatura ambiente respecto a calentar a 40 °C. Esto afecta de forma

significativa ($p < 0.05$) al secado primario. En todos los casos el secado primario fue más largo y el secundario más corto cuando las muestras contenían Bp en su formulación, aunque en este caso las diferencias no llegaron a ser significativas ($p > 0.05$). Estos resultados parecerían estar indicando una cierta contribución de los biopolímeros a la formación de una matriz más estructurada que dificultaría de alguna forma la formación de los poros y, por tanto, la sublimación del hielo pero que, al mismo tiempo, daría mayor consistencia a la estructura porosa formada facilitando la salida del vapor de agua durante la desorción.

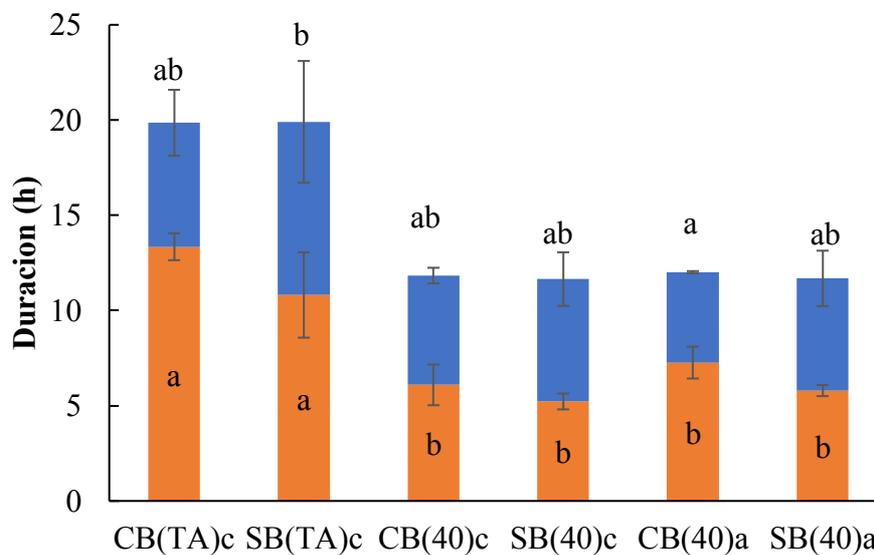


Figura III.3.3.5. Duración media y desviación estándar del secado primario (en naranja) y secundario (en azul) en las diferentes muestras sin o con biopolímeros añadidos (SB y CB, respectivamente), congeladas en arcón (c) o en abatidor (a), y secadas a temperatura ambiente (TA) o calentando a 40 °C en el estante del liofilizador (40). Letras diferentes (a, b, c) por colores denotan diferencia estadística ($p < 0.05$) entre muestras, para cada etapa de secado.

Con la intención de modelizar la etapa de secado secundario, se seleccionó el intervalo de tiempo correspondiente al mismo, entre el momento en que se observa el valor máximo de $(\Delta T/\Delta t)$ (Fig. III.3.3.4) hasta que $(T_t/T_f)=1$, y se ensayaron diferentes modelos para el ajuste tanto de estos datos como de (T_t/T_f) , frente al tiempo. El modelo exponencial asintótico descrito por la Ec. (III.3.3) fue uno de los mejores desde el punto de vista estadístico y el que mejor reprodujo los datos experimentales. La Figura III.3.3.6 muestra un ejemplo del ajuste de los datos experimentales al modelo propuesto, que

corresponde a una de las muestras SB(TA)c y que fue la que peor ajustó. La Tabla III.3.3.1 muestra los resultados del ajuste. En la Ec. (III.3.3) la constante a (adimensional) es el valor asintótico (T_t/T_f) que alcanza la muestra, que en nuestro caso será ≈ 1 , mientras que b (min^{-1}) y c (adimensional) están relacionadas directa e inversamente, respectivamente, con la velocidad de cambio de temperatura.

$$\frac{T_t}{T_f} = a - bc^t \quad (\text{III.3.3})$$

Donde T_t es la temperatura de la muestra a cada tiempo ($^{\circ}\text{C}$), T_f es la temperatura de la muestra al final de la liofilización ($^{\circ}\text{C}$), a , b y c son constantes del modelo y t es el tiempo de proceso (min).

