



**SELECCIÓN DEL MEJOR PROCESO PARA  
LA OBTENCIÓN DE POMELO EN POLVO  
(*Citrus paradisi*) DE ALTA CALIDAD  
NUTRITIVA, FUNCIONAL Y SENSORIAL.**

**TESIS DOCTORAL**

**Claudia Marcela Agudelo Sterling**

**Dirigida por:**

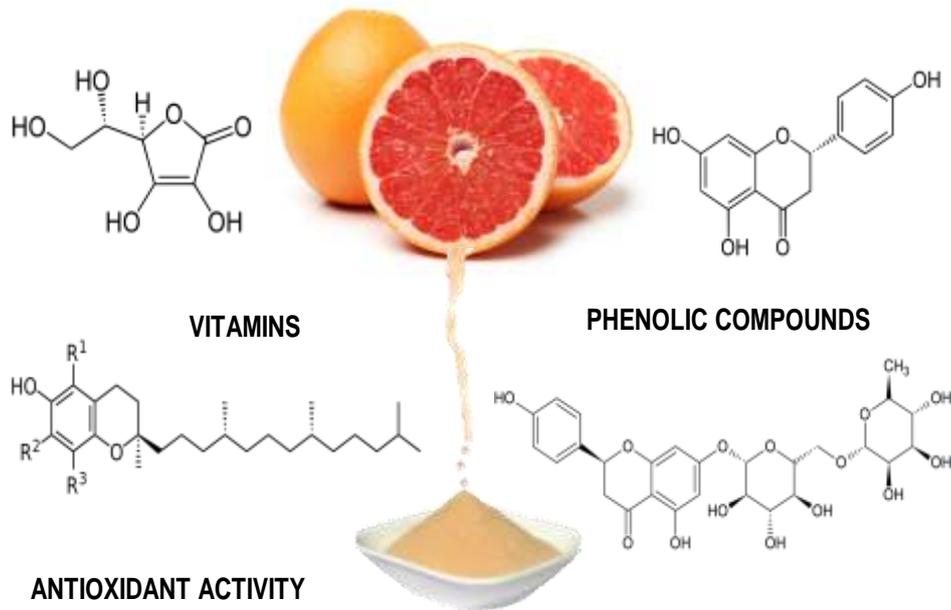
**Dra. Nuria Martínez Navarrete**

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA**

**Departamento de Tecnología de Alimentos**

**Valencia, Abril de 2017.**





**SELECTION OF THE BEST PROCESS TO  
OBTAIN GRAPEFRUIT (*Citrus paradisi*)  
POWDER WITH THE HIGHEST  
NUTRITIVE, FUNCTIONAL AND  
SENSORIAL QUALITY**



*El amor es sufrido, es benigno; el amor no tiene envidia, el amor no es jactancioso, no se envanece; no hace nada indebido, no busca lo suyo, no se irrita, no guarda rencor; no se goza de la injusticia, más se goza de la verdad. Todo lo sufre, todo lo cree, todo lo espera, todo lo soporta. El amor nunca deja de ser. **1 Corintios 13:4-8***

**A Dios  
A mi familia  
A ti mi amor.**



## **Agradecimientos**

*A mi Padre Celestial, mi amigo fiel, mi alto refugio, mi dulce compañía, el dueño de mi vida y capitán de mi barca. Gracias por amarme como solo tú sabes hacerlo, con amor eterno e inagotable, por extenderme tu mano y abrazarme en los momentos que más lo he necesitado, por levantarme y animarme cuando las fuerzas me han faltado, por enseñarme que no hay nada imposible para ti, porque al que cree todo le es posible.*

*A mis padres Guillermo Agudelo y Orfa Sterling, por cada una de sus enseñanzas, por ayudarme a volar alto, por su apoyo incondicional, por cada oración levantada que ha fortalecido mi alma, por su amor y dedicación. Siempre los llevo en mi corazón y los siento aquí conmigo. Este logro es de ustedes también.*

*A mis hermanas Diana y Lina, por su cariño y amistad. A mi sobrino Emanuel, por existir y traer felicidad a nuestros corazones.*

*A mi esposo José Reyes el regalo perfecto que Dios tenía para mí. Por ser mi pastor, mi consejero, mi amigo, mi familia, mi motor. Por llenar cada día de alegría mi corazón, por ser amoroso, abnegado, paciente, sincero, y entregado. Por el hogar que me ha brindado, porque a su lado todo es más bonito y llevadero. Este logro es tuyo mi amor. A mi suegra doña*

*Nilda por ser tan amorosa y comprensiva, y motivarme siempre con su fe, y a Don Fabián y a Vanessa por dejarme ser parte de sus vidas.*

*A mi segunda familia, mi familia espiritual, a mis pastores Antonio Selma y Titi, por abrirme las puertas de su corazón, por los abrazos, las palabras de aliento, los consejos brindados y sus oraciones que han sido indispensables para continuar corriendo con paciencia la carrera que tengo por delante. Agradecer a Jenny y Carlos, José Luis y Verónica, Nahúm y Judennis, y a cada persona que forma parte de esta gran familia Rey de Reyes por tantos momentos y alegrías compartidas. Dios les bendiga.*

*A mi directora Nuria Martínez Navarrete, a la cual admiro y respeto. Gracias por su confianza y apoyo, por darme la oportunidad de pertenecer a este grupo de investigación, por su disposición y por cada conocimiento transmitido que ha sido valioso y necesario para alcanzar este logro.*

*A Marta Igual con quien ha sido un placer trabajar durante todos estos años. Gracias por orientarme y trasmitirme con afecto todos tus conocimientos y tu amor por la ciencia.*

*A Ana Salvador por su ayuda durante la ejecución de la tesis doctoral, por sus conocimientos aportados y por su disposición a colaborar en todo momento.*

*A cada miembro docente del grupo de investigación (Maria del Mar, Eva, Gemma....) por sus aportes realizados, y a los compañeros del laboratorio de todas partes del mundo (María, Freddy, Luis, Andrea, Georgina, Eva, Mónica, Miguel Ángel, Paloma) con quienes ha sido un gusto poder compartir esta experiencia.*

*Al Ministerio de Economía y Competitividad por la ayuda recibida a través del proyecto AGL 2012-39103, sin la cual no hubiese sido posible llevar a cabo este estudio.*

*A Isabel Ferreira, Lilian Barros, Ángela, Ricardo y cada miembro del equipo de investigación BiochemCore del Instituto Politécnico de Braganza Portugal, por el tiempo compartido durante la estancia, una experiencia enriquecedora tanto personal como profesionalmente.*

*A Johana, Alejandra, Sisy, Aury, Mariana, Rosmeirys, por su afecto y cariño, por poder compartir nuestras metas y proyectos alcanzados sin importar la distancia.*

*Finalmente gracias a todos amigos y familiares que de una u otra forma han hecho parte de esta bonita experiencia. Gracias a todos por todo.*



## RESUMEN

El contenido en vitaminas, minerales, fibra y compuestos bioactivos de las frutas hacen que su consumo regular tenga efectos benéficos para la salud. Una alternativa al consumo de la fruta en fresco es la fruta en polvo. Sin embargo, el proceso usado para obtener el polvo debe garantizar la máxima retención de los compuestos bioactivos y el valor funcional de la fruta, al mismo tiempo que debe asegurar unas propiedades físicas adecuadas. Tanto la liofilización como el secado por atomización son dos técnicas que permiten obtener productos en polvo de fácil manejo y de alta calidad sensorial, nutritiva y funcional. Si bien es cierto que los productos en polvo gozan de una alta estabilidad microbiológica, química y bioquímica, por su bajo contenido en agua, la alta higroscopicidad propia de estos productos puede dar lugar a cambios en sus propiedades físicas por efecto del ambiente y del tiempo. Una opción adecuada para proteger del efecto de la adsorción de agua es la adición de solutos de alto peso molecular los cuales pueden, a su vez, actuar como encapsulantes evitando la pérdida de su calidad. El objetivo general de este estudio fue seleccionar el mejor proceso entre la liofilización y la atomización para la obtención de pomelo en polvo de alta calidad nutritiva, funcional y sensorial.

Con este objetivo se llevó a cabo la optimización de cada proceso de deshidratación usando la metodología de superficie de respuesta.

Como variables de los procesos se consideraron, en ambos casos, la cantidad de goma arábica (GA) y de fibra de bambú (FB) incorporadas como coadyuvantes de los procesos, así como la cantidad de agua de la muestra en el caso de la liofilización o la temperatura de atomización. Las propiedades analizadas a los productos obtenidos fueron la humedad, higroscopicidad, porosidad, color, compuestos bioactivos (vitamina C, carotenoides totales, fenoles totales) y la actividad antioxidante. Además se consideró el rendimiento en producto de la atomización. Los resultados obtenidos, debidamente validados, permiten proponer, para la liofilización, la incorporación de 4.2 g de GA y 0.58 g de FB por cada 100 g de pomelo triturado y llevar a la muestra, antes de su procesado, hasta una humedad de  $90 \frac{\text{g}_{\text{agua}}}{100\text{g}_{\text{mezcla}}}$ . En el caso de la atomización, el mejor producto se obtiene cuando la temperatura de entrada del aire en el equipo es de 120 °C y al licuado de pomelo se añaden 4 g GA y 2 g de FB por cada 100 g. La comparación de ambos productos permite proponer a la liofilización como una mejor tecnología de secado que la atomización ya que proporciona un producto en polvo con menor humedad, higroscopicidad y luminosidad, mayor porosidad y mayor contenido en fenoles, carotenoides y actividad antioxidante. Además el rendimiento en producto de la liofilización es mucho mayor que el de la atomización y los subproductos generados mucho menores.

Por otra parte, se llevó a cabo un estudio específico para confirmar el poder encapsulante de los dos solutos utilizados. Los resultados

obtenidos permiten confirmar el beneficio de la adición conjunta de la goma arábica y la fibra de bambú especialmente frente a la temperatura de atomización, pues la mezcla ofrece una mayor protección de la degradación del ácido ascórbico,  $\alpha$ -tocoferol, fenoles totales y actividad antioxidante que cuando se añaden por separado. Por su parte, la caracterización de los diferentes compuestos bioactivos y su correlación con la actividad antioxidante realizada en esta parte del estudio, mostró que los compuestos fenólicos contribuyen de manera significativa a la actividad captadora de radicales libres y a la inhibición de la decoloración de  $\beta$ -caroteno, mientras que el ácido ascórbico y el  $\alpha$ -tocoferol contribuyen a incrementar el poder reductor.

Además se ha estudiado la estabilidad de los polvos optimizados durante el almacenamiento, a 4 y a 20 °C y a diferentes humedades relativas del entorno. La modelización conjunta de los datos de sorción de agua y de variación de la temperatura de transición vítrea con la humedad de las muestras permite establecer los valores críticos de humedad y actividad del agua que aseguran el estado vítreo del producto en polvo. En este sentido, para su almacenamiento se recomienda la refrigeración y mantener la humedad relativa del entorno del orden del 10 %. En cuanto en el pomelo en polvo se inicia la transición vítrea, comienza la degradación de los compuestos bioactivos, siendo los carotenoides los más sensibles. En condiciones de almacenamiento menos restrictivas a las

comentadas, en tan sólo un mes de almacenamiento ya se observan pérdidas importantes de los compuestos estudiados, que son menores en el producto liofilizado que en el atomizado. Por otra parte, para que en el almacenamiento empiecen a detectarse problemas de apelmazamiento del polvo suelto o cambios de color, es necesario que una mayor cantidad de producto haya pasado a estado gomoso. En este sentido, para el estudio de la pérdida de compuestos bioactivos, del cambio en las propiedades mecánicas y del cambio de color se recomienda considerar la temperatura inicial, la del punto medio o la del punto final de la transición vítrea, respectivamente.

Finalmente se realizó un análisis sensorial de los productos en polvo rehidratados para evaluar el grado de aceptación de los zumos así obtenidos y su probabilidad de compra. En general el zumo de pomelo, incluso el natural o el comercial, no mostró una buena aceptación por parte del consumidor debido a su astringencia y elevada acidez. El análisis de penalización mostró que si se mejora el dulzor de las muestras y se disminuye su astringencia podrían mejorar los productos y cambiar su grado de aceptación por parte del consumidor, lo que en el caso de los zumos obtenidos por rehidratación del pomelo en polvo podría conseguirse rehidratando al nivel del zumo natural, en lugar de al pomelo triturado, e incorporando azúcar en esta etapa.

## RESUM

El contingut en vitamines, minerals, fibra i compostos bioactius de les fruites fan que el seu consum regular tinga efectes benèfics per a la salut. Una alternativa al consum de la fruita en fresc és la fruita en pols. No obstant això, el procés usat per a obtenir la pols ha de garantir la màxima retenció dels compostos bioactius i el valor funcional de la fruita, alhora que ha d'assegurar unes propietats físiques adequades. Tant la liofilització com l'assecat per atomització són dos tècniques que permeten obtenir productes en pols de fàcil maneig i d'alta qualitat sensorial, nutritiva i funcional. Si bé és cert que els productes en pols gaudixen d'una alta estabilitat microbiològica, química i bioquímica, pel seu davall contingut en aigua, l'alta higroscopicitat pròpia d'estos productes pot donar lloc a canvis en les seues propietats físiques per efecte de l'ambient i del temps. Una opció adequada per a protegir de l'efecte de l'adsorció d'aigua és l'addició de soluts d'alt pes molecular els quals poden, al seu torn, actuar com encapsulants evitant la pèrdua de la seua qualitat. L'objectiu general d'este estudi va ser seleccionar el millor procés entre la liofilització i l'atomització per a l'obtenció de pomelo en pols d'alta qualitat nutritiva, funcional i sensorial.

Amb este objectiu es va dur a terme l'optimització de cada procés de deshidratació usant la metodologia de superfície de resposta. Com a variables dels processos es van considerar, en ambdós casos, la

quantitat de goma aràbiga (GA) i de fibra de bambú (FB) incorporades com coadjuvants dels processos, així com la quantitat d'aigua de la mostra en el cas de la liofilització o la temperatura d'atomització. Les propietats analitzades als productes obtinguts van ser la humitat, higroscopicitat, porositat, color, compostos bioactius (vitamina C, carotenoides totals, fenols totals) i l'activitat antioxidant. A més es va considerar el rendiment en producte de l'atomització. Els resultats obtinguts, degudament validats, permeten proposar, per a la liofilització, la incorporació de 4.2 g de GA i 0.58 g de FB per cada 100 g de pomelo triturat i portar a la mostra abans del seu processat fins una humitat de 90 g aigua/100g mescla. En el cas de l'atomització, el millor producte s'obté quan la temperatura d'entrada de l'aire en l'equip és de 120 °C i al líquid de pomelo s'afegien 4 g de GA i 2 g de FB per cada 100 g. La comparació d'ambdós productes permet proposar a la liofilització com una millor tecnologia d'assecat que l'atomització ja que proporciona un producte en pols amb menor humitat, higroscopicitat i lluminositat, major porositat, i major contingut en fenols, carotenoides i activitat antioxidant. A més el rendiment en producte de la liofilització és molt major que el de l'atomització i els subproductes generats molt menors.

D'altra banda, es va dur a terme un estudi específic per a confirmar el poder encapsulant dels dos soluts utilitzats. Els resultats obtinguts permeten confirmar el benefici de l'addició conjunta de la goma aràbiga i la fibra de bambú especialment enfront de la temperatura

d'atomització, que oferixen una major protecció de la degradació de l'àcid ascòrbic,  $\alpha$ -tocoferol, fenols totals i activitat antioxidant que quan s'afigen per separat. Per la seua banda, la caracterització dels diferents compostos bioactius i la seua correlació amb l'activitat antioxidant realitzada en esta part de l'estudi, va mostrar que els compostos fenòlics contribuïxen de manera significativa a l'activitat captadora de radicals lliures i a la inhibició de la decoloració del  $\beta$ -caroteno, mentres que l'àcid ascòrbic i el  $\alpha$ -tocoferol contribuïxen a incrementar el poder reductor.

A més s'ha estudiat l'estabilitat de les pols optimitzats durant l'emmagatzemament, a 4 i 20 °C i a diferents humitats relatives de l'entorn. La modelització conjunta de les dades de sorció d'aigua i de variació de la temperatura de transició vítria amb la humitat de les mostres permet establir els valors crítics d'humitat i activitat de l'aigua que asseguren l'estat vítri del producte en pols. En este sentit, per al seu emmagatzemament es recomana la refrigeració i mantindre la humitat relativa de l'entorn de l'orde del 10 %. En quant en el pomelo en pols s'inicia la transició vítria, comença la degradació dels compostos bioactius, sent els carotenoides els més sensibles. En condicions d'emmagatzemament menys restrictives a les comentades, en tan sols un mes d'emmagatzemament ja s'observen pèrdues importants dels compostos estudiats, que són menors en el producte liofilitzat que en l'atomitzat. D'altra banda, perquè en l'emmagatzemament comencen a detectar-se problemes

d'atapeïment de la pols solta o canvis de color, és necessari que una major quantitat de producte haja passat a estat gomós. En este sentit, per a l'estudi de la pèrdua de compostos bioactius, del canvi en les propietats mecàniques i del canvi de color es recomana considerar la temperatura inicial, la del punt mitjà o la del punt final de la transició vítria, respectivament.

Finalment es va realitzar una anàlisi sensorial dels productes en pols rehidratats per a avaluar el grau d'acceptació dels sucus així obtinguts i la seua probabilitat de compra. En general el suc de pomelo, inclús el natural o el comercial, no va mostrar una bona acceptació per part del consumidor a causa de la seua astringència i elevada acidesa. L'anàlisi de penalització va mostrar que si es millora la dolçor de les mostres i es disminuïx la seua astringència podrien millorar els productes i canviar el seu grau d'acceptació per part del consumidor, la qual cosa en el cas dels sucus obtinguts per rehidratació del pomelo en pols podria aconseguir-se rehidratant al nivell del suc natural, en compte d'al pomelo triturat, i incorporant sucre en esta etapa.

## **A**bstract

The vitamin, mineral, fibre and bioactive compound content of fruits means that their regular consumption is beneficial for the health. An alternative to fresh fruit is their consumption in powdered form. Nevertheless, the process used to obtain the powder must ensure the maximum retention of the bioactive compounds and the functional value of the fruit while retaining adequate physical properties. Both freeze-drying and spray-drying are two techniques that allow powdered products to be produced that are easy-to-handle and are high quality in sensorial, nutritional and functional terms. Although it is true that powdered products enjoy great microbiological, chemical and biochemical stability, due to their low water content, the high degree of hygroscopicity of these products can lead to changes in their physical properties caused by both the environment and time. One suitable option for the purposes of protecting them against the effect of water adsorption is by adding high molecular weight solutes that can, in turn, act as encapsulants thereby preventing a loss in quality. The general objective of this study was to analyse freeze-drying and spray-drying and to select the best process to obtain a grapefruit powder of high nutritional, functional and sensorial quality. With this objective in mind, the optimization of each dehydration process was carried out using the response surface methodology. As variables of the processes, in both cases, the concentration of gum arabic (GA) and bamboo fibre (BF), added as carriers, were

considered, as well as the feed inlet moisture in the case of the freeze-drying or air inlet temperature in the spray-drying one. The properties of the obtained products analyzed were the water content, hygroscopicity, porosity, color, bioactive compounds (vitamin C, total carotenoids, total phenols) and antioxidant activity. In addition, the drying yield and product yield of spray-drying were considered. The obtained results, duly validated, allow to propose for freeze-drying, the addition of 4.2 g GA and 0.58 g BF per 100 g of grapefruit pulp and bringing the sample to 90 g water / 100g feed mixture. In the case of spray-drying, the best product is obtained with an air inlet temperature in the equipment of 120 °C and the addition of 4g AG and 2g BF/100g liquidized grapefruit. The comparison of both products allows us to propose freeze-drying as being a better technique than spray-drying with which to obtain a grapefruit powder with a lower water content and less hygroscopicity and luminosity, yet with a greater porosity and a higher content in phenols, carotenoids and antioxidant activity. In addition, the powder yield of freeze-drying is much higher compared to spray-drying and far fewer by-products are generated.

A specific study was carried out to confirm the encapsulating power of the two solutes used. The results obtained confirm the benefit of the joint addition of gum arabic and bamboo fibre, especially against the spray-drying temperature, offering a greater protection against the degradation of ascorbic acid,  $\alpha$ -tocopherol, total phenols and

antioxidant activity, than when solutes are added separately. On the other hand, the characterization of the different bioactive compounds and their correlation with the antioxidant activity carried out in this part of the study showed that the phenolic compounds contribute significantly to the free radical scavenging activity and the inhibition of the discoloration of  $\beta$ -carotene, while ascorbic acid and  $\alpha$ -tocopherol contribute to an increase in reducing power.

In addition, the stability of the optimized powders during storage at 4 and 20 ° C and different surrounding relative humidities has been studied. The modeling of the water sorption data together with the variation in the glass transition temperature that takes place in line with the water content of the samples permits the determination of the critical values of water content and water activity that ensure the glassy state of the powdered product. In this sense, what is recommended when storing the powders is to maintain the products under refrigeration and with a surrounding relative humidity in the order of 10%. As soon as the grapefruit powder begins the glass transition, the degradation of the bioactive compounds begins, with carotenoids being the most sensitive. In less restrictive storage conditions than those mentioned above, in just one month of storage there are already significant losses in the studied compounds, fewer in the freeze-dried product than in the spray-dried. On the other hand, in order to detect any problems of caking in the free-flowing powders or changes in color, a larger quantity of the product must

have changed to the rubbery state. In this sense, for the purposes of relating the loss in bioactive compounds, the change in the mechanical properties and the color change with the glass transition, the onset temperature, the midpoint or the end point of the glass transition, respectively, should be taken into consideration.

Finally, a sensory evaluation of the rehydrated powdered products was carried out in order to evaluate consumer acceptance of the juices obtained and their probability of purchase. In general, grapefruit juice, even the natural or commercial ones, did not enjoy a good level of consumer acceptance due to its astringency and high acidity. The penalty analysis showed that if the sweetness of the samples is improved and their astringency is reduced, their level of consumer acceptance will rise. In the case of the juices obtained by means of the rehydration of powdered grapefruit, this could be achieved by rehydrating to the level of the natural juice, instead of to that of the crushed grapefruit, and incorporating sugar at this stage.

## NOMENCLATURA

### Nomenclatura general usada a lo largo del documento

a*	Cromaticidad en un eje de rojo (+) a verde (-)
AOA	Actividad antioxidante (mmol TE/100g <sub>SP</sub> )
b*	Cromaticidad en un eje de amarillo (+) a azul (-)
C*	Croma
CT	Carotenoides totales (mg β-caroteno/100g <sub>SP</sub> )
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
ΔE	Diferencia de color de cada muestra con respecto al polvo liofilizado obtenido a partir de la muestra sin solutos añadidos
FB	Fibra de bambú
FT	Fenoles totales (mg GAE/100g <sub>SP</sub> )
GA	Goma arábica
GAE	Ácido gálico equivalente
h*	Tono
L*	Luminosidad
OA	Pomelo en polvo obtenido por atomización en las condiciones optimizadas
OL	Pomelo en polvo obtenido por liofilización en las condiciones optimizadas
P	Pomelo fresco
PL	Pomelo licuado
PT	Pomelo triturado
SI	Solutos insolubles
SP	Solutos propios del pomelo
SS	Solutos solubles
ST	Solutos totales en la muestra (ST = SP + GA + FB)
T	Temperatura de atomización (°C)
TE	Trolox equivalente
VC	Vitamina C (mg/100g <sub>SP</sub> )
x <sup>FB</sup>	Contenido de fibra de bambú (g FB/ 100g <sub>PT ó PL</sub> )
x <sup>GA</sup>	Contenido de goma arábica (g FB/ 100g <sub>PT ó PL</sub> )
x <sub>SS</sub>	Contenido de solutos solubles (g <sub>SS</sub> /g <sub>PT ó PL</sub> )

$x_w$	Contenido de agua ( $g_{\text{agua}}/100g_{\text{SP}}$ )
$x_w^0$	Humedad de entrada de la mezcla al liofilizador ( $g_{\text{agua}}/100g$ mezcla)

### **Nomenclatura específica del capítulo de optimización**

$\epsilon$	Porosidad (volumen aire/ volumen total) *100
$H_{gr}$	Higroscopicidad ( $g_{\text{agua}}/100g_{\text{SP}}$ ).
$m_{aa}$	Mezcla que alimenta al atomizador
$\rho$	Densidad real ( $g/cm^3$ )
$\rho_a$	Densidad aparente ( $g/cm^3$ )
$R_L$	Rendimiento de pérdidas (g producto perdido /100g alimentación)
$R_p$	Rendimiento en producto (g polvo/100g alimentación)
$R_s$	Rendimiento del secado (g agua/100g alimentación)

### **Nomenclatura específica del capítulo de encapsulación**

AA	Ácido ascórbico ( $mg/100g_{\text{SP}}$ )
EC <sub>50</sub>	Concentración de la muestra que da lugar a un 50% de la actividad antioxidante
TBARS	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico

### **Nomenclatura específica del capítulo de estabilidad**

$a_w$	Actividad del agua
C	Parámetro del modelo de BET relacionado con el calor de sorción de la monocapa
$CWA^i$	Actividad del agua crítica para el inicio de la transición vítrea
$CWA^f$	Actividad del agua crítica para el final de la transición vítrea
$CWC^i$	Contenido de agua crítico para el inicio de la transición vítrea ( $g_{\text{agua}}/g_{\text{polvo}}$ )
$CWC^f$	Contenido de agua crítico para el final de la transición vítrea ( $g_{\text{agua}}/g_{\text{polvo}}$ )
$F_{\text{máx}}$	Fuerza máxima obtenida en los ensayos mecánicos
HR	Humedad relativa (%)
K	Constante del modelo de Gordon y Taylor
POD	Peroxidasa ( $\text{Abs} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ )

$T_g$	Temperatura de transición vítrea ( $^{\circ}\text{C}$ )
$T_{g(\text{as})}$	Transición vítrea de los sólidos anhidridos (parámetro del modelo de Gordon y Taylor) ( $^{\circ}\text{C}$ )
$T_g^i$	Temperatura de inicio de la transición vítrea ( $^{\circ}\text{C}$ )
$T_g^f$	Temperatura de fin de la transición vítrea ( $^{\circ}\text{C}$ )
$w_e$	Humedad de equilibrio de la muestra ( $\text{g}_{\text{agua}}/100\text{g}_{\text{polvo}}$ )
$w_0$	Humedad de la capa monomolecular (parámetro del modelo de BET: $\text{g}_{\text{agua}}/\text{g}_{\text{sólidos}}$ )

### **Nomenclatura específica del capítulo de análisis sensorial**

C	Zumo de pomelo comercial
N	Zumo de pomelo natural
$\text{OA}^{\text{R}}$	Zumo de pomelo obtenido por rehidratación del polvo atomizado obtenido en las condiciones optimizadas
$\text{OL}^{\text{R}}$	Zumo de pomelo obtenido por rehidratación del polvo liofilizado obtenido en las condiciones optimizadas
$\text{TL}^{\text{R}}$	Zumo de pomelo obtenido por rehidratación de la torta liofilizada

# *ÍNDICE*

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
I.1 BENEFICIOS DEL CONSUMO DE FRUTAS .....	3
I.1.1 Frutas cítricas .....	4
I.1.2 Pomelo .....	9
I.2 PRODUCTOS DERIVADOS DE LAS FRUTAS.....	12
I.2.1 Frutas desecadas.....	13
I.2.2 Frutas deshidratadas .....	13
I.2.3 Conservas de frutas.....	14
I.2.4 Confituras y mermeladas .....	14
I.2.5 Zumos de frutas .....	15
I.2.6 Fruta en polvo .....	15
I.3 TECNOLOGÍAS PARA LA OBTENCIÓN DE FRUTA EN POLVO.....	17
I.3.1 Liofilización .....	17
I.3.2 Atomización .....	20
I.3.3 Materiales encapsulantes .....	22
<b>II. OBJETIVOS</b> .....	<b>27</b>
II.1 OBJETIVO GENERAL .....	29
II.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	29
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>31</b>
III.1 MATERIAS PRIMAS EMPLEADAS EN EL ESTUDIO.....	33
III.2 OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE LIOFILIZACIÓN Y ATOMIZACIÓN ...	33
III.2.1 Preparación de la muestra y condiciones del proceso de liofilización .....	33
III.2.2 Preparación de la muestra y condiciones del proceso de atomización.....	35
III.2.3 Determinaciones analíticas.....	36
III.2.4 Expresión de los resultados .....	42

III.2.5	Diseño experimental y análisis estadístico .....	43
III.2.6	Validación de los modelos .....	48
III.3	ESTUDIO DE ENCAPSULACIÓN .....	48
III.3.1	Ácido ascórbico .....	49
III.3.2	Tocoferoles .....	50
III.3.3	Compuestos fenólicos .....	51
III.3.4	Actividad antioxidante .....	53
III.3.5	Análisis estadístico .....	56
III.4	ESTUDIO DE ESTABILIDAD. RELACIONES TEMPERATURA DE TRANSICIÓN VÍTREA- HUMEDAD-ACTIVIDAD DEL AGUA .....	56
III.4.1	Caracterización de la materia prima y de los productos en polvo optimizados.....	56
III.4.2	Isotermas de sorción y temperatura de transición vítrea .....	57
III.4.3	Evaluación de los cambios fisicoquímicos de los productos en polvo .....	58
III.5	ANÁLISIS SENSORIAL .....	60
III.5.1	Grado de aceptación de las muestras.....	62
III.5.2	Análisis descriptivo de las muestras .....	63
III.5.3	Adecuación de algunas características sensoriales.....	63
III.5.4	Intención de compra de las muestras.....	64
III.5.5	Análisis estadístico .....	64
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>67</b>
IV.1	OPTIMIZACIÓN DE LOS PROCESOS DE LIOFILIZACIÓN Y ATOMIZACIÓN .....	69
IV.1.1	Caracterización de la materia prima.....	69
IV.1.2	Optimización del proceso de liofilización .....	73
IV.1.3	Optimización del proceso de atomización.....	82
IV.1.4	Validación de los modelos .....	90

