

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y REHIDRATACIÓN DEL POMELO LIOFILIZADO

TRABAJO FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

ALUMNA: MÓNICA AZNAR LLUCH

TUTORA: NURIA MARTÍNEZ NAVARRETE

DIRECTORA EXPERIMENTAL: CLAUDIA AGUDELO STERLING

Curso Académico: 2013-2014

VALENCIA, JUNIO 2014



OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y REHIDRATACIÓN DEL POMELO LIOFILIZADO

RESUMEN

Se ha estudiado la influencia de la formulación del pomelo para su liofilización en la selección de las condiciones de almacenamiento de los productos liofilizados, con el fin de maximizar la calidad del producto en polvo. Así mismo, se ha estudiado la viabilidad de su rehidratación para la obtención de un zumo. Uno de los productos formulados, el que se ha llamado óptimo 1, se preparó añadiendo al pomelo un 1,27% de goma arábica y un 0,76% de fibra de bambú y llevando la mezcla a una humedad del 74%. El otro producto, llamado óptimo 2, incorporaba sólo 1,27% de goma arábica y la mezcla se llevó a una humedad del 90%. Después de la liofilización, el óptimo 1 presentó una menor pérdida de compuestos funcionales y actividad antioxidante. Tras la liofilización, ambos óptimos fueron acondicionados a humedades relativas del 13, 23, 43 y 68%. La isoterma de sorción y el diagrama de estado elaborado evidenció que unas condiciones adecuadas para el almacenamiento de ambos productos a 20°C no deberían franquear los bajos valores obtenidos de humedad y actividad de agua críticas, cuyos resultados se situaron en un intervalo de 1,9-2,8 g agua/100 g de producto y 0,0632-0,0955, respectivamente. En este sentido se recomienda, para este producto, su almacenamiento en refrigeración. A 8°C, por ejemplo, se permitirían condiciones de humedad relativa de hasta un 17,5% para el óptimo 1 y 23,6% en el óptimo 2. El aumento de las reacciones de deterioro a niveles de humedad altos, especialmente los alcanzados a a_w por encima de 0,43, se observó sobre las diferentes muestras a partir de un descenso de su contenido en vitamina C y fenoles, flavonoides y carotenoides totales y de la actividad antioxidante y a través de una modificación del croma y luminosidad de los productos hacia colores más oscuros y menos puros. Con respecto a la capacidad de rehidratación que muestran estos productos, el pretratamiento de deshidratación, al inactivar enzimas, favorece el color, pero al dificultar la solubilización de compuestos aumenta la viscosidad del producto obtenido. Esto se puede mejorar aumentando la temperatura de rehidratación.

PALABRAS CLAVE: liofilización, color, viscosidad, fitoquímicos, actividad antioxidante, actividad enzimática, isotermas de sorción, diagrama de estado.

Alumna: Mónica Aznar Lluch

Tutor Académico: Prof. Dña. Nuria Martínez Navarrete

Directora experimental: Dña. Claudia Agudelo Sterling

Valencia, Junio 2014

ABSTRACT

The influence of the formulation of grapefruit to select storage conditions of freeze-dried products, in order to maximize the quality of the powder has been studied. Also, the feasibility of obtaining rehydrated juice was studied. One of the formulated products, which has been called optimal 1, was prepared by adding 1.27% gum arabic and 0.76% bamboo fiber to the grapefruit and leading the mixture to a moisture content of 74%. The other product, called optimal 2, incorporated only 1.27% of gum arabic and the mixture was brought to a humidity of 90%. After freeze-drying, the optimal 1 showed a lesser loss of functional compounds and antioxidant activity. After freeze-drying, both optimal products were conditioned at relative humidities of 13, 23, 43 and 68%. The sorption isotherm and state diagram showed that suitable conditions for the storage of both products at 20°C should not cross the low values obtained for critical water and water activity, the results of which were placed in a range of 1.9 - 2.8 g water/100 g product and from 0.0632 to 0.0955, respectively. In this respect, this product is recommended for refrigerated storage. At 8°C, for example, conditions of relative humidity up to 17.5% for the optimal 1 and 23.6% for the optimal 2. A loss in the functional compounds and antioxidant activity and modification of the chrome and lightness of the products toward darker and less pure colors at high humidity levels, especially those at a_w above 0.43, were observed. With respect to the ability of these products for rehydration, dehydration pretreatment, by inactivating enzymes, supports color, but by impeding compounds solubilization increases the viscosity of the product obtained. This aspect may be improved by increasing the temperature during rehydration.

KEY WORDS: freeze-drying, color, viscosity, phytochemicals, antioxidant activity, enzyme activity, sorption isotherm, glass transition.

AGRADECIMIENTOS

Quiero dar mi más sentido agradecimiento a mi tutora, Nuria Martínez Navarrete, por ofrecerme la posibilidad de hacer este trabajo y ayudarme en todo momento. También, a mi directora experimental, Claudia Agudelo Sterling, con quien ha sido un placer trabajar codo con codo y quien me ha orientado y transmitido siempre todos los conocimientos al alcance de su mano. Asimismo, agradezco conjuntamente la ayuda recibida por parte del Ministerio de Economía y Competitividad, a través del proyecto AGL 2012-39103, sin la cual no hubiese sido posible llevar a cabo este estudio.

Quisiera además aprovechar estas líneas para dar las gracias a aquellos que me enseñaron valores tan importantes como el esfuerzo y la dedicación: mi familia. Me gustaría dedicarles este trabajo a mis padres y mis abuelas, porque sin el equipo que formamos no hubiera logrado esta meta. Por último, agradezco la confianza y el apoyo mostrados por pilares tan elementales como son mis amigos, que me han acompañado alentándome constantemente con la finalidad de que alcanzase mis objetivos.

A todos, muchas gracias.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS	3
2.1. MATERIAS PRIMAS.....	3
2.2. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA Y CONDICIONES DE LIOFILIZACIÓN	3
2.3. ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS	5
2.4. REHIDRATACIÓN	5
3. DETERMINACIONES ANALÍTICAS	6
3.1. CONTENIDO EN AGUA (X_w) Y SÓLIDOS SOLUBLES (°BRIX).....	6
3.2. TEMPERATURA DE TRANSICIÓN VÍTREA.....	7
3.3. PROPIEDADES ÓPTICAS.....	7
3.4. COMPUESTOS FUNCIONALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	7
3.4.1. Vitamina C	7
3.4.2. Fenoles, flavonoides y carotenoides totales	7
3.4.3. Actividad antioxidante (AOA)	8
3.5. ENZIMAS	8
3.5.1. Actividad pectinmetilesterasa (PME)	8
3.5.2. Actividad peroxidasa (POD).....	9
3.6. SOLUBILIDAD.....	9
3.7. COMPORTAMIENTO REOLÓGICO	10
4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	10
5. RESULTADOS.....	10
5.1. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA Y DE LOS PRODUCTOS ÓPTIMOS FORMULADOS	10
5.1.1. Compuestos funcionales y actividad antioxidante.....	11
5.1.2. Actividad enzimática	12
5.1.3. Propiedades ópticas	13
5.1.4. Comportamiento reológico	13
5.2. CARACTERIZACIÓN DEL POLVO DE POMELO EN FUNCIÓN DE LA HUMEDAD RELATIVA DE ALMACENAMIENTO.....	15
5.2.1. Isotermas de sorción	15
5.2.2. Temperaturas de transición vítrea	17
5.2.3. Actividad enzimática	19
5.2.4. Propiedades ópticas	20
5.2.5. Compuestos funcionales y actividad antioxidante.....	22
5.3. OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE REHIDRATACIÓN DE LOS PRODUCTOS EN POLVO	25
5.3.1. Solubilidad	25
5.3.2. Comportamiento reológico	26
5.3.3. Propiedades ópticas	27
6. CONCLUSIONES.....	28
7. BIBLIOGRAFÍA	29

ÍNDICE DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Ilustración ordenada de las etapas iniciales del proceso de preparación de la muestra.
- FIGURA 2.** Equipo en el que se realizó el pretratamiento de secado por microondas (a); Muestras parcialmente deshidratadas (óptimo 1) (b).
- FIGURA 3.** Desecadores preparados para el acondicionamiento de las muestras a las diferentes humedades relativas. Pomelo liofilizado en polvo perteneciente al óptimo 1 (a) y al óptimo 2 (b).
- FIGURA 4.** Procedimiento para la rehidratación. Equipo de agitación magnética con el vaso de doble camisa en las experiencias a presión atmosférica (a) y a vacío a 20°C (b).
- FIGURA 5.** Estufa de vacío que se utilizó para la determinación de humedad con las respectivas muestras en su interior.
- FIGURA 6.** Isotermas de sorción a 20°C. Puntos experimentales y modelo de GAB ajustado. Triángulos y línea continua para el OP1; círculos y línea discontinua para el OP2.
- FIGURA 7.** Modelización conjunta de la plastificación por el agua (aplicando el modelo de Gordon & Taylor, línea discontinua) y de la sorción de agua (aplicando el modelo de GAB, línea continua), ambas presentadas con los datos experimentales para los productos OP1 (a) y OP2 (b).
- FIGURA 8.** Comportamiento enzimático de la pectinmetilesterasa (PME) y de la peroxidasa (POD) en función de la a_w del producto OP2.
- FIGURA 9.** Luminosidad (L^*), ángulo de tono (h^*_{ab}) y croma (C^*_{ab}) de las muestras OP1 (naranja) y OP2 (verde) a las diferentes a_w estudiadas.
- FIGURA 10.** Producto OP1 equilibrado, de izquierda a derecha, de menor a mayor a_w (0,23; 0,43; 0,68).
- FIGURA 11.** Diferencias de color de los dos productos considerados, equilibrados a humedades relativas de 43 y 68%, calculadas respecto al color de las muestras equilibradas a la menor humedad relativa (23%) para el OP1 (naranja) y OP2 (verde).
- FIGURA 12.** Evolución de la vitamina C y de los carotenoides totales en función de la a_w (naranja: OP1; verde: OP2).
- FIGURA 13.** Evolución de los flavonoides y los fenoles totales en función de la a_w (naranja: OP1; verde: OP2).
- FIGURA 14.** Evolución de la actividad antioxidante en función de la a_w (naranja: OP1; verde: OP2).
- FIGURA 15.** Representación del porcentaje de solubilidad del OP1 (naranja) y OP2 (verde) obtenida a presión atmosférica a 10, 20 ó 30°C y vacío a 20°C.
- FIGURA 16.** Representación de las diferencias de color de los productos rehidratados respecto a los mismos antes de liofilizar y al pomelo fresco triturado (naranja: OP1; verde: OP2).

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Formulación de los productos para su liofilización, en cuanto a la cantidad de goma arábica (GA) y fibra de bambú (FB) añadidas ($\text{g}/100 \text{ g}_{\text{puré}}$) y a la humedad de entrada del producto al liofilizador ($x_w, \text{g}_{\text{agua}}/100 \text{ g}_{\text{puré+solutos}}$).

TABLA 2. Caracterización del pomelo triturado y de los productos óptimo 1 (OP1) y óptimo 2 (OP2) antes de liofilizar.

TABLA 3. Parámetros de los modelos de BET, GAB y Gordon y Taylor, ajustados con base a 3 valores experimentales, de las muestras (R^2 = coeficiente de correlación).

TABLA 4. Parámetros de los modelos de GAB y Gordon y Taylor ajustados con base a 5 valores experimentales de las muestras (R^2 = coeficiente de correlación).

TABLA 5. Parámetros correspondientes al modelo de Ostwald-de Waele ajustados a la curva de flujo obtenida para los dos productos rehidratados.

1. INTRODUCCIÓN

Las frutas juegan un papel trascendental en el equilibrio de la dieta humana, siendo su consumo sinónimo de salud y de protección frente a enfermedades relacionadas con la degeneración del sistema nervioso, problemas cardiovasculares e incluso el cáncer. Por ello, en los últimos años, se ha observado una tendencia creciente a estimular su ingesta a través de campañas educativas como por ejemplo “cinco al día”. Además de los nutrientes tradicionales, las frutas se caracterizan por incluir en su composición otra serie de compuestos, responsables en gran parte del color, aroma o sabor, que se conocen con el nombre de fitoquímicos. Estas sustancias no nutritivas se encuentran, además, entre las que parecen contribuir al efecto beneficioso de las frutas para la salud. En las frutas, los fitoquímicos mayoritarios pertenecen a los grupos de las sustancias terpénicas y fenólicas, representados mayormente por carotenos y flavonoides, respectivamente (Martínez-Navarrete *et al.*, 2008). Los fitoquímicos se hallan en grandes cantidades en los cítricos, pertenecientes al género Citrus, los que, además, poseen un alto contenido en vitamina C y ácido cítrico, también con impacto positivo en la salud. Por tanto, todos ellos se encuentran entre los que podríamos llamar compuestos funcionales o bioactivos. Su papel funcional parece estar relacionado con su gran capacidad antioxidante al actuar como secuestrantes de radicales libres en caso de estrés oxidativo (Igual *et al.*, 2009; Xu *et al.*, 2008).

Entre los cítricos mayormente comercializados se encuentran la naranja, el limón, la lima, la mandarina y el pomelo. Este último es considerado una fuente importante de flavonoides, vitamina C y β -caroteno (provitamina A) en las variedades coloreadas. Aunque en España el consumo de esta fruta no está muy extendido, en las últimas décadas se ha incrementado mucho su ingesta en fresco, transformado en mermelada o en zumo (Infoagro, 2010). No obstante, su marcado sabor amargo limita su consumo. En este sentido, parece interesante recurrir a su procesado para conseguir un producto interesante para el consumidor y que, al mismo tiempo, mantenga su valor nutritivo y funcional. La fruta en polvo puede responder a estas cuestiones, la cual puede obtenerse por técnicas de atomización o de liofilización. Los productos en polvo ofrecen las ventajas de su alta estabilidad y fácil manejo. Además, se consiguen productos con alta calidad sensorial, nutritiva y funcional. En el caso de la liofilización, esto es debido a las bajas temperaturas a las que se lleva a cabo el proceso, reduciendo al mínimo el daño térmico sobre los componentes termolábiles (Guio *et al.*, 2000; Barbosa-Cánovas *et al.*, 2005). Esta técnica requiere la congelación previa del producto para posteriormente sublimar el agua a baja presión, con la consiguiente reducción de la actividad del agua (a_w), que permite ralentizar los procesos de deterioro a los que se ve sometido el alimento. Sin embargo, a pesar de las muchas ventajas que ofrece la liofilización, se trata de un método muy costoso de deshidratación, por lo que es económicamente factible sólo en el caso de los productos de un elevado valor añadido y/o siempre que la relación calidad-coste del producto sea alta (Ratti, 2001; Zeki Berk, 2013).

En base a esta última idea que se ha mencionado, se ha visto interesante el uso combinado de esta tecnología junto a otras técnicas de secado previas que permitan una reducción de la humedad inicial del producto y así, disminuir el tiempo y, por tanto el coste, de la liofilización (Benlloch-Tinoco *et al.*, 2013a; Casanova, 2014). El secado por microondas representa una opción adecuada en este sentido gracias a su elevado rendimiento térmico,

reduciendo el tiempo de secado en comparación con otros métodos tradicionales (Igual *et al.*, 2013a). Esto hace que se obtengan productos de mayor calidad cuando se comparan con otros sometidos a un calentamiento convencional (Benlloch-Tinoco *et al.*, 2014b). Cuando el producto se somete a la aplicación de la energía microondas se forma un campo electromagnético, en el cual se genera calor debido a la fricción a nivel molecular de los dipolos del agua presentes en el alimento que tratan de reorientarse; provocando de esta manera un aumento de su temperatura y transmitiendo ese calor a los alrededores mediante convección y/o conducción (Schubert y Regier, 2010).