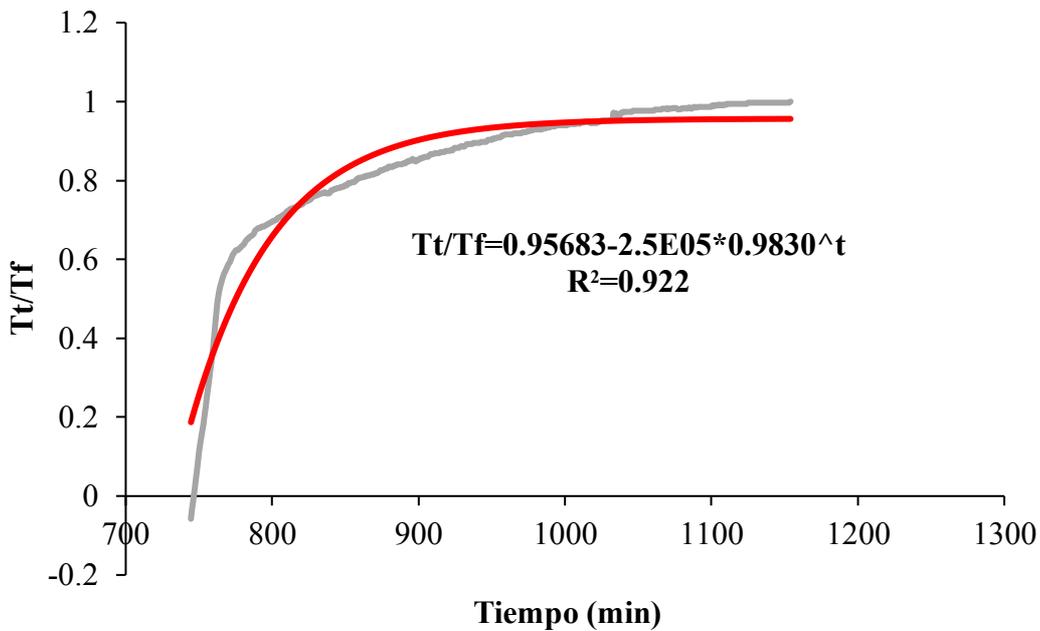


Figura III.3.3.6. Evolución, durante el secado secundario, de la temperatura de la muestra a cada tiempo (T_t) respecto a la temperatura final (T_f) para la muestra sin biopolímeros añadidos, congelada en el arcón, durante su secado a temperatura ambiente. Datos experimentales (gris) y modelo ajustado (rojo).

Como puede observarse en la Tabla III.3.3.1, el coeficiente de determinación (R^2) del modelo para las diferentes muestras se encuentra entre 0.923 y 0.998, mientras que los valores de SSE y RSME, en general, tienden a 0, lo que indica la bondad del ajuste. La excepción es el SSE de la muestra SB(TA)c, que presentó valores de 2.323 y

2.091, y es la que se muestra en la Figura III.3.3.6. Sin embargo, cuando se comparan los valores de las constantes para las dos repeticiones de cada experiencia, se observa una gran variabilidad, especialmente de b . Esto es así por la relación inversa que existe entre b y c . El aumento de una de las constantes desplaza la curva justo en sentido contrario a como lo hace la disminución de la otra. Esa compensación es lo que parece observarse en la Tabla III.3.3.1. Desde este punto de vista, no parece que el modelo ajustado tenga un sentido físico que permita interpretar esta etapa del secado en base a sus constantes.

III.4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Si bien el modelo de Page modificado reproduce bien la cinética de secado en las condiciones estudiadas, es difícil interpretar en qué sentido evoluciona la velocidad del proceso a partir del valor de sus parámetros. Además, puesto que no permite un seguimiento en continuo de esta etapa, su uso resulta poco práctico para establecer el punto final de la misma.
- De cualquier forma, los resultados obtenidos establecen que, durante el secado por liofilización, conviene mantener la presión de trabajo tan baja como sea posible y aplicar calor durante el proceso, para así minimizar su duración y con ello el coste de la operación. No obstante, el límite de temperatura vendrá dado por las características del producto. En este caso, las mejores condiciones del proceso de liofilización son 40°C de temperatura en los estantes a partir del comienzo de la liofilización y durante todo el periodo de secado, junto a una presión de 0.05 mbar. Estas condiciones nos permiten reducir el tiempo del proceso en un 104% si lo comparamos con un proceso sin calentamiento en los estantes y en un 55% si aumentamos la presión hasta 1 mbar.
- La incorporación de goma Arábica y fibra de bambú al triturado de pomelo antes de su liofilización contribuye a la formación de una matriz más estructurada. Esto no afecta a la cinética del secado pero supone la obtención de un producto menos poroso, que se muestra más firme y crujiente, con un tono más amarillo, menos puro y más luminoso, aunque ofrece una cierta mayor dificultad para la extracción de la vitamina C. El calentamiento de la muestra hasta 40 °C reduce el tiempo de secado más de un 50 % y no afecta ni a sus propiedades mecánicas, ni al color, ni al contenido en vitamina C.
- La velocidad de cambio de la temperatura de la muestra durante el secado por liofilización parece ser una herramienta más interesante que la propia temperatura para identificar la separación entre el secado primario y secundario, asociados a un mayor predominio de la sublimación o desorción del agua no congelada, respectivamente.
- El registro en continuo de la temperatura de la muestra durante el secado por liofilización parece poder utilizarse para identificar el punto final del mismo,

aunque no necesariamente coincide con el momento en que la muestra alcanza la temperatura de la cámara. Éste podría estar relacionado con que la muestra alcance una temperatura determinada, que en este caso estaría entre 20 y 40 °C sin que haya podido llegar a determinarse con exactitud.