IV.2 ESTUDIO DE ENCAPSULACIÓN.....	96
IV.3 ESTUDIO DE ESTABILIDAD. RELACIONES TEMPERATURA DE TRANSICIÓN VÍTREA- HUMEDAD-ACTIVIDAD DEL AGUA .....	109
IV.3.1 Caracterización de la materia prima y de los productos en polvo optimizados recién procesados .....	109
IV.3.2 Isotermas de sorción y temperatura de transición vítrea .....	113
IV.3.3 Cambios en las propiedades mecánicas en función de la humedad relativa y la temperatura .....	126
IV.3.4 Cambios de color en función de las condiciones de almacenamiento .....	130
IV.3.5 Cambios de los compuestos bioactivos en función de las condiciones de almacenamiento .....	138
IV.4 ANÁLISIS SENSORIAL.....	151
IV.4.1 Grado de aceptación de las muestras y probabilidad de compra .....	153
IV.4.2 Análisis descriptivo de las muestras .....	155
IV.4.3 Adecuación de algunas características sensoriales .....	160
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>167</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>173</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>187</b>
ANEXO I. CUESTIONARIO PARA LA EVALUACIÓN SENSORIAL DEL ZUMO DE POMELO.....	188
ANEXO II. ANOVA MULTIFACTORIAL DE LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS Y LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN RELACIÓN CON EL TIEMPO, LA TEMPERATURA Y LA HUMEDAD RELATIVA DE ALMACENAMIENTO .....	193

## **ÍNDICE DE TABLAS POR CAPÍTULOS**

### **I. INTRODUCCIÓN**

<b>Tabla I.1</b> Características nutricionales de pomelo ( <i>Star Ruby</i> ). Datos expresados por 100g de fruta (USDA, 2011). .....	<b>12</b>
---	-----------

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

<b>Tabla III.1</b> Matriz del diseño central compuesto para los polvos liofilizados. Resultados experimentales de las variables dependientes medidas. ....	<b>46</b>
--	-----------

<b>Tabla III.2</b> Matriz del diseño central compuesto para los polvos atomizados. Resultados experimentales de las variables dependientes medidas. ....	<b>47</b>
--	-----------

### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **IV.1 OPTIMIZACIÓN DE LOS PROCESOS DE LIOFILIZACIÓN Y DE ATOMIZACIÓN**

<b>Tabla IV.1</b> Valores medios y desviación estándar de la vitamina C (VC), fenoles totales (FT), carotenoides totales (CT) y de la actividad antioxidante (AOA) de los dos lotes de pomelo usados para la optimización de los procesos de liofilización y atomización. ....	<b>71</b>
--	-----------

<b>Tabla IV.2</b> Promedio y desviación estándar de las coordenadas de color L*, a* b* Croma (C* <sub>ab</sub> ) y tono (h* <sub>ab</sub> ) del pomelo triturado (PT) utilizado en la liofilización y del pomelo antes de licuar (P) y pomelo licuado (PL) utilizado para la atomización. Diferencias de color ( $\Delta E$ ) del PL con respecto al P. ....	<b>72</b>
--	-----------

<b>Tabla IV.3</b> Coeficientes de regresión (Ec.13), coeficiente de determinación ajustado ( $R^2$ adj) y error estándar de la estima (EE) de los modelos finales reducidos obtenidos al correlacionar cada variable respuesta con las diferentes variables independientes para los polvos liofilizados. ....	<b>74</b>
---	-----------

<b>Tabla IV.4</b> Coeficientes de regresión, (Ec.13), coeficiente de determinación ajustado ( $R^2$ adj) y error estándar de la estima (EE) de los modelos finales reducidos obtenidos al correlacionar cada variable respuesta con las diferentes variables independientes para los polvos atomizados. ....	<b>84</b>
--	-----------

**Tabla IV.5** Formulaciones consideradas para la validación de los modelos. ....**91**

**Tabla IV.6** Caracterización funcional del pomelo triturado (PT) y licuado (PL) utilizado para la obtención de los polvos optimizados por liofilización (OL) y por atomización (OA) y para las formulaciones adicionales de los procesos de liofilización y atomización (FA1 y FA2), según la Tabla IV.5 ..... **92**

**Tabla IV.7** Comparación entre valores predichos (Pred) y experimentales (Exp) de las diferentes propiedades o compuestos analizados en los productos en polvo obtenidos por liofilización. Entre paréntesis retención del compuesto (p/p) (Ec.18 y 19). Valores medios  $\pm$  desviación estándar. ....**94**

**Tabla IV.8** Comparación entre valores predichos (Pred) y experimentales (Exp) de las diferentes propiedades o compuestos analizados en los productos en polvo obtenidos por atomización. Entre paréntesis retención del compuesto (p/p) (Ec.18 y 19). Valores medios  $\pm$  desviación estándar. ....**95**

## **IV.2 ESTUDIO DE ENCAPSULACIÓN**

**Tabla IV.9** Formulaciones planteadas a partir del óptimo liofilizado (OL) y el óptimo atomizado (OA). .....**99**

**Tabla IV.10** Media y desviación estándar del contenido de ácido ascórbico y  $\alpha$ -tocoferol referidas a solutos de pomelo (mg/100g<sub>SP</sub>). .....**100**

**Tabla IV.11** Identificación de los compuestos fenólicos del pomelo en polvo mediante HPLC-DAD-ESI-MS. ....**103**

**Tabla IV.12** Promedio y desviación estándar de la concentración de compuestos fenólicos en las diferentes muestras formuladas expresados en solutos de pomelo (mg/100g<sub>SP</sub>). .....**104**

**Tabla IV.13** Promedio y desviación estándar de la actividad antioxidante *In vitro* de las diferentes muestras estudiadas expresada en valores EC<sub>50</sub> (mg/mL). .....**107**

### **IV.3 ESTUDIO DE ESTABILIDAD. RELACIONES TEMPERATURA DE TRANSICIÓN VÍTREA – HUMEDAD – ACTIVIDAD DEL AGUA**

**Tabla IV.14** Caracterización del pomelo triturado (PT), licuado (PL) y de los polvos optimizados obtenidos por liofilización (OL) y atomización (OA). .....**110**

**Tabla IV.15** Parámetros de los modelos de BET y de Gordon & Taylor ajustados a los datos experimentales. ....**115**

**Tabla IV.16** Comparación estadística de los ajustes de los datos experimentales de sorción del modelo de BET y del modelo de Gordon y Taylor. Las cruces por columnas indican las muestras comparadas en cada caso. ....**117**

### **IV.4 ANÁLISIS SENSORIAL**

**Tabla IV.17** Grado de aceptación de las muestras en base a los distintos parámetros analizados. ....**154**

**Tabla IV.18** Probabilidad de compra de las distintas muestras. ....**154**

**Tabla IV.19** Frecuencia de mención de los atributos CATA y valor de p del test de Cochran para determinar los atributos que presentan diferencias significativas entre las muestras.....**157**

## **ÍNDICE DE FIGURAS POR CAPÍTULOS**

### **I. INTRODUCCIÓN**

**Figura I.1** Representación de un sistema común de liofilización (a), diagrama de estado del agua (b) (Adaptado de Martínez-Navarrete et al., 1998) .....**18**

**Figura I.2** Representación de un diseño típico de un sistema de secado por atomización. ....**21**

### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **IV.1 OPTIMIZACIÓN DE LOS PROCESOS DE LIOFILIZACIÓN Y DE ATOMIZACIÓN**

**Figura IV.1** Superficie de respuesta para el contenido de agua ( $x_w$ :  $g_{agua}/100g_{SP}$ ) de los polvos liofilizados, en función del contenido en goma arábica ( $x^{GA}$ :  $g/100g_{PT}$ ) y fibra de bambú ( $x^{FB}$ :  $g/100g_{PT}$ ). Se consideró un valor intermedio de la humedad de entrada de la mezcla al liofilizador. SP: Solutos de pomelo. PT: Pomelo triturado. ....**77**

**Figura IV.2** Superficie de respuesta para la Luminosidad ( $L^*$ ) de los polvos liofilizados de los polvos liofilizados, en función del contenido en goma arábica ( $x^{GA}$ :  $g/100g_{PT}$ ) y fibra de bambú ( $x^{FB}$ :  $g/100g_{PT}$ ). Se consideró un valor intermedio de la humedad de entrada de la mezcla al liofilizador. SP: Solutos de pomelo. PT: Pomelo triturado. ....**78**

**Figura IV.3** Superficie de respuesta para a) contenido en fenoles totales (FT:  $mg$  GAE/ $100g_{SP}$ ), b) vitamina C (VC:  $mg/100g_{SP}$ ), c) carotenoides totales (CT:  $mg$   $\beta$ -caroteno/ $100g_{SP}$ ) de los polvos liofilizados, en función del contenido en goma arábica ( $x^{GA}$ :  $g/100g_{PT}$ ) y fibra de bambú ( $x^{FB}$ :  $g/100g_{PT}$ ). Se consideró un valor intermedio de la humedad de entrada de la mezcla al liofilizador. SP: solutos de pomelo. PT: Pomelo triturado.....**79**

**Figura IV.4** Superficie de respuesta para RP: Rendimiento en producto ( $g_{polvo}/100gm_{aa}$ ) de la atomización en función de contenido en goma arábica ( $x^{GA}$ :  $g/100g_{PL}$ ) y la temperatura de entrada del aire ( $T$ :  $^{\circ}C$ ). Se consideró un valor intermedio del contenido de fibra de bambú. PL: Pomelo licuado.....**85**

**Figura IV.5** Superficie de respuesta para la higroscopicidad ( $H_{gr}$ :  $g_{\text{agua}}/100g_{\text{SP}}$ ) de los polvos atomizados en función del contenido en goma arábica ( $x^{GA}$ :  $g/100g_{\text{PL}}$ ) y la temperatura de entrada del aire ( $T$ : °C). Se consideró un valor intermedio del contenido en fibra de bambú. SP: Solutos de pomelo. PL: Pomelo licuado. **86**

**Figura IV.6** Superficie de respuesta para FT: fenoles totales (mg GAE/100G<sub>SP</sub>) de los polvos atomizados en función de la temperatura de entrada del aire ( $T$ : °C) y el contenido en goma arábica ( $x^{GA}$ :  $g/100g_{\text{PL}}$ ). Se consideró un valor intermedio del contenido en fibra de bambú. SP: Solutos de pomelo. PL: Pomelo licuado. **87**

## IV.2 ESTUDIO DE ENCAPSULACIÓN

**Figura IV.7** Ejemplo de un perfil de los compuestos fenólicos identificados en la muestra de pomelo liofilizado en polvo sin solutos añadidos (muestra FL<sub>1</sub>, Tabla IV.10) obtenido por HPLC a 280 nm. .... **101**

## IV. 3 ESTUDIO DE ESTABILIDAD. RELACIONES TEMPERATURA DE TRANSICIÓN VÍTREA-HUMEDAD-ACTIVIDAD DEL AGUA

**Figura IV.8** Isotermas de sorción a 4 °C (línea continua) y 20 °C (línea discontinua) del pomelo en polvo liofilizado (a) y atomizado (b). Puntos experimentales y predicción del modelo de BET ..... **118**

**Figura IV.9** Evolución de inicio de la temperatura de transición vítrea en función del contenido en agua de los productos en polvo liofilizado (OL: línea discontinua) y atomizado (OA: línea continua). Puntos experimentales y predicción del modelo de Gordon y Taylor ajustado ..... **122**

**Figura IV.10** Relación temperatura de inicio de la transición vítrea ( $T_g$ )– actividad del agua ( $a_w$ ) (línea discontinua) y contenido de agua ( $x_w$ )– $a_w$  (línea continua: negra para 4 °C y gris para 20 °C) para el polvo liofilizado (puntos experimentales y comportamiento predicho por los modelos de BET y Gordon y Taylor). Las flechas indican los valores críticos de  $a_w$  y  $x_w$  para la transición vítrea a 4 °C ..... **124**

**Figura IV.11** Relación temperatura de inicio de la transición vítrea ( $T_g$ )– actividad del agua ( $a_w$ ) (línea discontinua) y contenido de agua ( $x_w$ )– $a_w$  (línea continua: negra para 4 °C y gris para 20 °C) para el polvo atomizado (puntos experimentales y comportamiento predicho por los modelos de BET y Gordon y

Taylor). Las flechas indican los valores críticos de  $a_w$  y  $x_w$  para la transición vítrea a 4 °C y a 20 °C.) .....125

**Figura IV.12** Ejemplo de curvas Fuerza-Distancia obtenidas del ensayo de compresión de los productos en polvo liofilizado (OL: líneas negras) y atomizado (OA: líneas grises) con diferentes  $a_w$  y almacenados a 4 y 20 °C. La gráfica interna representa la evolución del valor medio de la fuerza máxima ( $F_{m\acute{a}x}$ ) registrada en el ensayo en cada caso. ....128

**Figura IV.13** Luminosidad ( $L^*$ ), croma ( $C^*_{ab}$ ) y tono ( $h^*_{ab}$ ) del pomelo en polvo liofilizado almacenado a 4°C (▲) y 20°C (□) en función del tiempo de almacenamiento. ....132

**Figura IV.14** Luminosidad ( $L^*$ ), croma ( $C^*_{ab}$ ) y tono ( $h^*_{ab}$ ) del pomelo en polvo atomizado almacenado a 4 °C (▲) y 20 °C (□) en función del tiempo de almacenamiento. ....133

**Figura IV.15** Diferencias de color ( $\Delta E$ ) del pomelo en polvo liofilizado (a) y atomizado (b) almacenado a 4°C (▲) y 20°C (□) en función del tiempo de almacenamiento. ....134

**Figura IV.16** Actividad peroxidasa (POD) del pomelo en polvo liofilizado (línea negra) y atomizado (línea gris) almacenados a 4 °C (▲) y 20 °C (□) en función de la humedad relativa y el tiempo de almacenamiento. ....136

**Figura IV.17** Contenido de vitamina C (VC: mg/100g<sub>SP</sub>) del pomelo en polvo liofilizado en función de la temperatura (4 y 20 °C) y del tiempo de almacenamiento. La línea horizontal indica el contenido en el producto recién procesado. ....140

**Figura IV.18** Contenido de vitamina C (VC: mg/100g<sub>SP</sub>) del pomelo en polvo atomizado en función de la temperatura (4 y 20 °C) y del tiempo de almacenamiento. La línea horizontal indica el contenido en el producto recién procesado .....141

**Figura IV.19** Contenido de carotenoides totales (CT: mg  $\beta$ -caroteno/100g<sub>SP</sub>) del pomelo en polvo liofilizado en función de la temperatura (4 y 20 °C) y del tiempo de almacenamiento. La línea horizontal indica el contenido en el producto recién procesado.....144

**Figura IV.20** Contenido de carotenoides totales (CT: mg  $\beta$ -caroteno/100g<sub>SP</sub>) del pomelo en polvo atomizado en función de la temperatura (4 y 20 °C) y del tiempo de almacenamiento. La línea horizontal indica el contenido en el producto recién procesado. ....145

**Figura IV.21** Contenido de fenoles totales (FT: mg GAE/100g<sub>SP</sub>) del pomelo en polvo liofilizado en función de la temperatura (4 y 20 °C) y del tiempo de almacenamiento. La línea horizontal indica el contenido en el producto recién procesado. ....146

**Figura IV.22** Contenido de fenoles totales (FT: mg GAE/100g<sub>SP</sub>) del pomelo en polvo atomizado en función de la temperatura (4 y 20 °C) y del tiempo de almacenamiento. La línea horizontal indica el contenido en el producto recién procesado. ....147

**Figura IV.23** Actividad antioxidante (AOA: mmol TE/100g<sub>SP</sub>) del pomelo en polvo liofilizado en función de la temperatura (4 y 20 °C) y del tiempo de almacenamiento. La línea horizontal indica el contenido en el producto recién procesado. ....149

**Figura IV.24** Actividad antioxidante (AOA: mmol TE/100g<sub>SP</sub>) del pomelo en polvo atomizado en función de la temperatura (4 y 20 °C) y del tiempo de almacenamiento. La línea horizontal indica el contenido en el producto recién procesado.. ....150

### **IV. 3 ANÁLISIS SENSORIAL**

**Figura IV.25** Análisis de correspondencia para la descripción de las muestras de zumo de pomelo. C (comercial), N (natural), OAR (zumo rehidratado a partir del polvo atomizado), OLR (zumo rehidratado a partir del polvo liofilizado), TLR (zumo rehidratado a partir de la torta liofilizada).. ....159

**Figura IV.26** Análisis multifactorial empleando las puntuaciones de aceptabilidad y los datos de las preguntas CATA de las muestras C (comercial), N (natural), OA<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir del polvo atomizado), OL<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir del polvo liofilizado), TL<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir de la torta liofilizada). ....159

**Figura IV.27** Análisis de penalización para el zumo comercial .....163

**Figura IV.28** Análisis de penalización para el zumo natural .....163

**Figura IV.29** Análisis de penalización para el zumo rehidratado a partir del polvo liofilizado.....164

**Figura IV.30** Análisis de penalización para el zumo rehidratado a partir del polvo atomizado. ....164

# *I. INTRODUCCIÓN*



### I.1 BENEFICIOS DEL CONSUMO DE FRUTAS

Durante siglos se ha sabido que el consumo de frutas y verduras trae beneficios para la salud y, por tanto, se han considerado importantes dentro de una dieta sana y equilibrada. En la última década, los rápidos cambios en las dietas y estilos de vida atribuidos al desarrollo económico y a la globalización del mercado, están haciendo que aumente la ingesta de frutas y verduras (Wang y Huo, 2016). No obstante, aún hoy en día en muchos países el consumo no llega a superar los 400 g por día per cápita que recomienda la OMS para prevenir enfermedades y llevar una vida saludable.

El 60% de las enfermedades en todo el mundo se deben a enfermedades no-trasmisibles incluyendo enfermedades cardiovasculares, cánceres, diabetes y obesidad. Los factores de riesgo comunes a todas ellas son el tabaquismo, sedentarismo y una alimentación poco saludable. El informe sobre dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas de la OMS reconoce la evidencia científica asociada a la disminución del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares en personas que consumen las cantidades recomendadas de fruta y verdura, y también una disminución del riesgo de cáncer de la cavidad oral, esófago, estómago, colon y recto. En este contexto el aumento de consumo de frutas y verduras es indispensable para poder llevar una vida sana y prevenir enfermedades. Las frutas en particular, son alimentos de

## **I. INTRODUCCIÓN**

---

---

gran interés en la nutrición humana, no sólo por sus peculiares características sensoriales sino también por su aporte de azúcares, micronutrientes y otros compuestos llamados bioactivos o fitoquímicos que sin tener una función nutricional definida, parecen tener un impacto significativo en el curso de alguna enfermedad y son indispensables a largo plazo para nuestra salud, ya que son capaces de eliminar radicales libres, reducir el nivel de estrés oxidativo y así prevenir la oxidación de biomoléculas (Almeida et al., 2011; Slavin y Lloyd, 2012)

Es por ello que la caracterización física y química de las frutas y la cuantificación de sus componentes bioactivos es importante para la comprensión de su valor nutricional y funcional, y para aumentar la calidad y el valor del producto final Mattietto et al. (2010).

### **I.1.1 Frutas cítricas**

Dentro de las frutas, los cítricos del género *Citrus* L., de la familia de las Rutáceas, conocidos también como frutas ácidas, son uno de los principales grupos de cultivos del mundo con disponibilidad a nivel global. Estas son bien aceptadas por los consumidores debido a sus atractivos colores, aromas y sabores agradables (Zou et al., 2015). La mandarina, la naranja, la lima, el limón y el pomelo se encuentran dentro de las más comercializadas (Zhou, 2012). La producción mundial anual de cítricos ha sido testigo de un crecimiento fuerte y

rápido en las últimas décadas, pasando de aproximadamente 81 millones de toneladas métricas a finales de 1990 a una estimación total de más de 115 millones de toneladas métricas entre 2010 y 2011, siendo las naranjas las que contribuyen con más de la mitad de la producción de cítricos en todo el mundo. Países como Estados Unidos, China, España, México y Brasil lideran la producción de cítricos del mundo y representan cerca de dos tercios de la producción mundial (FAO 2012). Las frutas cítricas se componen en su mayor parte de carbohidratos, principalmente azúcares, que aportan un valor nutricional y calórico, aunque cabe destacar que presentan un bajo valor energético, debido a su alto contenido en agua y bajo en proteínas y lípidos. Los monosacáridos (glucosa y fructosa) y disacáridos (sacarosa), son claves en el aporte de dulzor de la fruta. Algunos cítricos presentan trazas menores de azúcares como la manosa, maltosa, heptulosa y galactosa. La ramnosa, xilosa, y trehalosa, han sido identificadas también en variedades de naranjas, limones y pomelos. La fibra dietética, también es un componente importante de la fruta. Es un remanente de la parte comestible compuesta por los carbohidratos resistentes a la absorción y digestión en el intestino y que por tanto se someten a una fermentación completa o parcial en el intestino grueso. Ésta comprende oligosacáridos, lignina, almidón resistente, taninos, entre otras sustancias asociadas a la planta. Los beneficios relacionados con una adecuada ingesta de fibra dietética incluyen la regulación del tránsito intestinal y la prevención y tratamiento de diabetes, enfermedades

## **I. INTRODUCCIÓN**

---

---

cardiovasculares y cáncer de colon. La fibra dietética reduce el riesgo de hiperlipidemia, hipercolesterolemia e hiperglucemia a través de mecanismos que modulan e influyen la digestión, adsorción y metabolismo de nutrientes.

Dentro del grupo de micronutrientes de los cítricos destaca la presencia de vitaminas y minerales con actividad antioxidante. Las vitaminas son sustancias orgánicas vitales para las funciones del cuerpo e indispensables para nuestra vida. De las 13 vitaminas reportadas en la literatura seis de ellas se encuentran en los cítricos, incluyendo vitamina B1, B2, B3, vitamina A, vitamina E, y vitamina C. Estas tres últimas han sido estudiadas por sus propiedades antioxidantes (Amitava y Kimberly 2014). La vitamina A es un compuesto liposoluble el cual incluye retinol, retinal, ácido retinoico y provitamina A ( $\beta$ -caroteno). De acuerdo a diferentes estudios, la vitamina A puede reaccionar con radicales libres, especialmente con el oxígeno singulete, y radicales peróxidos mostrando sus propiedades antioxidantes. La vitamina C (ácido ascórbico y dehidroascórbico) es una sustancia soluble en agua. Es la vitamina más abundante encontrada en los cítricos, capaz de eliminar de forma natural una gran variedad de especies reactivas al oxígeno. La vitamina E es también una vitamina liposoluble, que incluye compuestos como los tocoferoles y los tocotrienoles. Se encuentra principalmente en la piel y las semillas de las frutas y puede proteger

a las membranas celulares contra el daño de la peroxidación lipídica de diferentes maneras.

En cuanto a los elementos minerales, estos son compuestos químicos que las plantas toman de la tierra para su crecimiento y desarrollo, con excepción del carbono, hidrógeno y oxígeno. En las plantas cítricas se han encontrado al menos 19 minerales incluyendo el calcio, fósforo, magnesio, potasio, azufre, sodio, hierro, manganeso, níquel, boro, silicio, cobre, zinc, molibdeno, selenio, cobalto, cromo, germanio y arsénico. De éstos, el hierro, cobre, zinc y manganeso se han relacionado con la actividad antioxidante de los organismos.

Más allá de los macro y micronutrientes, las frutas son una fuente importante de algunos fitoquímicos. Se trata de compuestos que pertenecen mayoritariamente a los grupos de sustancias fenólicas, principalmente flavonoides, ácidos fenólicos y cumarinas, y sustancias terpénicas tales como limonoides y carotenoides (Osorio et al., 2008; Zou et al., 2015).

Los flavonoides tienen una estructura de polifenoles y contribuyen al sabor de muchas frutas y verduras (Ross y Kasum 2002). Son considerados como metabolitos secundarios sintetizados a partir de aminoácidos, carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Ghasemdeh y Ghasemdeh, 2011) y tienen muchos efectos benéficos sobre la salud cuando se consumen (Wang et al., 2011). En el ser

## **I. INTRODUCCIÓN**

---

---

humano se ha reconocido que los flavonoides poseen actividad anti-inflamatoria, antioxidante, antialérgica, hepatoprotectora, antitrombótica, antiviral y contra el cáncer. También pueden actuar como potentes quelantes de metales, eliminadores de radicales libres, y antioxidantes mediante la donación o agregación de un protón o electrón (Duarte et al., 2001). Una de las clases más comunes de flavonoides que se encuentran en las frutas cítricas son las flavanonas, en particular, la naringina, que imparte el sabor amargo de pomelo (Ross y Kasum 2002). La naringina se hidroliza a naringenina por las bacterias del intestino antes de la absorción (Shulman et al., 2011). Una flavanona menos abundante en cítricos pero con propiedades similares a la naringenina, es la hesperidina. Entre otros flavonoides representativos en los cítricos se encuentran las flavonas en su forma glicosada (diosmina y rutina) y en su forma polimetoxilada (sinensetina, nobiletina y tangerina).

En cuanto a los ácidos fenólicos, estos muestran fuertes propiedades antioxidantes, a través de la deshidrogenación de los grupos hidroxilo, y el efecto de orto-sustitución en el anillo benceno (Dai y Mumper 2010). Las cumarinas se derivan de una rama de la vía de metabolismo de la fenilalanina, que conducen en última instancia a la síntesis de furano-cumarinas (Yu et al., 2005). Se ha demostrado que poseen actividades antioxidantes fuertes a causa de sus grupos hidroxilo fenólicos (Tyagi et al., 2005).

Por su parte en el grupo de los terpenos, se encuentran los limonoides, sustancias derivadas de metabolitos secundarios altamente oxigenados, triterpénicos y tetracíclicos (Yu et al., 2005). Treinta y seis agliconas limonoides y diecisiete glucósidos limonoides se han descrito en las frutas cítricas, estos presentan capacidades antioxidantes variables y algunos lo son incluso más que la vitamina C. El contenido de limonoides en frutas cítricas va desde 0 hasta 95.46 mg/100g de fruta (Zhou, 2012). A su vez los carotenoides son pigmentos en su mayoría tetraterpenos que constan de 8 unidades de isopreno. De más de 600 carotenos conocidos, el  $\beta$ -caroteno y el licopeno están entre los más importantes, siendo este último el mayoritario en el pomelo. En general estos compuestos son antioxidantes eficientes en la eliminación del oxígeno singulete y radicales peróxido (Stahl y Sies, 2003), aunque son muy susceptibles a la degradación por la temperatura, el oxígeno y la luz.

### I.1.2 Pomelo

El pomelo es una fruta cítrica de gran interés ya que aporta a la dieta mayor cantidad de compuestos bioactivos que la naranja, la mandarina, el limón o la lima (Peterson et al., 2006; Xu et al., 2008). Existen diferentes variedades de pomelo las cuales pueden clasificarse en dos grupos dependiendo de la tonalidad de su pulpa. En el primer grupo se incluyen las variedades blancas que tienen la pulpa de color amarillo. Entre ellas podemos distinguir las variedades Duncan y

## **I. INTRODUCCIÓN**

---

---

Marsh. El segundo grupo engloba a las variedades pigmentadas, con la pulpa de un tono rojizo debido a la presencia de carotenoides, especialmente licopeno, entre las que destacamos las variedades Burgundy, Ruby, Star Ruby, Thompson o Pink Marsh (Jayaprakasha et al., 2008; Infoagro, 2011). Estas últimas variedades han adquirido popularidad en los últimos años entre los consumidores por su atractivo color y sabor.

Tanto el pomelo en fresco, como en zumo, son consumidos por sus efectos positivos sobre la salud. Diversos estudios demuestran que el consumo de pomelo trae beneficios en la pérdida de peso y mejora del metabolismo lipídico (Daher et al., 2005; Gorinstein et al., 2005; Dow et al., 2012). También se ha demostrado que puede prevenir un número de enfermedades crónicas incluyendo enfermedades cardíacas, obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares y diversos tipos de cáncer como el de colon (Mertens-TalcotT et al., 2006; Vanamala et al., 2006; Díaz Juárez et al., 2009). Otros estudios demuestran su efectividad en el tratamiento de infecciones urinarias (Oyelami et al., 2005), en la mejora del sangrado en pacientes con periodontitis (Staudte et al., 2005) y en la prevención de la osteoporosis (Deyhim et al., 2006).

La composición nutricional del pomelo se muestra en la Tabla I.1. El pomelo es una fuente importante de compuestos bioactivos tales como flavonoides, cumarinas y ácidos hidroxicinámicos (Razo-Aguilera

et al., 2011). Se ha prestado mucha atención a los compuestos fenólicos que presenta el pomelo y algunas publicaciones sugieren que podrían jugar un papel importante en la capacidad antioxidante del zumo de pomelo (Gorinstein et al., 2005; Xu et al., 2008).

Los ácidos fenólicos y flavononas son dos de los principales grupos de compuestos fenólicos en zumos de frutas cítricas (Rapisarda et al., 2003). Los ácidos fenólicos más importantes en el zumo de pomelo son el ácido p-hidroxicinámico, como también el ácido ferúlico, p-cumárico, sinápico, caféico, y clorogénico (Peleg et al., 1991; Gorinstein et al., 2005). Otra característica peculiar del zumo de pomelo es la alta concentración de flavanonas (Vanamala et al., 2006; Gorinstein et al., 2005; Gattuso et al., 2007). Las flavanonas en el pomelo aparecen principalmente bajo formas glicosidadas. Esta glicosidación toma lugar en la posición 7, ya sea rutinosa o neohesperidosa (Aturki et al., 2004). Otros glucósidos de flavanona identificados en zumos de pomelo son la nehoespiridina, didimina y poncirina. Las flavanonas del pomelo han mostrado un amplio rango de propiedades terapéuticas tales como actividad anti-inflamatoria, antihipertensiva, diurética, analgésica e hipolipidémica (Aturki et al., 2004; Xu et al., 2008).

## I. INTRODUCCIÓN

---

---

**Tabla I.1** Características nutricionales de pomelo (*Star Ruby*) (USDA, 2011).

Análisis proximal	100 g
Agua	88.06 ± 0.76
Energía (kcal)	42
Carbohidratos (g)	10.66
Azúcares totales (g)	6.89 ± 0.37
Sacarosa	3.51 ± 0.17
Glucosa	1.61 ± 0.16
Fructosa	1.77 ± 0.08
Proteína (g)	0.77 ± 0.03
Grasa total (g)	0.14 ± 0.03
Fibra dietética (g)	1.6 ± 0.2
Cenizas (g)	0.36 ± 0.008
Micronutrientes	100 g
Vitamina C (mg)	31.2 ± 1.4
Tiamina (mg)	0.043 ± 0.002
Riboflavina (mg)	0.031 ± 0.002
Niacina (mg)	0.204 ± 0.018
Ácido pantotéico (mg)	0.262 ± 0.017
Folato total (µg)	13.5 ± 0.5
Vitamina A (IU)	1150
Vitamina E (mg)	0.13 ± 0.016
Vitamina B6 (mg)	0.053 ± 0.006
β-caroteno (µg)	686 ± 245.8
α-caroteno (µg)	3 ± 2.33
β-criptoxantina (µg)	6 ± 4.9
Xantofilas (µg)	5 ± 5
Licopeno (µg)	1419 ± 525

## I.2 PRODUCTOS DERIVADOS DE LAS FRUTAS

La mayor parte de las frutas se producen de forma estacional y por lo tanto no están disponibles en condiciones frescas durante todo el

año. Además la mayoría presentan altas cantidades de agua y de azúcares lo cual hace que sean muy susceptibles al deterioro físico, químico y microbiológico. Para evitar esto y para alargar su vida útil, son sometidas a diferentes técnicas de conservación (Saifullah et al., 2014), que dan lugar a una variedad de productos a base de frutas que hoy podemos encontrar en el mercado.