En cuanto al producto obtenido, si bien es cierto que por su baja a_w goza de una alta estabilidad microbiológica, química y bioquímica, su inconveniente es la alta higroscopicidad. En este sentido, la evolución del producto liofilizado se va a ver considerablemente influenciada por la temperatura de transición vítrea (T_g), que va a determinar el estado gomoso o vítreo en que se encuentre el polvo (Roos, 1995). Fenómenos como la pegajosidad, el colapso, el apelmazamiento o la cristalización de solutos, asociados comúnmente a la pérdida de calidad de un producto deshidratado, ocurren en el estado gomoso. El cambio del estado vítreo, de máxima estabilidad, al gomoso ocurre por aumento de la temperatura y/o de la humedad del producto. De esta forma, a una temperatura determinada, que puede ser aquella a la que se quiera almacenar el producto, se puede definir el contenido de agua y la actividad del agua críticas del producto (CWC y CWA, respectivamente) para el cambio de estado. A su vez, la CWA informa de la humedad relativa máxima que podría tener el ambiente en el que podría almacenarse el producto sin envasar a fin de asegurar el estado vítreo.

Por su parte, el valor de la T_g depende, además, del tamaño molecular promedio de los solutos presentes en la matriz amorfa, que en las frutas está formada, mayoritariamente, por agua, azúcares de bajo peso molecular y ácidos. Esta propiedad composicional específica implica un valor bajo de la T_g que, en condiciones ambientales, decantará al producto en polvo en su evolución con el tiempo hacia el apelmazamiento. Para contrarrestar esta tendencia, una opción adecuada es la adición de solutos de alto peso molecular que contribuyen a elevar el valor de la T_g . Entre estos solutos se encuentran, por ejemplo, la fibra de bambú o la goma arábiga. Además de aumentar la T_g , estas macromoléculas compiten por el agua con otros componentes del propio alimento y pueden actuar como una barrera física entre partículas, a nivel de su superficie (Telis y Martínez-Navarrete, 2010). La goma arábiga es un polisacárido complejo obtenido de ciertos árboles del género *Acacia* entre los que se incluyen la *Acacia Senegal* y *Acacia Seyal*. El exudado extraído está constituido por cantidades variables de galactosa, arabinosa, ramnosa y ácido glucurónico. A parte de su interés por ser una fibra vegetal, en la industria alimentaria se usa por su capacidad como agente encapsulante del flavor y como estabilizante, por ejemplo en la producción de bebidas (Wang *et al.*, 2014). El otro hidrocoloide alimentario que abarca un papel importante en este estudio, la fibra de bambú, procede de plantas de la subfamilia *Bambusoideae*. Estas macromoléculas están compuestas en un 60% por celulosa y otra gran parte de lignina (Khalil *et al.*, 2013).

Además del colapso de los productos en polvo, hay otras propiedades que pueden verse afectadas cuando aumenta su contenido en agua. Uno de estos aspectos, que es determinante de cara a la aceptación de un alimento por parte del consumidor, es el color. Normalmente la variación de esta característica óptica que conduce a una pérdida de calidad es provocada por oxidaciones enzimáticas o no enzimáticas, pérdida de compuestos volátiles y degradación de

sustancias bioactivas (Garrote, 2008; Pua *et al.*, 2008; Yan *et al.*, 2008; Telis y Martínez-Navarrete, 2010). En este sentido, el estudio de la estabilidad de los compuestos funcionales, en relación con su actividad antioxidante, y la actividad enzimática de proteínas como la peroxidasa y la pectinmetilesterasa resulta también de gran interés.

Asimismo, una óptima capacidad de rehidratación del producto liofilizado se describe habitualmente como un atributo esencial de la calidad. Uno de los usos de la fruta en polvo puede ser para su reconstitución a zumo, a base de incorporarle agua, lo que requiere una buena capacidad de rehidratación. En general, para la rehidratación se busca que el producto deshidratado sea capaz de incorporar la cantidad de agua necesaria para alcanzar el mismo nivel de humedad que el producto fresco manteniendo el mismo nivel de interacción entre los diferentes solutos y con ella misma. En este sentido, la tecnología de liofilización ha dado los mejores resultados en comparación con el resto de procesos de secado, debido a la estructura porosa resultante de la sublimación del hielo. Del mismo modo contribuye la morfología de las partículas, que siendo de forma irregular en los productos liofilizados expone una mayor superficie para la adsorción de agua que en productos obtenidos, por ejemplo, mediante secado por atomización, que muestra partículas menos rugosas y más esféricas (Mosquera *et al.*, 2011). Conjuntamente, el estado físico del producto, el contenido en humedad y las condiciones de temperatura y presión a las que se lleve a cabo la rehidratación pueden afectar al proceso de reconstitución de zumos.

El objetivo de este estudio ha sido, además de conocer el efecto de un pretratamiento de deshidratación en la calidad del pomelo liofilizado obtenido, establecer la humedad y actividad de agua críticas que determinan la pérdida de calidad del pomelo en polvo, a fin de recomendar las mejores condiciones de almacenamiento para el mismo. Para ello se ha controlado la humedad, color, actividad enzimática, compuestos bioactivos y actividad funcional del producto almacenado en ambientes de diferente humedad relativa. Asimismo, se han optimizado las condiciones de rehidratación de los productos almacenados en las mejores condiciones.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MATERIAS PRIMAS

La variedad de pomelo (*Citrus Paradise*) empleada para este estudio fue la Star Ruby, adquirida en un supermercado local de la ciudad de Valencia. En base a una evaluación visual se seleccionaron las piezas de fruta para que no hubiese presencia de daños físicos ni fisiológicos en la superficie. Se tuvieron en cuenta otros parámetros como el tamaño, la firmeza y el color uniforme. En cuanto a los solutos que fueron utilizados como aditivos para la obtención de pomelo liofilizado, se empleó goma arábica y fibra de bambú (Sigma-Aldrich, USA).

2.2. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA Y CONDICIONES DE LIOFILIZACIÓN

Para la obtención de puré de pomelo se partió de la fruta previamente lavada, pelada y cortada. Seguidamente, se trituró mediante un robot de cocina (Thermomix TM 21, Vorwerk, Spain) y se añadieron los diferentes solutos de acuerdo a dos formulaciones obtenidas de un estudio previo de optimización (Machirant, 2014). En este estudio se seleccionaron las mejores

condiciones de liofilización para obtener un producto con las mejores características funcionales y sensoriales (Óptimo 1) y un producto optimizado en función sólo de las características sensoriales (Óptimo 2), los cuales se describen en la Tabla 1.

TABLA 1. Formulación de los productos para su liofilización, en cuanto a la cantidad de goma arábica (GA) y fibra de bambú (FB) añadidas (g/100 g_{puré}) y a la humedad de entrada del producto al liofilizador (x_w g_{agua}/100 g_{puré+solutos}).

ÓPTIMO 1			ÓPTIMO 2		
x_w	GA	FB	x_w	GA	FB
74,44	1,27	0,76	90,27	1,27	0



FIGURA 1. Ilustración ordenada de las etapas iniciales del proceso de preparación de la muestra.

Las mezclas respectivas de fruta con solutos se homogenizaron con un ultra-turrax (IKA ULTRA-TURRAX T25 Digita). Una vez alcanzado el máximo grado de homogenización de ambas formulaciones, se prosiguió con la preparación del producto llamado óptimo 1, cuya humedad de entrada al liofilizador es de aproximadamente el 74%. Esto se consiguió mediante la aplicación de un proceso de deshidratación parcial por microondas (Moulinex, Ultimys Duo Comby) a una potencia de 2 W/g. A diferentes tiempos de proceso se fue controlando el peso de la muestra. Con este dato y la humedad inicial del producto, se pudo ir calculando la humedad de la muestra a lo largo del secado y el tratamiento se dio por finalizado cuando se alcanzó la humedad de entrada requerida. Por su parte, el producto óptimo 2, cuya humedad de entrada es del 90%, se preparó mediante la adición de agua.

Una vez obtenidos los dos óptimos, previos a la liofilización, se procedió a caracterizar estas muestras iniciales a nivel de humedad (x_w), sólidos solubles (°Brix), propiedades ópticas, compuestos funcionales, actividad antioxidante, actividad enzimática y comportamiento reológico, siguiendo la metodología que se describe en el apartado 3.

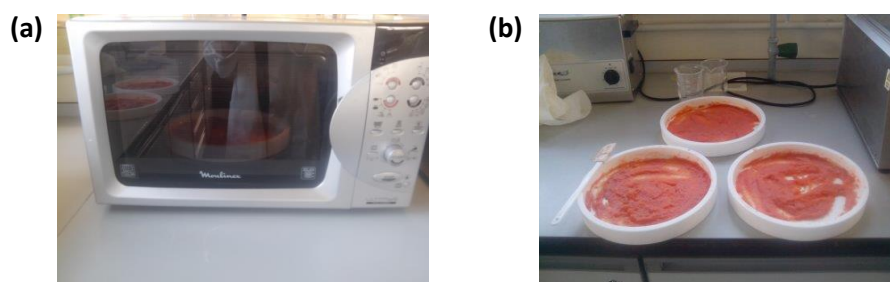


FIGURA 2. Equipo en el que se realizó el pretratamiento de secado por microondas (a); Muestras parcialmente deshidratadas (óptimo 1) (b).

Posteriormente, las muestras se dispusieron en bandejas de aluminio formando una capa de 0,5 cm de espesor y se congelaron a -45°C (Liebherr Mediline 7083 207-00), al menos durante 48 h, hasta su liofilización, la cual se llevó a cabo en un liofilizador Telstar Lioalfa-6, a 0,021 mPa y -59°C , durante 24 horas. Las muestras recién liofilizadas se molieron manualmente hasta obtener un polvo homogéneo que se envasó a vacío y se almacenó en un desecador con silicagel para los posteriores análisis.

2.3. ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Para acondicionar los productos considerados a diferentes actividades del agua se aplicó el método gravimétrico estático planteado por Spiess y Wolf (1987). Para ello se prepararon tres cámaras herméticamente cerradas, a 20°C , en las cuales se dispusieron disoluciones sobresaturadas de CH_3COOK , K_2CO_3 y NaNO_2 (Figura 3), las cuales permitieron obtener ambientes con un 23, 43 y 68% de humedad relativa, respectivamente (Greenspan, 1977). Periódicamente se controló el peso de las muestras hasta que éstas alcanzaron peso constante. En ese momento se asumió el equilibrio termodinámico entre la muestra y el ambiente, lo que supone que la a_w de las muestras era igual a la humedad relativa de la cámara (HR)/100.

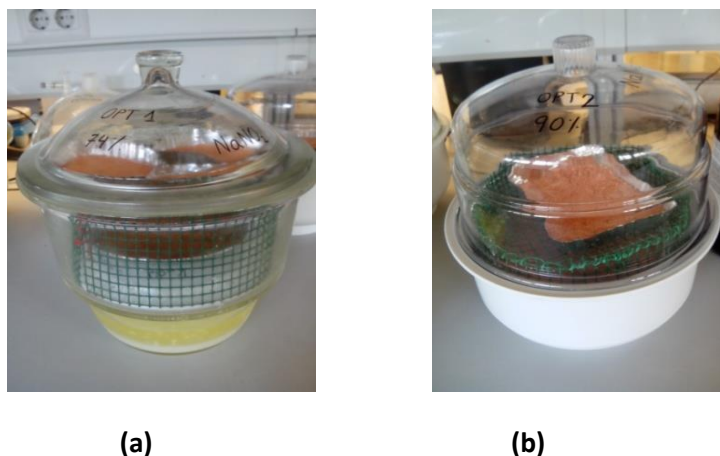


FIGURA 3. Desecadores preparados para el acondicionamiento de las muestras a las diferentes humedades relativas. Pomelo liofilizado en polvo perteneciente al óptimo 1 (a) y al óptimo 2 (b).

Al polvo de pomelo acondicionado a las diferentes humedades relativas se le caracterizó la humedad, temperatura de transición vítrea, solubilidad, color, actividad enzimática, compuestos funcionales y actividad antioxidante (ver apartado 3).

2.4. REHIDRATACIÓN

El estudio del comportamiento de los productos en polvo frente a la rehidratación se practicó únicamente sobre las muestras equilibradas a menor HR (23%). Inicialmente se pesaron las cantidades de muestra liofilizada y de agua necesarias para llevar al producto en polvo a las condiciones iniciales de humedad de $74 \text{ g}_{\text{agua}}/100 \text{ g}_{\text{puré+solutos}}$ en el caso del óptimo 1 y $90 \text{ g}_{\text{agua}}/100 \text{ g}_{\text{puré+solutos}}$ en el caso del óptimo 2. La reconstitución se llevó a cabo a tres temperaturas, 10, 20 y 30°C , a presión atmosférica. Además se realizó una experiencia a vacío, a 20°C , para cada óptimo.

Primeramente, en un vaso de precipitados de 50 mL con doble camisa se añadió la muestra de pomelo en polvo a la vez que el agua destilada. Este vaso se conectó a un baño de agua termostataado (Refrigerated Circulator 901, PolyScience), con el propósito de asegurar la temperatura indicada durante todo el tiempo de la experiencia. Además, se mantuvo la muestra con agitación magnética constante (750 rpm), hasta lograr el máximo grado de disolución del polvo. A los productos reconstituidos se les estudió el comportamiento reológico, la solubilidad y las propiedades ópticas, según se describe en el apartado 3.

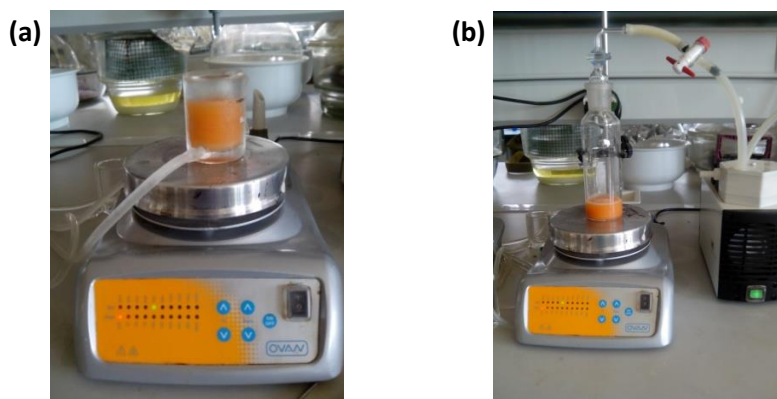


FIGURA 4. Procedimiento para la rehidratación. Equipo de agitación magnética, con el vaso de doble camisa, en las experiencias a presión atmosférica (a) y a vacío a 20°C (b).

3. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

En este apartado se describen las diferentes metodologías empleadas a lo largo del estudio para obtener los resultados de cada propiedad analizada en los productos antes de su liofilización y/o al polvo obtenido, una vez equilibrado a las distintas HR. Todos los análisis se llevaron a cabo por triplicado en cada muestra.

3.1. CONTENIDO EN AGUA (x_w) Y SÓLIDOS SOLUBLES (°Brix)

Para la determinación de x_w se empleó el método oficial 20.013 (AOAC, 1990) de aplicación en frutas ricas en azúcar. Éste se llevó a cabo por secado en una estufa de vacío (Vacioterm, J.P. Selecta) a $60\pm 1^\circ\text{C}$, a una presión <100 mm Hg, hasta alcanzar un peso constante (Figura 5). En este método se asume que la pérdida de peso de la muestra en cuestión, se corresponde con el agua presente. Los resultados obtenidos se expresaron en $\text{g}_{\text{agua}}/100 \text{ g}_{\text{solutospomelo}}$. Los sólidos solubles de la fracción líquida (°Brix) se midieron a 20°C en un refractómetro (Abbe Atago 89553, Zeiss Japan).



FIGURA 5. Estufa de vacío que se utilizó para la determinación de humedad con las respectivas muestras en su interior.

3.2. TEMPERATURA DE TRANSICIÓN VÍTREA

Para caracterizar la T_g se realizó un análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC) de cada muestra equilibrada. Para ello, alrededor de 10 mg de muestra se introdujeron en crisoles metálicos de aluminio para DSC (P/N SSC000C008, Seiko Instruments), que fueron sellados y analizados en un calorímetro diferencial de barrido DSC 220CU-SSC5200 (Seiko instruments Inc.), utilizando nitrógeno líquido como agente refrigerante. Las muestras se sometieron a un barrido de calentamiento, a 5°C/min, entre -80 y 80°C en función de su humedad.