IV. CONCLUSIONES GENERALES

- La liofilización se puede proponer como una mejor tecnología de secado que la atomización para la obtención de pomelo en polvo, ya que proporciona un producto con mejor comportamiento al flujo en aire, mayor porosidad y un color más parecido al pomelo fresco. Los biopolímeros, en general, sobre todo en combinación, tienen un efecto positivo sobre los parámetros de calidad estudiados.
- La liofilización puede utilizarse para obtener snacks de fruta con un color, textura y contenido en vitamina C adecuados. En el caso del puré de pomelo, se recomienda la incorporación de goma Arábica y fibra de bambú, en proporción 100:5:1, para estabilizar al producto seco, y trabajar a 0.05 mbar y 40 °C, para acortar el tiempo de secado, sin que se afecte la calidad del producto.

V. BIBLIOGRAFÍA

- Abdalla, A.A., Mohammed, M.A., Mudawi, H.A., 2010. Production and quality assessment of instant baobab (*Adansonia digitata L.*). *Adv. J. Food Sci. Technol.* 2, 125–133.
- Adhikari, B., Howes, T., Shrestha, A.K., Bhandari, B.R., 2007. Development of stickiness of whey protein isolate and lactose droplets during convective drying. *Chem. Eng. Process. Process Intensif.* 46, 420–428.
- Adhikari, B., Howes, T., Wood, B.J., Bhandari, B.R., 2009. The effect of low molecular weight surfactants and proteins on surface stickiness of sucrose during powder formation through spray drying. *J. Food Eng.* 94, 135–143.
- Agudelo, C., Igual, M.M., Camacho, M.M., Martínez-Navarrete, N., 2017. Effect of process technology on the nutritional, functional, and physical quality of grapefruit powder. *Food Sci. Technol. Int.* 23, 61–74.
- Agudelo, Claudia, Barros, L., Santos-Buelga, C., Martínez-Navarrete, N., Ferreira, I.C.F.R., 2017. Phytochemical content and antioxidant activity of grapefruit (Star Ruby): A comparison between fresh freeze-dried fruits and different powder formulations. *LWT - Food Sci. Technol.* 80, 106–112.
- Aguilera, J., del Valle, J., Karel, M., 1995. Caking phenomena in amorphous food powders. *Trends Food Sci. Technol.* 6, 149–155.
- Algarrá, E., 2017. Viscosidad del zumo obtenido por rehidratación de naranja en polvo en función de su tamaño de partícula. Trabajo Final de Grado. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia
- Alted, L., 2015. Mejora de las condiciones de liofilización para la obtención de fruta en polvo. Trabajo Final de Grado. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia.
- Altuna, L., Herrera, M.L., Foresti, M.L., 2018. Synthesis and characterization of octenyl succinic anhydride modified starches for food applications. A review of recent literature. *Food Hydrocoll.* 80, 97–110.
- Azzouz, S., Guizani, A., Jomaa, W., Belghith, A., 2002. Moisture diffusivity and drying kinetic equation of convective drying of grapes. *J. Food Eng.* 55, 323–330.
- Badui, S., 2013. *Química de los alimentos*, Mexico, 4^{ed}. Ed Pearson.
- Bailey, D.G., Dresser, G., Arnold, J.M.O., 2013. Grapefruit-medication interactions: Forbidden fruit or avoidable consequences. *Cmaj* 185, 309–316.

- Barbosa-Canovas, G., Ortega-Rivas, E., Juliano, P., Yan, H., 2005. *Food Powders: Physical properties, processing and Functionality*, 1^oed. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, USA.
- Barbosa, G., Vega, H., 2000. *Deshidratación de alimentos*, 1o. ed. Acribia, Zaragoza.
- Bazaria, B., Kumar, P., 2016. Optimization of spray drying parameters for beetroot juice powder using response surface methodology (RSM). *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 17, 408–415.
- Benlloch-Tinoco, M., Moraga, G., del Mar Camacho, M., Martínez-Navarrete, N., 2013. Combined Drying Technologies for High-Quality Kiwifruit Powder Production. *Food Bioprocess Technol.* 6, 3544–3553.
- Berk, Z., 2013. Freeze Drying (Lyophilization) and Freeze Concentration, in: *Food Process Engineering and Technology*. pp. 567–581.
- Bhandari, B., 2013. Introduction to food powders, in: *Handbook of Food Powders*. pp. 1–25.
- Bhusari, S.N., Muzaffar, K., Kumar, P., 2014. Effect of carrier agents on physical and microstructural properties of spray dried tamarind pulp powder. *Powder Technol.* 266, 354–364.
- Bodart, M., de Peñaranda, R., Deneyer, A., Flamant, G., 2008. Photometry and colorimetry characterisation of materials in daylighting evaluation tools. *Build. Environ.* 43, 2046–2058.
- Borrmann, D., Pierucci, A.P.T.R., Leite, S.G.F., Leão, M.H.M. da R., 2013. Microencapsulation of passion fruit (*Passiflora*) juice with n-octenylsuccinate-derivatised starch using spray-drying. *Food Bioprod. Process.* 91, 23–27.
- Broeke, J., Pérez Mateos, J.M., Pascau, J., 2015. *Image Processing with ImageJ*, Second ed, Extract and analyze data from complex images. Publishing, Packt, Birmingham B3 2PB, UK.
- Brutin, D., 2015. *Droplet Wetting and Evaporation from Pure to Complex Fluids*, First ed. Academic Press, Marseille-France.
- Buvé, C., Kebede, B.T., De Batselier, C., Carrillo, C., Pham, H.T.T., Hendrickx, M., Grauwet, T., Van Loey, A., 2018. Kinetics of colour changes in pasteurised strawberry juice during storage. *J. Food Eng.* 216, 42–51.
- Cai, Y.Z., Corke, H., 2000. Production and Properties of Spray-dried *Amaranthus* Betacyanin Pigments, 1248 *Journal of Food Science*.
- Çakır-Fuller, E., 2015. Enhanced heat stability of high protein emulsion systems provided by microparticulated whey proteins. *Food Hydrocoll.* 47, 41–50.