### I.2.1 Frutas desecadas

Son productos obtenidos a partir de frutas frescas a las que se les ha reducido la humedad por la acción natural del aire y del sol. La desecación de frutas es una de las técnicas de conservación más antiguas. En España se sigue utilizando la desecación por el sol en las regiones más favorecidas por el clima, obteniendo productos como uvas pasas, higos secos, dátiles, orejones de melocotón o albaricoques. Este procedimiento da excelentes resultados y conserva todo el sabor y todas las cualidades de la fruta, pero no las cualidades nutricionales. La humedad residual suele estar alrededor del 20%.

### I.2.2 Frutas deshidratadas

Son productos obtenidos a partir de frutas carnosas frescas a las que se les ha reducido la humedad mediante procesos apropiados y autorizados. La deshidratación conlleva a la eliminación casi total del

## **I. INTRODUCCIÓN**

---

---

agua del alimento hasta llegar a niveles menores del 5%. El procedimiento de deshidratación se lleva a cabo de diferente forma según el tipo de fruta y la finalidad del producto. Entre algunas de las técnicas de deshidratación utilizadas para su obtención se encuentra el secado por aire caliente, la deshidratación osmótica, con o sin vacío, altas presiones hidrostáticas, pulsos eléctricos, microondas, y la liofilización.

### **I.2.3 Conservas de frutas**

Se definen como productos perecederos, en los que la estabilidad en las condiciones normales de almacenamiento está asegurada por el cierre hermético del recipiente y por la aplicación de tratamiento térmico mediante la esterilización. El procedimiento permite la destrucción de enzimas y de las formas vegetativas y esporuladas de los microorganismos.

### **I.2.4 Confituras y mermeladas**

Las mermeladas son los productos preparados por cocción de frutas enteras, troceadas, trituradas, tamizadas o no a las que se le han incorporado azúcares, hasta conseguir un producto semilíquido o espeso. Su contenido en fruta es como mínimo del 30% y el contenido de azúcares debe ser igual o superior al 40% expresado como °Brix.

Las confituras se definen como la mezcla, con la consistencia gelificada apropiada, de azúcares, de pulpa o de puré, de una o varias especies de fruta y de agua. El contenido de azúcares debe ser igual o superior al 60%.

### I.2.5 Zumos de frutas

Se designa de esta manera al producto susceptible de fermentación, pero no fermentado, obtenido a partir de frutas sanas y maduras, frescas o conservadas por el frío, de una o varias especies, que posea el color, el aroma y el sabor característico de las frutas de la que procede. Dentro de esta categoría se pueden encontrar los zumos de frutas a partir de concentrado, el zumo de frutas concentrado, el zumo de fruta deshidratado o en polvo y el néctar de frutas.

### I.2.6 Fruta en polvo

La fruta en polvo presenta varias ventajas frente a la fruta fresca, entre ellas se destaca una mayor estabilidad química y microbiológica, mayor disponibilidad durante todo el año y además permite un mejor manejo en las etapas de almacenamiento y distribución (Fernandes et al., 2011). No obstante, la producción de fruta en polvo está condicionada por la disponibilidad de métodos que permitan la transformación del producto concentrado o el zumo de fruta inicial,

## **I. INTRODUCCIÓN**

---

---

en una forma físicamente estable. Si bien es cierto que por su baja actividad del agua gozan de una alta estabilidad microbiológica, química y bioquímica, el inconveniente de los productos de fruta en polvo es que son altamente higroscópicos. En este sentido, la evolución del producto en polvo se ve 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, 1995a). 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  $T_g$ , del orden de la temperatura ambiente. Para favorecer el estado vítreo, una opción adecuada es la adición de materiales

encapsulantes de alto peso molecular que contribuyen a elevar el valor de la  $T_g$ . 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).

A continuación se describen algunos aspectos sobre dos de los métodos que proporcionan productos en polvo de mayor calidad, la liofilización y la atomización. También se describen algunos materiales de encapsulación utilizados en la industria para la obtención de polvos y sus propiedades en relación con las características del producto final.

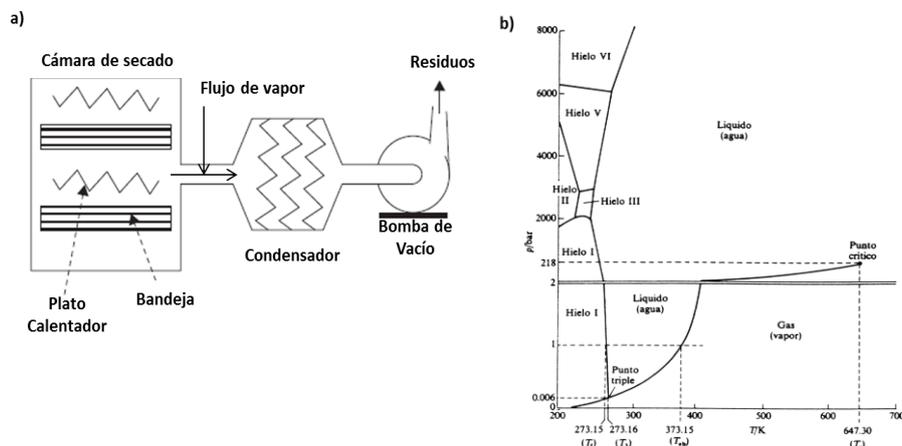
### I.3 TECNOLOGÍAS PARA LA OBTENCIÓN DE FRUTA EN POLVO

#### I.3.1 Liofilización

La liofilización es una técnica de deshidratación, que consiste en la eliminación de agua del producto por sublimación. En este proceso el producto es previamente congelado y sometido posteriormente a vacío, por lo que el hielo se transforma directamente a vapor sin pasar por el estado líquido. El diagrama de fase del agua de la Figura I.1 muestra las condiciones necesarias para la sublimación del agua pura, por debajo de su punto triple (Martínez-Navarrete et al., 1998). Sin embargo, la presencia de solutos en los alimentos desplaza el punto triple hacia valores inferiores. Durante el secado por

## I. INTRODUCCIÓN

sublimación, la presión parcial del vapor que rodea el producto debe ser inferior a la presión del vapor del hielo, a la misma temperatura. La energía suministrada en forma de calor debe permitir la sublimación, cambio de estado endotérmico, pero la temperatura del producto debe permanecer inferior a su temperatura de transición vítrea. Durante esta primera etapa del secado por liofilización, se elimina la mayor parte del hielo del producto formado al congelar. Seguidamente ocurre una segunda etapa llamada secado secundario en donde se elimina la mayor parte del agua líquida adsorbida en la matriz sólida.



**Figura I.1** Representación de un sistema común de liofilización (a), diagrama de estado del agua (b) (Adaptado de Martínez-Navarrete et al., 1998).

Normalmente la liofilización da lugar a un producto con un contenido de humedad entre el 1 y el 3%. Debido a la escasa presencia de agua en estado líquido, a las bajas temperaturas requeridas en el proceso y

a la baja presión, las reacciones de deterioro químico, bioquímico y microbiológico se reducen al máximo por lo que el producto final resulta ser de excelente calidad. Además, el estado sólido del agua durante la liofilización protege la estructura primaria y la forma de los productos con la mínima reducción de volumen (Ratti, 2001), dando lugar a productos fáciles de almacenar por un largo período de tiempo en condiciones adecuadas y que pueden volver a reconstituirse fácilmente (Oetjen y Haseley, 2008).

Esta técnica se ha utilizado ampliamente desde hace varios siglos en la industria farmacéutica en la conservación de productos sensibles a la temperatura, en particular los de origen biológico tales como enzimas, vacunas, plasma sanguíneo, fármacos, entre otros (Tang y Pikal, 2004). En la industria alimentaria su aplicación se ha centrado en productos sensibles al calor y de alto valor comercial, como el café, té, o ingredientes específicos para algunos productos alimentarios (sopas deshidratadas, embutidos, carne, pasta, etc.), entre otros. Sin embargo el alto coste de esta técnica limita su utilización. No obstante la aplicación de técnicas combinadas con la liofilización como la adsorción, fluidización y las microondas, han sido estudiadas con el fin de disminuir los costes e incrementar su aplicación, aunque en muchos casos la calidad del producto es inferior en comparación al tratamiento solo (Ratti, 2001). A pesar de ello este proceso no deja de ser una alternativa valiosa para la obtención de alimentos de alta calidad nutritiva, funcional y sensorial.

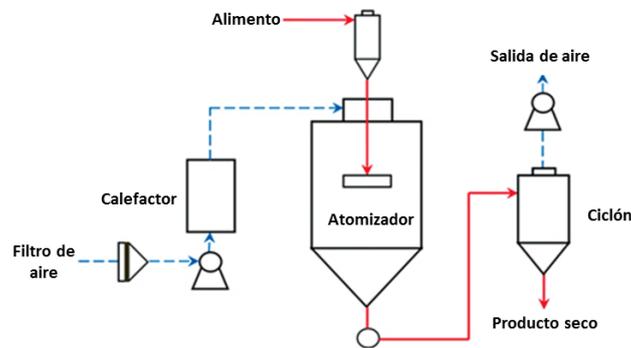
## **I. INTRODUCCIÓN**

---

---

### **I.3.2 Atomización**

Por su parte la atomización o secado por pulverización es una operación unitaria de transferencia simultánea de calor y masa, por medio de la cual un producto líquido es atomizado en una corriente de aire caliente obteniendo instantáneamente un producto en polvo. El gas utilizado generalmente es aire aunque también se puede usar gas inerte o nitrógeno. El líquido de alimentación puede ser una solución, una emulsión o una suspensión. El proceso de atomización da lugar a polvos muy finos (10-50  $\mu\text{m}$ ) o partículas de gran tamaño (1-3 mm) dependiendo del material de entrada y las condiciones de operación (Gharsallaoui et al., 2007). En la Figura I.2 se muestra el proceso general de atomización en el cual el líquido de alimentación es atomizado en pequeñas gotas las cuales entran en contacto con la corriente de aire caliente. En ese momento se establecen balances de temperatura y presión parcial de vapor entre la fase líquida y gaseosa. La transferencia de calor ocurre desde el aire hacia el producto, mientras que la transferencia de agua ocurre en dirección opuesta debido a la diferencia de presión de vapor. En el proceso típico el líquido es atomizado en la misma dirección del flujo de aire caliente. La temperatura de entrada del aire es alta, hasta 180 °C, y la evaporación ocurre instantáneamente por lo que los polvos secos son expuestos a temperaturas moderadas de (50 – 80 °C) lo que limita la degradación térmica.



**Figura I.2** Representación de un diseño típico de un sistema de secado por atomización.

La atomización ha sido utilizada ampliamente como una técnica de micro-encapsulación en la industria farmacéutica y alimentaria. Los polvos obtenidos generalmente presentan buenas propiedades de reconstitución, baja actividad del agua y permiten ser almacenados y transportados fácilmente (Kha et al., 2010). Dentro de las ventajas ofrecidas por esta técnica están la fácil industrialización y la posibilidad de una producción en continuo. Sin embargo el contacto prolongado con las altas temperaturas del aire puede comprometer en algún caso las propiedades bioactivas de los alimentos lo cual debe ser evitado.

Aunque normalmente se ha considerado la atomización como una tecnología menos costosa en comparación a la liofilización, estudios previos en el grupo de investigación han concluido que, en el caso de la deshidratación de pomelo, el producto liofilizado puede llegar a tener un precio 2.16 veces inferior al atomizado, lo cual se debe a las

## **I. INTRODUCCIÓN**

---

---

peculiaridades de la fruta que, por su composición, disminuyen enormemente el rendimiento durante la atomización. Así, aunque los costes eléctricos son 8.5 veces superiores en el caso de la liofilización, tanto el coste en materia prima, como la inversión inicial en maquinaria, los gastos de personal, mantenimiento y amortización son superiores en el caso de la atomización (Casanova, 2016).

### **I.3.3 Materiales encapsulantes**

La micro-encapsulación es un proceso en el cual gotas líquidas, partículas sólidas o compuestos gaseosos son atrapados en películas delgadas de un agente micro-encapsulante de calidad alimentaria. Este agente recubre o envuelve la matriz homogénea o heterogénea, dando lugar a pequeñas cápsulas con propiedades destacables. Una de las razones por las cuales se aplica la micro-encapsulación en la industria alimentaria, es porque esta técnica proporciona una barrera física entre el compuesto y las agresiones de agentes medioambientales tales como la luz, la humedad, el oxígeno, etc., contribuyendo así al incremento de la vida útil del producto y controlando la liberación del producto encapsulado al exterior (Fang y Bhandari, 2010).

Existen diferentes procesos para llevar a cabo la micro-encapsulación y entre ellos la liofilización y la atomización (Vieira da Silva et al., 2016). La encapsulación mediante el secado por liofilización se

consigue cuando los materiales encapsulantes se homogenizan en la matriz original y son conjuntamente deshidratados dando lugar a partículas con forma irregular. El periodo prolongado de secado en esta técnica se ve normalmente como una desventaja, sin embargo es adecuada para encapsular esencias solubles en agua y aromas naturales (Fang y Bhandari, 2010). Diferentes estudios muestran una mayor protección de los compuestos bioactivos de ciertos alimentos durante el almacenamiento cuando han sido encapsulados mediante esta técnica (Delgado-Vargas et al., 2000; Laine et al., 2008).

Por su parte el secado por atomización, como se describió anteriormente, es uno de los procesos más usados en este sentido. Una de las limitaciones que presenta esta tecnología es la baja disponibilidad de materiales encapsulantes que pueden ser usados, ya que estos deben ser solubles en agua. Entre los agentes usados se encuentran biopolímeros de varias fuentes, incluyendo almidones modificados e hidrolizados, derivados de celulosas, gomas y ciclodextrinas, y también se usan proteínas tales como la proteína de suero, caseinatos y gelatina, o nuevos biopolímeros emergentes tales como productos provenientes de la reacción de Maillard (Jafari et al., 2008; Fang y Bhandari, 2010). Dentro de las propiedades que exhiben estos materiales están la no reactividad con el material a encapsular, la habilidad para proveer máxima retención durante el procesado y almacenamiento contra las condiciones medioambientales, bajo coste y alta funcionalidad, así como la liberación completa del material

## **I. INTRODUCCIÓN**

---

---

encapsulado bajo condiciones deseadas, buenas propiedades reológicas y de solubilidad.

Las maltodextrinas provenientes de la hidrólisis del almidón, han sido muy utilizadas por su bajo coste, sabor suave y una baja viscosidad a un alto contenido de sólidos. El grado de protección de este material, está directamente relacionado con la dextrosa equivalente (DE) del almidón hidrolizado. Una maltodextrina con un DE alto generalmente es menos permeable al oxígeno y da lugar a un polvo con una mayor eficiencia de encapsulación. No obstante las maltodextrinas carecen de propiedades emulsionantes y suelen dar lugar a una mala retención de sabores durante el secado por atomización (Jafari et al., 2008). A su vez, las gomas son también usadas en la microencapsulación por sus buenas propiedades de encapsulación, estabilización de la emulsión y alta retención de volátiles durante los procesos de secado. Entre todas las gomas, la de acacia, llamada goma arábiga, destaca por sus excelentes propiedades emulsificantes y por lo tanto es usada ampliamente en la industria alimentaria. La goma arábiga es un polímero formado por ácido D-glucurónico, L-ramnosa, D-galactosa, y L-arabinosa con un contenido aproximado de 2% de proteína al cual se le atribuye el aporte de las propiedades emulsificantes (Dickinson, 2003). Sin embargo el alto coste de este material, el suministro limitado y la variación en su calidad ha restringido en ocasiones su uso (Gharsalloui et al., 2007). El uso de maltodextrinas y goma arábiga, entre otros, no solo actúan como

materiales de encapsulación sino que al ser sustancias de alto peso molecular ayudan a incrementar la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) de los productos, reduciendo la higroscopicidad y pegajosidad, dando lugar a polvos fáciles de manejar durante el procesado y transporte y con mejores características de calidad (Barbosa-Cánovas et al., 2005; Gabas et al., 2007; Sablani et al., 2008; Silva et al., 2006; Telis y Martínez-Navarrete, 2009).

La fibra de bambú es una fibra dietética o polisacárido no amiláceo proveniente de la parte comestible de la planta de bambú. Es una fibra insoluble compuesta principalmente de celulosa la cual confiere diferentes funciones técnicas en los alimentos entre ellas, según indica la empresa VITACEL que la comercializa, presenta una alta capacidad de retención de agua, independiente del pH y la temperatura, por lo cual la humedad se distribuye uniformemente por todo el producto terminado evitando la sinéresis. También posee propiedades de crioprotección y estabilidad durante los procesos de congelación y descongelación evitando la formación de grandes cristales de hielo. Entre otras propiedades se le atribuye como un agente de unión de aceites y agua debido a su capilaridad y presenta propiedades antiaglomerantes. Pero además aporta una funcionalidad nutricional relacionada con la salud. No obstante el uso de esta fibra como material encapsulante no ha sido estudiado.

## *II. OBJETIVOS*



### II.1 OBJETIVO GENERAL

Seleccionar el mejor proceso, entre la liofilización y la atomización, para la obtención de pomelo en polvo de alta calidad nutritiva, funcional y sensorial.

### II.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar la mejor combinación humedad: concentración de goma arábica: concentración de fibra de bambú para la liofilización del triturado de pomelo, de manera que se obtenga un producto en polvo con las mejores propiedades físicas (humedad, higroscopicidad, porosidad, luminosidad), nutritivas (vitamina C) y funcionales (fenoles totales, carotenoides totales, actividad antioxidante).
- Identificar la mejor combinación temperatura de entrada del aire: concentración de goma arábica: concentración de fibra de bambú para la atomización del licuado de pomelo de manera que permita la obtención de un producto en polvo que, al igual que en el caso de la liofilización, presente las mejores propiedades físicas, nutritivas y funcionales, además del máximo rendimiento.
- Identificar el poder encapsulante de cada uno de los solutos y el papel del contenido en agua, en el caso de la liofilización, frente a los

## II. OBJETIVOS

---

---

principales compuestos bioactivos del pomelo y su capacidad antioxidante.

- Establecer la temperatura, humedad y actividad del agua críticas para el almacenamiento de los productos liofilizado y atomizado optimizados que aseguren la estabilidad de las propiedades físicas, nutritivas y funcionales estudiadas.
- Evaluar, mediante un análisis sensorial, las posibles diferencias entre los zumos preparados por rehidratación de los productos en polvo optimizados obtenidos por liofilización y por atomización.

### *III. MATERIALES Y MÉTODOS*



#### III.1 MATERIAS PRIMAS EMPLEADAS EN EL ESTUDIO

Los frutos de pomelo (*Citrus paradise* var. Star Ruby) utilizados en este estudio, fueron adquiridos en un supermercado local del área de Valencia. Los frutos fueron seleccionados en función del tamaño, firmeza, color y ausencia de daños físicos aparentes en la superficie. Se empleó goma arábica (GA) y fibra de bambú (FB) (Sigma-Aldrich, Estados Unidos), los cuales fueron incorporados a la fruta previa liofilización/atomización.

#### III.2 OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE LIOFILIZACIÓN Y ATOMIZACIÓN

##### III.2.1 Preparación de la muestra y condiciones del proceso de liofilización

Para la preparación de las muestras liofilizadas, los pomelos fueron previamente pelados, cortados y triturados en un robot de cocina (Thermomix TM 21, Vorwerk, España). El pomelo triturado (PT) fue caracterizado, por triplicado, en su contenido de agua, solutos solubles, coordenadas y atributos de color CIE L\*a\*b\*, compuestos bioactivos (fenoles totales, vitamina C, carotenoides totales) y actividad antioxidante. La metodología para su determinación se describe en el apartado III.2.3.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

---

Una vez el pomelo fue triturado se procedió a incorporar la GA y la FB en las proporciones establecidas por el diseño experimental utilizado (Apartado III.2.5, Tabla III.1), el cual se obtuvo a partir de la metodología de superficie de respuesta que se comenta en el apartado III.2.5. Los solutos GA y FB fueron mezclados con el pomelo triturado y homogenizados mediante agitación magnética a 750 rpm (MBG-05E OVAN, EU). Una vez incorporados los solutos, se ajustó el contenido de agua de las muestras de acuerdo a lo establecido en el diseño experimental, añadiendo agua en su caso, o deshidratando mediante secado parcial por microondas (Moulinex 5141 AFW2, España), a 2 W/g. El control de la humedad durante este pre-secado se hizo a partir de los °Brix iniciales de la muestra con solutos y la pérdida de peso. Posteriormente las muestras se dispusieron en bandejas de aluminio de 23 cm de diámetro formando una capa de 0.5 cm de espesor y se congelaron a -45 °C (Liebherr Mediline, LCT2325) hasta su liofilización. Para la liofilización se utilizó un liofilizador Telstar Lioalfa-6, a 0.021 Pa y -59 °C en el condensador, durante 24 h. Una vez las muestras estaban liofilizadas se molieron (Kenwood, CH580, Alemania) y se tamizaron hasta obtener un polvo homogéneo con un tamaño de partícula menor a 0.7 mm. Los polvos se envasaron a vacío y fueron mantenidos en un desecador con silicagel a 25°C hasta su posterior análisis.

Las variables respuesta analizadas en los polvos liofilizados fueron la humedad, la higroscopicidad, la porosidad, la luminosidad, la

diferencia de color con respecto a la muestra liofilizada sin solutos, el contenido en fenoles totales, carotenoides totales, vitamina C y la actividad antioxidante. Todas las determinaciones analíticas se describen en el apartado III.2.3

#### **III.2.2 Preparación de la muestra y condiciones del proceso de atomización**

La fruta fue previamente lavada, pelada y licuada en un procesador eléctrico (DeLonghy, España). El pomelo fresco de partida (P) y el licuado (PL) obtenidos fueron caracterizados en su contenido de agua, solutos solubles, coordenadas y atributos de color CIE L\*a\*b, compuestos bioactivos (fenoles totales, vitamina C, carotenoides totales) y actividad antioxidante, como se describe en el apartado III.2.3. Los solutos GA y FB fueron incorporados en las proporciones establecidas según el diseño experimental aplicado (Apartado III.2.5, Tabla III.2). Para ello se disolvieron a las concentraciones establecidas, completamente en agua destilada mediante agitación magnética a 750 rpm y posteriormente se mezclaron con el PL en relación 1:1, obteniéndose así la mezcla que va a alimentar el atomizador ( $m_{aa}$ ). Para la atomización de la mezcla se utilizó un equipo Buchi-mini (B-290, Suiza). En todos los casos la velocidad de aspiración, el flujo del alimento y del aire de atomización fueron de 35 m<sup>3</sup>/h, 9 mL/min y 473 L/h, respectivamente. La temperatura del aire de entrada fue variada también según el diseño experimental (Tabla III.2). Cuando se alcanzó

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

---

una temperatura de 50 °C en el ciclón del equipo, los polvos obtenidos de los diferentes tratamientos se recuperaron en viales y fueron empacados al vacío y mantenidos en un desecador con silicagel a temperatura ambiente hasta su posterior análisis. En este caso las variables de respuesta estudiadas en los polvos atomizados fueron la humedad, el rendimiento en producto, el rendimiento del secado, la higroscopicidad, la porosidad, la luminosidad, el contenido en fenoles totales, carotenoides totales, vitamina C y la actividad antioxidante. Las determinaciones analíticas se describen en el apartado III.2.3.

#### **III.2.3 Determinaciones analíticas**

III.2.3.1 Contenido de agua. Se utilizó el método gravimétrico tras colocar un peso de muestra conocido en una estufa (Vaciotem, J.P. Selecta, España) a  $60\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  y a una presión de  $<100\text{ mm Hg}$  hasta peso constante. Este método consiste en la determinación de la pérdida de peso de la muestra, que se corresponde con el agua presente.

III.2.3.2 Solutos solubles ( $x_s$ ). Se estimaron a partir de los °Brix usando un refractómetro (Refracto 30PX by Mettler Toledo, Suiza) a 20 °C.

III.2.3.3 Higroscopicidad ( $H_{gr}$ ). Para obtener la  $H_{gr}$  se colocaron proximadamente 2g de muestra en un ambiente creado por una

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

---

disolución saturada de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (81% de humedad relativa) a 25 °C durante 24h (Cai y Corke, 2000).

III.2.3.4 Porosidad ( $\epsilon$ ). Se calculó partir de la densidad real y la densidad aparente (Ec. 1). La densidad real ( $\rho$ ) fue predicha a partir de los componentes mayoritarios, en este caso el agua y los carbohidratos propios y añadidos (Ec. 2). Para obtener el valor de la densidad aparente ( $\rho_a$ ), aproximadamente 2 g de polvo fueron transferidos a un tubo de ensayo graduado de 10 mL que se sometió a agitación usando un vortex (Infrared Vortex Mixerv, F202A0164) a 1600 rpm durante 10 s. Para obtener  $\rho_a$  se dividió la masa del polvo (g), por el volumen ocupado ( $\text{cm}^3$ ) en el tubo después de la agitación.

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

$$\frac{1}{\rho} = \frac{x_w}{\rho_w} + \frac{x_{CH}}{\rho_{CH}} \quad (2)$$

Donde  $\epsilon$  es la porosidad;  $\rho$  y  $\rho_a$  son la densidad real y aparente, respectivamente ( $\text{g}/\text{cm}^3$ );  $x_i$  y  $\rho_i$  son la fracción másica y densidad, respectivamente del agua ( $i = w$ ) y carbohidratos ( $i = CH$ ) de la mezcla, siendo  $\rho_w$  (20 °C) = 0.9976  $\text{g}/\text{cm}^3$  y  $\rho_{CH}$  (20 °C) = 1.4246  $\text{g}/\text{cm}^3$  (Okos, 1986).

III.2.3.5 Color. El color de los productos en polvo fue medido una vez que se habían comprimido las muestras como describen Telis y Martínez-Navarrete (2010), usando un espectrocolorímetro Minolta

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

---

CM-2002 Camera Co. (Japón). Las coordenadas de color CIE L\*a\*b\* se obtuvieron utilizando como referencia el iluminante D65 y observador 10°. L\* indica la luminosidad, a\* indica la cromaticidad en un eje de verde (-) a rojo (+) y b\* la cromaticidad en un eje de azul (-) a amarillo (+). Con estos valores se calculó el tono ( $h_{ab}^*$ ) (Ec. 3) y el croma o pureza de color ( $C_{ab}^*$ ) (Ec. 4). Además, para los productos en polvo liofilizados, se calculó la diferencia de color ( $\Delta E$ ) de cada muestra con respecto al polvo liofilizado obtenido a partir de la muestra sin solutos añadidos (Ec. 5).

$$h_{ab}^* = \arctg \frac{b^*}{a^*} \quad (3)$$

$$C_{ab}^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (4)$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \quad (5)$$

También se obtuvieron las coordenadas CIEL\*a\*b\*, sobre fondo negro, del pomelo triturado y licuado utilizado una cubeta de 38 x 50 x 20 mm. En este caso la ventana de medición fue de 30 mm de diámetro.

III.2.3.6 Fenoles totales (FT). La cuantificación de los FT se basó en el método de Folin-Ciocalteu. En el caso del pomelo fresco la extracción se realizó homogenizando 35 g de pomelo con 40 mL de metanol, 10 mL de HCl (6N) y NaF (2 mM) en un ultra- turrax (T25D Ultra-turrax, IKA, Alemania) por 5 minutos. Para el producto en polvo 2 g fueron homogenizados con 20 mL de metanol, 5 mL de HCl (6N) y NaF (2 mM). La muestra homogenizada fue centrifugada a 12.857xg y 4 °C

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

---

por 10 min (Eppendorf centrifuge 5804R, Alemania). Para la cuantificación de los fenoles totales, se adicionaron 15 mL de agua destilada y 1.25mL de reactivo Folin Ciocalteu (Sigma, Alrich, Alemania) a 250  $\mu$ L de sobrenadante. Las muestras fueron mezcladas y permanecieron 8 min en reposo y bajo oscuridad. Seguidamente se añadió 3.75mL de una solución acuosa de carbonato de sodio (7.5%, p/v) y se llevó a 25 mL con agua destilada en un matraz aforado de 25 mL. Las muestras permanecieron en reposo y en la oscuridad por 2 horas a temperatura ambiente, e inmediatamente fueron medidas a 765 nm en un espectrofotómetro UV-visible (Thermo Electron Corporation, Estados Unidos). El contenido en fenoles totales fue expresado como ácido gálico equivalente (GAE) usando una curva patrón de 0-800 mg de ácido gálico (Sigma-Aldrich, Alemania)/L.

III.2.3.7 Carotenoides totales (CT). El contenido de CT presente en las muestras fue extraído siguiendo la metodología recomendada por Olives Barba et al. (2006). Para ello 5g de pomelo fresco o, en su caso, 1 g de polvo, fue mezclado con 100 mL de hexano/acetona/etanol (50:25:25, v/v/v) en un agitador magnético a 750 rpm por 30 minutos. Seguidamente se adicionaron 15 mL de agua destilada y se agitó por 3 minutos más. Se tomó una alícuota de 0.6mL de la capa superior y se evaporó con una corriente de nitrógeno líquido. El residuo fue disuelto en 1mL de tetrahidrofurano/acetonitrilo/metanol (15:30:55, v/v/v). El método de referencia AOAC (2000) se utilizó para la cuantificación. La lectura de las muestras fue realizada a 446 nm en

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

---

un espectrofotómetro UV-Visible (Thermo Electron Corporation, USA). El contenido de CT se refirió a  $\beta$ -caroteno (Fluka-Biochemika, Estados Unidos).

III.2.3.8 Vitamina C (VC). La VC fue cuantificada por HPLC (Jasco, Italy). Para cuantificar el contenido total de VC se procedió a la reducción del ácido dehidroascórbico a ácido ascórbico, mezclando 0.5g de muestra en 2mL de una solución de 20g/L de DL-Ditiotreitol (Sigma-Aldrich), por 2 horas a temperatura ambiente y en la oscuridad (Igual et al., 2014). Después 1 g de esta mezcla fue extraída con 9 mL de ácido oxálico al 0.1% (p/v), por 3 minutos y filtrada inmediatamente a través de un filtro de membrana de 0.45  $\mu$ m antes de la inyección (Xu et al., 2008). Para la cuantificación se utilizó una columna Zorbax SB-C18 de 5  $\mu$ m (4.6 x 25 mm) (España); ácido oxálico 0.1% como fase móvil, volumen de inyección de 20  $\mu$ l, velocidad de flujo de 1 mL/min, detección a 243 nm y 25 °C. Se preparó una solución estándar de ácido ascórbico (AA, Panreac, España).