3.3. PROPIEDADES ÓPTICAS

En este caso, se dispuso de unos recipientes de aluminio de 11 mm de diámetro y 5,5 mm de altura que se llenaron con el producto en polvo. Previamente al análisis, se compactó el contenido haciendo uso de un texturómetro TA-XT Plus (Stable Micro Systems, UK), con una sonda cilíndrica de 10 mm de diámetro acoplada, para poder obtener resultados comparables en base a una superficie uniforme y con una porosidad y espesor semejantes. Para ello se fijó una deformación de 2 mm a 0,05 mm/s. El siguiente paso fue colocar la muestra compactada sobre la lente del espectrocolorímetro (colorímetro MINOLTA CM-2002, Japón) y medir las coordenadas CIE*L*a*b, sobre fondo negro, utilizando como referencia el iluminante D65 y el observador 10°, con una ventana de medición de 6 mm. Para la medida del color del pomelo triturado y las formulaciones de los dos productos óptimos antes de liofilizar, se utilizó una cubeta de 38 mm x 50 mm. En este caso la ventana de medición fue de 30 mm. En ambos casos, a partir de las coordenadas CIE*L*a*b* obtenidas, se determinó el tono (h^*_{ab}), el cromatismo (C^*_{ab}) y las diferencias de color (ΔE) (Hutchings, 1999), que para el caso de los productos antes de liofilizar fue calculado con respecto al pomelo triturado, y el ΔE de los polvos equilibrados fue calculado, en cada caso, respecto al del producto acondicionado a menor HR (23%).

3.4. COMPUESTOS FUNCIONALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

3.4.1. Vitamina C

Para el análisis de la vitamina C (ácido dehidroascórbico (DHAA) + ácido ascórbico (AA)) se procedió a la reducción del DHAA a AA usando el DL-ditriitol (Sigma-Aldrich), de acuerdo con Sánchez-Moreno *et al.* (2003). La determinación se realizó empleando un equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Jasco, Italia) con una bomba ternaria (Jasco PU-1580 HPLC pump), un generador de gradiente (LG-1580-02 Ternary Gradient Unit) y un detector UV-visible (MD-1510) con un intervalo de medida de longitud de onda 190 hasta 650 nm. El equipo cuenta con un desgasificador incorporado y un inyector automático. Se empleó una columna Zorbax SB-C18 de 5 μ m (4,6 x 25 mm), junto con una precolumna (C18 Teknokroma). Los resultados se expresaron como mg de vitamina C/100 g_{solutospomelo}.

3.4.2. Fenoles, flavonoides y carotenoides totales

Para llevar cabo estos tres análisis se utilizó un espectrofotómetro UV-visible (Thermo Electron Corporation, USA) en el cual se midió la absorbancia a 765 nm, 430 nm y 446 nm, respectivamente.

En concreto, para la determinación de los fenoles totales se realizó el ensayo Folin-Ciocalteu, según Benzoe y Estrain (1999) y adaptado por Igual *et al.* (2010). Inicialmente se

pesó una cantidad de muestra a la cual se le añadió metanol, ácido clorhídrico 6N y NaF 2 mM, para el puré fresco y las muestras en polvo. Se homogenizó el contenido y se centrifugó a 10000 rpm durante 10 min, a 4°C. Por último, se extrajo cierta cantidad de sobrenadante a la que se añadió agua bidestilada, reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich) y se dejó en reposo 8 minutos, evitando el contacto directo con la luz mediante papel de aluminio. A continuación, se adicionó una disolución de carbonato de sodio al 7,5% (p/v) y se llevó a 25 mL con agua bidestilada. Después de 2 h en oscuridad se midió la absorbancia. El resultado se expresó en mg de ácido gálico equivalente/100 g_{solutospomelo}.

Los flavonoides totales se determinaron a partir de 1 mL del mismo extracto obtenido para los fenoles totales. A éste se le agregó 1 mL de una dilución en metanol de AlCl₃ (20 g/L) y se dejó en oscuridad durante 30 min. La cuantificación se realizó utilizando rutin equivalente como patrón.

Por último, para la extracción de los carotenoides totales se siguió la metodología descrita por Olives Barba *et al.* (2006). Se adicionaron 100 mL de una disolución de hexano, acetona, etanol (50:25:25, v/v/v) a 5 g de muestra y se mantuvo en agitación a 750 rpm durante 30 minutos. Seguidamente, se añadió 15 mL de agua hasta lograr la separación de las fases. Del sobrenadante se tomaron 600 µL, los cuales se evaporaron con nitrógeno y posteriormente se añadió 1 mL de THF/ACN/Metanol (15:30:55, v/v/v) y se procedió a la lectura de la absorbancia. Los resultados se expresaron en mg de β-caroteno/100 g_{solutospomelo}.

3.4.3. Actividad antioxidante (AOA)

El análisis de esta propiedad se fundamenta en el método del DPPH (Puupponen-Pimiä *et al.*, 2003), que se basa, a su vez, en la capacidad de las sustancias antioxidantes para captar radicales libres. Cada muestra, una vez homogeneizada, se centrifugó (Selecta Medifriger-BL, Spain) a 10.000 rpm durante 10 min a 4 °C y 0,1 mL del sobrenadante diluido en metanol se añadieron a 3,9 mL de DPPH diluido en metanol (0,030 g/L, Sigma-Aldrich, Germany). Para cuantificar la AOA se midió la absorbancia a 515 nm (espectrofotómetro UV-visible, Thermo Electron Corporation USA) y a intervalos de 0,25 min hasta alcanzar el estado estacionario. Los resultados se expresaron en % DPPH que fue calculado según la ecuación (1):

$$\% DPPH = \frac{A_{control} - A_{muestra}}{A_{control}} \cdot 100 \quad (1)$$

Donde: A_{control} = absorbancia del control (absorbancia de la muestra a tiempo 0); A_{muestra} = absorbancia de la muestra cuando la reacción se ha estabilizado. Los resultados se expresaron en µmoles de trolox equivalente (TE)/100 g_{solutospomelo}, empleando una recta de calibrado en el intervalo de 6,25-150 µmol TE.

3.5. ENZIMAS

3.5.1. Actividad pectinmetilesterasa (PME)

Se partió de una disolución de pectina al 2% que se preparó llevando a ebullición 900 mL de agua destilada y añadiendo 20 g de pectina humectada en etanol. Después de mantener la mezcla unas horas en agitación, hasta su completa disolución, se enrasó a 1 L y se almacenó en refrigeración. Por otra parte, se preparó una disolución de NaCl 2M, para lo que se pesaron 116,8 g de esta sal y se enrasó a 1 L con agua destilada. Para finalizar, se combinaron ambas disoluciones (58,5 mL de NaCl 2M + 175 mL de pectina al 2%) y se enrasó a 1 L con agua

destilada. El pH se ajustó específicamente a 6,5 empleando NaOH y se mantuvo en refrigeración.

Para la medida, se cuantificó la velocidad de adición de NaOH para neutralizar los grupos ácidos liberados como consecuencia de la acción de la PME, a pH=6,5 y 30°C, sobre la muestra. Se adicionó aproximadamente 5 g de la muestra y 30 mL del sustrato preparado y se empleó para la valoración NaOH 0,02 N. Los resultados se obtuvieron a partir de la ecuación (2):

$$PME \left(\frac{U}{g} \right) = \frac{V \cdot N \cdot 1000}{m \cdot t_r} \quad (2)$$

Donde: V es el volumen de NaOH consumido (mL), N representa la normalidad de esta base, m expresa la masa de muestra (g) y t_r constituye el tiempo de reacción (s).

3.5.2. Actividad peroxidasa (POD)

Para su análisis se siguió el método descrito por Ancos *et al.* (1999). Para la extracción se homogenizaron 10 g de muestra con 10 mL de tampón fosfato sódico 0,2M (pH=6,5). Éste se formó a partir de 10 g/L de PVPP insoluble (polivinilpolipirrolidona) y 10 mL/L de Triton X-100, cuya combinación fue homogenizada en un ultra-turrax (IKA ULTRA-TURRAX T25 Digita) con refrigeración externa durante 3 min. Posteriormente, la mezcla se centrifugó a 15000 rpm y 4°C durante 15 minutos. Para el análisis de la POD se tomó una alícuota de 0,050 mL del extracto enzimático y se añadió 2,7 mL de tampón fosfato sódico 0,05M (pH=6,5), 0,2 mL de p-phenylenediamina (10 g/L) como donador de hidrógeno y 0,1 mL de peróxido de hidrógeno (15 g/L) como oxidante. La oxidación de la p-phenylenediamina se midió en el espectrofotómetro a 485 nm, a 25°C, en función del tiempo. La actividad enzimática se calculó a partir de la pendiente del tramo lineal obtenido tras representar los valores absorbancia frente al tiempo. En ambas experiencias se utilizó un blanco que tenía el mismo contenido que el resto de las cubetas, excepto el extracto enzimático. Los resultados fueron expresados en $\text{Abs} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$.

3.6. SOLUBILIDAD

El fundamento de este análisis se basa en la metodología descrita por Minouni *et al.* (2009) con algunas variaciones específicas. Se cuantificó, por una parte, el contenido en sólidos totales (ST) y, por otra, los sólidos solubles (SS) de cada muestra rehidratada.

Para el cálculo de ST, se llevó a cabo un control de peso de 1 g aproximadamente de la muestra rehidratada antes y después de introducirlo en la estufa de vacío a 60°C y una presión <100 mm Hg (Vacioterm, J.P. Selecta) durante 24 horas.

Para la determinación de SS, una parte de cada muestra rehidratada se centrifugó a 10000 rpm durante 10 min y 4°C. Seguidamente, el sobrenadante se filtró a vacío con papel de filtro Whatman nº 1 y se tomó alrededor de 1 g del filtrado que finalmente fue sometido a las mismas condiciones de secado descritas para ST. La solubilidad de la muestra fue calculada a partir de la ecuación (3).

$$\text{Solubilidad} = \frac{SS}{ST} \quad (3)$$

3.7. COMPORTAMIENTO REOLÓGICO

Se obtuvo la curva de flujo de los tres productos iniciales formulados y de las disoluciones obtenidas tras la rehidratación de los dos productos en polvo liofilizados, en las condiciones descritas en el apartado 2.4. En todos los casos se utilizó un reómetro rotatorio (Rheolab MC 1, Paar Physica) en régimen de temperatura constante a 25°C. Los sensores empleados fueron los Z3DIN (25 mm) y Z2DIN (45 mm) para el óptimo 1 y 2, respectivamente. Todas las experiencias se llevaron a cabo aplicando un barrido de gradiente de velocidad ($\dot{\gamma}$) desde 0 a 150 s⁻¹ y de 150 a 0 s⁻¹.

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para establecer las diferencias existentes entre las muestras analizadas, se efectuaron análisis de la varianza (ANOVA) de carácter simple, para un nivel de significación $\alpha = 0,05$. El análisis estadístico de los resultados obtenidos se ejecutó con el programa Statgraphics Centurion X64.

5. RESULTADOS

Se va a tratar de fundamentar las diferencias significativas que se presentan en los resultados comparando, en la primera parte (apartado 5.1.), el pomelo fresco triturado con los dos productos óptimos formulados antes de ser sometidos al proceso de liofilización. En la segunda parte (apartado 5.2.), se evaluarán similitudes y diferencias entre cada producto en polvo en función de la humedad relativa a la que ha sido almacenado. Por último, en la tercera parte (apartado 5.3.) se valorará la viabilidad de la reconstitución del producto en polvo a zumo, teniendo en cuenta las posibles diferencias significativas que se puedan presentar en cuanto a las propiedades ópticas y reológicas respecto a los productos correspondientes antes de ser liofilizados.

5.1. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA Y DE LOS PRODUCTOS ÓPTIMOS FORMULADOS

Tanto la composición del pomelo en fresco como la de los dos productos óptimos formulados (antes de ser liofilizados) resulta determinante a la hora de valorar la posibilidad de utilizar fruta en polvo para su reconstitución en zumo. A su vez, la comparación de estos 3 productos permite evaluar el efecto de la formulación del puré de la fruta para su liofilización. En la tabla 2 se muestran las diferentes propiedades analizadas a los tres tipos de muestra iniciales, observándose, como era de esperar, diferencias significativas ($\alpha < 0,05$) en la mayor parte de los parámetros.

TABLA 2. Caracterización del pomelo triturado y de los productos óptimo 1 (OP1) y óptimo 2 (OP2) antes de liofilizar.

	POMELO	OP1	OP2
Humedad ¹	86,93 (0,05) ^a	74,92 (0,14) ^b	89,51 (0,04) ^c
°Brix	11,7 (0,1) ^a	26,7 (0,3) ^b	9,7 (0,1) ^c
Compuestos funcionales			
Vitamina C ²	502 (24) ^a	351 (4) ^b	471 (3) ^a
Fenoles totales ²	282 (2) ^a	526,3 (1,6) ^b	304,7 (0,9) ^a
Flavonoides totales ²	36 (2) ^a	43,6 (0,6) ^b	36,3 (0,5) ^a
Carotenoides totales ²	42 (3) ^a	67 (3) ^b	52 (4) ^a
Actividad antioxidante ³	105,9 (0,6) ^a	136 (6) ^b	90 (6) ^a
Actividad enzimática⁴			
PME	6,57 (0,04) ^a	-	5,67 (0,02) ^c
POD	0,78 (0,02) ^a	-	0,131 (0,002) ^c
Propiedades ópticas			
L*	46,7 (0,4) ^a	43,5 (0,3) ^b	46,2 (0,1) ^a
C* _{ab}	17,9 (0,2) ^a	25,8 (0,4) ^b	13,5 (0,3) ^c
h* _{ab}	40,9 (0,6) ^a	42,72 (0,13) ^b	40,5 (0,5) ^a
ΔE ⁵	-	8,6 (0,3) ^a	4,4 (0,3) ^b
Comportamiento reológico			
K ⁶	1,47 (0,05) ^a	75,61 (1,43) ^b	3,573 (0,112) ^a
n	0,292 (0,012) ^a	0,245 (0,008) ^b	0,272 (0,003) ^a
R ² (Coeficiente determinación)	0,928 (0,053)	0,992 (0,004)	0,955 (0,014)
η ⁷	5,6 (0,5) ^a	233,3 (3,7) ^b	12,5 (0,6) ^a

Letras diferentes, en superíndices, dentro de la misma fila indican diferencias estadísticamente significativa ($\alpha < 0,05$). Unidades: ¹ g agua/100 g producto; ² mg/100 g solutospomelo; ³ mmol TE/100 g solutos pomelo; ⁴ PME (U/g) y POD (Abs/min g); ⁵ Diferencia de color de cada óptimo con respecto al pomelo; ⁶ K: Índice de consistencia (Pa sⁿ) y n: Índice de comportamiento al flujo; ⁷ Viscosidad a 100 s⁻¹, (Pa s).

5.1.1. Compuestos funcionales y actividad antioxidante

Como los tres productos que se comparan presentan diferente contenido en agua y diferente cantidad de solutos, los valores de sus componentes no son comparables directamente si se considera la cantidad de cada compuesto por g de muestra. Con el fin de poder realizar esta comparación, se han expresado todos los resultados de composición referidos a los solutos solubles presentes en el pomelo utilizado como materia prima en todo el estudio. Así es como se expresan los resultados de los compuestos funcionales analizados a los diferentes productos en la Tabla 2. Como puede observarse, y como era de esperar, no hay diferencias significativas entre el pomelo fresco y el producto OP2. En cambio, el OP1 muestra mayor contenido en fenoles, flavonoides y carotenoides totales y menor contenido en vitamina C que los anteriores. Si bien se han descrito estudios que confirman el efecto negativo del tratamiento térmico en el contenido en fenoles, flavonoides (Igal *et al.*, 2011) y carotenoides totales (Leskovà *et al.*, 2006; Igal *et al.*, 2013b), también es cierto que en el pretratamiento realizado en este estudio no se llegan a alcanzar temperaturas excesivamente altas, al aplicar las microondas durante poco tiempo y de forma intermitente. Por otra parte, también se ha descrito la mayor facilidad de extracción de este tipo de compuestos después de un tratamiento térmico, asociada al daño estructural sufrido por el producto (Carranza-Concha

et al., 2012). Autores como Igual *et al.* (2011) y Kim *et al.* (2005), justifican el aumento de los flavonoides totales en base a transformaciones que suponen la conversión de algunos de los flavonoides en otros. La vitamina C se muestra, efectivamente, un compuesto muy termolábil. Con el tratamiento de microondas su concentración disminuye en aproximadamente un 30% con respecto a las otras dos muestras. No obstante, se ha descrito que el secado por microondas da lugar a productos de fruta y otros vegetales de mejor calidad en comparación con los obtenidos por secado convencional por aire caliente (Khraisheh *et al.*, 2004).