- Calín-Sánchez, Á., Kharaghani, A., Lech, K., Figiel, A., Carbonell-Barrachina, Á.A., Tsotsas, E., 2014. Drying Kinetics and Microstructural and Sensory Properties of Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) as Affected by Drying Method. *Food Bioprocess Technol.* 8, 63–74.
- Cano-Chauca, M., Stringheta, P.C., Ramos, A.M., Cal-Vidal, J., 2005. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 6, 420–428.
- Caparino, O.A., Tang, J., Nindo, C.I., Sablani, S.S., Powers, J.R., Fellman, J.K., 2012. Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine “Carabao” var.) powder. *J. Food Eng.* 111, 135–148.
- Casanova, M.Á., 2016. Viabilidad Económica de Producción Industrial de Fruta en Polvo en Función del Proceso. Trabajo Final de Máster. Universidad Politécnica de València, València.
- Charbonnier, L., van Meer, F., van der Laan, L.N., Viergever, M.A., Smeets, P.A.M., 2015. Standardized food images: A photographing protocol and image database. *Appetite* 96, 166–173.
- Chen, X.D., Mujumdar, A.S., 2008. *Drying Technologies in Food Processing*. Blackwell Pub, Oxford, UK.
- Choi, Y., Okos, M., 1986. Thermal properties of liquid foods, in: Engineers, A.S. of A. (Ed.), *Physical and Chemical Properties of Food*. Michigan, USA, pp. 35–77.
- Chongtham, N., Bisht, M.S., Haorongbam, S., 2011. Nutritional Properties of Bamboo Shoots: Potential and Prospects for Utilization as a Health Food. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 10, 153–168.
- Chung, R.W.S., Leanderson, P., Lundberg, A.K., Jonasson, L., 2017. Lutein exerts anti-inflammatory effects in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 262, 87–93.
- Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez T, R., Vázquez F, M., Radilla V, C., 2015. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Rev. Chil. Nutr.* 42, 206–212.
- Cortés, M., Herrera, E., Rodríguez, E., 2015. Optimización experimental del proceso de liofilización de uchuva adicionada con componentes activos. *Rev. Vitae* 22, 47–56.
- Cristóbal-Luna, J.M., Álvarez-González, I., Madrigal-Bujaidar, E., Chamorro-Cevallos, G., 2018. Grapefruit and its biomedical, antigenotoxic and chemopreventive properties. *Food Chem. Toxicol.* 112, 224–234.

- Datta, A.K., 2007. Porous media approaches to studying simultaneous heat and mass transfer in food processes. II: Property data and representative results. *J. Food Eng.* 80, 96–110.
- De Castilhos, M.B.M., Betiol, L.F.L., de Carvalho, G.R., Telis-Romero, J., 2018. Experimental study of physical and rheological properties of grape juice using different temperatures and concentrations. Part II: Merlot. *Food Res. Int.* 105, 905–912.
- Degner, B.M., Olson, K.M., Rose, D., Schlegel, V., Hutkins, R., McClements, D.J., 2013. Influence of freezing rate variation on the microstructure and physicochemical properties of food emulsions. *J. Food Eng.* 119, 244–253.
- Dehnad, D., Jafari, S.M., Afrasiabi, M., 2016. Influence of drying on functional properties of food biopolymers: From traditional to novel dehydration techniques. *Trends Food Sci. Technol.* 57, 116–131.
- Dokić, L., Krstonošić, V., Nikolić, I., 2012. Physicochemical characteristics and stability of oil-in-water emulsions stabilized by OSA starch. *Food Hydrocoll.* 29, 185–192.
- Egas-Astudillo, L.A., 2015. Optimización del proceso de atomización de pomelo. Influencia de la temperatura y de la adición de diferentes solutos de alto peso molecular. Trabajo Final de Máster. Universidad Politécnica de València. València
- Eggersdorfer, M., Wyss, A., 2018. Carotenoids in human nutrition and health. *Arch. Biochem. Biophys.* 652, 18–26.
- Fabra, M.J., Talens, P., Moraga, G., Martínez-Navarrete, N., 2009. Sorption isotherm and state diagram of grapefruit as a tool to improve product processing and stability. *J. Food Eng.* 93, 52–58.
- Fang, Z., Bhandari, B., 2012. 4 – Spray drying, freeze drying and related processes for food ingredient and nutraceutical encapsulation, in: *Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals*. pp. 73–109.
- FAO, 2017. Boletín: Citrus Fruit Fresh and Processed Statistical, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma. <http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/citrus-fruit/en/>.
- Fazaeli, M., Emam-Djomeh, Z., Kalbasi Ashtari, A., Omid, M., 2012. Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. *Food Bioprod. Process.* 90, 667–675.
- Felisberto, M.H.F., Miyake, P.S.E., Beraldo, A.L., Clerici, M.T.P.S., 2017. Young bamboo culm: Potential food as source of fiber and starch. *Food Res. Int.* 101, 96–102.