III.2.3.9 Actividad antioxidante (AOA). Se utilizó el método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) basado en la capacidad de las sustancias antioxidantes de captar radicales libres. 5mL de pomelo fresco o en su caso 1 g de polvo, fue homogenizado con 10mL de metanol y centrifugado (Eppendorf centrifuge 5804R, Alemania) a 12.857xg y 4 °C por 10 minutos. 0.1 mL del sobrenadante fue adicionado a 3.9 mL de DPPH diluído en metanol (0.030 g/L, Sigma-Aldrich, Alemania). Se

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

midió la absorbancia cada 0.25 minutos a 515 nm en un espectrofotómetro UV-Visible (Thermo Electron Corporation, Estados Unidos), hasta que la reacción se mantuvo estable. El porcentaje de DPPH fue calculado según la Ec. (6). Los resultados finales fueron expresados como mmol de trolox equivalente (TE), usando una curva de calibración de Trolox (Sigma-Aldrich, Alemania) en un rango de 6.25-150 nM (Iguar et al., 2014).

$$DPPH = \frac{A_{control} - A_{muestra}}{A_{control}} \quad (6)$$

Dónde:  $A_{control}$  es la absorbancia del control (absorbancia de la muestra a tiempo 0);  $A_{muestra}$  es la absorbancia de la muestra cuando la reacción se ha estabilizado.

III.2.3.10 Rendimiento del proceso. Para el caso de la atomización se consideró el rendimiento del proceso teniendo en cuenta el rendimiento en producto ( $R_p$ , Ec. 7) y el rendimiento del secado ( $R_s$ , Ec. 8 y 9).

$$R_p = 100 \frac{m_p^{bh}}{m_{aa}^{bh}}, \left[ \frac{g \text{ polvo}}{100g \text{ alimentación}} \right] \quad (7)$$

$$R_s = 100 - R_p - R_L, \left[ \frac{g \text{ agua}}{100g \text{ alimentación}} \right] \quad (8)$$

$$R_L = 100 \frac{m_{aa}^{bs} - m_p^{bs} + (m_{aa}^{bs} - m_p^{bs}) * X_{w_p}^{bs}}{m_{aa}^{bh}}, \left[ \frac{g \text{ producto perdido}}{100g \text{ alimentación}} \right] \quad (9)$$

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

---

Dónde:  $m_p$  es la masa del polvo obtenido a partir de una determinada masa de alimento que entra al atomizador ( $m_{aa}$ ), en base húmeda (bh) o base seca (bs),  $R_L$  es el rendimiento en pérdidas y  $x_{w_p^{bs}}$  es el contenido de agua del polvo en base seca.

#### III.2.4 Expresión de los resultados

Para hacer comparables los resultados del contenido en compuestos bioactivos y actividad antioxidante obtenidos del pomelo triturado utilizado para liofilizar y del licuado utilizado para atomizar, los de la muestra licuada fueron referidos al correspondiente lote de pomelo (Ec.10)

$$m_i^P = m_i^{PL} \frac{m^{PL}}{m^P} \quad (10)$$

Dónde:  $m_i^P$  es la masa de cada compuesto bioactivo o actividad antioxidante analizados en el pomelo fresco (p/p),  $m_i^{PL}$  es la masa de cada compuesto bioactivo o actividad antioxidante obtenido experimentalmente en el pomelo licuado (p/p) y  $m^{PL}$  es la masa del pomelo licuado (g) obtenida a partir de una determinada masa (g) de pomelo fresco ( $m^P$ ).

Así mismo, como cada muestra tenía una composición diferente de solutos (Tabla III.1 y Tabla III.2), todos los resultados composicionales de los productos en polvo fueron referidos en solutos de pomelo (SP) según las Ec. (11) y Ec. (12), con el objetivo de hacer los resultados comparables.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

---

$$m_i = \frac{m_i^p}{(1-x_w^p)(X_{SP/ST})} \quad (11)$$

$$X_{SP/ST} = \frac{m_t(1-x_w^t)}{m_{GA} + m_{FB} + m_t(1-x_w^t)} \quad (12)$$

Dónde:  $m_i$  es la masa de cada compuesto analizado referido a solutos de pomelo (mg/g<sub>SP</sub>),  $m_i^p$  es la masa de cada compuesto obtenido experimentalmente en el polvo (mg/g),  $x_w^p$  es el contenido de agua del polvo (g<sub>agua</sub>/g<sub>polvo</sub>),  $X_{SP/ST}$  es la fracción másica de solutos de pomelo (SP) respecto a los solutos totales (ST),  $m_t$ ,  $m_{GA}$ , y  $m_{FB}$  es la masa del pomelo triturado o licuado, goma arábica y fibra de bambú, en la muestra respectivamente, y  $x_w^t$  es el contenido de agua del pomelo triturado o licuado (p/p).

#### III.2.5 Diseño experimental y análisis estadístico

Para la optimización de ambos procesos (liofilización y atomización), se realizó un diseño experimental centrado compuesto, rotatable, ortogonal, estudiando el efecto de tres variables independientes de proceso sobre las variables respuesta relacionadas con la calidad fisicoquímica y funcional de los productos en polvo obtenidos descritas en el apartado III.2.3. Las variables independientes consideradas han sido, por una parte, la cantidad de solutos añadidos, tanto de goma arábica 4-12 g/100g (PT + solutos) ó PL) como de fibra de bambú (0-2 g/100g (PT + solutos) ó PL) y, por otra, en el caso de la liofilización la humedad de entrada de la mezcla al liofilizador ( $x_w^0$ , 70-90 g agua/100<sub>mezcla</sub>), y en el caso de la atomización la temperatura de entrada del producto al atomizador (T, 120-180 °C). El intervalo de valores considerados para las variables independientes fue

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

---

establecido de acuerdo a resultados de estudios pre-experimentales y bibliográficos (Agudelo et al., 2014; Igual et al., 2014; Kha et al., 2010; Quek et al., 2007). Para estudiar el efecto de estas variables con el menor número de tratamientos posibles, el diseño propuso llevar a cabo 23 experiencias de liofilización y 23 de atomización, que se muestran en la Tabla III.1 y Tabla III.2 respectivamente. Estas experiencias fueron realizadas en orden aleatorio. Para definir la significación estadística de los términos del modelo y para fijar el modelo de regresión que mejor relacionaba los resultados experimentales con las variables independientes se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y un análisis de superficie de respuesta. El modelo polinómico generalizado propuesto para la predicción de las variables de respuesta en función de las variables independientes fue dado por la Ec. (13).

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{33} x_3^2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 \quad (13)$$

Dónde:  $Y_i$  es el valor de la variable respuesta predicho por el modelo,  $\beta_0$  es una constante,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  y  $\beta_3$  son los coeficientes de regresión para los efectos lineales;  $\beta_{11}$ ,  $\beta_{22}$  y  $\beta_{33}$  son los coeficientes de regresión para los efectos cuadráticos; y  $\beta_{12}$ ,  $\beta_{13}$  y  $\beta_{23}$  son los coeficientes de regresión para la interacción de los efectos. En este modelo,  $x_1$ ,  $x_2$  y  $x_3$  son las variables independientes a saber,  $x_1 = x_w^0$  (g<sub>agua</sub>/100<sub>mezcla</sub>) ó T (°C),  $x_2 = x^{GA}$  (g/100g<sub>PT ó PL</sub>) y  $x_3 = x^{FB}$  (g/100g<sub>PT ó PL</sub>)

Después del ajuste del modelo generalizado a cada variable respuesta, los términos estadísticamente no significativos ( $p > 0.05$ ),

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

---

fueron descartados y se ajustaron nuevamente sólo con los términos significativos, con el fin de obtener el modelo final reducido (Mirhosseini et al., 2009). La falta de ajuste de cada modelo final seleccionado ( $p > 0.05$ ) confirmó la deseabilidad del modelo ajustado y la no significancia de Durbin-Watson demostró que no había auto correlación significativa o correlación serial. La bondad del ajuste de los modelos finales reducidos de los datos experimentales se evaluó a partir del coeficiente de determinación ajustado ( $R^2$  adj) y el error estándar de la estima (EE) entre los valores predichos y los experimentales.

Para conocer el mejor valor de cada una de las variables independientes que permite conseguir un polvo liofilizado o atomizado con las propiedades más deseables, es decir con la máxima porosidad, el mayor contenido en compuestos funcionales (fenoles totales, carotenoides totales, vitamina C), mayor actividad antioxidante, mayor rendimiento en producto atomizado y con menor humedad, higroscopicidad, luminosidad y diferencia de color en el caso del liofilizado, se utilizó el optimizador de respuesta múltiple que proporciona el programa estadístico utilizado.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

**Tabla III.1.** Matriz del diseño central compuesto para los polvos liofilizados. Resultados experimentales de las variables dependientes medidas.

#	$x_w^0$	$x_{GA}$	$x_{FB}$	$x_w$	$H_{gr}$	$\epsilon$	$L^*$	$\Delta E$	FT	VC	CT	AOA
1	80	8	1	4.7 (0.2)	44 (2)	74.8 (1.2)	79.7 (0.8)	10.4 (0.5)	531 (16)	759 (11)	29 (2)	1.36 (0.09)
2	80	8	1	3.646 (0.005)	42.5 (0.2)	73.1 (0.2)	81.01 (0.14)	11.54 (0.13)	509 (5)	630 (17)	29.1 (0.8)	1.46 (0.02)
3	80	8	1	4.98 (0.10)	43 (3)	78.3 (0.9)	80.2 (0.2)	10.3 (0.5)	543.9 (1.2)	700 (7)	29.3 (0.5)	1.43 (0.03)
4	80	8	1	6.24 (0.07)	42 (3)	66.7 (0.8)	80.1 (0.3)	10 (3)	482 (10)	720 (8)	30.9 (0.6)	1.02 (0.02)
5	80	8	1	3.87 (0.05)	46 (3)	76.1 (0.9)	80.2 (0.7)	11.7 (0.8)	519 (5)	771 (32)	28.3 (0.2)	1.45 (0.03)
6	80	8	1	5.15 (0.08)	43 (2)	75.7 (0.4)	80.1 (0.4)	10.3 (0.7)	473 (4)	719 (23)	28.5 (0.2)	1.43 (0.09)
7	80	8	1	5.38 (0.06)	60 (5)	72 (2)	78.2 (0.3)	8.6 (0.2)	570 (12)	716 (19)	27.3 (0.5)	1.27 (0.06)
8	80	8	1	4.5 (0.3)	47.5 (1.0)	79.65 (0.02)	80.5 (0.3)	10.9 (0.5)	574 (0)	749 (10)	29.4 (0.2)	1.30 (0.02)
9	80	8	1	5.9 (0.3)	53 (6)	68.2 (1.2)	78.4 (0.9)	8.1 (0.9)	461 (6)	676 (42)	27.4 (2.2)	1.32 (0.09)
10	80	1.27	1	4.94 (0.10)	38 (5)	69.2 (0.9)	68.8 (0.6)	6.7 (1.2)	228.6 (3.5)	506 (18)	34 (5)	1.34 (0.02)
11	70	4	0	5.14 (0.07)	33 (2)	62 (3)	74.3 (0.3)	2.9 (0.3)	433 (32)	466 (5)	23 (2)	0.69 (0.02)
12	90	4	0	6.44 (0.02)	34 (2)	75 (2)	72.1 (0.3)	2.9 (0.4)	570 (3)	728 (18)	31.9 (0.8)	1.44 (0.02)
13	70	4	2	7.1 (0.2)	38 (3)	69.4 (0.5)	77.1 (0.4)	6.3 (0.4)	458 (13)	458 (26)	25 (2)	0.72 (0.05)
14	90	4	2	4.31 (0.06)	54 (2)	84.9 (0.2)	80.3 (0.5)	10.2 (0.7)	419 (4)	679 (26)	33.15 (1.12)	1.45 (0.02)
15	80	8	0	5.46 (0.06)	50 (4)	65 (2)	78.9 (1.2)	8.6 (1.4)	192 (5)	738 (39)	26.3 (0.2)	1.61 (0.07)
16	63.18	8	1	7.92 (0.06)	75.1 (0.8)	54.8 (0.6)	75.2 (0.8)	5.4 (0.8)	546 (3)	600 (3)	18.3 (1.2)	1.19 (0.02)
17	96.82	8	1	4.18 (0.12)	43.1 (0.6)	91 (2)	82 (2)	16 (2)	547 (7)	677 (8)	33.9 (0.5)	1.94 (0.08)
18	80	8	2.68	2.7 (0.4)	70(4)	72.9 (1.2)	79.9 (0.2)	10.5 (0.2)	358 (5)	439 (8)	17 (2)	1.37 (0.06)
19	70	12	0	7.72 (0.12)	60 (5)	57.11 (0.09)	77.4 (0.2)	7.5 (0.2)	201 (2)	662 (4)	26 (6)	0.12 (0.02)
20	90	12	0	5.8 (0.9)	58 (3)	88.5 (0.4)	83.5 (0.4)	15.6 (0.3)	426 (11)	792.1 (0.3)	29 (4)	0.32 (0.04)
21	70	12	2	5.1 (0.2)	60 (2)	67.8 (0.8)	80.3 (0.3)	11.6 (0.3)	316 (3)	525 (13)	9 (2)	0.353(0.008)
22	90	12	2	2.5 (0.2)	61.3(1.3)	89.1 (0.9)	81.9 (0.3)	13.7 (0.4)	344 (5)	789 (2)	11 (2)	0.68 (0.02)
23	80	14.72	1	6 (2)	54 (2)	78.832 (0.007)	82.9 (0.3)	15.1 (0.5)	398 (0)	831 (35)	17 (10)	0.61 (0.02)

Donde  $x_w^0$ ,  $x_{GA}$  y  $x_{FB}$  son la humedad de entrada de la mezcla al liofilizador ( $g_{agua}/100g_{mezcla}$ ), contenido en goma arábica ( $g/100g_{PT+solutos}$ ) y contenido en fibra de bambú ( $g/100g_{PT+solutos}$ ) respectivamente y los resultados experimentales (con desviación estándar en paréntesis) son  $x_w$ : Contenido de agua ( $g_{agua}/100g_{SP}$ ),  $H_{gr}$ : Higroscopicidad ( $g_{agua}/100g_{SP}$ ),  $\epsilon$ : Porosidad (volumen de aire/volumen total),  $L^*$ : Luminosidad,  $\Delta E$ : Diferencia de color con respecto a la fruta liofilizada, FT: Fenoles totales (mg GAE/ $100g_{SP}$ ), VC: contenido de vitamina C (mg/ $100g_{SP}$ ), CT: Carotenoides totales (mg  $\beta$ -caroteno/ $100g_{SP}$ ), y AOA: Actividad antioxidante (mmol TE/ $100 g_{SP}$ ). PT es el pomelo triturado, SP son los solutos de pomelo.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

**Tabla III.2.** Matriz del diseño central compuesto para los polvos atomizados. Resultados experimentales de las variables dependientes medidas.

#	T	x <sup>GA</sup>	x <sup>FB</sup>	x <sub>w</sub>	R <sub>P</sub>	R <sub>S</sub>	H <sub>gr</sub>	ε	L*	FT	VC	CT	AOA
1	150	8	1	3.55 (0.08)	3.70	90.08	66.2 (0.7)	75.77 (0)	90.4 (0.5)	353.9 (1.2)	586 (3)	9.6 (0.6)	1.74 (0.12)
2	150	8	1	3.9 (0.2)	4.15	90.11	56.2 (0.6)	75.92 (0.06)	90.2 (0.6)	328.9 (1.2)	572 (0.5)	10.2 (0.2)	1.61 (0.04)
3	150	8	1	3.26 (0.04)	3.92	90.11	55.9 (0.9)	77.53 (0)	90.40 (0.12)	343 (2)	569 (2)	9.8 (0.8)	1.39 (0.09)
4	150	8	1	4.33 (0.14)	4.12	90.15	54.9 (0.4)	77.4 (0.2)	90.2 (0.7)	442 (12)	553 (8)	18.9 (2.7)	0.97 (0.02)
5	150	8	1	3.5 (0.4)	4.45	90.26	53.9 (0.7)	77.7 (0.2)	89.1 (0.6)	404 (19)	543.11 (0.09)	21 (3)	0.952 (0.004)
6	150	8	1	2.22 (0)	4.56	90.21	63.5 (1.4)	76.1 (0.9)	90.6 (0.5)	396 (5)	559 (11)	10.5 (0.2)	1.37 (0.02)
7	150	8	1	2.6 (0.2)	4.09	90.22	58.1 (0.3)	78.2 (0.9)	90.48 (0.12)	391 (27)	530.9 (0.4)	20 (2)	0.94 (0.02)
8	150	8	1	5.5 (0.2)	5.10	89.93	41 (2)	76.57 (0.08)	88.1 (0.2)	320 (5)	563 (2)	15.6 (0.2)	1.30 (0.06)
9	150	8	1	3.4 (0)	4.95	90.15	67.1 (0.5)	78.11 (0.2)	89.3 (0.2)	308 (2)	543.5 (0.3)	10.6 (0.3)	1.20 (0.02)
10	150	1.27	1	6.8 (1.5)	0.99	93.30	46 (4)	53 (2)	49.6 (0.9)	503 (5)	526 (7)	3.2 (0.6)	1.524 (0.007)
11	120	4	0	7.6 (0.2)	4.02	92.31	29.6 (0.4)	73.31 (0.02)	83.6 (0.2)	133 (8)	516 (6)	18.3 (1.7)	1.33 (0.03)
12	180	4	0	4.23 (0.03)	3.18	92.65	24.9 (1.2)	73.95 (0.05)	83.8 (0.4)	347 (3)	314 (13)	30.2 (1.2)	1.2567 (0.0003)
13	120	4	2	3.81 (0.05)	3.84	92.15	25.9 (0.3)	70.2 (0.2)	81 (2)	332 (5)	535 (36)	6.6 (0.2)	1.812 (0.012)
14	180	4	2	4.81 (0.09)	3.59	91.59	25.92 (0.08)	84.1 (0.9)	85.69 (0.07)	365 (9)	365 (4)	13 (2)	1.84 (0.05)
15	150	8	0	8.95 (0.12)	5.11	90.37	41 (0.2)	80.22 (0.12)	88.8 (0.2)	411 (9)	486 (6)	7.1 (0.5)	1.04 (0.06)
16	100	8	1	15.53 (0.03)	4.28	89.43	39 (2)	72.9 (0.2)	87.9 (0.5)	100 (6)	700 (5)	12 (2)	0.91 (0.02)
17	200	8	1	1.91 (0.15)	4.64	90.21	33.083 (0.012)	78.8 (0.2)	89.16 (0.12)	239 (2)	431 (18)	0.00 (0.12)	1.42 (0.02)
18	150	8	2.68	5.8 (0.3)	4.64	89.25	49.4 (0.4)	79.14 (0.2)	88.5 (0.2)	504 (6)	583 (11)	10.9 (0.2)	0.85 (0.08)
19	120	12	0	4.1 (0.2)	5.83	88.37	40.08 (0.16)	72.59 (0.08)	89.49 (0.07)	356 (10)	529 (44)	18 (6)	0.865 (0.008)
20	180	12	0	1.683 (0.009)	6.69	88.72	53.34 (0.09)	71.9 (1.2)	88.6 (0.4)	334 (15)	353 (43)	9.1 (0.8)	0.42 (0.09)
21	120	12	2	3.82 (0.05)	5.25	87.60	39.8 (0.5)	76.31 (0.3)	90.24 (0.05)	370 (8)	615 (20)	0.7 (0.9)	1.34 (0.04)
22	180	12	2	2.69 (0.14)	6.39	87.71	44.7 (0.2)	69.47 (0.06)	89.1 (0.4)	352 (7)	384 (4)	12 (4)	0.713 (0.007)
23	150	14.72	1	4.04 (0.03)	6.66	86.88	65.6 (0.8)	72.87 (0.12)	90.25 (0.14)	308 (10)	608 (5)	6 (3)	0.81 (0.02)

Donde T, x<sup>GA</sup> y x<sup>FB</sup> son la temperatura de entrada (°C), goma arábica (g/100g<sub>PL</sub>) y fibra de bambú (g/100g<sub>PL</sub>) respectivamente y los resultados experimentales (con desviación estándar en paréntesis son x<sub>w</sub>: Contenido de agua (g<sub>agua</sub>/100g<sub>SP</sub>), R<sub>P</sub>: Rendimiento en producto (g<sub>polvo</sub>/100g m<sub>aa</sub>), R<sub>S</sub>: Rendimiento en secado (g<sub>agua evaporada</sub>/100g m<sub>aa</sub>), H<sub>gr</sub>: Higroscopicidad (g<sub>agua</sub>/100g<sub>SP</sub>), ε: Porosidad (volumen de aire/volumen total), L\*: Luminosidad, FT: Fenoles totales (mg GAE/100g<sub>SP</sub>), VC: contenido de vitamina C (mg/100g<sub>SP</sub>), CT: Carotenoides totales (mg β-caroteno/100 g<sub>SP</sub>), y AOA: Actividad antioxidante (mmol TE/100 g<sub>SP</sub>). PL es el pomelo licuado, m<sub>aa</sub> es la mezcla que alimenta al atomizador, SP son los solutos de pomelo.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

---

#### **III.2.6 Validación de los modelos**

Para la validación de los modelos se procedió a liofilizar y a atomizar nuevamente triturado o licuado de pomelo, respectivamente, analizando en los polvos obtenidos aquellas variables respuesta que habían resultado significativas. El nivel de cada una de las variables independientes considerado fue, por una parte el proporcionado por el optimizador de respuesta múltiple que puede verse en los resultados de esta tesis, en concreto en el apartado IV.1.2 para la liofilización y en el IV.1.3 para la atomización. Además para la validación, se plantearon dos formulaciones adicionales para cada proceso, considerando también otros niveles de las variables independientes relacionados con los anteriores. Éstas pueden verse en el apartado IV.1.4. La validación se llevó a cabo mediante la comparación entre los valores predichos y los valores experimentales obtenidos para las variables respuesta analizadas para cada proceso. En cada caso, la no existencia de diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre las predicciones polinómicas del modelo y los datos experimentales, se tomaron como una medida de la precisión de la predicción (Kha et al., 2014).

#### **III.3 ESTUDIO DE ENCAPSULACIÓN**

Para llevar a cabo este estudio se formularon los dos óptimos seleccionados del proceso de liofilización (Apartado IV.1.2) y de

atomización (Apartado IV.1.3) y, adicionalmente, se plantearon diferentes formulaciones derivadas de los óptimos con variaciones en la concentración de GA y FB, para ambos procesos, y en el contenido de agua, en el caso de la liofilización (Apartado IV.2.2). La preparación de las muestras para la liofilización y atomización fue tal y como se ha descrito en el apartado III.2 de la metodología. Los productos en polvo obtenidos fueron caracterizados a nivel de sus principales compuestos bioactivos (ácido ascórbico, tocoferoles, compuestos fenólicos) y la actividad antioxidante siguiendo la metodología que se describe a continuación.

#### III.3.1 Ácido ascórbico

La extracción del ácido ascórbico se realizó siguiendo la metodología recomendada por Barros et al. (2013). Aproximadamente 1.5 g de muestra fue extraída mediante agitación con 25 mL de ácido metafosfórico (4 %, 25 °C a 150 rpm) por 45 minutos y filtrada usando un papel whatman no. 4 y posteriormente a través de filtros de nylon de 0.2 µm. El análisis se realizó en un cromatógrafo líquido ultra rápido serie Shimadzu 20A (Shimadzu Cooperation), acoplado a un detector de matriz de fotodiodos. Se utilizó una columna SphereClone de fase reversa C18 (5 µm, 250 x 4.6 mm, PHENOMENEX, Torrance, CA, USA) termostatada a 35 °C y la elución fue realizada con 3.6 mM de ácido sulfúrico, con una velocidad de flujo de 0.8 mL/min. La detección se llevó a cabo a 245 nm. El ácido ascórbico fue cuantificado

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

---

comparando el área del pico con la curva de calibración obtenida a partir de un estándar comercial.

#### **III.3.2 Tocoferoles**

Los tocoferoles fueron determinados siguiendo el procedimiento descrito previamente por Heleno et al. (2010). Aproximadamente a 500 mg de muestra se les adicionó una solución de butilhidroxitolueno en hexano (10 mg/mL; 100 mL) y una solución de tocol en hexano (2 mg/mL; 250 ml) como patrón interno. Cada muestra se homogenizó con 4 mL de metanol mediante agitación con vortex por 1 min. Seguidamente se le adicionó 4 mL de hexano y se mezcló nuevamente con vortex por 1 minuto. Posteriormente se añadió una solución acuosa saturada de NaCl y se homogenizó por 1 min. A continuación la muestra fue centrifugada por 5 minutos a 4 °C y 4600 rpm (Centurion KD-40R 2003, Francia) y el sobrenadante fue transferido cuidadosamente a un vial. Las muestras fueron re-extraídas dos veces con hexano. Los extractos combinados se llevaron a sequedad bajo una corriente de nitrógeno. Lo que quedó en el vial fue re-disuelto en 1 mL de hexano y deshidratado con sulfato sódico anhídrido. Las muestras fueron filtradas usando un filtro de disco desechable de 0.22 µm y posteriormente fueron transferidas a un vial ámbar de inyección para su análisis. El análisis se llevó a cabo en un HPLC (Knauer, Smartline system 1000, Alemania) conectado a un detector fluorescente (FP-2020; Jasco) programado para la excitación a

290 nm y la emisión a 330 nm. La separación cromatográfica fue conseguida con una columna de poliamida II de fase normal (250 x 4.6 nm; YMC Waters, Lisboa, Portugal) a 35 °C. La fase móvil usada fue una mezcla de n-hexano y etil-acetato (70:30, v/v) a una velocidad de flujo de 1 mL/min. Los compuestos fueron identificados por comparación cromatográfica con estándares comerciales. La cuantificación se basó en la respuesta de la señal fluorescente, usando el método del patrón interno.

#### III.3.3 Compuestos fenólicos

Aproximadamente 1 g de muestra fue extraída con metanol/agua (80:20, v/v, 30 mL) mediante maceración mecánica (150 rpm y 25 °C) durante 1 hora. Después la muestra se filtró usando un papel Whatman no.4 y el residuo fue re- extraído con una porción adicional del solvente. Los extractos fueron combinados y el metanol fue evaporado usando un rotaevaporador (Büchi R-210; Flawil, Suiza) y la fase acuosa resultante fue liofilizada (FreeZone 4.5, Labconco, Kansas City, MO, Estados Unidos). Para la determinación de los compuestos fenólicos, cada extracto (10 mg) fue disuelto en metanol: agua (80:20 v/v) y filtrado a través de filtros de nylon de 0.2 µm y analizados por HPLC-DAD-ESI-MS en un equipo Hewlett–Packard 1100 (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania), conectado a un espectrofotómetro de masas (API 3200 Qtrap, Applied Biosystems, Darmstadt, Alemania). Para la separación de los compuestos se utilizó

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

---

una columna Spherisorb SW ODS-2 c18 (3  $\mu$ m, 4.6 X 150 mm, Lisboa, Portugal) termostatada a 35 °C, usando una velocidad de flujo de 0.5 mL/min. Las fases móviles usadas fueron (A) agua acidificada (0.1% ácido fórmico; v/v) y (B) acetonitrilo. El gradiente de elución establecido fue de 10 a 15% de B durante 5 min, de 15 a 25% de B durante 10 min, de 25 a 35% de B durante 10 min, una elución isocrática de 50% de B por 10 min, y finalmente se realizó una etapa de re-equilibrio por 10 min bajo las condiciones iniciales. El HPLC fue acoplado a un DAD (detector de fotodiodos a 280 nm y 370 nm como absorbancias preferentes) y a un espectrofotómetro de masas (MS) de triple cuadrupolo/trampa de iones (Applied Biosystems, Darmstadt, Alemania) con fuente de ionización por electrospray (ESI) controlado mediante un software Analyst 5.1. Los parámetros para el análisis fueron establecidos para el modo de ionización negativa, con espectros adquiridos en el intervalo de masas (m/z) de 100 a 1500. Los valores óptimos de los parámetros ESI-MS han sido descritos por Pinela et al. (2012).

La identificación de los compuestos fenólicos se realizó de acuerdo con los espectros DAD y MS, así como mediante la comparación de los compuestos con los patrones auténticos en aquellos casos que estuvieron disponibles. De lo contrario los datos obtenidos de la bibliografía fueron utilizados para su identificación. El análisis cuantitativo se realizó usando las curvas de calibración de los diferentes patrones.