La AOA resulta un indicador primordial de la calidad en frutas cítricas, como el pomelo, y parece depender del contenido en compuestos del tipo de los compuestos funcionales analizados en este estudio. Así, estudios realizados en fresas, por ejemplo, evidencian cierta relación entre el descenso de fenoles totales y el empobrecimiento de actividad antioxidante (Klopotek *et al.*, 2005). Esta teoría se ve apoyada, en el caso del pomelo, por Igual *et al.* (2010) y también por los resultados obtenidos en este estudio, donde la mayor actividad antioxidante se da en la muestra OP1, que es a su vez la de mayor contenido en fenoles, flavonoides y carotenoides totales. Por tanto, también desde el punto de vista de la AOA, el tratamiento por microondas aplicada cimienta las afirmaciones expuestas en la bibliografía que asocian la aplicación de un tratamiento térmico débil con la disociación de formas conjugadas en compuestos fenólicos libres, que aumentan directamente la AOA. Esta teoría se ha descrito para diferentes productos como los cereales (Randhir *et al.*, 2008), el polvo de algarroba (Sahin *et al.*, 2009), la batata (Jing *et al.*, 2010) o el puré de kiwi (Benlloch-Tinoco *et al.*, 2013b).

5.1.2. Actividad enzimática

Además de las variaciones que resultan en los compuestos funcionales y en la AOA, en la Tabla 2 se observa como el pretratamiento de secado por microondas ocasionó la inactivación completa de las dos enzimas estudiadas. La PME ha sido caracterizada por varios autores como una de las enzimas más resistentes al calor en comparación con otras enzimas como la POD y la polifenoloxidasas (Benlloch-Tinoco *et al.*, 2013a), por lo que su inactivación se utiliza para determinar la intensidad del tratamiento térmico (Salazar, 2011). Precisamente, aparte de la destrucción de microorganismos patógenos, la desnaturalización de enzimas como la PME es uno de los objetivos de los tratamientos de pasteurización que se llevan a cabo en zumos (Elez-Martínez *et al.*, 2006), ya que esta enzima es la responsable de la hidrólisis de los enlaces éster de la pectina, causando pérdida de turbidez y la clarificación del producto (Terefe *et al.*, 2009). También se ha descrito la inactivación parcial de la PME asociada a la pasteurización realizada por microondas en zumos de naranja (Fратиanni *et al.*, 2010) y puré de kiwi (Benlloch-Tinoco *et al.*, 2013a). Sin embargo, no se logra llegar a su inactivación completa debido a los cortos tiempos de tratamiento. En contraste, en este estudio sí se alcanza su completa inhibición tras la aplicación de microondas, que en este trabajo fue por periodos de 120 segundos durante 24 minutos. Por su parte, la POD es un grupo de enzimas que catalizan reacciones de oxidación reduciendo peróxido de hidrógeno a agua, oxidando simultáneamente una variedad de sustratos presentes en las frutas (Robinson, 1991; Matsui *et al.*, 2006). Se trata de una enzima más lábil que la PME al tratamiento por microondas (Benlloch-Tinoco *et al.*, 2013a) y, en nuestro caso, en la muestra OP1 también se inactiva totalmente por efecto del calor, lo que repercute por tanto en la vida útil como en la calidad organoléptica del producto.

Por su parte, el pomelo fresco y el producto OP2, que no son sometidos a ningún tratamiento térmico y sí que muestran actividad de ambas enzimas, manifiestan diferencias

significativas entre sí ($\alpha < 0,05$). Esto se puede deber a varias causas, entre las que puede destacarse la trituración adicional que sufre el producto OP2 después de su formulación. Esto provocaría un mayor daño al tejido vegetal, degradando a su vez en mayor medida a estos grupos proteicos.

5.1.3. Propiedades ópticas

En cuanto a la medida del color, éste es muchas veces utilizado como parámetro de control para estimar diferencias significativas entre muestras, puesto que se trata de una determinación más simple y rápida que los análisis químicos. Se han publicado numerosos estudios que esclarecen la influencia de diversas reacciones sobre el color en frutas procesadas térmicamente. En la bibliografía, las más comunes son las originadas por la degradación de pigmentos como los carotenoides y la clorofila, las reacciones enzimáticas de pardeamiento, la oxidación del ácido ascórbico y las reacciones no enzimáticas de Maillard (Barreiro *et al.*, 1997; Maskan, 2000). Como puede observarse en la Tabla 2, la luminosidad del espacio de color CIE*L*a*b, no presentó diferencias significativas ($\alpha < 0,05$) entre el producto fresco y el OP2. Sin embargo, sí hay diferencias con respecto al OP1. Dado que la cantidad de solutos incorporada a los productos OP1 y OP2 es muy similar, la disminución de L* en el primer caso puede asociarse al pretratamiento por microondas, el cual oscurece al producto.

Por su parte, los atributos de color evaluados consideran los valores de las coordenadas cromáticas a* y b*, que en el caso del pomelo, toman valores positivos en ambos óptimos, como corresponde a los tonos rojizos-amarillentos característicos de esta fruta. En cuanto a C*_{ab}, se observaron diferencias significativas ($\alpha < 0,05$) entre las tres muestras. Por una parte, en el producto OP2 se evidencia que, en su conjunto, la adición de solutos y de agua disminuye la saturación o pureza del color propio del pomelo en fresco. En contraste, en las muestras OP1, la aplicación del secado parcial por microondas ocasionó un aumento del croma, que puede asociarse a la concentración de los diferentes pigmentos presentes en esta fruta. A este cambio también pueden contribuir las denominadas reacciones de pardeamiento no enzimático de Maillard, que se ven promovidas en procesos de calentamiento favorecidas por la composición mayoritaria en el pomelo de azúcares simples, como glucosa y fructosa, y compuestos proteicos. Los productos de estas asociaciones dan lugar a compuestos de un color marrón oscuro que reciben el nombre de melanoidinas (Wijewickreme *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 2008). En cuanto a h*_{ab}, la ausencia de diferencias significativas entre el producto fresco y OP2 indica que los solutos y el agua añadidos, en conjunto, no afectaron al tono, lo que concuerda con la estabilidad de los compuestos carotenoides analizados, los cuales son responsables del color amarillo-rojizo de esta fruta en particular (Fernández *et al.*, 2012). En cuanto al pretratamiento de deshidratación, se observa que éste ocasionó un leve aumento del tono, proporcionando un producto algo más naranja-amarillo y algo menos rojo. Los efectos comentados se traducen en una mayor diferencia de color del producto predeshidratado con respecto al pomelo fresco que en el caso del OP2. No obstante, en ambos casos el valor de ΔE mayor de 2 unidades es suficiente como para percibir las diferencias a nivel visual (Liao *et al.*, 2007).

5.1.4. Comportamiento reológico

Por último, se caracterizó el comportamiento reológico de los tres productos iniciales, al ser considerado una herramienta analítica que proporciona información sustancial acerca de la

organización estructural del sistema y juega un papel fundamental en las características organolépticas, el control de los procesos y el diseño de equipos (Ahmed *et al.*, 2005). En general, la mayoría de fluidos en el campo de alimentario no siguen el comportamiento ideal presentado por la ley de Newton, debido a la presencia de material soluble e insoluble que provoca que la relación entre el esfuerzo cortante (σ) y el gradiente de velocidad ($\dot{\gamma}$) no sea constante (Meei Chien Quek *et al.*, 2013). Se emplea para estos casos el concepto de viscosidad aparente (η), propiedad que varía en función de la cizalla impuesta.

El resultado de la curva de flujo obtenida para los productos mostró, en los tres casos, el comportamiento pseudoplástico de los mismos. Los datos obtenidos se ajustaron al modelo de Ostwald-de Waele o ley de potencia (Gratão *et al.*, 2007; Steffe, 1996), para determinar el índice de consistencia (K) y el índice de comportamiento al flujo (n) (Ecuación 4). Además, para cada producto, se caracterizó η a un gradiente de velocidad igual a 100 s^{-1} (Ecuación 5). Todos estos resultados se muestran en la Tabla 2. Los altos valores del coeficiente de determinación R^2 del modelo, que oscilaron entre $0,928 \pm 0,053$ y $0,992 \pm 0,004$, indican el buen ajuste de los datos en todos los casos.

$$\sigma = K \cdot \dot{\gamma}^n \quad (4)$$

$$\eta = \frac{\sigma(\dot{\gamma})}{\dot{\gamma}} \quad (5)$$

En base a los resultados expuestos en la Tabla 2 y, tal y como se afirma en la bibliografía, la concentración de solutos repercute de manera trascendental en el comportamiento reológico de las muestras (Chin *et al.*, 2009). Por una parte, el pomelo fresco y el OP2 presentan características muy similares, puesto que la mínima agregación de solutos fue compensada con la adición de agua para obtener el 90% de humedad en el segundo caso. Así, el valor de η calculado para el producto OP2, aunque mayor que para el fresco, no llega a ser significativamente diferente ($\alpha > 0,05$). Por otra parte, el OP1 sí muestra diferencias significativas en el análisis estadístico ($\alpha < 0,05$). El valor mucho mayor de η en el producto OP1 que en el fresco o en el OP2 es consecuencia del incremento en la concentración de solutos a causa de la predeshidratación. Esto causa un aumento de K y, a su vez, una disminución de n, que indica una mayor desviación del comportamiento de fluido respecto al newtoniano. Otros estudios llevados a cabo en zumo de melocotón (Ibarz *et al.*, 1992), naranja (Ibarz *et al.*, 1994) y manzana (Cónstenla *et al.*, 1989) sustentan también esta misma correlación entre los parámetros de la ley de potencia. Aparte de la concentración de los solutos, se debe tener en cuenta el efecto de la aplicación de calor sobre el fluido. En este sentido, autores como Vandresen *et al.* (2009) atribuyeron los elevados valores de viscosidad en los zumos pasteurizados respecto a los no tratados térmicamente, al cambio de tamaño de las partículas y a la penetración de agua entre las cadenas de celulosa durante el calentamiento.

Como resumen de esta parte del estudio, los resultados obtenidos para el producto OP1 antes de liofilizar muestran que el tratamiento térmico recibido provocó un impacto perceptible sobre el comportamiento reológico del fluido, aumentando su η , y también sobre el color, por el aumento en la concentración de pigmentos y porque se promueve el pardeamiento enzimático. El tratamiento térmico no provocó pérdidas de los compuestos fitoquímicos, a excepción de la vitamina C.

5.2. CARACTERIZACIÓN DEL POLVO DE POMELO EN FUNCIÓN DE LA HUMEDAD RELATIVA DE ALMACENAMIENTO

5.2.1. Isotermas de sorción

Los datos actividad del agua – humedad de las muestras equilibradas a las diferentes humedades relativas constituyen los datos de sorción de agua. Los valores experimentales correspondientes al comportamiento de ambos productos óptimos, obtenidos a 20°C, aparecen representados en la Figura 6. Los resultados obtenidos, son similares a los encontrados en la bibliografía para los experimentos de adsorción de agua en pomelo en polvo liofilizado a temperatura ambiente (Fabra *et al.*, 2008).

Con el propósito de poder predecir las propiedades de sorción en alimentos se han desarrollado una serie de modelos empíricos y matemáticos (Iglesias *et al.*, 1978; Van den Berg & Bruin, 1981). Entre éstos, en el presente estudio se ajustaron los valores experimentales al modelo de BET (Brunauer *et al.*, 1938) y al modelo de GAB (Van den Berg & Bruin, 1981), ambos planteados a partir de las ecuaciones (6) y (7), respectivamente. La Tabla 3 muestra los parámetros obtenidos de los modelos.

$$w_e = \frac{w_o \cdot C \cdot a_w}{(1 - a_w) \cdot (1 + (C - 1) \cdot a_w)} \quad (6)$$

$$w_e = \frac{w_o \cdot C \cdot K \cdot a_w}{(1 - K \cdot a_w) \cdot (1 + (C - 1) \cdot K \cdot a_w)} \quad (7)$$

w_e : contenido de humedad en el equilibrio (g agua/g sólidos secos); w_o : humedad de la monocapa (g agua/g sólidos secos); C: Constante de Guggenheim relacionada al calor de sorción de la monocapa; K: factor de corrección relacionado con el calor de sorción de la multicapa; a_w : actividad del agua.

Los datos se ajustaron de manera satisfactoria a ambos modelos (Tabla 3). Se eligió el modelo de GAB para la representación gráfica de la típica curva sigmoidea de sorción por su mejor ajuste ($R^2=1$) en el intervalo de a_w desde 0 hasta 0,68 (Figura 6). Además, se trata del modelo más ampliamente usado en la bibliografía para frutas como por ejemplo las fresas (Moraga *et al.*, 2004), el caqui (Gabas *et al.*, 2009) y el borjón (Mosquera, 2010). El modelo de BET, por su parte, se desvía de la linealidad cuando en el alimento empiezan a predominar los fenómenos de disolución, con interacciones del tipo soluto-disolvente, frente a los de sorción, lo que frecuentemente ocurre para valores de a_w del orden de 0,5-0,6 (Wolf, Spiess & Jung, 1985).

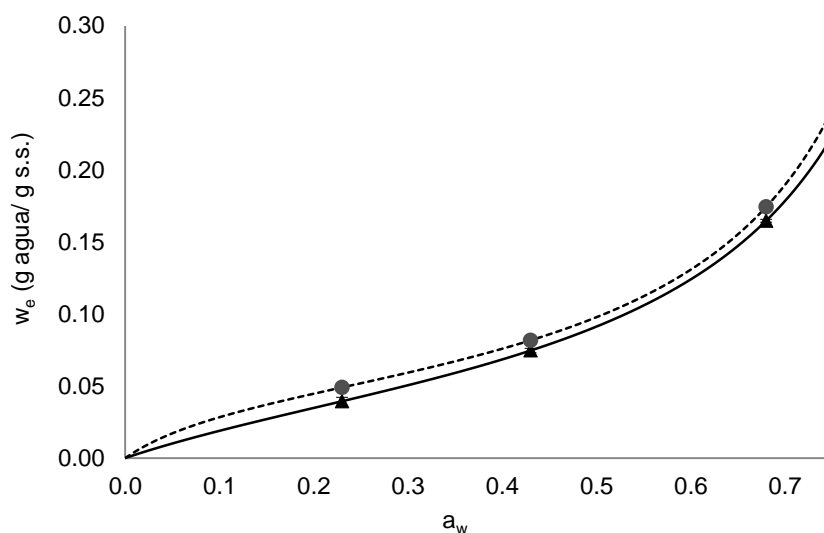


FIGURA 6. Isothermas de sorción a 20°C. Puntos experimentales y modelo de GAB ajustado. Triángulos y línea continua para el producto OP1; círculos y línea discontinua para el OP2.

La isoterma construida para ambos óptimos se corresponde, como se deduce a partir del parámetro $C > 2$, con el tipo II de la clasificación Brunauer (Brunauer, Deming & Teller, 1940), muy afín a una gran variedad de frutas. La curva presenta un comportamiento característico de alimentos con un alto contenido en azúcares. En ésta se observa inicialmente un escaso crecimiento del contenido de humedad en el equilibrio para a_w bajas. A partir de niveles intermedios en el eje de las abscisas ($a_w \approx 0,45$) aumenta la pendiente enormemente, debido a la prevalencia de las interacciones soluto-disolvente frente a las de sorción del agua a la superficie del alimento, que se asocian con la consecuente disolución de los azúcares (Hubinger *et al.*, 1992; Saravacos *et al.*, 1986; Tsami *et al.*, 1990). En el caso de ambos óptimos, solo el último punto experimental obtenido estaría asociado a esa prevalencia de los fenómenos de disolución.