- Fitzpatrick, J.J., van Lauwe, A., Coursol, M., O'Brien, A., Fitzpatrick, K.L., Ji, J., Miao, S., 2016. Investigation of the rehydration behaviour of food powders by comparing the behaviour of twelve powders with different properties. *Powder Technol.* 297, 340–348.
- Flosdorf, E.W., Kimball, A.C., Chambers, L.A., 1939. Studies on *H. pertussis*. I. Liberation by Sonic Vibration of a Soluble Component That Absorbs Phase I Agglutinins. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 41, 122–126.
- Gabas, A.L., Telis, V.R.N., Sobral, P.J.A., Telis-Romero, J., 2007. Effect of maltodextrin and Arabic gum in water vapor sorption thermodynamic properties of vacuum dried pineapple pulp powder. *J. Food Eng.* 82, 246–252.
- Gea Niro, 2009. Analytical Methods for Dry Milk Products [www Document]. A 5 b - Wettability IDF Method. Url <https://www.gea.com/es/products/analytical-methods-dry-milk-products.jsp> (accessed 5.26.19).
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R., 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res. Int.* 40, 1107–1121.
- Gonçalves, Â., Santos, F., Sanches-Silva, A., Beatriz Oliveira, M., Bento, A.C., Costa, H.S., 2016. Nutritional and phytochemical composition of *Annona cherimola* Mill. fruits and by-products: Potential health benefits. *Food Chem.* 193, 187–195.
- Goula, A.M., Adamopoulos, K.G., 2008. Effect of maltodextrin addition during spray drying of tomato pulp in dehumidified air: Powder Properties. *Dry. Technol.* 26, 726–737.
- Greenspan, L., 1977. Humidity Fixed Points of Binary Saturated Aqueous Solutions. *J. Res. Natl. Bur. Stand. Phys. Chem.* 81A, 8.
- Hackl, E. V., Ermolina, I., 2016. Using Texture Analysis Technique to Assess the Freeze-Dried Cakes in Vials. *J. Pharm. Sci.* 105, 2073–2085.
- Hammami, C., René, F., 1997. Determination of freeze-drying process variables for strawberries. *J. Food Eng.* 32, 133–154.
- Harnkarnsujarit, N., Kawai, K., Watanabe, M., Suzuki, T., 2016. Effects of freezing on microstructure and rehydration properties of freeze-dried soybean curd. *J. Food Eng.* 184, 10–20.
- He, B., Zhang, L.-L., Yue, X.-Y., Liang, J., Jiang, J., Gao, X.-L., Yue, P.-X., 2016. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium ashei*) wine pomace. *Food Chem.* 204, 70–76.

- Heldman, D., Hartel, R., 1997. Principles of food processing. Aspen Publishers, Inc, Gaithersburg, Maryland.
- Hess, J.M., Slavin, J.L., 2018. The benefits of defining “snacks.” *Physiol. Behav.* 193, 284–287.
- Hirahatake, K.M., Jacobs, D.R., Gross, M.D., Bibbins-Domingo, K.B., Shlipak, M.G., Mattix-Kramer, H., Odegaard, A.O., 2019. The Association of Serum Carotenoids, Tocopherols, and Ascorbic Acid With Rapid Kidney Function Decline: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. *J. Ren. Nutr.* 29, 65–73.
- Hogekamp, S., Schubert, H., 2003. Rehydration of Food Powders. *Food Sci. Technol. Int.* 9, 223–235.
- Hua, T.-C., Liu, B.-L., Zhang, H., 2010. Freeze-Drying of Pharmaceutical and Food Products, First ed. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK, New York Washington, D.C.
- Hutchings, J.B., 1999. Food Colour and Appearance, 1a. ed. Springer Science Business Media Dordrecht, Bedford UK.
- Igual, M., Contreras, C., Martínez-Navarrete, N., 2014a. Colour and rheological properties of non-conventional grapefruit jams: Instrumental and sensory measurement. *LWT - Food Sci. Technol.* 56, 200–206.
- Igual, M., Ramires, S., Mosquera, L.H., Martínez-Navarrete, N., 2014b. Optimization of spray drying conditions for lulo (*Solanum quitoense* L.) pulp. *Powder Technol.* 256, 233–238.
- James, S.J., James, C., 2014. Food Technologies: Freezing, in: *Encyclopedia of Food Safety*. Elsevier, pp. 140–148.
- Janiszewska-Turak, E., Dellarosa, N., Tylewicz, U., Laghi, L., Romani, S., Dalla Rosa, M., Witrowa-Rajchert, D., 2017. The influence of carrier material on some physical and structural properties of carrot juice microcapsules. *Food Chem.* 236, 134–141.
- Jaya, S., Das, H., 2004. Effect of maltodextrin, glycerol monostearate and tricalcium phosphate on vacuum dried mango powder properties. *J. Food Eng.* 63, 125–134.
- Ji, J., Fitzpatrick, J., Cronin, K., Maguire, P., Zhang, H., Miao, S., 2016. Rehydration behaviours of high protein dairy powders: The influence of agglomeration on wettability, dispersibility and solubility. *Food Hydrocoll.* 58, 194–203.
- Jiang, H., Zhang, M., Adhikari, B., 2013. Fruit and vegetable powders, *Handbook of Food Powders: Processes and Properties*. Woodhead Publishing Limited.