#### III.3.4 Actividad antioxidante

Los extractos de cada muestra en metanol/agua (80: 20, v/v) descritos en la sección (III.3.3) fueron re-disueltos (metanol/agua, 80:20, v/v) con el fin de obtener una concentración de 10 mg/mL (solución stock). A partir de la solución stock se realizaron seis diluciones sucesivas y fueron sometidas a los ensayos químicos y bioquímicos *in vitro* que se describen a continuación, para evaluar la actividad antioxidante de las muestras (Heleno et al., 2010). Se obtuvo la concentración de las muestras que daba lugar a un 50 % de la actividad antioxidante para el caso de los métodos DPPH,  $\beta$ -caroteno/linoleato y TBARS o a un valor de 0.5 de absorbancia para el caso del poder reductor. A esta concentración se le llamó EC<sub>50</sub>.

a) DPPH. Esta metodología se realizó usando un lector de microplacas ELX800 (Bio-Teck, Winooski, VT, USA). Las diferentes concentraciones de las muestras (30  $\mu$ l) fueron mezcladas con 270  $\mu$ l de una solución metanólica que contenía radicales DPPH ( $6 \times 10^{-5}$  mol/L) en una microplaca de 96 pocillos y se dejó reposar la mezcla por 60 minutos en la oscuridad. La reducción del radical DPPH se determinó midiendo la absorbancia a 515 nm. La actividad captadora de radicales (RSA) fue calculada como el porcentaje de decoloración del DPPH de acuerdo a la Ec. (14).

$$\% \text{ RSA} = [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{S}}) / A_{\text{DPPH}}] \times 100 \quad (14)$$

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

---

Dónde:  $A_s$  es la absorbancia de la solución a cada concentración, y  $A_{DPPH}$  es la absorbancia de la solución de DPPH.

b) Poder reductor. Esta metodología se llevó a cabo usando el lector de micro placas descrito anteriormente. Las diferentes concentraciones de las muestras (0.5 mL) fueron mezcladas con tampón fosfato de sodio (200 mmol/L, pH 6.6, 0.5 mL) y ferricianuro de potasio (1% p/v, 0.5 mL). Para cada concentración, la mezcla fue incubada a 50 °C por 20 minutos, y se adicionó enseguida ácido tricloroacético (10% p/v, 0.5 mL). 0.8 mL de mezcla fue puesta en la microplaca de 48 pocillos y se adicionó 0.8 mL de agua destilada y cloruro férrico (0.1% p/v, 0.16 mL). La absorbancia fue medida a 690 nm.

c) Inhibición de la decoloración de  $\beta$ -caroteno. 2 mg de  $\beta$ -caroteno fueron disueltos en 10 mL de cloroformo y 2 mL de esta solución fueron depositados en un matraz de fondo redondo. Seguidamente el cloroformo fue removido a 40 °C bajo vacío y fueron adicionados al matraz 40 mg de ácido linoleico, 400 mg de Tween 80 y 100 mL de agua destilada. La mezcla se agitó vigorosamente. Una alícuota de 4.8 mL de esta emulsión se transfirieron a tubos de ensayo que contenían diferentes concentraciones de las muestras (0.2 mL). Los tubos se agitaron y se midió la absorbancia a tiempo cero a 470 nm. Seguidamente fueron incubados a 50 °C en un baño de agua por 2 horas y se registró nuevamente la absorbancia. La inhibición de la decoloración de  $\beta$ -caroteno (IC) fue calculada de acuerdo a la Ec. (15).

$$\% IC = \left[ \frac{A_{120}}{A_0} \right] \times 100 \quad (15)$$

Dónde:  $A_{120}$  es la absorbancia registrada después de dos horas de ensayo y  $A_0$  es la absorbancia registrada a tiempo inicial.

d) TBARS (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico). Para llevar a cabo esta metodología se utilizó cerebro de cerdo proveniente de mataderos oficiales. El tejido de cerebro fue seccionado y homogenizado con un tampón Tris-HCL (20 mM, pH 7.4) para producir una solución homogénea de tejido en relación 1:2 p/v. Seguidamente fue centrifugada a 3000xg por 10 min. Una alícuota de 100  $\mu$ l del sobrenadante fue incubada con las diferentes concentraciones de las muestras (200  $\mu$ L) en la presencia de  $\text{FeSO}_4$  (10 mM; 100  $\mu$ L) y ácido ascórbico (0.1 mM; 100  $\mu$ L) a 37 °C por 1 hora. La reacción fue detenida por la adición de ácido tricloroacético (28% p/v, 500  $\mu$ L), seguido de ácido tiobarbitúrico (TBA, 2%, p/v, 380  $\mu$ L), y la mezcla fue calentada a 80 °C por 20 min. Después se centrifugó a 3000g por 10 min para remover la proteína precipitada. La intensidad de color del complejo malondialdehído (MDA)-TBA en el sobrenadante fue medido a través de su absorbancia a 532 nm. El radio de inhibición (% RI) fue calculado como muestra la Ec. 16

$$\% RI = \left[ \frac{(A-B)}{A} \right] \times 100 \quad (16)$$

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

---

Dónde: A y B fueron las absorbancias del control y la muestra respectivamente.

#### **III.3.5 Análisis estadístico**

Para evaluar el efecto de los tratamientos de secado sobre el contenido de los diferentes compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de las muestras, se realizaron análisis de varianza (ANOVAS) considerando las diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las muestras estudiadas. Además, se llevó a cabo un análisis de correlación de Pearson entre la actividad antioxidante y los diferentes compuestos analizados con un nivel de significación del 95%. Todos los análisis fueron realizados con Statgraphics Centurion XV.

#### **III.4 ESTUDIO DE ESTABILIDAD. RELACIONES TEMPERATURA DE TRANSICIÓN VÍTREA- HUMEDAD-ACTIVIDAD DEL AGUA**

##### **III.4.1 Caracterización de la materia prima y de los productos en polvo optimizados**

Para este estudio se trabajó con la misma muestra que se utilizó para la validación de los modelos (Apartado III.2.6). Se formularon los óptimos obtenidos para el proceso de liofilización y de atomización y se caracterizó la materia prima de partida (pomelo triturado y licuado) en cuanto al contenido en agua, compuestos bioactivos (VC, CT, FT), actividad antioxidante y color (Apartado III.2.3). La liofilización

y atomización de estos óptimos se llevó a cabo bajo las condiciones planteadas inicialmente (Apartado III.2.1 y III.2.2). Una vez obtenidos los polvos fueron caracterizados a nivel de humedad, actividad del agua ( $a_w$ ) utilizando un higrómetro de punto de rocío (Decagon, AquaLab CX-3, WA, Estados Unidos), contenido en compuestos bioactivos (VC, CT, FT), AOA y color (Apartado III.2.3).

#### III.4.2 Isotermas de sorción y temperatura de transición vítrea

Se estudió el comportamiento de ambos productos en polvo frente a la sorción de agua. Para ello se prepararon series de cámaras herméticas que contenían disoluciones saturadas de sales (LiCl, CH<sub>3</sub>COOK, MgCl<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, y Mg(NO<sub>3</sub>)), las cuales permitieron obtener ambientes con humedades relativas (HR) entre el 11-58% (Greenspan, 1977). En cada cámara se colocaron aproximadamente 20 g de producto en polvo. Se prepararon 2 series de cámaras de cada producto, una de las cuales se mantuvo a 4 °C y la otra a 20 °C. Se controló la evolución del peso de las muestras, por cuatuplicado, hasta obtener un valor constante ( $\Delta m < \pm 0.0005$  g). En ese momento la  $a_w$  de cada muestra se asumió igual a la correspondiente HR/100 (Spiess y Wolf, 1983). En cada muestra equilibrada, el correspondiente contenido de agua en el equilibrio fue analizado como se describe en el apartado III.2.3 y expresada en base seca ( $w_e$ ). Estos valores  $w_e - a_w$  fueron usados con el fin de construir las isotermas de sorción de cada óptimo a cada temperatura.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

---

También se llevaron a cabo análisis calorimétricos a cada muestra equilibrada para identificar la  $T_g$  por calorimetría diferencial de barrido (DSC). Alrededor de 10 mg de cada muestra fueron depositados en cápsulas de aluminio (P/N SSC000C008, Seiko Instruments), y se mantuvieron durante 2 días más en las correspondientes cámaras para asegurar su equilibrado. Trascurrido este tiempo, las cápsulas se sellaron y se pesaron en una balanza AND ER182-A con sensibilidad de 0.00001 g. Seguidamente se analizaron usando un DSC 220CU-SSC5200 (Seiko instruments Inc.). La velocidad de calentamiento fue 5 °C/min y el rango de temperatura varió de -100 a 100 °C, dependiendo del contenido de agua de la muestra. El enfriamiento previo, en su caso, se hizo a 10 °C/min. Como referencia se utilizó un crisol vacío.

#### **III.4.3 Evaluación de los cambios fisicoquímicos de los productos en polvo**

**III.4.3.1 Medida de las propiedades mecánicas.** En el momento en que las muestras alcanzaron el equilibrio termodinámico con los diferentes ambientes creados en las cámaras, se evaluó la respuesta mecánica de los productos liofilizados y atomizados almacenados a 4 y 20 °C mediante un ensayo de compresión usando un analizador de textura TA-XT Plus (Stable Micro Systems, Ltd. UK) con una sonda cilíndrica de 10 mm de diámetro. La muestra, equilibrada previamente en capsulas portamuestras de 4 cm de diámetro y 1 cm de altura, se comprimió un 80% a una velocidad de 1 mm/s. Se

registró la curva fuerza-distancia a cada actividad de agua y, a partir de ella, se registró la fuerza máxima obtenida en cada ensayo ( $F_{\text{máx}}$ ).

**III.4.3.2 Cambios en las propiedades ópticas en función de las condiciones de almacenamiento.** Una vez las muestras alcanzaron el equilibrio termodinámico fue evaluado el color tal y como se describe en el apartado III.2.3. Las muestras se mantuvieron en las cámaras durante 8 meses más, siendo analizadas nuevamente a los 4 y 8 meses de almacenamiento.

**III.4.3.3 Determinación de la actividad peroxidásica (POD).** Se realizó un procedimiento de extracción de la enzima peroxidasa siguiendo el método descrito por De Ancos et al. (1999) con algunas modificaciones. Aproximadamente 1g de muestra fue homogenizada con 5 mL de tampón fosfato sódico 0.2M (pH=6.59) que contenía 10 g/L de polivinilpolipyrrolidona insoluble y 10 ml/L de Triton X-100, en un ultraturrax (IKA ULTRA-TURRAX T25 digital) con refrigeración externa durante 3 min. Posteriormente la muestra homogenizada se centrifugó a 16000xg y 4 °C durante 15 minutos (Eppendorf centrifuge 5804R, Alemania), y se recuperó el sobrenadante mediante filtrado al vacío. Posteriormente se tomó una alícuota de 0.1 ml del extracto enzimático y se le añadió 2.7 ml de tampón fosfato sódico 0.05M (pH = 6.5), 0.2 ml de p-fenilendiamina (10 g/L) como donador de hidrógeno y 0.1 ml de peróxido de hidrógeno (15 g/L) como oxidante. Se midió la oxidación de la p-fenilendiamina en el espectromotómetro

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

---

a 485 nm y 25 °C en función del tiempo. La actividad de la enzima se calculó a partir de la pendiente del tramo lineal obtenido tras representar los valores de absorbancia frente al tiempo. Se consideró una unidad de actividad enzimática a un aumento en la absorbancia del orden de 0.001 por minuto y g de muestra.

**III.4.3.4 Cambios en los compuestos bioactivos en función de las condiciones de almacenamiento.** A las muestras equilibradas a cada humedad relativa, se les analizó el contenido en fenoles totales, carotenoides totales, vitamina C, y actividad antioxidante (Apartado III.2.3). Las muestras se mantuvieron en las cámaras durante 12 meses más siendo analizadas nuevamente a los 4, 8 y 12 meses de almacenamiento.

### **III.5 ANÁLISIS SENSORIAL**

El análisis sensorial se realizó con un panel de consumidores (n= 75; 55 mujeres y 20 hombres, de edades entre los 18 y 65 años). Las diferentes sesiones se llevaron a cabo en las salas de catas de la Universidad Politécnica de Valencia y del Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), los cuales se encuentran equipados con cabinas individuales (ISO, 2007). Se evaluaron 5 muestras, las cuales se describen a continuación:

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

---

- C: Zumo de pomelo comercial; según la etiqueta se trata de un zumo exprimido con un 2% de pulpa añadido.
- N: Zumo natural de pomelo recién exprimido en el laboratorio con un exprimidor Braun Citromatic MPZ 6 (Alemania).
- OL<sup>R</sup>: Zumo rehidratado a partir del polvo liofilizado optimizado.
- TL<sup>R</sup>: Zumo rehidratado a partir de la torta liofilizada optimizada antes de su trituración para obtener el polvo.
- OA<sup>R</sup>: Zumo rehidratado a partir del polvo atomizado optimizado.

Se siguió un diseño de presentación de las muestras de bloques completos equilibrados y las muestras se presentaron en orden aleatorio identificadas con un código de tres dígitos al azar. A los participantes se les pidió que rellenaran un cuestionario para evaluar el grado de aceptación de las muestras y la intención de compra y que, además, permitiera describir a las muestras y evaluar la adecuación de algunas de sus características (Anexo I).

Para la rehidratación se pesaron las cantidades de polvo y de agua necesarias para conseguir los mismos solutos de pomelo que hay en el pomelo triturado utilizado para el proceso de liofilización o en el pomelo licuado utilizado para la atomización. La cantidad de agua incorporada se calculó mediante un balance de materia (Ec. 17) a partir del contenido de agua del producto triturado/licuado y de los

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

---

productos en torta/polvo (Apartado III.2.3.) Las rehidrataciones se realizaron a 25 °C en recipientes de 5 litros. La muestra se mantuvo en agitación mecánica hasta lograr el máximo grado de disolución. Posteriormente la muestra se mantuvo en refrigeración hasta el momento de la cata.

$$m^{rh} = m^p + m^w$$
$$m^p \cdot (1 - x_w^p) * x_{SP/ST} = m^{rh} \cdot (1 - x_w^t) \quad (17)$$

Dónde:  $m^{rh}$  es la masa final del producto rehidratado (g);  $m^w$  es la masa de agua añadida (g);  $m^p$  es la masa del producto en polvo (g);  $x_w^t$  es la humedad inicial del pomelo triturado/licuado ( $g_{agua}/g_{PT}$  ó  $PL$ ) y  $x_w^p$  es la humedad del producto en polvo ( $g_{agua}/g_{polvo}$ ) Y  $x_{SP/ST}$  es la fracción másica de solutos de pomelo (SP) respecto a los solutos totales (ST) calculada según la Ec. (12).

#### III.5.1 Grado de aceptación de las muestras

Los consumidores probaron las muestras presentadas de una en una, y manifestaron el grado de aceptación (*liking*) de su apariencia, color, olor, sabor, sabor amargo, dulzor, acidez, astringencia, consistencia y agrado general, en una escala hedónica de 9 puntos (*box-scale*) cuyos extremos son “me disgusta mucho” (extremo izquierdo correspondiente a 1) y “me gusta mucho” (extremo derecho correspondiente al 9) (Preguntas 1- 7, 9, 11, y 13 de la hoja de cata que se muestra en el Anexo I).

#### III.5.2 Análisis descriptivo de las muestras

Se utilizó el sistema de preguntas tipo CATA (Ares et al., 2010). Para ello, a cada catador se le presentaron 12 atributos sensoriales, olor a pomelo, sabor a pomelo, sabor agradable, sabor artificial, poco sabor a pomelo, turbio, líquido, viscoso, con pulpa, amargo, ácido y no demasiado dulce, en orden aleatorio, y se les pidió que marcaron los atributos que describían a cada una de las muestras (Pregunta 15 de la hoja de cata que se muestra en el Anexo I).

#### III.5.3 Adecuación de algunas características sensoriales

Para realizar este análisis, los participantes evaluaron el dulzor, la acidez, la astringencia y la consistencia de las cinco muestras mediante el uso de las escalas bipolares JAR (*just about right*). Se eligieron estos cuatro atributos por su fácil comprensión debido a que el panel de consumidores evaluado no estaba entrenado. Las escalas JAR de cinco puntos utilizadas presentaron un punto central “está bien así” (que está relacionado con el ideal que el consumidor tiene en mente), y puntos extremos relacionados con el nivel del atributo que se desvía en dirección opuesta del nivel ideal (Rothman, 2007). Para su mejor interpretación la escala de cinco puntos se convirtió en una escala de tres puntos mediante la agrupación de los puntos extremos 1 y 2 en “demasiado poco...” y los puntos 4 y 5 en “demasiado...”, manteniendo el punto central “esta bién así”.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

---

(Preguntas 8, 10, 12 y 14 de la hoja de cata que se muestra en el Anexo I).

#### **III.5.4 Intención de compra de las muestras**

Se evaluó también la intención de compra de los diferentes productos por parte de los consumidores, para lo que se les pidió que respondieran a la “probabilidad de compra del producto” en una escala de 5 puntos (que iba desde “definitivamente lo compraría” correspondiente al 5 a “definitivamente no lo compraría” correspondiente al 1 (Pregunta 16 de la hoja de cata que se muestra en el Anexo I).

#### **III.5.5 Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico de los resultados sensoriales se utilizó el programa XI-Stat 2009.4.03. Con los datos obtenidos del grado de aceptabilidad de las muestras, se realizó un ANOVA de un factor y para saber las diferencias significativas entre muestras se aplicó el test de Tukey. Para el análisis de los atributos evaluados con la escala JAR se realizó un análisis de frecuencias y para comparar estos datos con los de aceptabilidad se aplicó un análisis de penalización (*Penalty analysis*). Por último, para analizar los datos correspondientes a las preguntas tipo CATA se aplicó el test no paramétrico de Cochran para cada descriptor con el fin de determinar los atributos que los

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

---

---

consumidores detectaron como diferentes entre las muestras. A continuación, fueron analizadas las frecuencias de mención de cada atributo significativo mediante un análisis de correspondencia, y, por último, para relacionar los atributos CATA con la aceptabilidad global de las muestras se realizó un análisis multifactorial.



## *IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN*



### IV.1 OPTIMIZACIÓN DE LOS PROCESOS DE LIOFILIZACIÓN Y ATOMIZACIÓN

Como parte del trabajo realizado con el fin de seleccionar el mejor proceso, entre la liofilización o la atomización, para la obtención de pomelo en polvo con la máxima calidad, en primer lugar se optimizó cada uno de los dos procesos, utilizando la metodología de superficie de respuesta, y posteriormente se comparó la calidad de los dos productos obtenidos según los procesos optimizados. Los resultados de esta parte del estudio han sido publicados en la revista *Food Science and Technology International* (Agudelo et al., 2017a).

#### IV.1.1 Caracterización de la materia prima

El proceso de liofilización permite trabajar con la fruta entera o triturada, si se desea. Sin embargo la atomización requiere que el material de alimentación sea un líquido con una baja viscosidad y un tamaño de partícula pequeño. Es por esta razón que el pomelo debe ser licuado y diluido posteriormente para obtener un fluido que cumpla con las condiciones técnicas del atomizador. En este apartado se describen las características fisicoquímicas y funcionales estudiadas tanto del pomelo triturado utilizado en el proceso de liofilización como del pomelo licuado utilizado para la atomización. Debido a que el diseño experimental planteado para la optimización de ambos procesos requiere de la utilización de una gran cantidad de fruta, y

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

teniendo en cuenta las limitaciones tecnológicas que impiden el procesado de todos los tratamientos en el mismo día, fue necesario utilizar un lote de fruta para cada proceso.

El pomelo empleado en este estudio presentó un contenido de agua y de solutos solubles del orden de  $0.8760 \pm 0.0007 \text{ g}_{\text{agua}}/\text{g}_{\text{PT}}$  y  $0.109 \pm 0.006 \text{ g}_{\text{SS}}/\text{g}_{\text{PT}}$ , respectivamente, para el proceso de liofilización, mientras que el empleado en la atomización presentó valores de  $0.8848 \pm 0.0005 \text{ g}_{\text{agua}}/\text{g}_{\text{P}}$  y  $0.104 \pm 0.002 \text{ g}_{\text{SS}}/\text{g}_{\text{P}}$ . La Tabla IV.1 muestra la concentración de los diferentes compuestos funcionales y de la actividad antioxidante analizada para ambos lotes. Como se observa, el contenido en vitamina C y carotenoides totales, presentó diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre lotes. Estas diferencias son normales cuando se trabaja con frutas debido a que factores relacionados con el cultivo, como la fertilidad del suelo, climatología, etc., pueden afectar la concentración de estos compuestos (Cardoso et al., 2011). Sin embargo los resultados de la actividad antioxidante y fenoles totales fueron similares para ambos lotes y concuerdan con lo reportado en la bibliografía (Iguar et al., 2010; Moraga et al., 2012). El pomelo licuado utilizado en el proceso de atomización también fue caracterizado. Éste presentó un contenido en agua y de solutos solubles ( $0.8912 \pm 0.0005 \text{ g}_{\text{agua}}/\text{g}_{\text{PL}}$  y  $0.107 \pm 0.002 \text{ g}_{\text{SS}}/\text{g}_{\text{PL}}$ ) ligeramente superior en comparación con el correspondiente pomelo fresco de partida. A partir de estos valores se pudo calcular el contenido de solutos insolubles, los cuales resultaron ser más altos en el pomelo

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Tabla IV.1** Valores medios y desviación estándar de la vitamina C (VC), fenoles totales (FT), carotenoides totales (CT) y de la actividad antioxidante (AOA) de los dos lotes de pomelo usados para la optimización de los procesos de liofilización y atomización.

	Liofilización		Atomización			
	PT (por 100g PT)	PT (por 100g SP)	P (por 100g P)	PL (por 100g PL)	PL (por 100g P)	PL (por 100g SP)
VC	106.2 ±0.9 <sup>A</sup>	856.5±0.9	79.3±1.2 <sup>Ba</sup>	83.5±1.2	48.1±1.0 <sup>b</sup>	773±10
FT	52.9±0.9 <sup>A</sup>	427±7	53.9±0.8 <sup>Aa</sup>	37.8±0.2	21.85±0.07 <sup>b</sup>	351±2
CT	5.37±0.04 <sup>A</sup>	43.3±0.4	4.75±0.12 <sup>Ba</sup>	4.12±0.09	2.38±0.06 <sup>b</sup>	38.2±0.9
AOA	0.155±0.002 <sup>A</sup>	1.25±0.02	0.155±0.003 <sup>Aa</sup>	0.142±0.005	0.808±0.003 <sup>b</sup>	1.29±0.005

Valores referidos en mg de compuesto bioactivo o mmol TE para la AOA por 100 gramos de pomelo triturado (PT), fresco (P), licuado (PL) y solutos de pomelo (SP) (Ec. 8 y 9). Valores de PL referidos a la correspondiente fruta fresca (Ec. 10). Letras distintas dentro de la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el pomelo utilizado para la experiencia de liofilización (PT) y para la de atomización (P) (A o B) y entre el pomelo utilizado para la experiencia de atomización (P) y el pomelo licuado (PL) (a o b).

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

antes ( $0.011 \text{ g}_{\text{SI}}/\text{g}_{\text{PT}}$ ) que después de licuado ( $0.0018 \text{ g}_{\text{SI}}/\text{g}_{\text{PL}}$ ) debido a la eliminación de alguno de los solutos propios de la fruta, principalmente fibra, durante el proceso de licuado. También el licuado presentó diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el valor funcional cuando se compara con el pomelo antes de licuar, ambos expresados en las mismas unidades (Ec. 10), observándose un menor contenido de vitamina C, fenoles y carotenoides totales, lo cual ocasiona también una disminución de la actividad antioxidante.

La Tabla IV.2 presenta las coordenadas de color CIE  $L^*a^*b^*$  del pomelo triturado utilizado para el proceso de liofilización y del pomelo fresco y licuado utilizado para el proceso de atomización.

**Tabla IV.2** Promedio y desviación estándar de las coordenadas de color  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , Cromo ( $C^*_{ab}$ ), y tono ( $h^*_{ab}$ ) del pomelo triturado (PT) utilizado en la liofilización y del pomelo antes de licuar (P) y pomelo licuado (PL) utilizado para la atomización. Diferencias de color ( $\Delta E$ ) de PL con respecto al P.

Muestras	Liofilización	Atomización	
	PT	P	PL
$L^*$	$47.72 \pm 0.18^A$	$45.8 \pm 0.3^{Aa}$	$39.83 \pm 0.13^b$
$a^*$	$22.74 \pm 0.13^A$	$21.7 \pm 0.8^{Aa}$	$16.5 \pm 0.2^b$
$b^*$	$16.99 \pm 0.12^A$	$13.2 \pm 0.3^{Ba}$	$9.84 \pm 0.14^b$
$C^*_{ab}$	$28.38 \pm 0.17^A$	$25.4 \pm 0.9^{Aa}$	$19.1 \pm 0.2^b$
$h^*_{ab}$	$36.77 \pm 0.07^A$	$31.3 \pm 0.5^{Ba}$	$30.76 \pm 0.06^a$
$\Delta E$	-	-	$8.56 \pm 0.05$

Letras distintas dentro de la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre PT y P (A o B) y entre el P y PL (a o b).

Los lotes de pomelo de cada proceso presentaron leves diferencias de color que sólo fueron estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) a nivel de la coordenada  $b^*$  y del tono. Como era de esperar, ambos lotes presentaron valores positivos de  $a^*$  y  $b^*$  lo que da lugar a la tonalidad anaranjada propia de esta fruta. Por su parte el PL presentó diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto al P en todos los parámetros con excepción del tono. El licuado de la fruta ocasionó una disminución de las coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  y también de la pureza de color de las muestras. El licuado conlleva la eliminación de la pulpa lo que puede explicar la disminución de las coordenadas de color y por tanto la diferencias de color  $\Delta E$  encontrada con respecto al pomelo fresco.

### IV.1.2 Optimización del proceso de liofilización

En la Tabla III.1 se pueden observar los resultados experimentales obtenidos para cada variable respuesta en función de las variables independientes. Como se ha indicado en la metodología, cada una de las variables respuesta se correlacionó con las variables independientes, lo que proporcionó los efectos significativos de estas variables y sus interacciones. Teniendo en cuenta sólo estos efectos significativos, se obtuvieron los modelos reducidos finales que se muestran en la Tabla IV.3.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Tabla IV.3** Coeficientes de regresión (Ec. 13), coeficiente de determinación ajustado ( $R^2_{adj}$ ) y error estándar de la estima (EE) de los modelos finales reducidos obtenidos al correlacionar cada variable respuesta con las diferentes variables independientes para los polvos liofilizados.

Coefficientes de Regresión	$x_w$	$H_{gr}$	$\epsilon$	$L^*$	$\Delta E$	FT	VC	CT	AOA
Constante									
$\beta_0$	12.65	35.42	-8.97	53.27	-15.52	302.392	-13.04	-1.38	-1.463
Lineal									
$\beta_1$	-0.095		0.98	0.153	0.232		6.57	0.33	0.024
$\beta_2$	0.126	1.636		1.94	0.607	39.68	14.98	0.022	0.219
$\beta_3$	0.3450		2.79	3.02	1.078	89.92	110.34	12.62	
Cuadrático									
$\beta_1^2$									
$\beta_2^2$				-0.05		-2.48			-0.0136
$\beta_3^2$						-44.96	-55.17	-2.66	
Interacciones									
$\beta_{12}$									
$\beta_{13}$									
$\beta_{23}$	-0.126			-0.22				-0.91	
$R^2_{adj}$	57.64	28.03	72.04	77.94	73.77	30.99	63.72	88.46	52.34
EE	0.89	9.35	5.02	1.64	1.80	97.83	69.14	2.33	0.32

$\beta_i$ : Coeficientes de regresión estimados para los efectos lineales,  $\beta_i^2$ : coeficientes de regresión estimados para los efectos cuadráticos,  $\beta_{ij}$ : Coeficientes de regresión estimados para la interacción de los efectos. Subíndices  $i=1$ : humedad de entrada de la mezcla al liofilizador;  $i=2$ : contenido de goma arábica;  $i=3$ : contenido de fibra de bambú. Variables respuesta  $x_w$ : Contenido de agua ( $g_{agua}/100g_{SP}$ ),  $H_{gr}$ : Higroscopicidad ( $g_{agua}/100g_{SP}$ ),  $\epsilon$ : Porosidad (volumen de aire/volumen total),  $L^*$ : Luminosidad,  $\Delta E$ : Diferencia de color con respecto a la fruta liofilizada sin solutos, FT: Fenoles totales (mg GAE/100 $g_{SP}$ ), VC: contenido de vitamina C (mg/100 $g_{SP}$ ), CT: Carotenoides totales (mg  $\beta$ -caroteno/100 $g_{SP}$ ), y AOA: Actividad antioxidante (mmol TE/100  $g_{SP}$ ). PT es el pomelo triturado, SP son los solutos de pomelo.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

Para todas las variables respuesta analizadas hubo al menos un efecto significativo de alguna de las variables independientes, con un nivel de confianza del 95% ( $p < 0.05$ ).

La humedad de los polvos tras el proceso de liofilización fluctuó entre 2.5 y 7.92  $\text{g}_{\text{agua}}/100\text{g}_{\text{SP}}$  (1.1 – 4.2  $\text{g}_{\text{agua}}/100\text{g}_{\text{polvo}}$ ) (Tabla III.1). Esta variable respuesta resultó afectada de forma negativa por la humedad del producto que entra al liofilizador (Tabla IV.3), por lo tanto, cuanto mayor es esta variable, menor es la humedad del polvo obtenido.

Un mayor contenido de agua antes de la liofilización permite obtener un sistema más diluido y por tanto puede facilitar la cristalización y posterior sublimación del hielo dando lugar a un producto menos húmedo (Fabra et al., 2009). El contenido de agua de las muestras liofilizadas también mostró una interacción con los solutos añadidos (Tabla IV.3, Figura IV.1). Si sólo se adiciona goma arábica se observa que a mayor concentración de GA se obtiene un mayor contenido de agua, lo cual está relacionado con el papel crioprotector de la goma arábica que da lugar a una menor cantidad de hielo formado durante la congelación antes de la liofilización (Benlloch-Tinoco et al., 2013; Mosquera et al., 2012). Sin embargo, cuando la FB se adiciona junto con la GA, el contenido de agua del polvo disminuye. Esto puede deberse a un cierto papel estérico de la FB, que podría prevenir la interacción del agua con la GA y con el resto de solutos propios del pomelo, favoreciendo su congelación. En este sentido, los polvos con

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

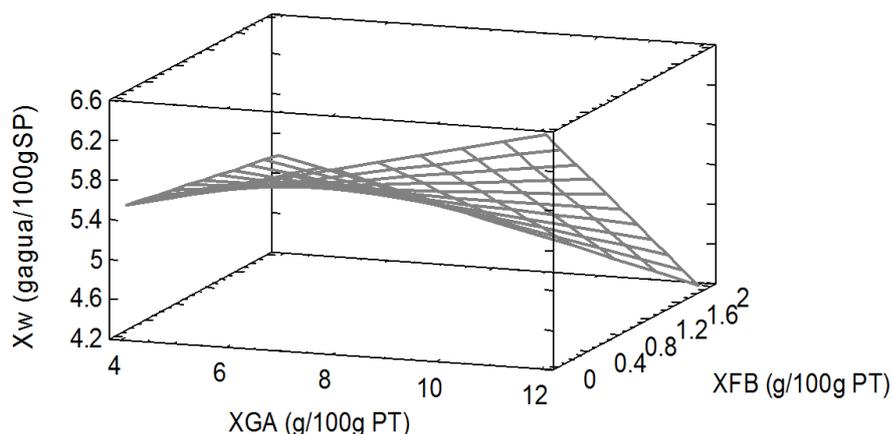
el menor contenido de agua se obtuvieron cuando se añadió la mayor cantidad de ambos solutos.

La  $H_{gr}$  de los productos en polvo está relacionada con su capacidad para absorber agua a unas condiciones determinadas de humedad relativa. Es una propiedad muy importante ya que una higroscopicidad excesiva puede ocasionar, durante el almacenamiento, el colapso de la estructura con el consiguiente desarrollo fenómenos de pegajosidad y apelmazamiento, además de pérdidas de sabor y solubilidad. En los polvos liofilizados, la  $H_{gr}$  fluctuó entre 33 y 75  $g_{agua}/100g_{SP}$  (21 - 40  $g_{agua}/100g_{polvo}$ ). Se vio afectada únicamente por la concentración de GA, presentando mayor  $H_{gr}$  las muestras a las que se les adicionó una mayor concentración de este soluto (Tabla IV.3). Fazaeli et al. (2012), indican que una causa del aumento de la higroscopicidad en las muestras que contienen mayor cantidad de goma arábica puede deberse a la propia higroscopicidad de este soluto, a diferencia de otros solutos como la maltodextrina que disminuyen esta propiedad.