TABLA 3. Parámetros de los modelos de BET, GAB y Gordon y Taylor, ajustados con base a 3 valores experimentales de las muestras ($R^2 =$ coeficiente de correlación).

Muestra	BET			GAB				Gordon & Taylor		
	W_0	C	R^2	W_0	C	K	R^2	T_{gs}	k	R^2
OP 1	0,06	3,39	0,999	0,06	3,86	1,03	1	13,88	3,62	0,989
OP 2	0,06	5,27	0,993	0,05	8,39	1,06	1	15,36	3,33	0,992

w_0 : humedad de la monocapa (g agua/g sólido seco); C : Constante de Guggenheim relacionada al calor de adsorción de la monocapa; K : constante relacionada con el calor de sorción de la multicapa; T_{gs} : temperatura de transición vítrea de los sólidos anhidros (°C); k : constante del modelo de Gordon y Taylor.

Respecto a los parámetros de los modelos ajustados para reproducir el comportamiento frente a la sorción de agua (Tabla 3), el contenido de humedad de la monocapa (w_0) alcanzó el mismo valor en ambas series de ambos modelos, aproximadamente 0,06 g agua/g de sólidos secos de pomelo. Este parámetro refleja valores $< 0,1 \text{ g}_{\text{agua}}/\text{g}_{\text{sólidossecos}}$, que es el contenido máximo dado en alimentos y resulta de especial interés, ya que indica la cantidad de agua que se absorbe fuertemente a los sitios activos de las superficie de los alimentos y puede estar relacionada con la estabilidad del alimento durante el almacenamiento (Moraga *et al.*, 2006;

Mosquera *et al.*, 2012). La constante empírica C está relacionada con la energía envuelta en el proceso de sorción de agua y valores superiores a 2 de la misma implican un punto de inflexión más acentuado en la curva, lo que sucede en el OP2 en comparación con el OP1. Esto se puede deber a que la capacidad de sorción del agua se vea afectada por el tratamiento parcial por microondas, asociado al daño estructural que se produce en el tejido vegetal durante el mismo. El modelo de GAB, aparte de estos parámetros, introduce otro adicionalmente para construir la isoterma, que es la constante K, cuyos valores se acercan a la unidad.

5.2.2. Temperaturas de transición vítrea

Los valores experimentales de T_g obtenidos a partir de los termogramas de las diferentes muestras se ajustaron al modelo de Gordon y Taylor (1952), que presenta una predicción acertada de la transición vítrea de matrices con azúcares y distintos contenidos de agua y, por ello, es uno de los más usados en diversas muestras de frutas. Esta modelización se realizó en base a la ecuación (8) y los parámetros para el ajuste aparecen en la Tabla 3. Según se observa en la figura 7, en la cual aparecen los datos experimentales, el incremento de x_w causó una significativa disminución de la T_g (Ross, 1995).

$$T_g = \frac{(1-x_w) \cdot T_{g(as)} + k \cdot x_w \cdot T_{g(w)}}{(1-x_w) + k \cdot x_w} \quad (8)$$

x_w : fracción másica del agua (g agua/g producto); T_g : temperatura de transición vítrea (°C); $T_{g(w)}$: temperatura de transición vítrea para el agua (°C); $T_{g(as)}$: temperatura de transición vítrea para los sólidos anhidros (°C); k: constante del modelo.

Con los datos disponibles, los valores críticos de humedad y actividad de agua a 20°C, para los dos productos considerados, se sitúan por debajo del valor experimental con menor x_w - a_w . Por esa razón, y a fin de mejorar la predicción en la zona de interés, se acondicionaron nuevas muestras en crisoles para DSC colocados en un ambiente con HR 11,3% (disolución saturada de LiCl), a las cuales, una vez alcanzado el equilibrio, se les determinó x_w y T_g . Con estos nuevos datos se volvieron a ajustar los modelos de GAB y de Gordon y Taylor (Tabla 4). Si se comparan los parámetros de los modelos con los obtenidos con los tres primeros puntos disponibles (Tabla 3) se observa que el valor más diferente corresponde a la T_g de los sólidos anhidros del modelo de Gordon y Taylor, que ahora aumenta considerablemente. Esto ratifica la necesidad de disponer, para el ajuste de este modelo, de puntos suficientes en la zona de interés, especialmente cuando ésta corresponde a la zona de baja humedad. Con estos nuevos valores, se emplearon, de forma combinada, ambos modelos para construir la relación T_g - a_w - x_w del pomelo deshidratado (Figura 7), con el fin de obtener el contenido de humedad crítico (CWC) y la actividad de agua crítica (CWA) a los que ocurre la transición vítrea a 20°C. Tanto CWC como CWA son de especial interés, ya que una vez sobrepasados estos valores limitantes, el pomelo en polvo liofilizado comienza a desarrollar fenómenos relacionados con el colapso de su estructura, que se manifiestan en aspectos como la pegajosidad de las partículas y la cristalización de solutos (Moraga *et al.*, 2004). De acuerdo a los datos obtenidos (Tabla 4), a 20°C sería necesario mantener al producto OP1 en ambientes con una humedad relativa inferior a 6,3% y con una humedad inferior a 1,88 g agua/100 g de muestra, para garantizar el estado vítreo del pomelo deshidratado y así su máxima estabilidad. El producto OP2, por su parte, permite un margen más amplio, situándose su CWA en 0,0955, que supone una CWC de 2,78 g agua/100 g de muestra. Como se observa, estos valores de humedad críticos, son inferiores a w_0 del modelo de GAB, motivo por el cual la humedad de la capa monomolecular

no puede ser considerada, en este caso, como un parámetro que asegure la conservación de la calidad durante el almacenamiento del producto, como lo han indicado otros autores para otras frutas, como Telis *et al.* (2006) y Moraga *et al.* (2011).

TABLA 4. Parámetros de los modelos de GAB y Gordon y Taylor ajustados con base a 5 valores experimentales de las muestras (R^2 = coeficiente de correlación).

Muestra	GAB				Gordon & Taylor			Valores críticos	
	W_0	C	K	R^2	T_{gs}	k	R^2	CWC	CWA
OP 1	0,04	8,7	1,12	0,914	34,64	5,29	0,920	0,0188	0,0632
OP 2	0,05	9,6	1,07	0,998	39,27	5,19	0,932	0,0278	0,0955

w_0 : humedad de la monocapa (g agua/g sólido seco); C: Constante de Guggenheim relacionada al calor de adsorción de la monocapa; K: constante relacionada con el calor de sorción de la multicapa; T_{gs} : temperatura de transición vítrea de los sólidos anhidros ($^{\circ}C$); k: constante del modelo de Gordon y Taylor; CWC: contenido crítico de agua; CWA: contenido crítico de actividad del agua.

Los dos productos óptimos, equilibrados a la a_w más baja (0,23), que serían los más estables de los considerados en este estudio, son los productos que se han elegido para realizar los estudios de rehidratación que se describen en el apartado siguiente. Estos productos presentaron una humedad de $3,78 \pm 0,26 \text{ g}_{\text{agua}}/100 \text{ g}_{\text{muestra}}$ para el OP1 y $4,67 \pm 0,14 \text{ g}_{\text{agua}}/100 \text{ g}_{\text{muestra}}$ para el OP2. Estos valores de humedad, ligeramente superiores a CWC van a exigir unas condiciones de almacenamiento muy estrictas, que si resultan vulneradas incrementarían la velocidad de las reacciones de deterioro que se llevan a cabo en el pomelo liofilizado. En este sentido, pequeños aumentos en la temperatura o en la humedad relativa del ambiente en el que se almacenan los productos provocarán la transición de la matriz amorfa del estado vítreo, en el cual la movilidad de las moléculas es prácticamente despreciable debido a la elevada viscosidad (sobre 10^{12} Pa s), al estado gomoso en el que sí suceden reacciones de difusión que actúan en detrimento de la preservación de los polvos (Levine & Slade, 1986). Dado lo estricto de las condiciones de almacenamiento encontradas para este producto, como alternativa, resulta interesante la opción de almacenar este producto en refrigeración. En el caso de ser la temperatura de almacenamiento $8^{\circ}C$, los valores limitantes de humedad crítica y actividad de agua crítica se situarían para el OP1 en 3,4 g agua/100 g de producto y 0,175 respectivamente. Para el OP2 se requeriría una humedad relativa menos estricta (23,63%) durante la etapa de almacenamiento, siendo su valor de CWC 4,79 g agua/100 g de producto. En cualquier caso, parece muy recomendable, para estos productos recomendar el almacenamiento en refrigeración. En este caso las bajas temperaturas se sugiere no desde el punto de vista del crecimiento de microorganismos, que estaría limitado a las actividades del agua implicadas, sino desde el punto de vista del estado físico en relación con el interés de asegurar el estado vítreo de los productos en polvo. Esta iniciativa se ha planteado en otros trabajos llevados a cabo por autores como Simal *et al.* (2006) en el caso de la piña. Aparte, se recomienda el uso de envases con una permeabilidad mínima al vapor de agua que garanticen la estabilidad del producto liofilizado. No obstante, a continuación se muestran los resultados del impacto de la humedad relativa de almacenamiento en otros aspectos del producto.

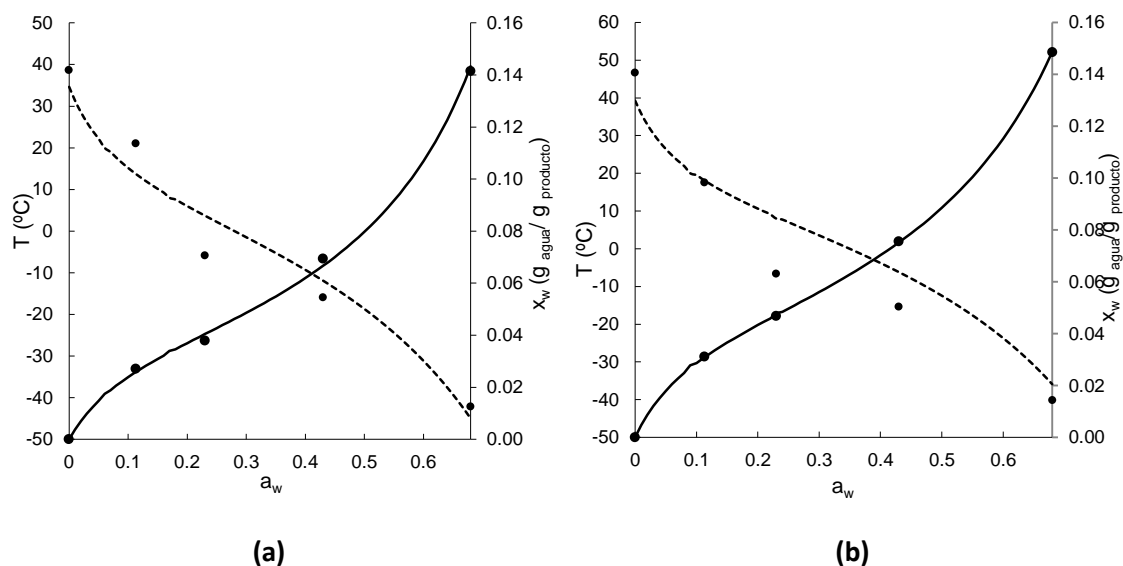


FIGURA 7. Modelización conjunta de la plastificación por el agua (aplicando el modelo de Gordon & Taylor, línea discontinua) y de la sorción de agua (aplicando el modelo de GAB, línea continua), ambas presentadas con los datos experimentales para los productos OP1 (a) y OP2 (b).

5.2.3. Actividad enzimática

Los resultados de la evolución de la actividad PME y POD en función de la HR en el producto OP2 evidenciaron comportamientos dispares, como se aprecia en la Figura 8. Por una parte, la primera sigue los razonamientos de Bell (2003), quien afirma que uno de los pasos para disminuir la actividad enzimática es reducir el contenido de humedad y así incrementar la temperatura de transición vítrea, con lo cual se logra restringir la movilidad de la enzima y el sustrato. En cambio, la actividad POD tiende a descender a a_w más elevadas. En general, ambas enzimas indican una resistencia considerable frente al proceso de liofilización manteniendo prácticamente los valores obtenidos en las muestras antes de liofilizar (Tabla 2).

De acuerdo a Bell (2003), la disponibilidad del agua, relacionada con la a_w , posee una fuerte influencia sobre la velocidad de las reacciones enzimáticas. Generalmente, a medida que aumenta el agua disponible, la actividad de las enzimas sufre un incremento, ya que el agua actúa como reactivo (en reacciones de hidrólisis) o como disolvente solubilizando cofactores que pueden difundirse en el sitio activo de la enzima dando lugar a una mayor actividad. Por el contrario, a contenidos de humedades menores, y especialmente si son menores que el valor de la humedad de la monocapa, la actividad enzimática resulta muy baja. Lo anterior se ve claramente en la Figura 8, en el caso de la PME, donde se observa un aumento significativo de su actividad enzimática a una $a_w > 0,23$. Esto es debido a que la PME es una enzima hidrolítica y, por tanto, necesita, entre otras cosas, agua disponible para catalizar la adición de los elementos del agua a los enlaces que conectan subunidades monoméricas con la función de poder eliminar los grupos metilo de la cadena de ácido poligalacturónico y provocar conjuntamente la liberación de metanol, pectinas de bajo metoxilo y la formación de ácidos pécticos (Menéndez Aguirre *et al.*, 2006). Por ende, un incremento de esta enzima durante el almacenamiento puede alterar la textura de los productos, volviéndolos más blandos y generando a su vez alteraciones organolépticas en productos reconstituidos como el zumo de pomelo (María Benlloch-Tinoco *et al.*, 2013a).

Como se expone en la Figura 8, la actividad enzimática de la PME aumentó considerablemente hasta una a_w de 0,43 a partir de la cual ya no se observan diferencias significativas ($\alpha < 0,05$). Aun así, se constata que un mayor contenido en agua, favorece la aludida movilidad de las moléculas.

Por su parte la POD, exhibió un comportamiento contrario a la PME, al plasmar una menor actividad enzimática con el aumento de la a_w . De acuerdo a Bell (2003), algunas enzimas son más susceptibles a la desnaturalización y a la inactivación a contenidos de humedad más altos, alterando su estabilidad. Es posible que a a_w mayores a 0,23, el agua disponible diluya o ayude a descomponer a los co-factores o reactantes necesarios, como el peróxido de hidrógeno, y por tanto disminuya su actividad. En particular, la POD cataliza la oxidación de un amplio número de sustratos orgánicos e inorgánicos, utilizando el poder oxidante del peróxido de hidrógeno, con lo que puede actuar en detrimento del contenido en diferentes compuestos. En cualquier caso, el decrecimiento de la actividad peroxidasa resulta favorable, pues frena reacciones oxidativas retrasando el deterioro.