- Jinapong, N., Suphantharika, M., Jamnong, P., 2008. Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *J. Food Eng.* 84, 194–205.
- Karam, M.C., Petit, J., Zimmer, D., Baudelaire Djantou, E., Scher, J., 2016. Effects of drying and grinding in production of fruit and vegetable powders: A review. *J. Food Eng.* 188, 32–49.
- Karataş, M., Arslan, N., 2016. Flow behaviours of cellulose and carboxymethyl cellulose from grapefruit peel. *Food Hydrocoll.* 58, 235–245.
- Kasper, J.C., Friess, W., 2011. The freezing step in lyophilization: Physico-chemical fundamentals, freezing methods and consequences on process performance and quality attributes of biopharmaceuticals. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 78, 248–263.
- Kasper, J.C., Winter, G., Friess, W., 2013. Recent advances and further challenges in lyophilization. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 85, 162–169.
- Keshani, S., Daud, W.R.W., Nourouzi, M.M., Namvar, F., Ghasemi, M., 2015. Spray drying: An overview on wall deposition, process and modeling. *J. Food Eng.* 146, 152–162.
- Khalloufi, S., Ratti, C., 2003. Quality Deterioration of Freeze-dried Foods as Explained by their Glass Transition Temperature and Internal Structure. *J. Food Sci.* 68, 892–903.
- Kimball, D., 1999. *Citrus Processing : A Complete Guide*, Second Edi. ed, Materials Research Bulletin. Publisher, Anspen, Maryland,USA.
- Kinsella, J.E., 1979. Functional properties of soy proteins. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56, 242–258.
- Koç, B., Sakin-Yilmazer, M., Kaymak-Ertekin, F., Balkır, P., 2014. Physical properties of yoghurt powder produced by spray drying. *J. Food Sci. Technol.* 51, 1377–1383.
- Lachowicz, S., Oszmiański, J., Kalisz, S., 2018. Effects of various polysaccharide clarification agents and reaction time on content of polyphenolic compound, antioxidant activity, turbidity and colour of chokeberry juice. *LWT - Food Sci. Technol.* 92, 347–360.
- Levi, G., Karel, M., 1995. Volumetric shrinkage (collapse) in freeze-dried carbohydrates above their glass transition temperature. *Food Res. Int.* 28, 145–151.
- Li, D., Li, L., Xiao, N., Li, M., Xie, X., 2018. Physical properties of oil-in-water nanoemulsions stabilized by OSA-modified starch for the encapsulation of lycopene. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 552, 59–66.

- Li, J.Z., 2014. The Use of Starch-Based Materials for Microencapsulation. *Microencapsul. Food Ind.* 195–210.
- Lin, Q., Liang, R., Zhong, F., Ye, A., Singh, H., 2018. Effect of degree of octenyl succinic anhydride (OSA) substitution on the digestion of emulsions and the bioaccessibility of β -carotene in OSA-modified-starch-stabilized-emulsions. *Food Hydrocoll.* 84, 303–312.
- Lo, T.Y., Cui, H.Z., Tang, P.W.C., Leung, H.C., 2008. Strength analysis of bamboo by microscopic investigation of bamboo fibre. *Constr. Build. Mater.* 22, 1532–1535.
- Lopez-Quiroga, E., Antelo, L.T., Alonso, A.A., 2012. Time-scale modeling and optimal control of freeze–drying. *J. Food Eng.* 111, 655–666.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., Desobry, S., 2006. Flavour encapsulation and controlled release - A review. *Int. J. Food Sci. Technol.* 41, 1–21.
- Marques, L.G., Freire, J.T., 2005. Analysis of freeze-drying of tropical fruits. *Dry. Technol.* 23, 2169–2184.
- Martínez-Navarrete, N., Andrés, A., Chiralt, A., Fito, P., 2000. *Termodinámica y Cinética de Sistemas Alimento entorno*, Universidad Politécnica de Valencia. España. Editorial U.P.V, Valencia.
- Mascheroni, R.H., 2012. *Operations in Food Refrigeration*. CRC PRESS, Boca Raton, USA.
- Matheus, A. 2018. *Impacto de las Condiciones de Liofilización de puré de naranja en el tiempo del Pocosó*. (Tesis Máster). Universidad Politécnica de Valencia. Valencia.
- Matheyambath, A.C., Padmanabhan, P., Paliyath, G., 2015. Citrus Fruits, in: *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier Ltd., pp. 136–140.
- Michalska, A., Wojdyło, A., Lech, K., Łysiak, G.P., Figiel, A., 2016. Physicochemical properties of whole fruit plum powders obtained using different drying technologies. *Food Chem.* 207, 223–232.
- Mimouni, A., Deeth, H.C., Whittaker, A.K., Gidley, M.J., Bhandari, B.R., 2009. Rehydration process of milk protein concentrate powder monitored by static light scattering. *Food Hydrocoll.* 23, 1958–1965.
- Molina, R., Clemente, E., Scapim, M.R. da S., Vagula, J.M., 2014. Physical Evaluation and Hygroscopic Behavior of Dragon Fruit (*Hylocereus undatus*) Lyophilized Pulp Powder. *Dry. Technol.* 32, 2005–2011.
- Mosquera, L.H., Moraga, G., Martínez-Navarrete, N., 2010. Effect of maltodextrin on the stability of freeze-dried borojón (*Borojoa patinoi* Cuatrec.) powder. *J. Food Eng.* 97, 72–78.