En cuanto a la porosidad de las muestras liofilizadas se observó un efecto lineal positivo de  $\epsilon$  con el contenido de agua de la muestra que entra al liofilizador y con el contenido en fibra de bambú (Tabla IV.3). Una mayor porosidad está relacionada con un polvo con partículas más finas y más sueltas lo cual es deseable tanto para el producto en polvo como si se desea reconstituir el zumo, debido a que la alta

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

porosidad y los pequeños valores del ángulo de contacto entre la superficie del poro y el agua que penetra en ellos contribuyen a mejorar la humectabilidad del polvo (Freudig et al., 1999).

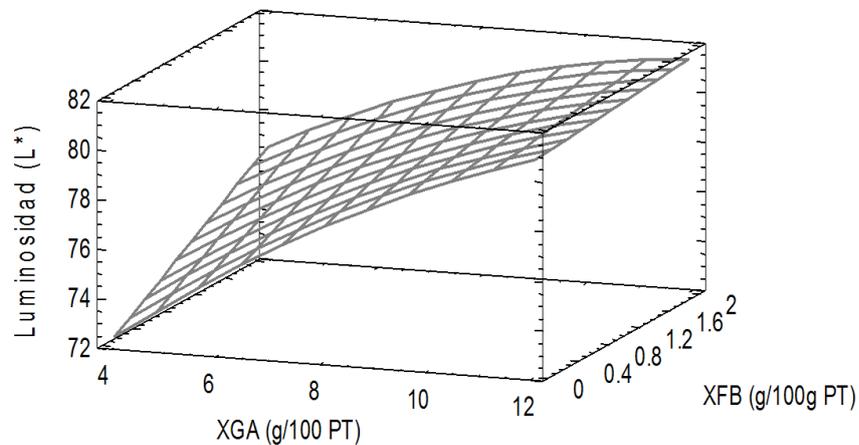


**Figura IV.1** Superficie de respuesta para el contenido de agua ( $x_w$ :  $g_{\text{agua}}/100g_{\text{SP}}$ ) de los polvos liofilizados, en función del contenido en goma arábica ( $x^{GA}$ :  $g/100g_{\text{PT}}$ ) y fibra de bambú ( $x^{FB}$ :  $g/100g_{\text{PT}}$ ). Se consideró un valor intermedio de la humedad de entrada de la mezcla al liofilizador. SP: Solutos de pomelo. PT: Pomelo triturado.

En cuanto al color, la luminosidad de los polvos liofilizados fue afectada, además de por la humedad de entrada de la muestra, por la concentración de los solutos añadidos y por su interacción (Tabla IV.3,) dando lugar a un incremento de  $L^*$  a mayor contenido de goma arábica y fibra de bambú (Figura IV.2). Cuando se calcula la diferencia de color de cada muestra con respecto al color del polvo de pomelo obtenido de una muestra liofilizada sin solutos añadidos y sin deshidratar ni hidratar, se ve que cuanto mayor es la humedad de entrada del producto y la cantidad de solutos añadidos, mayor es la

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

diferencia de color de las muestras. Así, las formulaciones con menores contenidos de solutos resultaron en polvos con un color más característico al del pomelo fresco (Tabla III.I) Efectos semejantes debido a la adición de solutos fueron observados por otros autores (Pua et al., 2007; Telis y Martínez–Navarrete, 2009; Caparino et al., 2012).

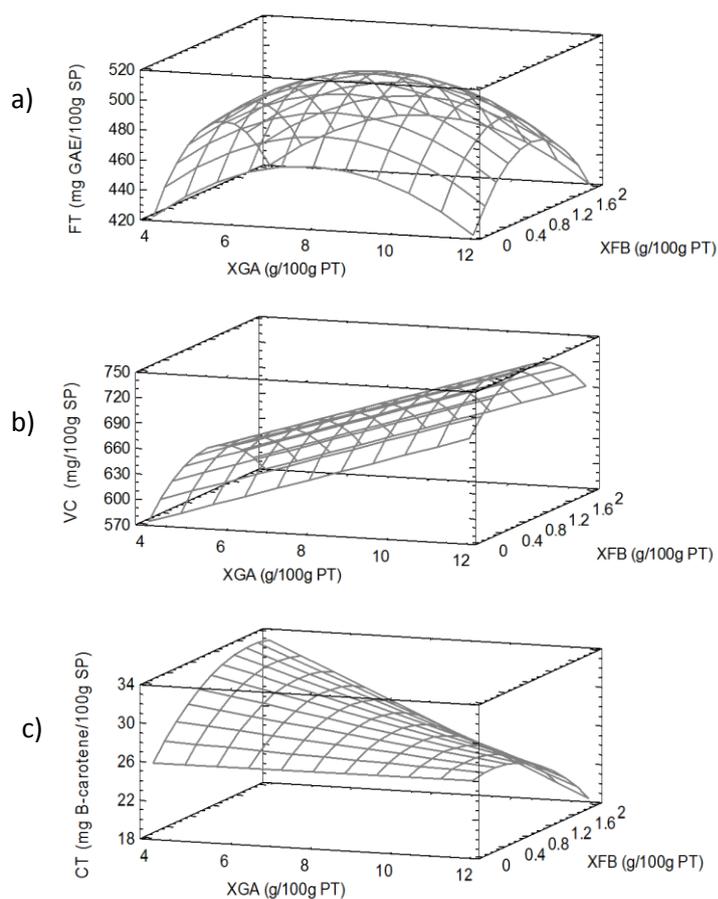


**Figura IV.2** Superficie de respuesta para la Luminosidad ( $L^*$ ) de los polvos liofilizados de los polvos liofilizados, en función del contenido en goma arábica ( $x^{GA}$ : g/100g<sub>PT</sub>) y fibra de bambú ( $x^{FB}$ : g/100g<sub>PT</sub>). Se consideró un valor intermedio de la humedad de entrada de la mezcla al liofilizador. SP: Solutos de pomelo. PT: Pomelo triturado.

En cuanto a los compuestos bioactivos, éstos se vieron afectados por las diferentes variables independientes. El contenido en FT osciló entre los 192 y 574 mg GAE/100G<sub>SP</sub> (92- 311 mg GAE/100g<sub>polvo</sub>) (Tabla III.1). Como se observa en la Tabla IV.3, la humedad de entrada de la mezcla al liofilizador no tuvo ningún efecto sobre el contenido en FT.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto lineal positivo y cuadrático negativo de  $X^{GA}$  y  $X^{FB}$ , conducen a que un nivel intermedio de ambos solutos sea lo más conveniente para obtener un producto con un alto contenido fenólico (Figura IV.3 a).



**Figura IV.3** Superficie de respuesta para a) contenido en fenoles totales (FT: mg GAE/100g<sub>SP</sub>), b) vitamina C (VC: mg/100g<sub>SP</sub>), c) carotenoides totales (CT: mg  $\beta$ -caroteno/100g<sub>SP</sub>) de los polvos liofilizados, en función del contenido en goma arábica ( $X^{GA}$ : g/100g<sub>PT</sub>) y fibra de bambú ( $X^{FB}$ :g/100g<sub>PT</sub>). Se consideró un valor intermedio de la humedad de entrada de la mezcla al liofilizador. SP: solutos de pomelo. PT: Pomelo triturado.

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El contenido de VC varió entre 439 – 831 mg/100g<sub>SP</sub> (220 – 519 mg/100g<sub>polvo</sub>) (Tabla III.1) Se observó un efecto positivo del contenido de agua de la muestra que entra al liofilizador y de la goma arábica, sobre la VC, mientras que el efecto positivo de la fibra de bambú fue compensado por su efecto cuadrático negativo (Tabla IV.3). En este sentido el polvo con mayor contenido de VC se obtuvo cuando la muestra fue procesada con un alto contenido de agua y de GA y un nivel intermedio de FB. La Figura IV.3b muestra el cambio en el contenido de VC de los polvos liofilizados, en función de los solutos añadidos para un contenido de agua intermedio. En ella se puede observar el marcado efecto de la adición de la GA en la protección de esta vitamina.

Los CT de las muestras liofilizadas, variaron desde 9 a 34 mg β-caroteno/100g<sub>SP</sub> (4 – 27 mg β-caroteno/100g<sub>polvo</sub>) (Tabla III.1). Su contenido fue afectado positivamente por todas las variables independientes y también fueron detectados algunos efectos cuadráticos negativos, e interacciones (Tabla IV.3). Como resultado, un incremento en la humedad de entrada de la mezcla antes de liofilizar, junto con un contenido intermedio-alto de fibra de bambú y bajo de goma arábica, conllevan a obtener polvos liofilizados con un alto contenido de CT (Figura IV.3).

La AOA de los extractos obtenidos con metanol fue evaluada por el método de DPPH. Aunque este método solo permite evaluar la AOA

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

proporcionada por los compuestos hidrofílicos (en nuestro caso fenoles y vitamina C), cabe destacar que éstos son los que están mayoritariamente en frutas y más contribuyen a la AOA (Boeign et al., 2014; Pulido et al., 2003). Los polvos liofilizados presentaron una AOA entre 0.121 y 1.94 mmol TE/100g<sub>SP</sub> (0.05 -1.05 mmol TE/100g<sub>polvo</sub>) (Tabla III.1). En este caso la mayor AOA se obtuvo cuando la mezcla presentó una humedad alta antes de entrar al liofilizador y una concentración intermedia de goma arábica, mientras que el contenido de fibra de bambú no presentó un efecto significativo (Tabla IV.3). El comportamiento de las muestras frente a la incorporación de GA fue similar al que se describe previamente para los fenoles totales (Figura IV.3 a), debido al efecto lineal positivo y cuadrático negativo que presentó GA en este parámetro.

Con todos los resultados procedentes de la caracterización de los 23 productos en polvo obtenidos por liofilización, se realizó una optimización de respuesta múltiple con el objetivo de conocer la mejor combinación de las variables independientes para obtener un polvo suelto, con las mejores propiedades ópticas y funcionales. En este sentido se minimizó el contenido de agua, higroscopicidad, diferencia de color y luminosidad y se maximizó la porosidad, los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante. El proceso de liofilización optimizado de esta forma fue el resultado de formular el pomelo triturado añadiendo de 4.2 g de GA y 0.58 g de FB por cada 100 g de PT y llevando la muestra hasta una humedad de 90

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

$\text{g}_{\text{agua}}/100\text{g}_{\text{mezcla}}$ . Esta formulación para la obtención del producto liofilizado óptimo se identificará, a partir de ahora, como OL. Según el modelo, bajo estas condiciones óptimas se obtendría un polvo con unos valores de contenido de agua de  $4.53 \text{ g}_{\text{agua}}/100\text{g}_{\text{SP}}$ ; higroscopicidad de  $42.29 \text{ g}_{\text{agua}}/100\text{g}_{\text{SP}}$ , porosidad de  $81.23 \%$  (v/v), luminosidad de  $75.42$ , diferencia de color de  $8.52$ , un contenido de fenoles totales de  $462.34 \text{ mg GAE}/100\text{g}_{\text{SP}}$ , vitamina C de  $686.89 \text{ mg}/100\text{g}_{\text{SP}}$ , carotenoides totales de  $33.46 \text{ mg } \beta\text{-caroteno}/100\text{g}_{\text{SP}}$  y una actividad antioxidante de  $1.34 \text{ mmol TE}/100\text{g}_{\text{SP}}$ . Por tanto, estos resultados permiten decir que la adición de agua, GA y FB en las cantidades optimizadas contribuye a la mejor preservación de los fenoles totales, la vitamina C y los carotenoides totales, dando lugar a un producto final más suelto, con buen color, baja humedad y baja higroscopicidad.

##### **IV.1.3 Optimización del proceso de atomización**

Los resultados experimentales obtenidos para cada variable respuesta analizada en los productos en polvo obtenidos por atomización se observan en la Tabla III.2. Los modelos reducidos finales correspondientes a la correlación de cada variable de respuesta significativa ( $p < 0.05$ ) con las variables independientes se presentan en la Tabla IV.4.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

El contenido de agua de los polvos atomizados varió entre 1.68–15.53  $g_{\text{agua}}/100g_{\text{SP}}$  (Tabla III.2), lo que se corresponde con valores de 0.8–7.8  $g_{\text{agua}}/100g_{\text{polvo}}$ . Estos valores se encuentra dentro del rango de humedad normal reportado en productos atomizados (Igual et al., 2014). En los procesos de secado por aspersion generalmente el incremento de la temperatura de secado da lugar a una mayor reducción del contenido de agua de los polvos resultantes. En este caso se observó este efecto negativo del contenido de agua del polvo obtenido con la temperatura de atomización. Esto está relacionado con una mayor tasa de transferencia de calor dentro de las partículas lo cual provoca una eliminación más rápida e intensa del agua (Kha et al., 2010; Quek et al., 2007).

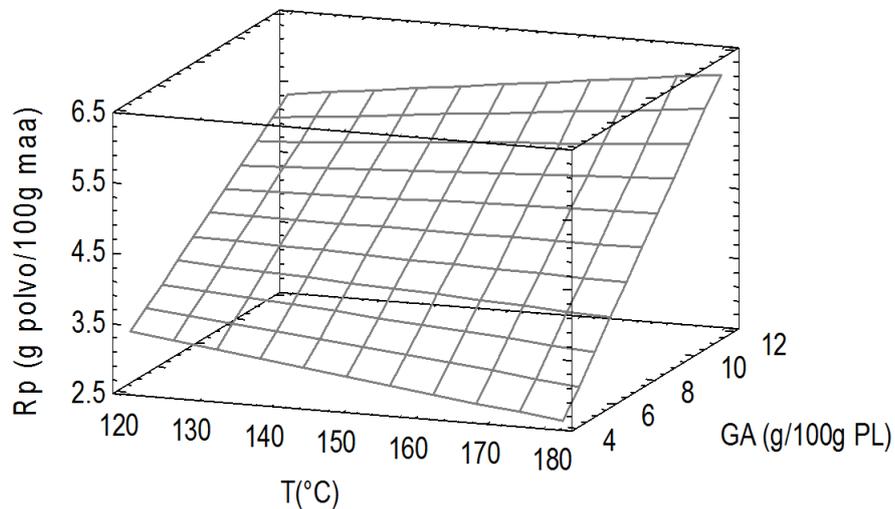
El rendimiento del secado de las muestras, presentó valores entre 87 y 93  $g_{\text{agua evaporada}}/100g_{\text{m}_{\text{aa}}}$  (Tabla III.2). Aunque estos rendimientos en general se consideran altos, el rendimiento en producto fue bajo en todos los casos (entre 1 y 6  $g_{\text{polvo}}/100g_{\text{m}_{\text{aa}}}$ ). De acuerdo a Phisut (2012), en frutas, los rendimientos en producto son bajos debido a la composición de la fruta ya que los ácidos y los azúcares de bajo peso molecular presentes suelen pegarse en la pared de la cámara del secador durante la atomización ocasionando muchas veces problemas operacionales. El  $R_p$  fue afectado por todas las variables (Tabla IV.4), dando lugar a mayores  $R_p$  cuando la temperatura de entrada del aire y la concentración de GA aumentan conjuntamente (Figura IV.4).

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Tabla IV.4** Coeficientes de regresión (Ec. 13), coeficiente de determinación ajustado ( $R^2_{adj}$ ) y error estándar de la estima (EE) de los modelos finales reducidos obtenidos al correlacionar cada variable respuesta estudiada con las variables independientes para los polvos atomizados.

Coeficiente de Regresión	$x_w$	$R_p$	$R_s$	$H_{gr}$	$\epsilon$	$L^*$	FT	VC	AOA
Constante									
$\beta_0$	15.9937	5.76247	93.1724	-189.57	0.588	52.7685	-1448.15	902.536	1.802
Lineal									
$\beta_1$	-0.075	-0.026	0.00854	2.99			24.4936	-3.00206	
$\beta_2$		-0.1348	-0.496	1.84	0.047	7.639			-0.075
$\beta_3$		-0.6343	0.3122	14.67				143.071	
Cuadrático									
$\beta_1^2$				-0.009			-0.081		
$\beta_2^2$					-0.0029	-0.3723			
$\beta_3^2$		0.3171		-7.339				-50.4189	
Interacciones									
$\beta_{12}$		0.00322							
$\beta_{13}$			-0.0047						
$\beta_{23}$									
$R^2_{adj}$	33.3	84.60	98.86	64.58	44.39	72.80	41.63	72.61	37.50
EE	2.4	0.48	0.19	7.99	0.04	4.40	71.69	48.63	0.29

$\beta_i$ : Coeficientes de regresión estimados para los efectos lineales,  $\beta_i^2$ : coeficientes de regresión estimados para los efectos cuadráticos,  $\beta_{ij}$ : Coeficientes de regresión estimados para la interacción de los efectos. Subíndices i=1: temperatura de entrada del aire; i=2: contenido de goma arábica; i=3: contenido de fibra de bambú. Variables respuesta:  $x_w$ : Contenido de agua ( $g_{agua}/100g_{SP}$ ),  $R_p$ : Rendimiento en producto ( $g_{polvo}/100g_{m_{aa}}$ ),  $R_s$ : Rendimiento en secado ( $g_{agua\ evaporada}/100g_{m_{aa}}$ ),  $H_{gr}$ : Higroscopicidad ( $g_{agua}/100g_{SP}$ ),  $\epsilon$ : Porosidad (volumen de aire/volumen total),  $L^*$ : Luminosidad, FT: Fenoles totales (mg GAE/100 $g_{SP}$ ), VC: contenido de vitamina C (mg/100 $g_{SP}$ ), CT: Carotenoides totales (mg  $\beta$ -caroteno/100  $g_{SP}$ ), y AOA: Actividad antioxidante (mmol TE/100  $g_{SP}$ ). PL es el pomelo licuado,  $m_{aa}$  es la mezcla que alimenta al atomizador, SP son los solutos de pomelo.



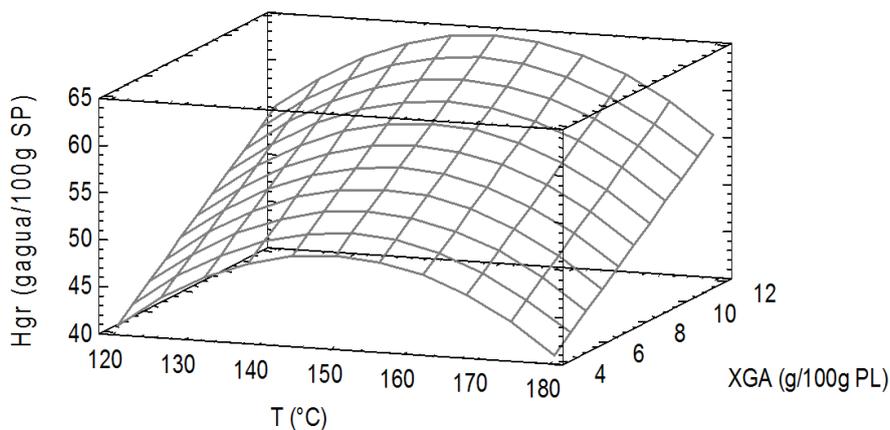
**Figura IV.4** Superficie de respuesta para  $R_p$ : Rendimiento en producto ( $g_{polvo}/100g_{maa}$ ) de la atomización en función de contenido en goma arábica ( $x^{GA}$ :  $g/100g_{PL}$ ) y la temperatura de entrada del aire ( $T$ :  $^{\circ}C$ ). Se consideró un valor intermedio del contenido de fibra de bambú. PL: Pomelo licuado.

La  $H_{gr}$  osciló entre valores de 24 y 67  $g_{agua}/100g_{SP}$  (16-36  $g_{agua}/100g_{polvo}$ ) (Tabla III.2) y fue afectada tanto por la temperatura de entrada del aire como por la concentración de goma arábica y fibra de bambú (Tabla IV.4). La  $H_{gr}$  aumentó con la adición de GA y presentó mayores valores a temperaturas y contenidos de FB intermedios (Figura IV.5). Como ya se ha comentado, el aumento de la  $H_{gr}$  de los polvos debido al efecto de la GA puede deberse probablemente a la propia higroscopicidad de la goma (Fazaeli et al., 2012). Esta influencia fue reportada también por Telis y Martínez-Navarrete (2009). En este caso son las temperaturas de atomización más bajas o más altas junto con bajos contenidos en GA las que dan lugar a un polvo con baja higroscopicidad.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

En cuanto a la  $\epsilon$  de los polvos atomizados, ésta fue afectada únicamente por la concentración de GA (Tabla IV.4). Niveles intermedios de goma arábica dieron lugar a polvos con mayor  $\epsilon$ , que es lo deseable.



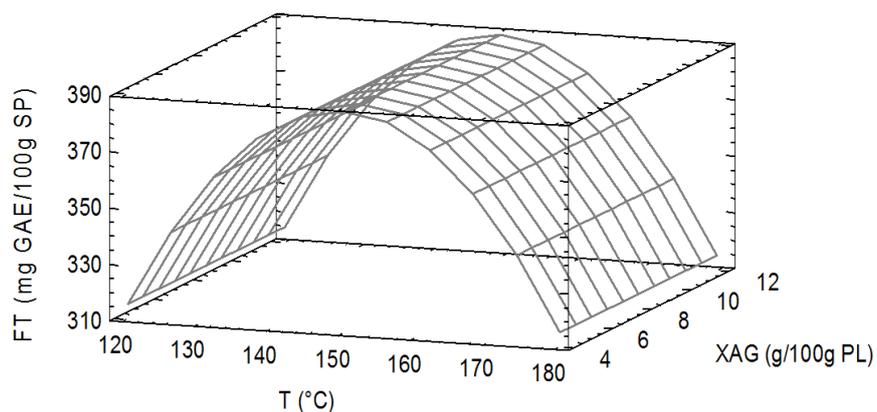
**Figura IV.5** Superficie de respuesta para la higroscopicidad ( $H_{gr}$ :  $g_{agua}/100g_{SP}$ ) de los polvos atomizados en función del contenido en goma arábica ( $x^{GA}$ :  $g/100g_{PL}$ ) y la temperatura de entrada del aire ( $T$ : °C). Se consideró un valor intermedio del contenido en fibra de bambú. PL: Pomelo licuado. SP: Solutos de pomelo. PL: Pomelo licuado.

El color de las muestras atomizadas fue afectado únicamente por la adición de la goma arábica (Tabla IV.4), debido a que contribuye con el aumento de la claridad de las disoluciones de partida dando lugar posteriormente a polvos más luminosos. Efectos semejantes debido a la adición de solutos fueron observados por otros autores (Pua et al., 2007; Telis y Martínez–Navarrete, 2009; Caparino et al., 2012). Kha et al. (2010), además, observaron que la temperatura de atomización no influye en la luminosidad de los polvos obtenidos siendo solo

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

influenciada por el efecto de la adición del soluto que, en su caso, fue la maltodextrina.

Los compuestos bioactivos de los productos en polvo obtenidos por atomización fueron afectados en diferente medida por las variables independientes. El contenido en FT varió entre 100 y 504 mg GAE/100g<sub>SP</sub> (50 – 395 mg GAE/100g<sub>polvo</sub>) (Tabla III.2). En este caso sólo la temperatura mostró un efecto lineal positivo y negativo cuadrático sobre los FT por lo que temperaturas intermedias favorecieron la extracción de estos compuestos (Figura IV.6).



**Figura IV.6** Superficie de respuesta para FT: fenoles totales (mg GAE/100G<sub>SP</sub>) de los polvos atomizados en función de la temperatura de entrada del aire (T: °C) y el contenido en goma arábica (x<sup>GA</sup>: g/100g<sub>PL</sub>). Se consideró un valor intermedio del contenido en fibra de bambú. PL: Pomelo licuado, SP: Solutos de pomelo. PL: Pomelo licuado.

Este mismo comportamiento ha sido observado por Sharma et al. (2015) en cebollas deshidratadas. Temperaturas muy altas de

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

atomización pueden ocasionar la degradación de estos compuestos debido a que los polifenoles son termolábiles y bajo tratamientos térmicos intensos pueden sufrir modificaciones químicas irreversibles (Vashisth et al., 2011). No obstante, temperaturas intermedias pueden provocar cambios estructurales que facilitan la posterior extracción.

La VC fluctuó entre 314 y 700 mg/100g<sub>SP</sub> (164- 356 mg/100g<sub>polvo</sub>) (Tabla III.2). El incremento de la temperatura causó una disminución en el contenido de VC de los polvos. Este mismo comportamiento también ha sido observado por otros autores Langrish (2009) y Solval et al. (2012). La oxidación de la vitamina C durante los procesos térmicos ha sido documentada por Selman (1994) y Damodaran et al. (2008). Por otra parte, se observó un efecto protector de la fibra de bambú en concentraciones intermedias (Tabla IV.4).

Los CT, de acuerdo al análisis estadístico, no fueron afectados significativamente por ninguna de las variables independientes. Estos variaron entre 0 y 30.2 mg  $\beta$ -caroteno/100g<sub>SP</sub> (0 – 21 mg  $\beta$ -caroteno/100g<sub>polvo</sub>) (Tabla III.2). Otros autores como Kha et al. (2010) tampoco encontraron diferencias estadísticas en el contenido en CT durante el secado por aspersión de la fruta Gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng), en el rango de temperaturas estudiadas (140 - 200 °C).

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

En cuanto a la actividad antioxidante, las muestras atomizadas presentaron valores entre 0.42 – 1.84 mmol TE /100g<sub>SP</sub> (0.19-120 mmol TE/100g<sub>polvo</sub>) (Tabla III.2). Se observó únicamente un efecto lineal negativo ( $p < 0.05$ ) de la goma arábica sobre la AOA (Tabla IV.4), de tal forma que las formulaciones de menor concentración de goma arábica dieron lugar a un polvo con mayor actividad antioxidante.

El polvo obtenido mediante el secado por atomización puede considerarse óptimo cuando el contenido de agua, la higroscopicidad, y la luminosidad son bajos, mientras la porosidad, el rendimiento del secado, rendimiento en producto, los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante son altos. Al aplicar el proceso de optimización de respuesta múltiple con estos criterios, considerando las variables cuyos modelos habían resultado correlacionados de forma significativa ( $p < 0.05$ ) con las variables independientes, se obtuvo que la combinación óptima de las variables independientes de la atomización para la obtención del mejor polvo atomizado son una temperatura de entrada del aire de 120 °C, una concentración de goma arábica de 4g/100g<sub>PL</sub> y de fibra de bambú de 2 g/100g<sub>PL</sub>. Bajo estas condiciones se obtendría un polvo optimizado (OA) con unos valores de contenido de agua de 6.99 g<sub>agua</sub>/100g<sub>SP</sub> (3.23 g<sub>agua</sub>/100g<sub>polvo</sub>); rendimiento en producto de 3.65 g<sub>polvo</sub>/100g m<sub>aa</sub>, rendimiento del secado de 91.71 g<sub>agua evaporada</sub>/100g m<sub>aa</sub>, higroscopicidad de 33.35 g<sub>agua</sub>/100g<sub>SP</sub>, porosidad de 72.96 % (v/v),

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

luminosidad de 77.37, contenido en fenoles totales de 324.68 mg GAE/100g<sub>SP</sub>; vitamina C de 626.75 mg/100g<sub>SP</sub>, y una actividad antioxidante de 1.50 mmol TE/100g<sub>SP</sub>.

En el caso de la atomización, la etapa de licuado junto con las altas temperaturas de secado conllevan una mayor pérdida de los diferentes compuestos bioactivos que la liofilización, especialmente de la vitamina C y los carotenoides, a pesar de la adición de la GA y FB, los cuales son necesarios para aumentar el rendimiento del producto. De acuerdo a los datos experimentales obtenidos hasta el momento, la liofilización podría proponerse como una mejor tecnología de secado que la atomización.

##### **IV.1.4 Validación de los modelos**

Cuando se obtienen modelos de predicción es necesario realizar una validación con el objetivo de ver la adecuación del correspondiente modelo en la predicción de las variables respuesta en función de las variables independientes.

Para la validación de los modelos de superficie de respuesta obtenidos para cada proceso se plantearon tres formulaciones, dentro de las cuales se incluyó la formulación óptima obtenida en cada caso y dos formulaciones adicionales (Tabla IV.5), las cuales variaron en el contenido de agua de la mezcla que entra al liofilizador,

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

en la temperatura de entrada del aire en las formulaciones a atomizar y en el contenido de solutos adicionado en ambos casos. Para obtener una mayor fiabilidad de los resultados se utilizaron dos lotes de pomelo diferentes, uno para las formulaciones óptimas y otro para las adicionales. Ambos lotes fueron caracterizados a nivel de sus propiedades funcionales (Tabla IV.6). Los resultados de la caracterización mostraron que, si bien la materia prima de partida presentó una cierta variabilidad en el contenido de compuestos bioactivos, lo cual puede asociarse a factores relacionados con el cultivo de la fruta (Cardoso et al., 2011), los valores obtenidos se encontraron en un rango adecuado para esta fruta.

**Tabla IV.5** Formulaciones consideradas para la validación de los modelos.

Tratamientos	$x_w^0 / T^*$	$x^{GA}$	$x^{FB}$
<b>Óptimo liofilización (OL)</b>	<b>90</b>	<b>4.2</b>	<b>0.58</b>
Formulación 1 (FL1)	80	2.65	0.32
Formulación 2 (FL2)	71.32	3.95	0.49
<b>Óptimo atomización (OA)</b>	<b>120</b>	<b>4</b>	<b>2</b>
Formulación 1 (FA1)	148	4.6	0
Formulación 2 (FA2)	188	3.98	0

\*Contenido de agua de la muestra antes de liofilizar ( $x_w^0$ :  $g_{\text{agua}}/100g_{\text{mezcla}}$ ) o temperatura (T: °C) de entrada del aire al atomizador, y concentración de goma arábica ( $x^{GA}$ ) y fibra de bambú ( $x^{FB}$ ) en  $g/100g_{PT \text{ o } PL}$  para el liofilizado o atomizado respectivamente. PT: Pomelo triturado; PL: Pomelo licuado.

Todos los polvos liofilizados o atomizados obtenidos fueron analizados en todas las variables respuesta contempladas en el

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

estudio. Así las determinaciones analíticas realizadas en común para los polvos liofilizados y atomizados fueron el contenido de agua, la higroscopicidad, porosidad, luminosidad, y el contenido en vitamina C, fenoles totales, carotenoides totales y la actividad antioxidante. Además se analizó, para los liofilizados, la diferencia de color con respecto al polvo liofilizado sin solutos y sin deshidratar ni hidratar y, para los atomizados, se calculó además el rendimiento del secado y en producto. Todos estos resultados se muestran en las tablas IV.7 y IV.8.