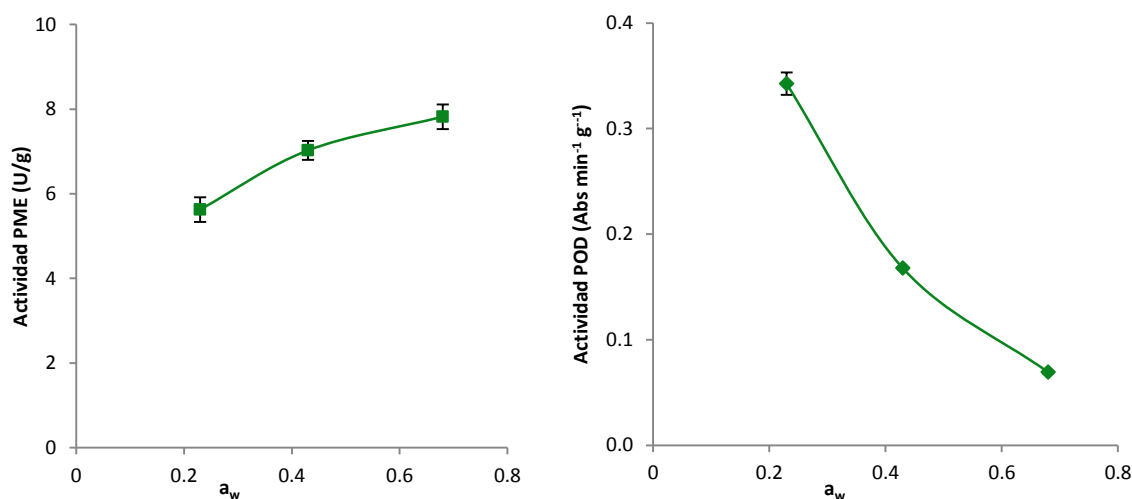


FIGURA 8. Comportamiento enzimático de la pectinmetilesterasa (PME) y de la peroxidasa (POD) en función de la a_w del producto OP2.

5.2.4. Propiedades ópticas

La Figura 9 refleja los valores promedio de los distintos parámetros y atributos de color (L^* , C^*_{ab} , y h^*_{ab}) evaluados en ambos productos a diferentes a_w . La tendencia general que se observa en la primera ilustración gráfica es el descenso marcado de la luminosidad con la ganancia de agua. Si bien el OP1 experimenta una variación significativa ($\alpha < 0,05$), en el OP2 se acentúa todavía más el descenso drástico de esta propiedad óptica entre las a_w de 0,43 y 0,68. En este aspecto, la evolución que sigue el color de los productos concuerda con estudios llevados a cabo con muestras de banana y manzana por Moraga *et al.* (2006).

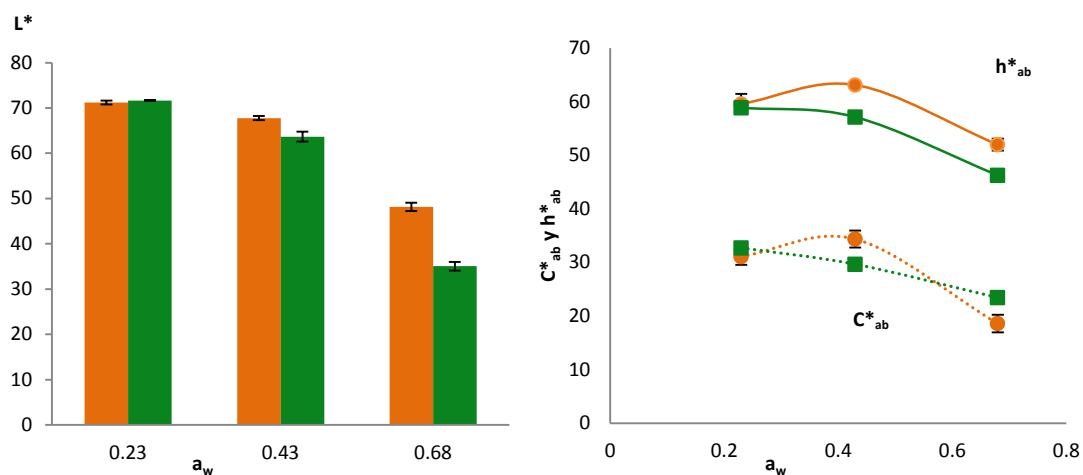


FIGURA 9. Luminosidad (L^*), ángulo de tono (h^*_{ab}) y croma (C^*_{ab}) de las muestras OP1 (naranja) y OP2 (verde) a las diferentes a_w estudiadas.

En el caso del OP1 tanto el croma como el tono manifiestan diferencias significativas entre sí con base al análisis estadístico ($\alpha < 0,05$). En términos generales, la disminución de las coordenadas cromáticas con el respectivo aumento de humedad de las muestras del OP1 supone una disminución de la pureza de color y del ángulo de tono, que evoluciona desde colores más amarillos hacia más anaranjados. El OP2, por su parte, presenta modificaciones notables en cuanto al tono a a_w superiores a 0,43. Sin embargo, no hay diferencias significativas ($\alpha < 0,05$) respecto a la saturación de las muestras equilibradas a las a_w analizadas. Estos cambios de color son debidos, principalmente, al pardeamiento no enzimático causado por las reacciones de Maillard y, en el caso del producto OP2, además, a las oxidaciones promovidas por la acción enzimática que se ven favorecidas por el incremento del agua y afectarían a la degradación de los carotenoides, especialmente a partir de una humedad relativa mayor de 43%. Los cambios de color se pudieron apreciar visualmente durante el desarrollo de la parte experimental (Figura 10).



FIGURA 10. Producto OP1 equilibrado, de izquierda a derecha, de menor a mayor a_w (0,23; 0,43; 0,68).

En cuanto a las variaciones de color calculadas para las muestras equilibradas a las distintas humedades relativas con respecto a la de menor a_w , en la Figura 11 se observa, para ambos productos, como estas diferencias fueron significativas ($\alpha < 0,05$) por efecto de la actividad del agua. De los dos óptimos, el OP1 fue en general el que sufrió menos cambio de color a cada una de las a_w evaluadas. Por una parte, esas variaciones de color observadas a a_w inferiores de

0,5 podrían relacionarse, en mayor medida, con el desarrollo de reacciones de Maillard, mientras que las que ocurren a a_w entre 0,5 y 0,85 podrían empezar a tener relación con reacciones de pardeamiento enzimático (Mosquera, 2010). Esto justificaría el hecho de que el ΔE observado sea mayor en el OP2, asociado a la actividad de las enzimas pectinmetilesterasa y peroxidasa, que se inactiva en el producto OP1 como consecuencia del tratamiento previo de deshidratación al que se ve sometida esta muestra.

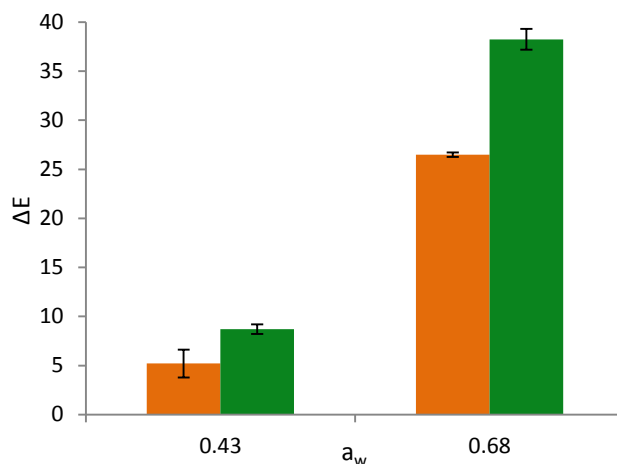


FIGURA 11. Diferencias de color de los dos productos considerados, equilibrados a humedades relativas de 43 y 68%, calculadas respecto al color de las muestras acondicionadas a la menor humedad relativa (23%) para el OP1 (naranja) y OP2 (verde).

5.2.5. Compuestos funcionales y actividad antioxidante

Básicamente todas las propiedades funcionales analizadas (Figuras 12, 13 y 14) conservan la tendencia mostrada por ambos productos en la caracterización hecha de los mismos previa a su liofilización (Tabla 2). Las Figuras 12 a 14 muestran, en términos generales un mayor contenido de los compuestos fitoquímicos estudiados en el OP1 en comparación con el OP2. A su vez, se percibe que la cantidad de estas sustancias en casi todos los casos decrece notablemente con el aumento de la humedad de las muestras.

En relación a la vitamina C, su contenido merma en el producto OP1 de forma prácticamente lineal, presentando diferencias significativas ($\alpha < 0,05$) entre las tres a_w consideradas. Sin embargo, para el OP2 las diferencias son más marcadas a a_w mayores a 0,43. Esto se debe a que el mecanismo con el que el agua controla la degradación de la vitamina C es muy complejo y depende de factores intrínsecos, como la complejidad del tejido vegetal y extrínsecos, como el procesado previo llevado a cabo sobre las muestras, como afirman los autores McMinn & Magee (1997), Santos & Silva (2008) y Gamboa-Santos (2013). En el presente estudio, ambas variables resultan relevantes, ya que el procesado térmico al que fue sometido el OP1 originó a su vez daños en el tejido y por tanto modificaciones en la microestructura y porosidad de las muestras. A pesar de estas diferencias, a valores de a_w de 0,68 la retención de la vitamina C es equivalente en ambos productos, no presentando diferencias significativas ($\alpha < 0,05$). En la evolución de este compuesto se percibe concretamente que, a partir de una humedad del 43%, la estabilidad de este compuesto en los dos tipos de muestras es especialmente vulnerable.

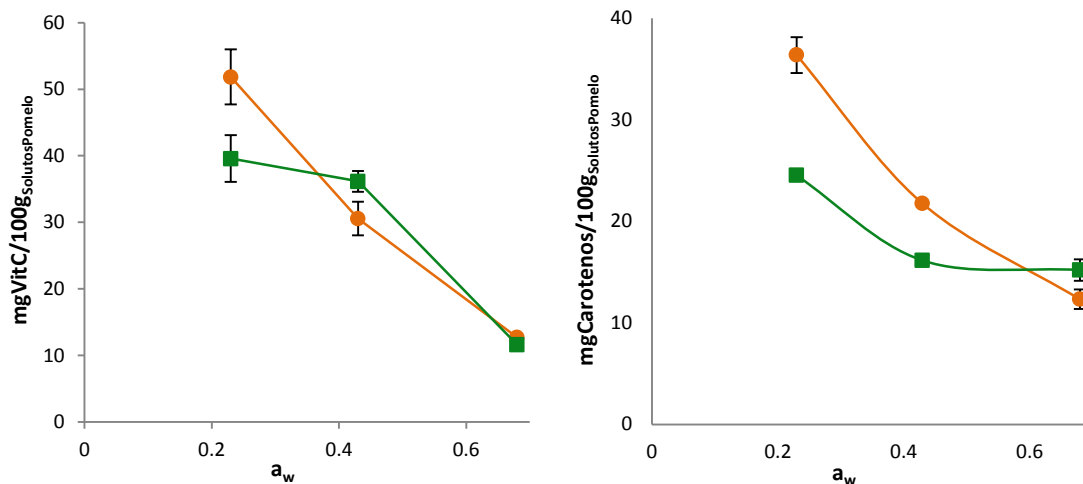


FIGURA 12. Evolución de la vitamina C y de los carotenoides totales en función de la a_w (naranja: OP1; verde: OP2).

En cuanto a los carotenoides, éstos se caracterizan por su rápida degradación en sistemas deshidratados a través de procesos de oxidación autocatalíticos (Goldman, Horev & Saguy, 1983). Asimismo, la influencia de la a_w en su evolución resulta también compleja. Por una parte, el incremento del contenido en agua en matrices amorfas deshidratadas aumenta la tasa de oxidación, al mejorar la movilidad de los reactivos en la disolución. Éste es el fenómeno que prima en la gráfica correspondiente, en la cual los puntos experimentales obtenidos para el contenido en carotenoides descienden significativamente en un intervalo de a_w intermedio (0,23-0,43). Por otra parte, el agua puede retrasar los procesos de oxidación hidratando o diluyendo catalizadores como por ejemplos los metales pesados, provocando una menor degradación de los carotenoides por oxidación. Este efecto es posiblemente el predominante a las a_w más altas. En resumen, se observa una disminución de los carotenoides cuando aumenta la a_w y, concretamente a los niveles más altos del contenido en agua en las muestras, una tendencia a la estabilización de su contenido en base a ambos fenómenos comentados (Lavelli *et al.*, 2007).

Los flavonoides son los únicos compuestos funcionales que son promovidos en las muestras acondicionadas a mayor a_w (0,68). La adsorción de agua favorece la formación de estos componentes, cuyo incremento podría generar modificaciones en el sabor si se trata de flavonoides como la naringenina, responsable básico del sabor amargo del pomelo. Sin embargo, el contenido en fenoles totales, que engloba a estos últimos compuestos bioactivos mencionados, se mantiene relativamente estable en el rango de a_w bajas e intermedias (0,23 y 0,43) y empieza a disminuir de forma significativa ($\alpha < 0,05$) en las muestras expuestas a una mayor humedad relativa (68%). En su conjunto, los resultados mostrados en la Figura 13 no resultan incompatibles, ya que dentro del grupo de los fenoles se tienen en cuenta moléculas de estructura simple como los ácidos fenólicos (ácido hidroxibenzóico y ácido hidroxicinámico) y moléculas como taninos, ligninas y estilbeno (Cheynier, 2005), cuya degradación se puede haber visto afectada por la actividad enzimática, pero a su vez compensa con el aumento de los flavonoides, fomentando un desarrollo ligeramente decreciente del total de compuestos fenólicos.

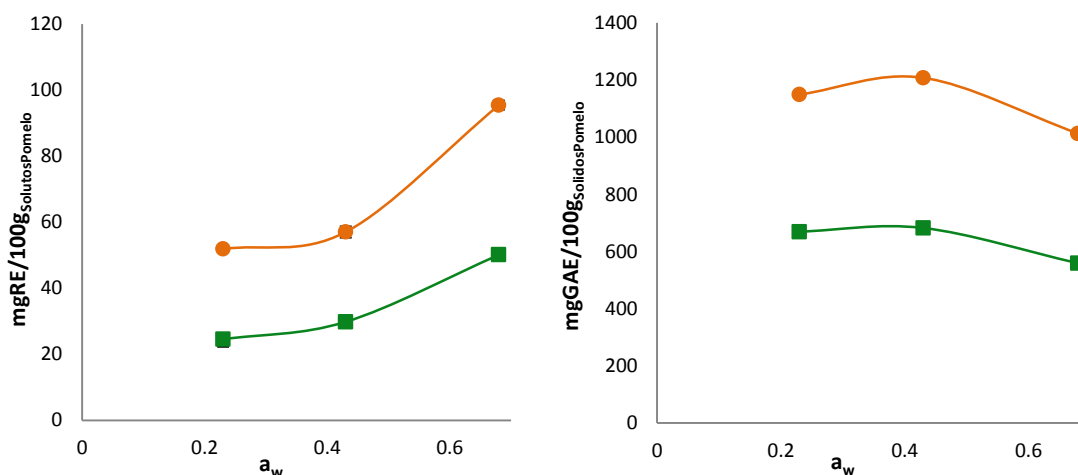


FIGURA 13. Evolución de los flavonoides y los fenoles totales en función de la a_w (naranja: OP1; verde: OP2).

Tanto el descenso del contenido en fenoles como el empobrecimiento en vitamina C, postulan hacia un razonable declive de la actividad antioxidante con el aumento de humedad de las muestras, como de hecho se observa en la Figura 14. La degradación de los compuestos que proporcionan esta capacidad evoluciona prácticamente de manera lineal, de modo que la AOA desciende desde valores de 218 ± 6 mmolTE/100 g_{solutospomelo} hasta 103 ± 2 mmolTE/100 g_{solutospomelo} en el producto OP1. Respecto al OP2, la pérdida de esta propiedad también supone más de la mitad de la cantidad presentada por la muestra con la a_w más baja analizada (0,23). Esto ya fue observado por Moraga *et al.* (2012) en un estudio realizado sobre muestras de pomelo liofilizado pero con mayor contenido en goma arábiga y después de 3 meses de almacenamiento del producto a 20°C.

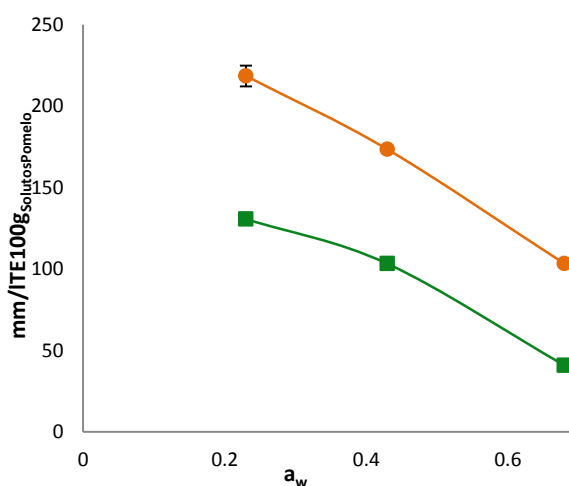


FIGURA 14. Evolución de la actividad antioxidante en función de la a_w (naranja: OP1; verde: OP2).