- Mujumdar, A.S., 2015. Handbook of Industrial Drying. CRC PRESS, Taylor & Francis Group, USA, Boca Raton.
- Murúa-Pagola, B., Beristain-Guevara, C.I., Martínez-Bustos, F., 2009. Preparation of starch derivatives using reactive extrusion and evaluation of modified starches as shell materials for encapsulation of flavoring agents by spray drying. *J. Food Eng.* 91, 380–386.
- Muzaffar, K., Kumar, P., 2016. Moisture sorption isotherms and storage study of spray dried tamarind pulp powder. *Powder Technol.* 291, 322–327.
- Netshishivhe, M., Omolola, A.O., Beswa, D., Mashau, M.E., 2019. Physical properties and consumer acceptance of maize-baobab snacks. *Heliyon* 5, e01381.
- Nireesha, G., Divya, L., Sowmya, C., Venkateshan, N., Niranjan Babu, M., Lavakumar, V., 2013. Lyophilization/Freeze Drying -An Review. *Ijntps* 3, 87–98.
- Nireesha, G., Divya, L., Sowmya, C., Venkateshan, N., Niranjan Babu, M., Lavakumar, V., 2013. Lyophilization/Freeze Drying -An Review. *Ijntps* 3, 87–98.
- Oetjen, G.-W., Haseley, P., 2018. Freeze-Drying, Third. ed. Wiley-Vch, Weinheim, Germany.
- OMS, 2013. Fomento del consumo mundial de frutas y verduras. [WWW Document]. WHO. URL <https://www.who.int/dietphysicalactivity/fruit/es/index1.html> (accessed 5.28.19).
- Osorio, J., Monjes, J., Pinto, M., Ramírez, C., Simpson, R., Vega, O., 2014. Effects of spray drying conditions and the addition of surfactants on the foaming properties of a whey protein concentrate. *LWT - Food Sci. Technol.* 58, 109–115.
- Paim, D.R.S.F., Costa, S.D.O., Walter, E.H.M., Tonon, R. V., 2016. Microencapsulation of probiotic jussara (*Euterpe edulis* M.) juice by spray drying. *LWT* 74, 21–25.
- Pedreschi, F., Cortés, P., Mariotti, M.S., 2018. Potato Crisps and Snack Foods. *Ref. Modul. Food Sci.* 1–10.
- Pikal, M.J., 1994. Freeze-Drying of Proteins Process, Formulation and Stability, in: *Formulation and Delivery of Proteins and Peptides*. pp. 120–133.
- Pikal, M.J., Roy, M.L., Shah, S., 1984. Mass and Heat Transfer in Vial Freeze-Drying of Pharmaceuticals: Role of the Vial. *J. Pharm. Sci.* 73, 1224–1237.
- Potter, R., Stojceska, V., Plunkett, A., 2013. The use of fruit powders in extruded snacks suitable for Children's diets. *LWT - Food Sci. Technol.* 51, 537–544.

- Quek, M.C., Chin, N.L., Yusof, Y.A., 2013. Modelling of rheological behaviour of sourop juice concentrates using shear rate-temperature-concentration superposition. *J. Food Eng.* 118, 380–386.
- Rahman, M.S., 2001. Toward Prediction Porosity in Foods During Drying: A Brief Review in *Foods. Dry. Technol.* 19, 1–13.
- Raj, A.S., Chakraborty, S., Rao, P.S., 2019. Thermal assisted high-pressure processing of Indian gooseberry (*Embilica officinalis* L.) juice – Impact on colour and nutritional attributes. *Lwt* 99, 119–127.
- Ramakrishnan, Y., Adzahan, N.M., Yusof, Y.A., Muhammad, K., 2018. Effect of wall materials on the spray drying efficiency, powder properties and stability of bioactive compounds in tamarillo juice microencapsulation. *Powder Technol.* 328, 406–414.
- Ramírez, J.S., 2006. Liofilización de alimentos. *Revista ReCiTeIA*.
- Ratti, C., 2013. Freeze drying for food powder production, in: *Handbook of Food Powders*. pp. 57–84.
- Rettenmaier, J. 2019. *Fibras Dietéticas*. URL https://www.jrs.eu/jrs_en/life-science/food/products/dietary-fibers/ (accessed 1.21.19).
- Rey, L., May, J.C., 2004. *Freeze-Drying/Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products*, Second. ed. Marcel Dekker, New York, USA.
- Roos, Y.H., 1995. *Phase Transitions in Foods*. Academic Press, Inc., San Diego, California.
- Rubiolo, A., 2000. Evaluation of Freezing and Thawing Processes Using Experimental and Mathematical Determinations, in: Lozano, J., Añón, C., Parada-Arias, E., Barbosa-Cánovas, G. (Eds.), *Trends in Food Engineering*. CRC PRESS, Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA, pp. 179–190.
- Russ, J.C., 2005. *Image analysis of food microstructure*, Primera. ed. CRC PRESS, New York Washington, D.C.
- Sablani, S.S., Shrestha, A.K., Bhandari, B.R., 2008. A new method of producing date powder granules: Physicochemical characteristics of powder. *J. Food Eng.* 87, 416–421.
- Sahin, S., Gülüm, S., 2006. Size, Shape, Volume, and Related Physical Attributes, in: University, M.E.T. (Ed.), *Physical Properties of Foods*. Springer Science+Business Media, LLC, Ankara, Turkey, pp. 24–33.