**Tabla IV.6** Caracterización funcional del pomelo triturado (PT) y licuado (PL) utilizado para la obtención de los polvos optimizados por liofilización (OL) y por atomización (OA) y de las formulaciones adicionales del proceso de liofilización (FL1 y FL2, Tabla IV.5) y atomización (FA1 y FA2, Tabla IV.5).

Formulaciones	Liofilizados		Atomizados	
	PT <sub>OL</sub>	PT <sub>FL1/FL2</sub>	PL <sub>OA</sub>	PL <sub>FA1/FA2</sub>
VC	475 ± 17 <sup>c</sup>	633 ± 60 <sup>a</sup>	510 ± 9 <sup>bc</sup>	560 ± 15 <sup>b</sup>
CT	45 ± 4 <sup>b</sup>	44.2 ± 1.6 <sup>b</sup>	52 ± 4 <sup>a</sup>	48.5 ± 0.9 <sup>ab</sup>
FT	602 ± 32 <sup>a</sup>	531 ± 7 <sup>b</sup>	591 ± 9 <sup>a</sup>	455 ± 7 <sup>c</sup>
AOA	1.44 ± 0.04 <sup>b</sup>	1.56 ± 0.04 <sup>ab</sup>	1.61 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.30 ± 0.02 <sup>c</sup>

Valores promedio y desviación estándar de los compuestos bioactivos (mg/100g<sub>SP</sub>) y la actividad antioxidante (mmol TE/100g<sub>SP</sub>). SP: Solutos de pomelo. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre grupos.

Para llevar a cabo la validación, además de los valores experimentales obtenidos para los productos en polvo, se calculó el valor predicho de cada una de estas variables mediante los modelos individuales de

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

superficie de respuesta obtenidos en cada caso (Tablas IV.3 y IV.4) y se compararon estadísticamente mediante un análisis de varianza con un nivel de confianza del 95%. No obstante, debido a la variabilidad en el contenido de los compuestos funcionales de otras materias primas de partida, para poder comparar los valores predichos por los modelos que se obtuvieron con una materia prima con los valores experimentales procedentes de otra materia prima, la validación se hizo contrastando la retención del compuesto bioactivo y la actividad antioxidante en cada caso, calculadas según las Ec. 18 y 19.

$$\Delta_i^{Pred} = \frac{m_i^{pPred}}{m_i^{MP1}} \quad (18)$$

$$\Delta_i^{Exp} = \frac{m_i^{pExp}}{m_i^{MP2}} \quad (19)$$

Dónde:  $\Delta_i^{Pred}$  es la retención del compuesto según predice el modelo (p/p);  $\Delta_i^{Exp}$  es la retención del compuesto  $i$  obtenido experimentalmente (p/p);  $m_i^{MPi}$  es la masa del compuesto bioactivo  $i$  (mg/100g<sub>SP</sub>) o de la actividad antioxidante (mmol TE/100g<sub>SP</sub>) analizada en la materia prima utilizada para la obtención de los modelos ( $i = 1$ , Tabla IV.1) o para la validación de los modelos ( $i = 2$  Tabla IV.6);  $m_i^{pPred}$  es la masa del compuesto  $i$  en el polvo predicho por el modelo correspondiente (Tabla IV.3 para el producto liofilizado y Tabla IV.4 para el atomizado);  $m_i^{pExp}$  es la masa del compuesto  $i$  en el polvo obtenido experimentalmente (Tabla IV.7 o IV.8).

Los resultados de la comparación estadística de las variables predichas y experimentales se muestran en las Tablas IV.7 y IV.8, para los diferentes productos liofilizados y atomizados, respectivamente.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Tabla IV.7** Comparación entre valores predichos (Pred) y experimentales (Exp) de las diferentes propiedades o compuestos analizados en los productos en polvo obtenidos por liofilización. Entre paréntesis retención del compuesto (p/p) (Ec. 18 y 19) valores medios  $\pm$  desviación estándar.

Análisis		OL	FL1	FL2
$x_w$	Pred	4.5 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>	5.4 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>	6.3 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>
	Exp	2.9 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	3.8 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	2.17 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
$H_{gr}$	Pred	42 $\pm$ 9 <sup>a</sup>	39.8 $\pm$ 9.4 <sup>a</sup>	41.88 $\pm$ 9.4 <sup>a</sup>
	Exp	40.6 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>	38.3 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	39.9 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>
$\epsilon$	Pred	81 $\pm$ 5 <sup>a</sup>	71 $\pm$ 5 <sup>a</sup>	63 $\pm$ 5 <sup>a</sup>
	Exp	79 $\pm$ 2 <sup>a</sup>	68.1 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	63 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>
$L^*$	Pred	75.4 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>	71.06 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>	72.03 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup>
	Exp	78.06 $\pm$ 0.52 <sup>a</sup>	69 $\pm$ 2 <sup>a</sup>	69.7 $\pm$ 4.7 <sup>a</sup>
$\Delta E$	Pred	8.5 $\pm$ 1.8 <sup>a</sup>	5.02 $\pm$ 1.8 <sup>a</sup>	3.94 $\pm$ 1.8 <sup>a</sup>
	Exp	6.6 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	5.1 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	5.6 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>
FT	Pred	462 $\pm$ 98 (1.08 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup> )	414 $\pm$ 98 (0.97 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup> )	454 $\pm$ 98 (1.06 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup> )
	Exp	548 $\pm$ 9 (0.91 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup> )	454 $\pm$ 10 (0.853 $\pm$ 0.002 <sup>a</sup> )	443 $\pm$ 3 (0.83 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup> )
VC	Pred	687 $\pm$ 69 (0.802 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup> )	583 $\pm$ 69 (0.68 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup> )	556 $\pm$ 69 (0.60 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup> )
	Exp	465 $\pm$ 9 (0.98 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup> )	572 $\pm$ 6 (0.91 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup> )	351 $\pm$ 3 (0.56 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup> )
CT	Pred	33 $\pm$ 2 (0.77 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup> )	29 $\pm$ 2 (0.66 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup> )	26.7 $\pm$ 2 (0.61 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup> )
	Exp	31.2 $\pm$ 0.8 (0.747 $\pm$ 0.007 <sup>a</sup> )	27.8 $\pm$ 0.12 (0.68 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup> )	30.4 $\pm$ 0.2 (0.69 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup> )
AOA	Pred	1.37 $\pm$ 0.03 (1.1 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup> )	0.94 $\pm$ 0.03 (0.75 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup> )	1.30 $\pm$ 0.03 (0.88 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup> )
	Exp	2.287 $\pm$ 0.004 (1.59 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup> )	1.13 $\pm$ 0.05 (0.72 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup> )	1.55 $\pm$ 0.02 (0.99 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup> )

Para cada propiedad o compuesto analizado letras diferentes en la columna indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Fuera del paréntesis valor predicho  $\pm$  error estándar para Pred y media  $\pm$  desviación estándar para Exp. Unidades: Contenido de agua ( $x_w$ : g<sub>agua</sub>/100g<sub>SP</sub>), Higroscopicidad ( $H_{gr}$ : g<sub>agua</sub>/100g<sub>SP</sub>), Porosidad ( $\epsilon$ : volumen de aire/volumen total, %), Luminosidad ( $L^*$ ), Diferencia de color con respecto a la fruta liofilizada sin solutos ( $\Delta E$ ), Fenoles totales (FT: mg GAE/100g<sub>SP</sub>), Vitamina C (VC: mg/100g<sub>SP</sub>), carotenoides totales (CT: mg  $\beta$ -caroteno/100g<sub>SP</sub>), Actividad antioxidante (AOA: mmol TE/100g<sub>SP</sub>). SP: Solutos de pomelo.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Tabla IV.8** Comparación entre valores predichos (Pred) y experimentales (Exp) de las diferentes propiedades o compuestos analizados en los productos en polvo obtenidos por atomización. Entre paréntesis retención del compuesto (p/p) (Ec. 18 y 19). Valores medios  $\pm$  desviación estándar.

Análisis		OA	FA1	FA2
$x_w$	Pred	6.9 $\pm$ 2.4 <sup>a</sup>	4.9 $\pm$ 2.4 <sup>a</sup>	1.9 $\pm$ 2.4 <sup>a</sup>
	Exp	3.31 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	2.75 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	2.53 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
$R_s$	Pred	91.7 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	92.2 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	92.8 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>
	Exp	92.14 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	92.8 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	88.22 $\pm$ 4 <sup>a</sup>
$R_p$	Pred	3.6 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	4.8 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	4.1 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>
	Exp	3.56 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	3.58 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	4.19 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>
$H_{gr}$	Pred	33.3 $\pm$ 7.9 <sup>a</sup>	43 $\pm$ 8 <sup>a</sup>	27 $\pm$ 8 <sup>a</sup>
	Exp	43 $\pm$ 5 <sup>a</sup>	41.22 $\pm$ 1.38 <sup>a</sup>	26.05 $\pm$ 0.88 <sup>a</sup>
$\epsilon$	Pred	73 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	74 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	73 $\pm$ 4 <sup>a</sup>
	Exp	72 $\pm$ 5 <sup>a</sup>	74.1 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>	72.8 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>
$L^*$	Pred	77 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	80 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	77 $\pm$ 4 <sup>a</sup>
	Exp	80.6 $\pm$ 1.5 <sup>a</sup>	87 $\pm$ 3 <sup>a</sup>	85.2 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>
FT	Pred	325 $\pm$ 72 (0.92 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup> )	403 $\pm$ 72 (1.14 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup> )	294 $\pm$ 72 (0.8 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup> )
	Exp	455 $\pm$ 7 (0.77 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup> )	628 $\pm$ 6 (1.477 $\pm$ 0.007 <sup>a</sup> )	243 $\pm$ 24 (0.57 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup> )
VC	Pred	626 $\pm$ 49 (0.81 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup> )	458 $\pm$ 49 (0.59 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup> )	338 $\pm$ 49 (0.51 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup> )
	Exp	492 $\pm$ 4 (0.96 $\pm$ 0.009 <sup>b</sup> )	339 $\pm$ 35 (0.61 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup> )	444 $\pm$ 31 (0.79 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup> )
AOA	Pred	1.50 $\pm$ 0.29 (1.16 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup> )	1.46 $\pm$ 0.29 (1.12 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup> )	1.50 $\pm$ 0.29 (1.16 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup> )
	Exp	2.12 $\pm$ 0.02 (1.32 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup> )	1.713 $\pm$ 0.012 (1.27 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup> )	1.743 $\pm$ 0.006 (1.29 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup> )
CT	Exp	19 $\pm$ 2 (0.37 $\pm$ 0.06)	6.7 $\pm$ 1.2 (0.15 $\pm$ 0.02)	6.5 $\pm$ 0.4 (0.137 $\pm$ 0.003)

Para cada propiedad o compuesto analizado letras diferentes en la columna indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Fuera del paréntesis valor predicho  $\pm$  error estándar para Pred y media  $\pm$  desviación estándar para Exp. Unidades: Contenido de agua ( $x_w$ : g<sub>agua</sub>/100g<sub>SP</sub>), Rendimiento en secado ( $R_s$ : g<sub>agua evaporada</sub>/100g m<sub>aa</sub>), Rendimiento en producto ( $R_p$ : g<sub>polvo</sub>/100g m<sub>aa</sub>), Higroscopicidad ( $H_{gr}$ : g<sub>agua</sub>/100g<sub>SP</sub>), Porosidad ( $\epsilon$ : volumen de aire/volumen total, %), Luminosidad ( $L^*$ ), Diferencia de color con respecto a la fruta liofilizada sin solutos ( $\Delta E$ ), Fenoles totales (FT: mg GAE/100g<sub>SP</sub>), Vitamina C (VC: mg/100g<sub>SP</sub>), carotenoides totales (CT: mg  $\beta$ -caroteno/100g<sub>SP</sub>), Actividad antioxidante (AOA: mmol TE/100g<sub>SP</sub>). SP: Solutos de pomelo.

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

---

Los resultados evidenciaron, de forma general, una buena predicción de los modelos individuales obtenidos para cada variable de respuesta, ya que no se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) con respecto a los análisis experimentales realizados.

Este resultado permite validar los modelos establecidos, y por tanto, asegurar que las condiciones de liofilización y atomización óptimas propuestas en cada caso conllevan a la obtención de un polvo liofilizado o atomizado con las mejores propiedades nutritivas, funcionales y sensoriales. Si se comparan los valores de las propiedades físicas, de los compuestos bioactivos analizados y de la actividad antioxidante en el producto óptimo liofilizado con el producto óptimo atomizado, se confirma la mejor calidad del primero.

##### **IV.2 ESTUDIO DE ENCAPSULACIÓN**

La microencapsulación es una tecnología cada vez más atractiva para mantener la calidad y mejorar la estabilidad de los alimentos. Consiste en la protección del material de interés bajo una película del material encapsulante que actúe como barrera, protegiéndolo de las condiciones ambientales como la luz, la temperatura, oxígeno, humedad y de la interacción con otras sustancias, además de controlar la difusividad de algunos compuestos. La microencapsulación de frutas puede utilizarse fundamentalmente para proteger ácidos, enzimas, aromas, vitaminas, minerales y

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

fitoquímicos. Como ya se ha comentado en la introducción, tanto la liofilización como la atomización pueden utilizarse con este fin.

Con el objetivo de comparar la eficacia de ambos procesos, en esta parte de la Tesis se ha realizado una caracterización exhaustiva de los principales compuestos bioactivos (ácido ascórbico, tocoferoles, compuestos fenólicos) y de la actividad antioxidante que presenta el pomelo en polvo obtenido en las condiciones optimizadas en cada caso. Además, con el fin de conocer la contribución de cada variable considerada en la formulación a la capacidad encapsulante, se consideraron unas formulaciones adicionales obtenidas sin la adición de agua antes de liofilizar y variando el contenido de solutos añadidos (Tabla IV.9): sin solutos añadidos (FL<sub>1</sub>), solo con fibra de bambú (FL<sub>2</sub>), o sólo goma arábica (FL<sub>3</sub>) o la adición de ambos solutos (FL<sub>4</sub>). Por su parte se planteó una sola formulación adicional (FA<sub>1</sub>) al OA la cual varió únicamente en el contenido de solutos añadidos (sólo goma arábica), manteniendo la temperatura de atomización previamente optimizada (120 °C). Para este caso no fue posible la obtención de un polvo atomizado sin solutos o sólo con la cantidad de fibra utilizada en el estudio debido al impedimento tecnológico. Los resultados de este estudio han sido publicados en la revista *LWT-Food Science and Technology* (Agudelo et al., 2017b).

El contenido en AA y  $\alpha$ -tocoferol presentes en los productos en polvo obtenidos a partir de las diferentes formulaciones se muestra en la

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Tabla IV.10. En general, los valores obtenidos para AA fueron comparables a los obtenidos en otros estudios reportados en la literatura en variedades de pomelo rosa (Moraga et al., 2012), al igual que las concentraciones encontradas de  $\alpha$  – tocoferol (Chun et al., 2006; USDA, 2011). Los resultados mostraron leves diferencias entre el contenido de AA en las muestras liofilizadas y las atomizadas. En los polvos liofilizados, aunque se observaron diferencias significativas entre ellos ( $p < 0.05$ ), éstas fueron pequeñas y no se evidencia un claro efecto de los solutos ni de la hidratación en la degradación de éste ácido. En todo caso la liofilización normalmente conduce a un producto con una alta retención en AA debido a las bajas temperaturas usadas en el proceso y a la ausencia de oxígeno en la cámara de secado, siendo esta última la principal causa de la oxidación del AA y su degradación (Park et al., 2016). Por su parte la adición conjunta de solutos en el pomelo atomizado parece ofrecer una mayor protección a la degradación del AA por la temperatura, que cuando se adiciona solo goma arábiga. En ambos casos los óptimos de cada proceso OA Y OL presentaron contenidos adecuados de AA.

En cuanto al  $\alpha$ -tocoferol (Tabla IV.10), en general, los polvos liofilizados presentaron un mayor contenido que los atomizados, observando una mayor retención de esta vitamina cuando se añaden los solutos, especialmente GA. En este caso, tanto las propiedades encapsulantes de la goma arábiga (Glicksman, 1983) como las

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

propiedades emulgentes y de capilaridad de la fibra de bambú reportadas por el fabricante (VITACEL®), pueden contribuir a una mayor estabilidad del tocoferol durante el procesado de los polvos. En ambos casos los productos obtenidos por los dos procesos presentaron altos contenidos en esta vitamina.

**Tabla IV.9** Formulaciones planteadas a partir del óptimo liofilizado (OL) y el óptimo atomizado (OA).

		Solutos añadidos (g/100g PT o PL)	
		Goma Arábica (GA)	Fibra de bambú (FB)
<b>Liofilizados</b>			
1	FL <sub>1</sub>	0	0
2	FL <sub>2</sub>	0	0.58
3	FL <sub>3</sub>	4.2	0
4	FL <sub>4</sub>	4.2	0.58
5	<b>OL*</b>	<b>4.2</b>	<b>0.58</b>
<b>Atomizados</b>			
6	FA <sub>1</sub>	4	0
7	<b>OA</b>	<b>4</b>	<b>2</b>

\* Antes de la liofilización la muestra fue hidratada a un nivel de agua de 90 g<sub>agua</sub>/100g<sub>alimento</sub>. PT: Pomelo triturado; PL: Pomelo licuado.

Por su parte, en relación con el contenido en compuestos fenólicos de los polvos estudiados, la Figura IV.7 muestra un ejemplo del perfil cromatográfico de estos compuestos registrado a 280 nm, y en las Tablas IV.11 y IV.12 se presentan los diferentes compuestos provisionalmente identificados y cuantificados. Los compuestos fueron identificados en base a sus características cromatográficas, UV y espectro de masa. Fueron detectados en total 18 compuestos, cuatro de los cuales fueron derivados de ácidos fenólicos (picos 1, 2, 3

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

y 5) y catorce flavonoides, principalmente del grupo de las flavanonas (picos 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18) (Tabla IV.11).

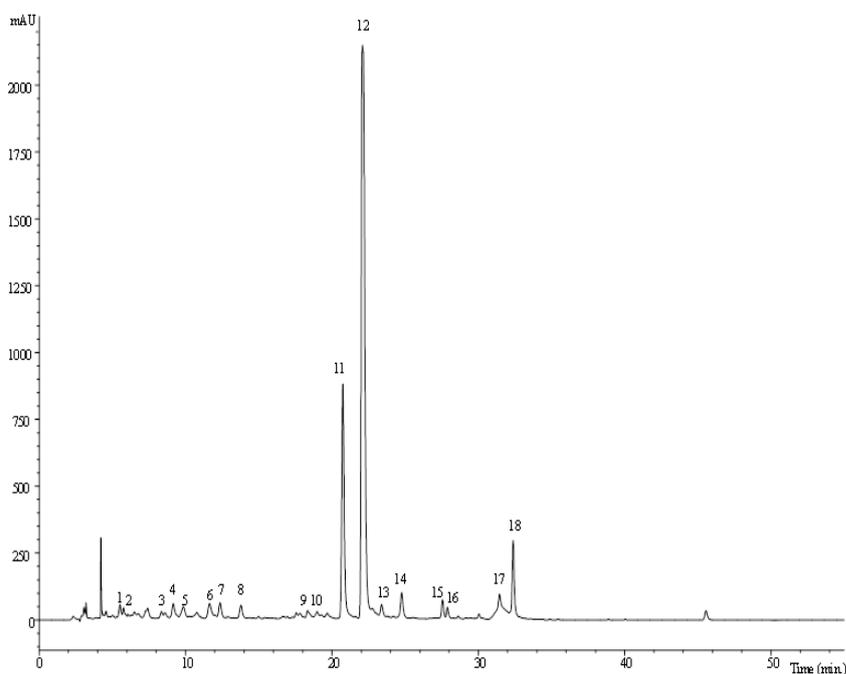
**Tabla IV.10** Media y desviación estándar del contenido de ácido ascórbico y  $\alpha$ -tocoferol referidos a solutos de pomelo (mg/100g<sub>SP</sub>).

	Ácido ascórbico	$\alpha$ -Tocoferol
<b>Liofilizados</b>		
FL <sub>1</sub>	333 $\pm$ 3 <sup>c</sup>	0.60 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>
FL <sub>2</sub>	324 $\pm$ 0.7 <sup>d</sup>	0.84 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>
FL <sub>3</sub>	332 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	0.93 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
FL <sub>4</sub>	326 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>	0.95 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
<b>OL</b>	333 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	0.96 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
<b>Atomizados</b>		
FA <sub>1</sub>	351 $\pm$ 2 <sup>b</sup>	0.73 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>
<b>OA</b>	358 $\pm$ 3 <sup>a</sup>	0.677 $\pm$ 0.009 <sup>c</sup>

Diferentes letras dentro de la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

La mayoría de estos compuestos han sido reportados previamente por otros autores en diferentes variedades de pomelos y otros cítricos (Dugo, et al., 2005; Peterson et al., 2006; Gattuso et al., 2007; Mullen et al., 2007; Djoukeng et al., 2008; Xu et al., 2008; Kelebek, 2010; Igual et al., 2011; Zhang et al., 2011; Abad-García et al., 2012a, Abad-García et al., 2012b; Anagnostopoulou y Kefalas, 2012; Goulas y Manganaris, 2012; Moraga et al., 2012; Barreca et al., 2013; Sun et al., 2013; García-Castello et al., 2015).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



**Figura IV.7** Ejemplo de un perfil de los compuestos fenólicos identificados en la muestra de pomelo liofilizado en polvo sin solutos añadidos (muestra FL<sub>1</sub>, Tabla IV.10) obtenido por HPLC a 280 nm.

No obstante los compuestos 1, 3 y 9 no parecen haber sido identificados anteriormente. Los compuestos 1 ([M-H]<sup>-</sup> at m/z 329) y 3 ([M-H]<sup>-</sup> at m/z 325) liberaron fragmentos a m/z 167 (-162 u; [3,4-acido-dihidroxifenilacético-H]<sup>-</sup>) y m/z 179 (-146 u; [ácido caféico-H]<sup>-</sup>), respectivamente, por tanto fueron tentativamente asignados como ácido 3,4 dihidroxifenilacético hexosido y ácido caféico ramnosido. El compuesto 9 ([M-H]<sup>-</sup> at m/z 563) presentó un espectro UV característico de una flavona y un patrón de fragmentación coherente con un O,C-diiglicosido de apigenina con residuos de pentosil y

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

hexosil. La pérdida de -120 u dejó al ion a  $m/z$  443 el cual soportó la presencia de una C-hexosa adjunta, mientras que la ausencia de un ion  $[(M-H)-90]^-$  señaló una fijación 6-C. La pérdida de un ion  $[(M-H)-132]^-$  a partir de la pérdida de un residuo pentosil sugiere que su azúcar no estaba unido a la aglicona sino a otro azúcar, que se confirma por la presencia de un ion  $[(M-H)-150]$  a  $m/z$  413. Este comportamiento según Ferreres et al. (2007), podría ser característico de una O- pentosa unida a la C-hexosa glicosidada. La O-glicosilación podría tomar lugar en las posiciones 6'', 4'', o 3'' de la hexosa. De lo contrario el fragmento  $[(M-H)-120]^-$  podría no producirse. El ión  $m/z$  293 podría resultar a partir del fragmento a  $m/z$  413 por la pérdida adicional de un fragmento de 120 u (pérdida parcial de la C-hexosa adjunta). Con todo esto el compuesto 9 fue tentativamente identificado como una apigenina 2''-O-pentosil-6-C-hexosido.

Las flavanonas (picos 4, 7, 8, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18) fueron los flavonoides predominantes en todos los polvos de pomelo, representando alrededor del 93% del total de flavonoides (Tabla IV.12). Estos resultados fueron similares a los reportados por Peterson et al. (2006). Varias flavanonas neohesperidosidas (naringina, neohesperidina, poncirina) y rutinosidas (narirutina, hesperidina eriocitrina, y didimina) fueron identificadas en las muestras analizadas, siendo la naringina y la narirutina (picos 12 y 11 de la Tabla IV.12, respectivamente) los compuestos fenólicos

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Tabla IV.11** Identificación de los compuestos fenólicos del pomelo en polvo mediante HPLC-DAD-ESI-MS.

Pico	t <sub>R</sub> (min.)	λ <sub>max</sub> (nm)	[M-H] <sup>-</sup> (m/z)	MS <sup>2</sup> (m/z)	Compuesto	Referencia*
1	5.5	278	329	167(100)	3,4-Dihydroxyphenylacetic acid hexoside	-
2	5.8	332	341	179(29),161(100),135(18)	Caffeic acid hexoside	1,10
3	8.3	328	325	179(100)	Caffeic acid rhamnoside	-
4	9.2	284,336	595	287 (100)	Eriodictyol-7- <i>O</i> -rutinoside (eriocitrin)	1, 2,3,7,8,11
5	9.9	332	355	193(100)	Ferulic acid hexoside	1, 2
6	11.6	336	593	505(14),473(24),383(18),353(29),325(11)	Apigenin 6,8- <i>C</i> -diglucoside	1, 2,7,8,10
7	12.4	286,336	741	433(47),271(100)	Naringenin-7- <i>O</i> -rutinoside-4'- <i>O</i> -glucoside	1, 2,6,10
8	13.8	286,334	741	433(14),271(5)	Naringenin-7- <i>O</i> -neohesperidoside-4'- <i>O</i> -glucoside	1, 2,10
9	18.3	336	563	443(30),413(100),341(28),313(15),293(48)	Apigenin 2''- <i>O</i> -pentosyl-6- <i>C</i> -hexoside	-
10	18.5	284,336	595	271(100)	Naringenin- <i>O</i> -dihexoside	2,10
11	20.7	282,336	579	271 (100)	Naringenin-7- <i>O</i> -rutinoside (narirutin)	1,3,4,5,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16
12	22.1	284,336	579	459(22),313(3),295(3),271(20)	Naringenin-7- <i>O</i> -neohesperidoside (naringin)	1,3,4,5,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16
13	23.4	284,338	609	301(100)	Hesperetin-7- <i>O</i> -rutinoside (hesperidin)	1,3,4,5,8,9,10,12,14,15,16
14	24.8	284,338	609	301(100)	Hesperetin-7- <i>O</i> -neohesperidoside (neohesperidin)	1,3,4,8,9,10,12,14,16
15	27.6	284,332	621	579(5), 501(14),459(7), 271(12)	Acetyl naringin	11
16	27.9	284,336	723	661(13), 621(44),579(100), 271(18)	3-Hydroxymethylglutaryl naringin (Melitidin)	11
17	31.4	286,324	593	285(100)	Isosakuranetin-7- <i>O</i> -rutinoside (didymin)	1, 2,3,5,6,8,10,15,16
18	32.4	286,338	593	285(100)	Isosakuranetin-7- <i>O</i> - neohesperidoside (poncirin)	1, 2,3,5,7,8,10,15,16

Tiempo de retención (t<sub>R</sub>), longitudes de onda de máxima absorción en la región visible (λ<sub>max</sub>), ión molecular con carga negativa [M-H]<sup>-</sup>, MS<sup>2</sup> (m/z): fragmento de iones entre paréntesis intensidad relativa; m/z: cociente masa/carga de las partículas.\*Referencias: 1-Mullen et al. (2007); 2- Abad-García et al. (2012a); 3- Gattuso et al. (2007); 4- García-Castello et al. (2015); 5- Goulas y Manganaris (2012); 6- Barreca et al. (2013); 7- Djoukeng et al. (2008); 8 – Dugo et al. (2005); 9- Kelebek (2010); 10- Abad-García et al. (2012b); 11 -Zhang et al. (2011); 12- Xu et al. (2008); 13- Anagnostopoulou y Kefalas (2011); 14- Sun et al. (2013); 15-Igual et al. (2011); 16- Moraga et al. (2012).

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Tabla IV.12** Promedio y desviación estándar de la concentración de compuestos fenólicos en las diferentes muestras de pomelo en polvo, expresados en solutos de pomelo (mg/100g<sub>SP</sub>).