En global, todas las propiedades evaluadas van ligadas a la humedad de las muestras como confirman los análisis realizados, siendo los cambios mucho más marcados cuando la muestra presenta una a_w superior a 0,43. Concretamente, todos los compuestos funcionales determinados decrecen con el aumento del contenido de agua en las muestras, excepto los flavonoides. A su vez, a niveles de humedad altos, se ve rebajada en ambos óptimos la capacidad antioxidante, perjudicando la calidad funcional del producto. El incremento de la a_w

acrecenta ligeramente la actividad enzimática de la enzima predominante, la PME, favoreciendo por tanto el deterioro de la estructura durante el almacenamiento del producto OP2 respecto al OP1. El color también se ve modificado con el aumento del contenido en humedad, volviéndose más oscuro y perdiendo pureza. De acuerdo a estas observaciones, el polvo liofilizado con el que se ha trabajado en este estudio que presenta mejores perspectivas para ser reconstituido en zumo corresponde al de a_w de 0,23. Estas muestras, en principio, serán las que desarrollarán un producto final de una calidad superior, debido principalmente a la aludida preservación de una mayor cantidad de compuestos fitoquímicos asociada a su vez a una mayor capacidad antioxidante.

5.3. OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE REHIDRATACIÓN DE LOS PRODUCTOS EN POLVO

5.3.1. Solubilidad

Una de las posibles utilidades de la frutas en polvo es su reconstitución para obtener un zumo. Por este motivo, figuran entre las características ideales de un buen producto liofilizado una rápida y completa humectación y la dispersión y la disolución de las partículas en el seno del líquido (Freudig, 1999). Debido a la complejidad a la hora de determinar estas propiedades, muy pocos estudios orientan acerca de la capacidad de disolución de la fracción soluble del producto (Marques *et al.* 2009). Aun así, la solubilidad determinada en este estudio, que se define como una medida de la capacidad de disolverse que presenta una determinada sustancia en un determinado medio, puede asociarse a la aptitud para la rehidratación que presenta el polvo liofilizado.

En la Figura 15 destaca el comportamiento del producto OP2, que presenta los porcentajes más altos de solubilidad y que son casi del 100%. La reconstitución de este producto hasta el 90% de humedad implica una gran cantidad de agua disponible y, consecuentemente, se ve facilitada su rehidratación en comparación con el producto OP1 que se lleva hasta un 74% de humedad. Además, este último incorpora en su formulación una pequeña cantidad de fibra de bambú, menos soluble que el resto de los solutos presentes (Contreras *et al.*, 2012). Por otra parte, en la bibliografía se encuentran trabajos que demuestran que la solubilidad de un producto en polvo está directamente relacionada con su microestructura. El aspecto de los dos productos en polvo obtenidos hace pensar que ambos tienen una porosidad y tamaño de partícula diferentes, lo cual influye directamente sobre esta propiedad. De acuerdo a Gombas *et al.* (2003), la mayor irregularidad en la superficie de las partículas hace que se incremente su solubilidad. Esta mayor irregularidad estará relacionada con un peor empaquetamiento de las partículas y, por lo tanto, con una mayor porosidad. En este caso, para el producto OP1 se han dado valores de porosidad menores (Casanova, 2014), lo que también contribuye a la menor solubilización observada de sus componentes.

Para el producto OP2, en las 4 condiciones de presión-temperatura en las que se ha rehidratado, no se observan diferencias significativas en la solubilidad según el análisis estadístico ($\alpha < 0,05$), lo que también puede ser por la elevada cantidad de agua disponible, que hace que los otros factores apenas contribuyan. En el caso del producto OP1 se observa que la solubilización alcanzada a 30°C es significativamente ($\alpha < 0,05$) mayor que a 20°C y a 10°C. La

menor disponibilidad de agua en este caso hace que este comportamiento mejore cuando se aumenta la movilidad del agua presente por efecto de la temperatura. Las experiencias realizadas a baja presión no mejoraron la solubilidad, sino que por el contrario, en el producto OP1, mostró una disminución significativa ($\alpha < 0,05$). No obstante, sí que se observó que a vacío, la rehidratación fue más rápida, pero no más intensa.

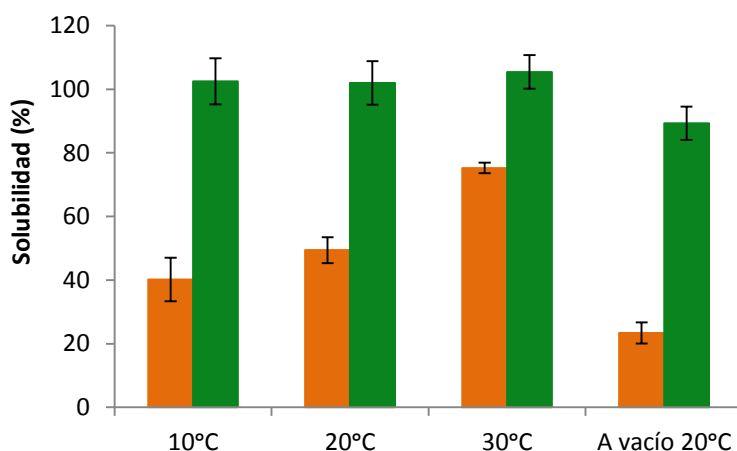


FIGURA 15. Representación del porcentaje de solubilidad del OP1 (naranja) y OP2 (verde) obtenida a presión atmosférica a 10, 20 ó 30°C y vacío a 20°C.

5.3.2. Comportamiento reológico

Además de la solubilidad, otra propiedad cuya medida resulta interesante para caracterizar el zumo reconstituido es el comportamiento reológico. Esta determinación se hizo, para todos los productos rehidratados, de la misma manera que para los productos antes de su liofilización. De nuevo se observó un comportamiento pseudoplástico, en todos los casos, que se ajustó al modelo de Ostwald-de Waele (Tabla 5). Como era de esperar, en el producto OP2, que alcanza la solubilidad del 100%, no se observan diferencias significativas con la viscosidad del producto antes de liofilizar. Los valores ligeramente inferiores de η tras la rehidratación pueden relacionarse con el efecto que pueda generar la actividad PME caracterizada previamente en el apartado 5.2. (Osorio *et al.*, 2008). En el caso del OP1, la viscosidad que alcanza el producto reconstituido es bastante inferior a la que tenía antes de liofilizar, lo que también se relacionaría con la baja solubilización alcanzada durante la rehidratación.

En relación con el efecto de la temperatura a la que se llevó a cabo la reconstitución sobre el comportamiento reológico del producto obtenido, se aprecia una disminución de la viscosidad a mayor temperatura. Esto es consecuencia del aumento de solubilidad observado (Figura 15). En el caso de las rehidrataciones realizadas a vacío y a 20°C, éstas manifiestan un comportamiento reológico prácticamente igual a la misma experiencia llevada a cabo a presión atmosférica, no teniendo el factor de la presión atmosférica o a vacío ninguna trascendencia. En este sentido, el valor de solubilidad analizado para el producto OP1 a vacío parece un poco bajo.

TABLA 5. Parámetros correspondientes al modelo de Ostwald-de Waele ajustados a la curva de flujo obtenida para los dos productos rehidratados.

OP1	K^1	n	R^2	η^2
10°C	19,17 (0,88) ^a	0,157 (0,012) ^a	0,996 (0,003)	39,540 (0,009) ^a
20°C	13,48 (0,64) ^b	0,203 (0,006) ^b	0,9994 (0,0012)	34,2 (0,7) ^b
30°C	4,79 (0,05) ^c	0,345 (0,007) ^c	0,998 (0,003)	23,4 (0,6) ^c
A vacío (20°C)	11,9 (0,2) ^d	0,212 (0,006) ^b	0,9986 (0,0012)	31,6 (0,2) ^d

OP2	K^1	n	R^2	η^2
10°C	2,26 (0,27) ^a	0,44 (0,02) ^a	0,991 (0,003)	17,1 (3,6) ^a
20°C	2,05 (0,22) ^{ab}	0,381 (0,012) ^b	0,989 (0,004)	11,9 (1,9) ^{ab}
30°C	1,92 (0,03) ^{ab}	0,3415 (0,0007) ^c	0,9763 (0,0109)	9,24 (0,16) ^b
A vacío (20°C)	1,63 (0,03) ^b	0,462 (0,014) ^a	0,9920 (0,0006)	13,6 (0,6) ^{ab}

Letras diferentes, en superíndices, dentro de la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa ($\alpha < 0,05$). Unidades: ¹K: Índice de consistencia (Pa sⁿ) y n: Índice de comportamiento al flujo; R^2 : coeficiente de determinación; ²Viscosidad a 100 s⁻¹, (Pa s).

5.3.3. Propiedades ópticas

La tercera y última propiedad estudiada en las muestras rehidratadas fueron las propiedades ópticas, pues se tratan de un indicador de calidad fundamental para el consumidor. El estrés al que se ve sometido el producto durante el procesado hasta ser reconstituido en zumo puede manifestarse, entre otras propiedades, a través de las estudiadas anteriormente y conjuntamente con la evolución del color. En este sentido, se observaron las ΔE que se muestran en la Figura 16, calculadas al comparar el color de cada producto rehidratado con el de la muestra correspondiente antes de liofilizar y con respecto al color del pomelo triturado.

Las diferencias de color resultaron ser menores en el caso del producto OP1, en ambas comparaciones. Éste experimenta una variación de color de $5,0 \pm 0,4$ unidades respecto a la muestra antes de ser liofilizada y de $7,7 \pm 0,5$ unidades en comparación al pomelo fresco. Estos valores para el OP2 fueron $7,8 \pm 0,5$ y $10,3 \pm 0,3$ respectivamente. Los mayores cambios de color observados para el producto OP2 pueden relacionarse con la actividad enzimática que mantiene este producto mientras está en polvo, con una actividad del agua de 0,23, y la peor retención de compuestos responsables del color como los carotenoides.

Como era de esperar, las diferencias de color del producto rehidratado con el fresco son mayores. A esto contribuye, además de lo ya comentado, la dilución de los principales pigmentos de la fruta al añadir el agua y los solutos, en el caso del OP2, y el pretratamiento parcial por microondas llevado a cabo en el OP1. En este caso, los menores valores de ΔE mostrados por el producto OP1 ($7,8 \pm 0,3$ frente a $10,3 \pm 0,3$ unidades) hacen pensar que los pigmentos soportaron mejor el tratamiento por microondas que el pardeamiento enzimático.

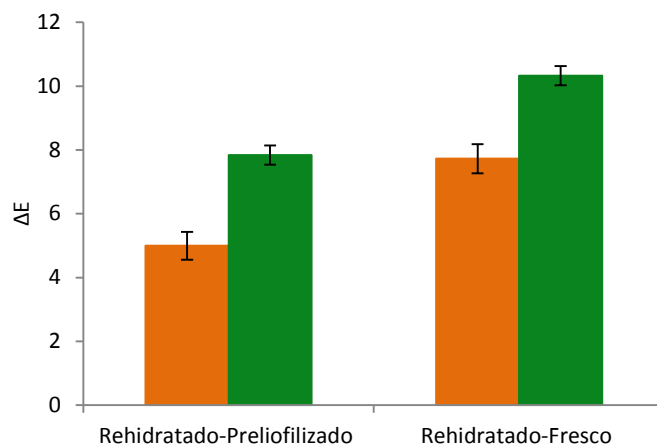


FIGURA 16. Representación de las diferencias de color de los productos rehidratados respecto a los mismos antes de liofilizar y al pomelo fresco triturado (naranja: OP1; verde: OP2).

En términos generales, mientras que la liofilización y rehidratación del producto OP2 sólo afectan al color del zumo obtenido, en el caso del producto que ha sido sometido previamente al tratamiento de deshidratación por microondas, la disminución de la solubilidad y también de la viscosidad resultan significativas ($\alpha < 0,05$). En este caso, la solubilización puede mejorarse si la rehidratación se realiza a mayor temperatura.

6. CONCLUSIONES

La aplicación del tratamiento de deshidratación parcial por microondas previo a la liofilización constituye una alternativa viable para la obtención de pomelo en polvo destinado a su reconstitución en zumo, conservando, en general, una mayor proporción de compuestos funcionales e inactivando a las enzimas que pudiesen deteriorar la calidad del producto durante el almacenamiento. Los bajos valores de humedad y actividad de agua críticas para el producto en polvo recomiendan, para su almacenamiento, bajas temperaturas y buenas condiciones de impermeabilidad del envase. El estado gomoso hace que se vean aumentadas las reacciones de deterioro de los compuestos funcionales y, por tanto, se observa una pérdida de la actividad antioxidante del producto. Además, también ocasiona que las muestras evolucionen hacia colores más oscuros y menos puros. Estos cambios resultan mayores cuanto mayor es la diferencia entre la humedad y actividad de agua de la muestra con los valores críticos. Con respecto a la capacidad de rehidratación que muestran estos productos, desde el punto de vista del color parece mejor aplicar el pretratamiento de deshidratación. No obstante, en este caso habría que mejorar las condiciones de rehidratación con el fin de incrementar la solubilidad y disminuir la viscosidad del producto rehidratado obtenido. En este sentido, podría recomendarse el uso de una temperatura superior a 30°C y/o aumentar el tiempo del proceso.

7. BIBLIOGRAFÍA

A

- Abdul Khalil**, H.P.S., Bhat, I.U.H., Jawaid, M., Zaidon, A., Hermawan, D., Hadi, H.S., 2013. Bamboo fibre reinforced biocomposites: A review. *Materials and Design* 42, 353–368.
- Agudelo Laverde**, L.M., Acevedo, N. C., Schebor, C., Buera, M. del Pilar, 2011. Integrated approach for interpreting browning rate dependence with relative humidity in dehydrated fruits. *Food Science and Technology* 44, 963e968.
- Ahmed**, J., Shivhare U.S. and Raghavan G.S.V., 2000. Rheological characteristics and kinetics of colour degradation of green chilli puree. *Journal of Food Engineering* 44, 239–244.
- Ahmed**, J., Ramaswamy, H.S., Khan, A.R., 2005. Effect of water activity on glass transitions of date pastes. *Journal of Food Engineering* 66, 253–258.

B

- Barbosa-Canovas**, G., Ortega-Rivas, E., Juliano, P., Yan, H., 2005. Food powders: physical properties, processing and functionality. *Kluwer Academic/Plenum Publisher New York, N.Y.* 372.
- Barreiro**, J.A., Milano, M., Sandoval, A.J., 1997. Kinetics of colour change of double concentrated tomato paste during thermal treatment. *Journal of Food Engineering* 33, 359–371.
- Bell**, N.L., 2003. Moisture effects on enzymatic activity. Symposium of Control of endogenous enzymes in foods: A practical approach. *Food Chemistry, IFT Annual Meeting – Chicago*.
- Benlloch-Tinoco**, M., Igual, M., Rodrigo, D., Martínez-Navarrete, N., 2013a. Comparison of microwaves and conventional thermal treatment on enzymes activity and antioxidant capacity of kiwifruit puree. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 19, 166–172.
- Benlloch-Tinoco**, M., Moraga, G., Camacho, M.M., Martínez-Navarrete, N., 2013b. Combined Drying Technologies for High-Quality Kiwifruit. *Food Bioprocess Technology* 6, 3544–3553.
- Benlloch-Tinoco**, M., Igual, M., Rodrigo, D., Martínez-Navarrete, N., 2014. Comparative study of the shelf-life and quality evolution of kiwifruit puree preserved by means of microwave and conventional heating. *Food Control, en prensa*.
- Brunauer**, S., Emmett, P.H., and Teller, E., 1938. Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society* 60, 309–319.
- Brunauer**, S., Deming, L. S., Deming, W. E., & Teller, E., 1940. On a theory of the van de Waals adsorption of gases. *Journal of American Chemistry Society* 62, 1723–1732.