- Schuck, P., Dolivet, A., Jeantet, R., 2012. Analytical Methods for Food and Dairy Powders, Analytical Methods for Food and Dairy Powders. Wiley-BlackWell, UK.
- Searles, J.A., Carpenter, J.F., Randolph, T.W., 2001. The ice nucleation temperature determines the primary drying rate of lyophilization for samples frozen on a temperature-controlled shelf. *J. Pharm. Sci.* 90, 860–871.
- Silva, A. 2015. Estudio del comportamiento reológico de zumo de fruta obtenido a partir de pomelo liofilizado. Trabajo Final de Máster. Universidad Politécnica de València, València.
- Silva, M.A., Sobral, P.J.A., Kieckbusch, T.G., 2006. State diagrams of freeze-dried camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) Mc Vaugh) pulp with and without maltodextrin addition. *J. Food Eng.* 77, 426–432.
- Simal, S., Femenia, A., Garau, M.C., Rosselló, C., 2005. Use of exponential, Page's and diffusional models to simulate the drying kinetics of kiwi fruit. *J. Food Eng.* 66, 323–328.
- Simpson, B.K., Nollet, L.M.L., Toldrá, F., Benjakul, S., Paliyath, G., Hui, C., Y.H., 2012. *Food Biochemistry and Food Processing*, 2^oed. Wiley-Blackwell, New Delhi.
- Simpson, R., Ramírez, C., Nuñez, H., Jaques, A., Almonacid, S., 2017. Understanding the success of Page's model and related empirical equations in fitting experimental data of diffusion phenomena in food matrices. *Trends Food Sci. Technol.* 62, 194–201.
- Soledad, J., 2007. Estrés oxidativo y su relación con el aporte de antioxidantes nutricionales en el paciente crítico. Tesis de Licenciatura. Universidad de Granada, Granada.
- Sun, D.W., Zheng, L., 2006. Vacuum cooling technology for the agri-food industry: Past, present and future. *J. Food Eng.* 77, 203–214.
- Sweedman, M.C., Tizzotti, M.J., Schäfer, C., Gilbert, R.G., 2013. Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: A review. *Carbohydr. Polym.* 92, 905–920.
- Tang, X., Pikal, M.J., 2004. Design of freeze-drying processes for pharmaceuticals: practical advice. *Pharm. Res.* 21, 191–200.
- Telis, V.R.N., Martínez-Navarrete, N., 2009. Collapse and color changes in grapefruit juice powder as affected by water activity, glass transition, and addition of carbohydrate polymers. *Food Biophys.* 4, 83–93.

- Telis, V.R.N., Martínez-Navarrete, N., 2010. Application of compression test in analysis of mechanical and color changes in grapefruit juice powder as related to glass transition and water activity. *LWT - Food Sci. Technol.* 43, 744–751.
- Tonon, R. V, Brabet, C., Hubinger, M., 2008. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced. 88, 411–418.
- Vandresen, S., Quadri, M.G.N., Souza, J.A.R. d., Hotza, D., 2009. Temperature effect on the rheological behavior of carrot juices. *J. Food Eng.* 92, 269–274.
- Woo, M.W., Bhandari, B., 2013. Spray drying for food powder production, in: *Handbook of Food Powders*. Elsevier, pp. 29–56.
- Xu, G., Liu, D., Chen, J., Ye, X., Ma, Y., Shi, J., 2008. Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. *Food Chem.* 106, 545–551.
- Xuhe, C., 2003. Promotion of bamboo for poverty alleviation and economic development. *J. Bamboo Ratt.* 2, 345–350.
- You, Y., Li, N., Han, X., Guo, J., Zhao, Y., Liu, G., Huang, W., Zhan, J., 2018. Influence of different sterilization treatments on the color and anthocyanin contents of mulberry juice during refrigerated storage. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 48, 1–10.
- Yu, H., Li, Y., 2012. State diagrams of freeze dried colostrum whey powders: Effects of additives on the stability of colostrum whey powders. *J. Food Eng.* 110, 117–126.