C

- Carranza-Concha**, J., Benlloch, M., Camacho, M.M., Martínez-Navarrete, N., 2012. Effects of drying and pretreatment on the nutritional and functional quality of raisins. *Food and Bioprocess Processing* 90, 243–248.
- Casanova**, M.Á., 2014. Estudio de viabilidad para la comercialización de fruta en polvo. Grado en ingeniería agroalimentaria y del medio rural. *Univ. Politécnica de Valencia, Valencia-España*.
- Cheynier** V., 2005. Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am. J. Clin. Nutr.*, 81, 223-229.
- Cónstenla**, D. T., Lozano, J. E., Crapiste, G. H., 1989. Thermophysical properties of clarified apple juice as a function of concentration and temperature. *Journal of Food Science* 54, 663-668.
- Contreras**, C., Igual, M., Martínez-Navarrete, N., 2012. Physicochemical properties of bamboo fibre and jams added with bamboo fibre. En: *Advances in Chemistry Research. Volume 15*. J. C. Taylor (Ed.). Nova Science Publishers, pp. 57-78.

E

- Elez-Martínez**, P., Suárez-Recio, M., Martín-Belloso, O., 2007. Modeling the reduction of pectin methyl esterase activity in orange juice by high intensity pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering* 78, 184–193.

F

- 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. *Journal of Food Engineering* 93, 52–58.
- Fernández-García**, E., Carvajal-Lérida, I., Jarén-Galán, M., Garrido-Fernández, J., Pérez-Gálvez, A., Hornero-Méndez, D., 2012. Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. *Food Research International* 46, 438–450.
- Fратиани**, A., Cinquanta, L., Panfili, G., 2010. Degradation of carotenoids in orange juice during microwave heating. *Food Science and Technology* 43, 867–871.
- Freudig**, B., Hoge Kamp, S. and Schubert, H., 1999. Dispersion of powders in liquids in a stirred vessel. *Chemical Engineering Processing* 38, 525–532.

G

- Gamboa-Santos**, J., Soria, A.C., Perez-Mateos, M., Carrasco, J.A., Montilla, A., Villamiel, Mar., 2013. Vitamin C content and sensorial properties of dehydrated carrots blanched conventionally or by ultrasound. *Food Chemistry* 136, 782–788.
- Gombas**, A., Antal, I., Szabo-Revesz, P., Marton, S. & Eros, I., 2003. Quantitative determination of crystallinity of alpha-lactose monohydrate by near infrared spectroscopy (NIRS). *International Journal of Pharmaceutics*, 256, 25-32.
- Garrote**, R.L., Silva, E.R., Roa, R. D. and Bertone, R. A., 2008. Kinetic parameters of surface color degradation of canned fresh green peas sterilized in a rotary retort. *Food Science and Technology* 41, 408–413.
- Goldman**, M., Horev, B. and Saguy, I., 1983. Decolorization of beta-carotene in model systems simulating dehydrated foods. Mechanism and kinetic principles. *Food Science* 48, 751-754.
- Guio**, S.; Barresi, A.; Rovero, G., 2000. A Comparison of Evaporative and Conventional freezing prior to freeze-drying of fruits and vegetables. *Trans IChemE, Vol 78, Part C. pp187-192. Institution of Chemical Engineers* (Ed).
- Gratão**, A.C.A., Silveira, V., Telis-Romero, J., 2007. Laminar flow of soursop juice through concentric annuli: Friction factors and rheology. *Journal of Food Engineering* 78, 1343–1354.

H

- Hubinger**, M., Menegalli, F.C., Aguerre, R.J., Suarez, C., 1992. Water vapor adsorption isotherms of guava, mango and pineapple. *Journal of Food Science, Chicago, Vol. 57, 6, 1405-1407.*

I

- Ibarz**, A., Lozano, J., 1992. Rheology of concentrated peach and plum pulps. *Food Science and Emerging Technologies* 32(1), 85-94.
- Ibarz**, A., Gonzalez, C., Esplugas, S., 1994. Rheology of clarified fruit juices. III: Orange juices. *Journal of Food Engineering* 21(4), 485-494.
- Iglesias**, H. A., Chirife, J., & Buera, M. P., 1997. Adsorption isotherm of amorphous trehalose. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 75, 183–186.
- Igual**, M., García-Martínez, E., Camacho, M.M., Martínez-Navarrete, N., 2010. Effect of thermal treatment and storage on the stability of organic acids and the functional value of grapefruit juice. *Food Chemistry* 118, 291–299.
- Igual**, M., García-Martínez, E., Camacho, M.M., Martínez-Navarrete, N., 2011. Changes in flavonoid content of grapefruit juice caused by thermal treatment and storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 12, 153–162.
- Igual**, M., Sampedro, F., Martínez-Navarrete, N., Fan, X., 2013a. Combined osmodehydration and high pressure processing on the enzyme stability and antioxidant capacity of a grapefruit jam. *Journal of Food Engineering* 114, 514–521.
- Igual**, M., García-Martínez, E., Camacho, M.M., Martínez-Navarrete, N., 2013b. Jam processing and storage effects on b-carotene and flavonoids content in grapefruit. *Journal of functional foods* 5, 736 –744.

Igual, M., Contreras, C., Martínez-Navarrete, N., 2014. Colour and rheological properties of non-conventional grapefruit jams: Instrumental and sensory measurement. *Food Science and Technology* 56, 200e206.

Infoagro, 2010. El cultivo del pomelo, [en línea]. Dirección URL:<<http://www.infoagro.com/citricos/pomelo.htm>>. [Consulta: 30 Mayo de 2014].

J

Jing, Y., Jin-feng, C., Yu-ying, Z., Lin-chun, M., 2010. Effects of Drying Processes on the Antioxidant Properties in Sweet Potatoes. *Agricultural Sciences in China*, 9(10), 1522-1529.

K

Khraisheh, M.A.M., McMinn, W.A.M., Magee, T.R.A., 2004. Quality and structural changes in starchy foods during microwave and convective drying. *Food Research International* 37, 497-503.

Kim, D. H., Kim, B. G., Lee, Y., Ryu, Y., Lim, Y., Hur, H. G., & Ahn, J. H., 2005. Regiospecific methylation of naringenin to ponciretin by soybean O-methyltransferase expressed in *Escherichia coli*. *Journal of Biotechnology* 119, 155-162.

Kim, J.S., Lee, Y.S., 2008. Effect of reaction pH on enolization and racemization reactions of glucose and fructose on heating with amino acid enantiomers and formation of melanoidins as result of the Maillard reaction. *Food Chemistry* 108, 582-592.

Klopotek, Y., Otto, K., Bohm, V., 2005. Processing Strawberries to Different Products Alters Contents of Vitamin C, Total Phenolics, Total Anthocyanins, and Antioxidant Capacity.

L

Lavelli, V., Zanoni, B., Zaniboni, A., 2007. Effect of water activity on carotenoid degradation in dehydrated carrots. *Food Chemistry* 104, 1705-1711.

Lesková, E., Kubíková, J., Kováčiková, E., Kosická, M., Porubská, J., Holčíkova, K., 2006. Vitamin losses: Retention during heat treatment and continual changes expressed by mathematical models. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 252-276.

Levine, H., & Slade, L., 1989. A food polymer science approach to the practice of cryostabilization technology. *Comments on Agriculture and Food Chemistry* 1(6), 315-396.

Liao, Ying Sun, Yuanying Ni, Xiaojun Liao, Xiaosong Hu, Jihong Wu and Fang Chen, 2007. The effect of enzymatic mash treatment, pressing, centrifugation, homogenization, desaeration, sterilization and storage on carrot juice. *Journal of Food Process Engineering* 30, 421-435.

M

Machirant, E., 2014. Optimización de la formulación de pulpa de pomelo liofilizada. Tesina de Máster universitario en ciencia e ingeniería de alimentos. *Univ. Politécnica de Valencia, Valencia-España*.

Marques, L.G., Prado, M.M., Freire, J.T., 2009. Rehydration characteristics of freeze-dried tropical fruits. *Food Science and Technology* 42, 1232-1237.

Martínez-Navarrete, N., Camacho Vidal, M.M., Lahuerta, J.J., 2008. *Actividad Dietética* 2, 64-68.

Maskan, M., 2001. Kinetics of colour change of kiwifruits during hot air and microwave drying. *Journal of Food Engineering* 48, 169-175.

Matsui, K.N., Granadob, L.M., Oliveirac, P.V., Tadinia, C.C., 2007. Peroxidase and polyphenol oxidase thermal inactivation by microwaves in green coconut water simulated solutions. *Food Science and Technology* 40, 5, 852-859.

McMinn, W. A. M., & T. R. A. Magee, 1997. Kinetics of ascorbic acid degradation and non-enzymic browning in potatoes. *ICHEME Transactions. Food Bioprod Proc*, 75(C4): 223-231.

Meei Chien Quek, Nyuk Ling Chin, Yus Aniza Yusof, 2013. Modelling of rheological behaviour of soursop juice concentrates using shear rate-temperature-concentration superposition. *Journal of Food Engineering* 118, 380-386.

Menéndez- Aguirre, O., Evangelista, S., Arenas, M., Bermúdez, K., Villar, A., Jiménez, A., 2006. Cambios en la actividad de α -amilasa, pectinmetilesterasa y poligalacturonasa durante la maduración del Maracuyá Amarillo (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa Degener*). *Interciencia*, 31(10), 728-733.

- Moraga, G.,** Martínez-Navarrete, N., Chiralt, A., 2004. Water sorption isotherms and glass transition in strawberries: influence of pretreatment. *Journal of Food Engineering* 62, 315–321.
- Moraga, G.,** Martínez-Navarrete, N., & Chiralt, A., 2006. Compositional changes of strawberry due to dehydration, cold storage and freezing-thawing processes. *Journal of Food Processing and Preservation* 30(4), 458–474.
- Moraga, G.,** Talens, P., Moraga, M.J., Martínez-Navarrete, N., 2011. Implication of water activity and glass transition on the mechanical and optical properties of freeze-dried apple and banana slices. *Journal of Food Engineering* 106, 212–219.
- Moraga, G.,** Igual, M., García-Martínez, E., Mosquera, L.H., Martínez-Navarrete, N., 2012. Effect of relative humidity and storage time on the bioactive compounds and functional properties of grapefruit powder. *Journal of Food Engineering* 112, 191–199.
- Mosquera, L.H.,** 2010. Influencia de la humedad y de la adición de solutos (maltodextrina o goma arábica) en las propiedades fisicoquímicas de borojó y fresa en polvo. Tesis Doctoral. *Universidad Politécnica de Valencia, Valencia-España.*
- Mosquera, L.H,** Moraga, G, Fernández de Córdoba, P., Martínez-Navarrete, N., 2011. Water Content–Water Activity–Glass Transition Temperature Relationships of Spray-Dried Borojó as Related to Changes in Color and Mechanical Properties. *Food biophysics* 6, 397-406.
- Mosquera, L.H,** Moraga, G., Martínez-Navarrete, N., 2012. Critical water activity and critical water content of freeze-dried strawberry powder as affected by maltodextrin and Arabic gum. *Food Research International.* 47: 201-206
- Mun Wai Cheong,** Shao Quan Liu, Weibiao Zhou, Philip Curran, Bin Yu, 2012. Chemical composition and sensory profile of pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) juice. *Food Chemistry* 135, 2505–2513.

O

- Osorio, O.,** Martínez-Navarrete, N., Moraga, G. and Carbonell, J.V., 2008. Effect of Thermal Treatment on Enzymatic Activity and Rheological and Sensory Properties of Strawberry Purees. *Food Science and Technology.*

P

- Peterson, J.,** Dwyer, J., 1998. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research* 18, 12, 1995-2018.
- Pua, C.K.,** Hamid, N. S., Tan, C.P., Mirhosseini, H.R., and Rahman, G. R., 2008. Storage stability of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) powder packaged in aluminium laminated polyethylene and metallized co-extruded biaxially oriented polypropylene during storage. *Journal of Food Engineering* 89, 419–428.

R

- Randhir, R.,** Kwon, Y.I., Shetty, K., 2008. Effect of thermal processing on phenolics, antioxidant activity and health-relevant functionality of select grain sprouts and seedlings. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 9, 355–364.
- Roos, Y.H.,** 1995. Phase Transitions in Food. *Academic Press, San Diego, CA.*
- Ratti, C.,** 2001. Hot air freeze-drying of high-value foods: a review. *Journal of Food Engineering* 49, 311-319.

S

- Sahin, H.,** Topuz, A., Pischetsrieder, M., Ozdemir, F., 2009. Effect of roasting process on phenolic, antioxidant and browning properties of carob powder. *Eur Food Res Technol,* 230:155–161
- Santos, P.H.S. & Silva M.A.,** 2008. Retention of Vitamin C in Drying Processes of Fruits and Vegetables. *A Review An International Journal* 26, 12, 1421-1437.
- Saravacos, G.D.,** Tsiourvas, D.A., Tsami, E., 1986. Effect of Temperature on the Water Adsorption Isotherms of Sultana Raisins. *Journal of Food Science* 51, 2, 381–383.
- Schubert, H.,** Regier, M., 2010. The microwave processing of foods. *London, Woodhead.*
- Simal, S.,** Femenia, A., Castell-Palou, Á., Rossello, C., 2007. Water desorption thermodynamic properties of pineapple. *Journal of Food Engineering* 80, 1293–1301.

Steffe, J.F., 1992. Rheological methods in food process engineering. Ed. *Freeman Press*.

T

Telis, V. R. N., Sobral, P. J. A., & Telis-Romero, J., 2006. Sorption isotherm, glass transitions and state diagram for freeze-dried plum skin and pulp. *Food Science and Technology International* 12, 181–187.

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. *Food Science and Technology* 43, 5, 744-751.

Terefe, N.S., Gamage, M., Vilku, K., Simons, L., Mawson, R., Versteeg, C., 2009. The kinetics of inactivation of pectin methylesterase and polygalacturonase in tomato juice by thermosonication. *Food Chemistry* 117, 20–27.

Tsami, E., Marinos-Kouris, D., Maroulis, Z.B., 1990. Water Sorption Isotherms of Raisins, Currants, Figs, Prunes and Apricots. *Journal of Food Science* 55, 6, 1594–1597.

V

Van den Berg, C., & Bruin, S., 1981. Water activity and its estimation in food systems: Theoretical aspects. In L. B. Rockland & G. F. Stewart (Eds.), *Water activity: Influences on food quality* (pp. 1–43). *New York: Academic Press*.

Vandresen, S., Quadri, S.M.G.N, A.R. de Souza, J., Hotza, D., 2009. Temperature effect on the rheological behavior of carrot juices. *Journal of Food Engineering* 92, 269–274.

W

Wang, H., Williams, P.A., Senan, C., 2014. Synthesis, characterization and emulsification properties of dodecanyl succinic anhydride derivatives of gum Arabic. *Food Hydrocolloids* 37, 143e148.

Wijewickreme, A.N., Kitts, D.D., 1998. Modulation of Metal-induced Genotoxicity by Maillard Reaction Products Isolated from Coffee. *Food and Chemical Toxicology*, 36, 543±553.

Wolf, W., Spiess, W.E.L. and Jung, G., 1985. Sorption isotherms and water activity of food materials. *New York, Elsevier Sciences Publishing Co*.

Y

Yan, Z., Sousa-Gallagher, M. J. and Oliveira, F.A.R., 2008. Mathematical modelling of the kinetic of quality deterioration of intermediate moisture content banana during storage. *Journal of Food Engineering* 84, 359–367.

X

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 Chemistry* 106, 545-551.

Xu, J., Tao, N., Liu, Q., Deng, X., 2006. Presence of diverse ratios of lycopene/b-carotene in five pink or red-fleshed citrus cultivars. *Scientia Horticulturae* 108, 181–184.

Z

Zeki Berk, 2013. Chapter 23 – Freeze Drying (Lyophilization) and Freeze Concentration. *A volume in Food Science and Technology*, 567–581.