Pico	FL <sub>1</sub>	FL <sub>2</sub>	FL <sub>3</sub>	FL <sub>4</sub>	OL	FA <sub>1</sub>	OA
1	6.9 ± 0.5 <sup>a</sup>	2.31 ± 0.01 <sup>d</sup>	1.19 ± 0.03 <sup>e</sup>	3.44 ± 0.08 <sup>c</sup>	2.35 ± 0.03 <sup>d</sup>	1.01 ± 0.04 <sup>e</sup>	4.9 ± 0.2 <sup>b</sup>
2	tr*	tr	tr	tr	tr	tr	tr
3	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
4	10.21 ± 0.4 <sup>a</sup>	8.3 ± 0.6 <sup>b</sup>	7.2 ± 0.3 <sup>c</sup>	8.4 ± 0.2 <sup>b</sup>	8.46 ± 0.09 <sup>b</sup>	6.70 ± 0.18 <sup>c</sup>	5.8 ± 0.3 <sup>d</sup>
5	14.6 ± 0.5 <sup>a</sup>	5.93 ± 0.12 <sup>f</sup>	6.68 ± 0.12 <sup>e</sup>	7.32 ± 0.06 <sup>d</sup>	7.89 ± 0.18 <sup>c</sup>	5.58 ± 0.03 <sup>f</sup>	6.8 ± 0.3 <sup>de</sup>
6	38 ± 2 <sup>a</sup>	28 ± 2 <sup>b</sup>	25.5 ± 0.7 <sup>b</sup>	25.9 ± 0.3 <sup>b</sup>	26.56 ± 0.22 <sup>b</sup>	25.6 ± 1.6 <sup>b</sup>	22.3 ± 0.7 <sup>c</sup>
7	10.8 ± 0.5 <sup>a</sup>	9.4 ± 0.5 <sup>b</sup>	9.7 ± 0.4 <sup>b</sup>	9.53 ± 0.03 <sup>b</sup>	9.98 ± 0.13 <sup>ab</sup>	5.4 ± 0.2 <sup>c</sup>	6.1 ± 0.2 <sup>c</sup>
8	8.7 ± 0.3 <sup>a</sup>	7.7 ± 0.3 <sup>b</sup>	7.8 ± 0.2 <sup>b</sup>	7.9 ± 0.3 <sup>b</sup>	6.96 ± 0.05 <sup>c</sup>	4.41 ± 0.09 <sup>e</sup>	4.92 ± 0.07 <sup>d</sup>
9	9.2 ± 0.3 <sup>a</sup>	5.6 ± 0.4 <sup>b</sup>	5.55 ± 0.05 <sup>b</sup>	6.1 ± 0.7 <sup>b</sup>	3.61 ± 0.14 <sup>c</sup>	2.91 ± 0.12 <sup>cd</sup>	2.58 ± 0.05 <sup>d</sup>
10	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
11	129.9 ± 1.3 <sup>a</sup>	120.18 ± 0.09 <sup>b</sup>	118.9 ± 1.2 <sup>b</sup>	117.2 ± 0.8 <sup>c</sup>	113.38 ± 0.06 <sup>d</sup>	73.69 ± 0.07 <sup>f</sup>	75.7 ± 0.4 <sup>e</sup>
12	560 ± 2 <sup>a</sup>	548.70 ± 1.08 <sup>b</sup>	545.3 ± 4.6 <sup>b</sup>	532.1 ± 3.5 <sup>c</sup>	525 ± 4 <sup>d</sup>	322.9 ± 0.6 <sup>f</sup>	331 ± 3 <sup>e</sup>
13	8.2 ± 0.5 <sup>a</sup>	7.57 ± 0.12 <sup>ab</sup>	7.4 ± 0.3 <sup>bc</sup>	6.92 ± 0.06 <sup>cd</sup>	6.52 ± 0.02 <sup>d</sup>	4.9 ± 0.3 <sup>f</sup>	5.5 ± 0.3 <sup>e</sup>
14	10.2 ± 0.3 <sup>a</sup>	8.8 ± 0.6 <sup>b</sup>	8.7 ± 0.2 <sup>b</sup>	8.48 ± 0.08 <sup>b</sup>	8.16 ± 0.13 <sup>b</sup>	6.1 ± 0.2 <sup>d</sup>	6.64 ± 0.04 <sup>c</sup>
15	8.4 ± 0.3 <sup>c</sup>	9.6 ± 0.2 <sup>b</sup>	10.2 ± 0.4 <sup>a</sup>	9.8 ± 0.4 <sup>ab</sup>	8.24 ± 0.08 <sup>c</sup>	4.14 ± 0.03 <sup>e</sup>	5.2 ± 0.2 <sup>d</sup>
16	3.67 ± 0.09 <sup>a</sup>	2.38 ± 0.15 <sup>c</sup>	3.02 ± 0.12 <sup>b</sup>	2.59 ± 0.08 <sup>c</sup>	1.93 ± 0.13 <sup>d</sup>	0.79 ± 0.07 <sup>e</sup>	2.11 ± 0.12 <sup>d</sup>
17	12.7 ± 0.4 <sup>d</sup>	16.7 ± 0.2 <sup>b</sup>	18.6 ± 0.5 <sup>a</sup>	17.22 ± 0.12 <sup>b</sup>	14.03 ± 0.09 <sup>c</sup>	6.79 ± 0.13 <sup>e</sup>	6.9 ± 0.5 <sup>e</sup>
18	45.2 ± 2.4 <sup>a</sup>	43.9 ± 0.8 <sup>ab</sup>	44 ± 2 <sup>ab</sup>	43.3 ± 1.4 <sup>ab</sup>	49.5 ± 0.6 <sup>b</sup>	27.6 ± 1.5 <sup>c</sup>	27.9 ± 1.6 <sup>c</sup>
<b>Ácidos fenólicos</b>	14.7 ± 0.3 <sup>a</sup>	8.24 ± 0.12 <sup>d</sup>	7.87 ± 0.09 <sup>d</sup>	10.76 ± 0.02 <sup>b</sup>	10.2 ± 0.2 <sup>c</sup>	6.59 ± 0.02 <sup>d</sup>	11.75 ± 0.03 <sup>a</sup>
<b>Flavonoides totales</b>	856 ± 6 <sup>a</sup>	818 ± 2 <sup>b</sup>	812 ± 9 <sup>b</sup>	796 ± 8 <sup>c</sup>	773 ± 4 <sup>d</sup>	492 ± 4 <sup>e</sup>	502 ± 6 <sup>e</sup>
<b>Fenoles totales</b>	871 ± 7 <sup>a</sup>	826 ± 2 <sup>b</sup>	820 ± 9 <sup>bc</sup>	806 ± 8 <sup>c</sup>	784 ± 4 <sup>d</sup>	499 ± 4 <sup>f</sup>	514 ± 6 <sup>e</sup>

\* tr: Trazas. Diferentes letras dentro de la misma fila indica diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

predominantes en esta fruta, lo cual también ha sido reportado por otros autores (Vanamala et al., 2006; Gattuso et al., 2007; Moraga et al., 2012). La naringina es una flavanona característica del pomelo y es la principal responsable del sabor amargo de esta fruta (Mullen et al., 2007). Su concentración presentó valores similares a los reportados por Moraga et al. (2012).

En general los polvos liofilizados presentaron mayores contenidos de compuestos fenólicos que los polvos atomizados, debido probablemente al efecto de la temperatura durante la atomización. Dentro de los productos liofilizados se observó una menor cuantificación de compuestos fenólicos a mayor cantidad de solutos añadidos. Es posible que el efecto protector de los solutos pueda conllevar a una mayor dificultad en su extracción. En el caso de los productos en polvo obtenidos por atomización, la adición conjunta de los solutos (OA) parece proteger mayormente el contenido de compuestos fenólicos que cuando se adiciona sólo la GA.

Con el fin de comparar la actividad antioxidante de los polvos liofilizados y atomizados, se realizaron cuatro ensayos químicos y bioquímicos *in vitro* (Tabla IV.13). La actividad antioxidante fue expresada en valores  $EC_{50}$  (promedio y desviación estándar). En este caso, valores altos de  $EC_{50}$  corresponden a una baja actividad captadora de radicales libres, bajo poder reductor, baja inhibición al blanqueamiento de  $\beta$ -caroteno y baja inhibición a la formación de

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

TBARS. Por tanto, en general, los extractos de las muestras liofilizadas resultaron ser más activos en la eliminación de radicales libres y presentaron un mayor poder reductor en comparación con los extractos procedentes de las muestras atomizadas.

Dentro de las muestras liofilizadas el extracto procedente del óptimo liofilizado no resultó ser el de mayor AOA, excepto cuando se mide el TBARS, lo cual puede estar relacionado con la hidratación previa de la muestra antes de liofilizar que podría conllevar a la disminución de la concentración de los solutos añadidos y por tanto a una disminución de su efecto protector frente a la oxidación. En general los extractos de los polvos procedentes de muestras no rehidratadas con solutos presentaron una mayor AOA, especialmente cuando se realizó la adición conjunta de estos. Por su parte, entre los productos atomizados, OA fue el que mayor actividad antioxidante presentó, excepto cuando se mide TBARS, lo cual confirma una vez más la deseabilidad de ambos los solutos en la formulación.

El análisis de correlación de Pearson, fue aplicado con el fin de establecer correlaciones entre la actividad antioxidante y los diferentes compuestos bioactivos estudiados. Los resultados obtenidos mostraron que los compuestos fenólicos, específicamente los flavonoides, presentaron una contribución significativa en la actividad captadora de radicales libres -DPPH ( $R^2$ : -0.82,  $p < 0.05$ ) y en la inhibición al blanqueamiento del  $\beta$ -caroteno ( $R^2$ : -0.76,  $p < 0.05$ ).

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Tabla IV.13** Promedio y desviación estándar de la actividad antioxidante *In vitro* de las diferentes muestras estudiadas expresada en valores EC<sub>50</sub> (mg/mL).

	DPPH	Poder Reductor	Inhibición de la peroxidación lipídica	
		Ferricianuro	β-Caroteno	TBARS
Liofilizados				
FL <sub>1</sub>	7.11 ± 0.13 <sup>c</sup>	2.26 ± 0.03 <sup>d</sup>	9.14 ± 0.34 <sup>e</sup>	2.75 ± 0.15 <sup>d</sup>
FL <sub>2</sub>	6.32 ± 0.46 <sup>de</sup>	2.51 ± 0.07 <sup>c</sup>	14.6 ± 0.3 <sup>c</sup>	4.04 ± 0.21 <sup>b</sup>
FL <sub>3</sub>	6.38 ± 0.31 <sup>d</sup>	2.72 ± 0.02 <sup>b</sup>	14.07 ± 0.45 <sup>d</sup>	3.03 ± 0.26 <sup>c</sup>
FL <sub>4</sub>	6.08 ± 0.24 <sup>e</sup>	2.44 ± 0.04 <sup>c</sup>	9.5 ± 0.4 <sup>e</sup>	2.04 ± 0.03 <sup>e</sup>
OL	7.21 ± 0.11 <sup>c</sup>	3.12 ± 0.29 <sup>a</sup>	16.05 ± 0.44 <sup>b</sup>	1.86 ± 0.06 <sup>f</sup>
Atomizados				
FA <sub>1</sub>	8.61 ± 0.10 <sup>a</sup>	2.73 ± 0.01 <sup>b</sup>	19.2 ± 0.7 <sup>a</sup>	2.13 ± 0.04 <sup>e</sup>
OA	7.63 ± 0.33 <sup>b</sup>	2.50 ± 0.07 <sup>c</sup>	19.02 ± 0.67 <sup>a</sup>	4.17 ± 0.06 <sup>a</sup>

Diferentes letras dentro de la misma columna indica diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

En este caso los principales compuestos fenólicos que contribuyeron a una mayor actividad captadora de radicales libres-DPPH y presentaron las mejores correlaciones fueron, en su orden, la didimina ( $R^2$ : -0.91,  $p < 0.05$ ), naringina ( $R^2$ : -0.8405,  $p < 0.05$ ), narirutina ( $R^2$ : -0.81,  $p < 0.05$ ), poncirina ( $R^2$ : 0.81,  $p < 0.05$ ) y hesperidina ( $R^2$ : -0.73,  $p < 0.05$ ), mientras que para el caso de la inhibición del blanqueamiento del  $\beta$ -caroteno, la melitidina ( $R^2$ : -0.94,  $p < 0.05$ ), nehosperidina ( $R^2$ : -0.90,  $p < 0.05$ ), y la apigenina 2''-O-pentosil-6-C-hexosido ( $R^2$ : -0.84,  $p < 0.05$ ) fueron los compuestos más influyentes. Hay muchos estudios en frutas que también describen una alta correlación entre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante (Deepa et al., 2007; Contreras-Calderón et al., 2011), atribuyendo este comportamiento a las propiedades redox de estos compuestos las cuales le permiten actuar como agentes reductores, donadores de oxígeno y eliminadores del oxígeno singulete (Miranda et al., 2010). En extractos de pomelo rojo, Jayaprakasha et al. (2008) también han reportado una alta correlación entre los fenoles totales y la actividad captadora de radicales libres por el método de DPPH.

En cuanto al ácido ascórbico ( $R^2$ : -0.7890,  $p < 0.05$ ) y el  $\alpha$ -tocoferol ( $R^2$ : -0.54,  $p < 0.05$ ), estos contribuyeron a incrementar el poder reductor, por tanto pueden, junto con los compuestos fenólicos estar trabajando sinérgicamente en la protección contra el daño oxidativo. Por tanto, se podría decir que, de los métodos empleados, el TBARS

es el que parece estar menos correlacionado con los compuestos bioactivos estudiados en el pomelo.

### IV.3 ESTUDIO DE ESTABILIDAD. RELACIONES TEMPERATURA DE TRANSICIÓN VÍTREA- HUMEDAD-ACTIVIDAD DEL AGUA

#### IV.3.1 Caracterización de la materia prima y de los productos en polvo optimizados recién procesados

El pomelo triturado y licuado utilizados para llevar a cabo esta parte del estudio mostró un contenido de agua de  $87.09 \pm 0.07 \text{ g}_{\text{agua}}/100\text{g}_{\text{PT}}$  y  $87.51 \pm 0.06 \text{ g}_{\text{agua}}/100\text{g}_{\text{PL}}$ . La concentración de los diferentes compuestos bioactivos presentes en ambas materias primas se muestran en la Tabla IV.14. En general, los valores obtenidos para el pomelo fresco fueron similares a los reportados en la bibliografía por otros autores (Igual et al., 2010; Moraga et al., 2012) y también similares a los de las muestras utilizadas en el estudio de optimización del presente trabajo.

La caracterización de los productos OL Y OA en polvo (Tabla IV.14) permite confirmar que la liofilización de forma general protege mejor los compuestos bioactivos, en comparación con el proceso de atomización.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con respecto a la vitamina C se observó una alta retención de este compuesto en ambos procesos > 90%. Este comportamiento ya ha sido observado anteriormente, por lo que la alta retención conseguida indica que las condiciones a las cuales se realizaron ambos procesos son adecuadas y permiten obtener un producto con un contenido en VC muy similar al producto fresco.

**Tabla IV.14** Caracterización del pomelo triturado (PT), licuado (PL) y de los polvos optimizados obtenidos por liofilización (OL) y atomización (OA).

	PT	OL	PL	OA
<b>Propiedades funcionales</b>				
VC	475 ± 17 <sup>c</sup>	465 ± 9 <sup>c</sup>	510 ± 9 <sup>a</sup>	492 ± 4 <sup>b</sup>
CT	45 ± 4 <sup>b</sup>	31.2 ± 0.8 <sup>c</sup>	52 ± 4 <sup>a</sup>	19 ± 2 <sup>d</sup>
FT	602 ± 32 <sup>a</sup>	548 ± 9 <sup>b</sup>	591 ± 9 <sup>a</sup>	455 ± 78 <sup>c</sup>
AOA	1.44 ± 0.04 <sup>d</sup>	2.287 ± 0.004 <sup>a</sup>	1.61 ± 0.07 <sup>c</sup>	2.12 ± 0.02 <sup>b</sup>
<b>Propiedades ópticas</b>				
L*	44.2 ± 0.3	78.1 ± 0.5	38.7 ± 0.6	85.1 ± 0.3
a*	15.5 ± 0.2	13.6 ± 0.2	13.7 ± 0.5	7.17 ± 0.2
b*	12.1 ± 0.7	17.2 ± 0.2	8.8 ± 0.4	13.6 ± 0.5
C* <sub>ab</sub>	19.7 ± 0.6	21.9 ± 0.2	16.3 ± 0.6	15.3 ± 0.6
h* <sub>ab</sub>	38 ± 2	51.6 ± 0.3	32.6 ± 0.2	62.18 ± 0.07
ΔE	-	32.8 ± 2.6 <sup>1</sup>	-	47.10 ± 0.24 <sup>2</sup>

Letras diferentes en cada fila indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Valores promedio y desviación estándar del contenido en vitamina C (VC: mg/100g<sub>SP</sub>), carotenoides totales (CT: mg β-caroteno/100g<sub>SP</sub>), fenoles totales (FT: mg GAE/100g<sub>SP</sub>), actividad antioxidante (AOA: mmol TE/100g<sub>SP</sub>), Luminosidad (L\*), coordenadas cromáticas a\* y b\*, croma (C\*<sub>ab</sub>), tono (h\*<sub>ab</sub>) y diferencias de color (ΔE) del polvo liofilizado con respecto al pomelo triturado (1) y del polvo atomizado con respecto al pomelo licuado (2).

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

En cuanto a los carotenoides totales, en ambos casos se produjeron pérdidas significativas, sin embargo estas fueron menores en el producto liofilizado. Las pérdidas durante la liofilización pueden estar relacionadas con la mayor porosidad de la muestra liofilizada que da lugar a una mayor exposición de los CT al oxígeno, por lo que su estabilidad y posterior extracción se ven reducidas en comparación con el material fresco. En la atomización, las pérdidas de CT son mayores debido a la degradación térmica y a la oxidación principalmente del licopeno y  $\beta$ -caroteno. Factores como la temperatura, el contenido de humedad, el oxígeno y la exposición a la luz dan lugar a una mayor pérdida de estos compuestos (Quek et al., 2007; Kha et al., 2010). La concentración en compuestos fenólicos, por su parte, fue mayor en el OL, que en el OA. El mismo comportamiento fue observado anteriormente, cuantificándose en este caso para la atomización una retención alrededor del 77% con respecto al pomelo licuado de partida, mientras que el pomelo liofilizado presentó una retención del 90%. Los cambios en los distintos compuestos bioactivos también generan cambios en la capacidad antioxidante de los polvos obtenidos. En ambos casos la deshidratación conllevó a un aumento significativo de la AOA siendo mayor en el producto en polvo liofilizado lo que puede estar relacionado con la mayor cantidad de compuestos fenólicos con propiedades redox que les permite actuar como agentes reductores, donadores de oxígeno y eliminadores del oxígeno singulete (Miranda et al., 2010).

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

---

En la Tabla IV.14 también se muestran los resultados obtenidos al evaluar las propiedades ópticas de los productos antes y después de deshidratar. Durante los procesos de deshidratación de las frutas generalmente se producen reacciones de pardeamiento enzimático y no enzimático que pueden dar lugar al oscurecimiento de las muestras o a la pérdida de color afectando la calidad y aceptación del producto final (Krokida et al., 2001; Sagar y Suresh Kumar, 2010). No obstante durante la liofilización la remoción del agua por sublimación a bajas temperaturas, previene de las reacciones de pardeamiento, mientras que en la atomización los cambios de color producidos por fenómenos de pardeamiento suelen verse incrementados por la temperatura de trabajo.

En este caso, en ambos productos deshidratados se observa un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) de la luminosidad lo cual está relacionado estrechamente con la adición de los solutos los cuales aportan un color más blanco que conduce a la obtención de muestras de mayor claridad. Por su parte, el tono aumentó significativamente ( $p < 0.05$ ) con los procesados, dando lugar a un producto en polvo con la tonalidad anaranjada propia del pomelo aunque menos rojo y más amarillo. Por su parte el croma no se vio significativamente afectado. Las diferencias de color fueron mayores en el polvo atomizado, lo cual puede estar asociado a la mayor pérdida, durante el tratamiento térmico, de los carotenoides propios del pomelo responsables de su color.

### IV.3.2 Isotermas de sorción y temperatura de transición vítrea

Como una herramienta a la hora de valorar la estabilidad de los polvos de pomelo liofilizado y atomizado durante el almacenamiento a diferentes temperaturas y humedades relativas, se construyeron las isotermas de sorción en el intervalo de actividades del agua de 0.133-0.572, a 4 y 20°C, y los diagramas de estado tal y como se ha descrito en el apartado III.5.

Los polvos liofilizado y atomizado de partida presentaron humedades iniciales de  $0.74 \text{ g} \pm 0.07 \text{ g}_{\text{agua}}/100\text{g}_{\text{polvo}}$  y  $1.21 \pm 0.01 \text{ g}_{\text{agua}}/100\text{g}_{\text{polvo}}$  con una actividad del agua de  $0.145 \pm 0.002$  y  $0.174 \pm 0.002$ , respectivamente. La humedad de equilibrio con los diferentes ambientes se alcanzó en un tiempo entre 1 y 4 semanas dependiendo de la humedad relativa. La cantidad de agua adsorbida en las muestras equilibradas, expresada en base seca ( $w_e$ ) en función de la  $a_w$ , permitió obtener las isotermas de sorción de los polvos de pomelo liofilizados y atomizados a 4 °C y 20 °C (Figura IV.8).

El modelo de Brunauer-Emmett-Teller (BET) fue usado para predecir el comportamiento de sorción de las muestras a las diferentes temperaturas de almacenamiento (Ec. 20). En primer lugar se realizó un ajuste lineal del modelo de BET para obtener un valor inicial de los parámetros  $w_0$  (humedad de la capa monomolecular) y C (constante de BET asociada al calor de sorción de la monocapa) con los que se

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

---

realizó un ajuste no lineal de los datos para obtener los parámetros definitivos de BET, aplicando el procedimiento de mínimos cuadrados mediante el uso del Statgraphics Centurion XV.

$$w_{e (bs)} = \frac{w_0 \cdot C \cdot a_w}{(1-a_w)(1+(C-1)a_w)} \quad (20)$$

Dónde:  $w_{e (bs)}$  es el contenido de agua de la muestra en el equilibrio en base seca ( $g_{\text{agua}}/g_{\text{SS}}$ );  $w_0$  es la humedad de la capa monomolecular ( $g_{\text{agua}}/g_{\text{SS}}$ ); C: constante de BET asociada al calor de sorción de la monocapa;  $a_w$  es la actividad del agua en el equilibrio

La Tabla IV.15 presenta los valores de los parámetros de BET obtenidos para cada muestra. El modelo permitió obtener un buen ajuste de los datos experimentales para el intervalo de  $a_w$  estudiadas. Para evaluar las diferencias estadísticas existentes en los comportamientos observados entre las muestras, se realizó una comparación de las funciones obtenidas al ajustar el modelo de forma independiente a cada una de las series de datos experimentales, las correspondientes a las muestras liofilizadas y a las atomizadas a las dos temperaturas, con la obtenida al ajustar los datos de estas series de datos de forma conjunta. Para ello se calculó el estadístico E (Ec. 21) y se comparó con el valor tabulado del correspondiente F de Snedecor.

$$E = \frac{(SCR_g - \sum_1^n SCR_i) / DGLR}{\sum_1^n SCR_i / \sum_1^n GLR_i} \quad (21)$$

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Dónde:  $SCR_g$  es la suma de cuadrados residual de la función ajustada al grupo de series;  $SCR_i$  es la suma de cuadrados residual de la función ajustada a una serie individual; DGLR es la diferencia entre los grados de libertad del residual de la función ajustada a un grupo de series ( $GLR_g$ ) y la suma de los grados de libertad del residual de las series individuales ajustadas que participan en los grupos ( $SGLR_i$ ),  $GLR_i$  son los grados de libertad del residual de las funciones ajustadas a una serie individual. E se compara con la F (DGLR, SGLR) tabulado.

**Tabla IV.15** Parámetros de los modelos de BET y de Gordon y Taylor ajustados a los datos experimentales. Valores críticos de humedad (CWC) y actividad del agua (CWA) para la transición vítrea.

		OL		OA		
		4 °C	20 °C	4 °C	20 °C	
BET	$w_0$	0.077	0.072	0.080	0.073	
	C	3.77	3.11	3.03	3.01	
	$R^2$	0.99	0.99	0.99	0.99	
Gordon y Taylor	i	$T_{g(as)}$	17.6		23.7	
		K	3.9		4.5	
		$R^2$	0.94		0.95	
	f	$T_{g(as)}$	42.4		48.58	
		K	4.0		4.5	
		$R^2$	0.95		0.99	
	$CWC^i$	0.024	-	0.031	0.005	
	$CWC^f$	0.057	0.028	0.067	0.040	
	$CWA^i$	0.098	-	0.152	0.022	
	$CWA^f$	0.262	0.146	0.337	0.198	

$w_0$ : humedad de la capa monomolecular ( $g_{agua}/g_{sólidos}$ ); C: constante de BET;  $T_{g(as)}$ : temperatura de transición vítrea de los sólidos anhídridos (°C); K: constante del modelo ajustado al punto inicial (i) o final (f) de la transición.  $R^2$ : coeficiente de determinación.  $CWC^*$  ( $g_{agua}/g_{polvo}$ ) y  $CWA^*$  del pomelo en polvo liofilizado (OL) y atomizado (OA) en relación con el punto inicial (\* =  $i$ ) o final (\* =  $f$ ) de la transición vítrea.

Al realizar la comparación estadística se obtuvieron diferencias significativas entre las cuatro muestras analizadas (Tabla IV.16). Sin

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

---

embargo al hacer la comparación por pares se observó un efecto de la temperatura para cada proceso de deshidratación, pero no del proceso para cada temperatura. Por tanto los polvos liofilizados y atomizados presentaron una capacidad de sorción similar, sin diferencias significativas ( $p > 0.05$ ). De acuerdo a Tsami et al. (1999), la mayor o menor sorción de agua de un producto deshidratado puede ser explicada por la porosidad y por el tamaño del poro del material deshidratado.

En este caso, como el producto liofilizado se tritura para la obtención del polvo, éste se comporta de forma muy similar al polvo obtenido por atomización, frente a la adsorción del agua. En cuanto a la temperatura de almacenamiento, ésta afecta al equilibrio termodinámico entre las moléculas de agua en el vapor y las fases condensadas (Al-Muhtaseb et al., 2002). Tanto para el polvo liofilizado como para el atomizado se observó, como era de esperar, un menor contenido en agua de las muestras en el equilibrio con una determinada humedad relativa con el aumento de la temperatura. Esta relación inversa se produce debido a la expansión de las moléculas de agua al aumentar la temperatura y también por la disminución en el número total de sitios activos para la unión del agua como resultado de cambios físicos y/o químicos inducidos por la temperatura (Van den Berg y Bruin, 1981). Resultados similares han sido reportados por Muzaffar y Kumar (2016) en el secado por

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

aspersión en polvo de pulpa de tamarindo a diferentes temperaturas de almacenamiento.

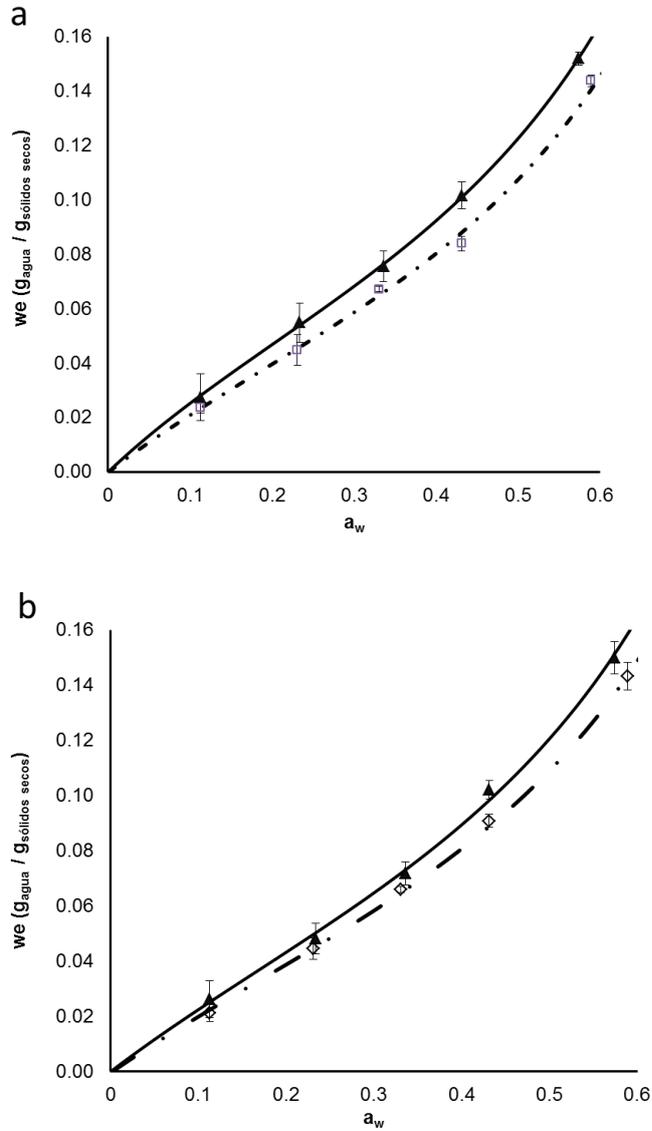
**Tabla IV.16** Comparación estadística de los ajustes de los datos experimentales de sorción del modelo de BET y del modelo de Gordon y Taylor. Las cruces por columnas, indican las muestras comparadas en cada caso.

Tratamiento	Modelo BET					Gordon y Taylor
OL 4	X	X		X		X
OL 20	X	X			X	
OA 4	X		X	X		X
OA 20	X		X		X	
SCR <sub>G</sub>	5.07E <sup>-4</sup>	3.56E <sup>-4</sup>	2.05E <sup>-4</sup>	4.74E <sup>-5</sup>	3.67E <sup>-5</sup>	146.6
SCR <sub>i</sub>	6.06E <sup>-5</sup>	3.08E <sup>-5</sup>	2.98E <sup>-5</sup>	2.61E <sup>-5</sup>	3.45E <sup>-5</sup>	137.2
GLRG	18	8	8	8	8	8
DGLR	6	2	2	2	2	2
SGLR	12	6	6	6	6	6
E	16.82	31.61	17.69	2.45	0.19	0.21
F (95%)	2.99*	5.14*	5.14*	5.14 <sup>(ns)</sup>	5.14 <sup>(ns)</sup>	5.14 <sup>(ns)</sup>

\*Diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), (ns) Diferencias no significativas ( $p > 0.05$ ). Polvo liofilizado almacenado a 4 °C (OL 4), polvo liofilizado almacenado a 20 °C (OL 20), polvo atomizado almacenado a 4 °C (OA 4), y polvo atomizado almacenado a 20 °C (OA 20).

En general  $w_0$  varió entre 0.072-0.080  $g_{\text{agua}}/g_{\text{solidos}}$ , siendo menor en las muestras almacenadas a la temperatura más alta (20 °C). El concepto de contenido de agua en la monocapa se ha relacionado con la cantidad de agua presente en el producto a partir de la cual la velocidad a la que ocurren diferentes reacciones de deterioro comienza a aumentar de manera significativa (Fabra et al., 2009). Por

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



**Figura IV.8** Isothermas de sorción a 4 °C (línea continua) y a 20 °C (línea discontinua) del pomelo en polvo liofilizado (a) y atomizado (b). Puntos experimentales y predicción del modelo de BET.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

su parte, también el valor de  $w_0$  es proporcional a la superficie específica del producto disponible para la adsorción de agua. El menor valor de  $w_0$  a mayor temperatura confirma lo que ya se ha comentado de la disminución en el número de sitios activos disponibles para la adsorción del agua.

En cuanto al parámetro  $C$ , éste es una función directa de la temperatura y la capacidad de adsorción de agua, relacionado con el calor implicado en el fenómeno de adsorción. De acuerdo con los resultados (Tabla IV.15),  $C$  mostró valores pequeños, ligeramente superiores a 2 en todos los casos. En este sentido, de acuerdo a la clasificación de Brunauer et al. (1940) las isothermas serían del tipo II, aunque con un punto de inflexión muy poco marcado, lo que se corresponde con un calor neto de sorción relativamente pequeño. Este comportamiento es típico de los alimentos ricos en azúcares con un lento aumento en la humedad de equilibrio en el intervalo de baja  $a_w$  y un fuerte incremento a partir de valores intermedios de  $a_w$ , cuando comienzan a predominar las interacciones soluto-disolvente asociadas con la solución de azúcar.

Con relación al análisis de las temperaturas de transición vítrea en función del contenido en humedad de las muestras en equilibrio, los termogramas obtenidos por DSC para los diferentes productos en polvo, permitieron identificar los cambios de estado vítreo a gomoso en cada muestra. Estos cambios fueron identificados como un salto

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

en la línea base que se registra al representar la diferencia en el flujo de calor que proporciona el equipo a la muestra respecto a la referencia para mantener en ambos la misma temperatura durante el barrido correspondiente. El salto se corresponde con un cambio en la capacidad calorífica de la muestra relacionada con su  $T_g$ . La transición vítrea sucede, normalmente, en un intervalo de temperaturas, de manera que para caracterizar a la  $T_g$ , se puede utilizar el punto de inicio, el punto medio o el punto final de la transición. En este caso se consideró tanto el punto de inicio ( $T_g^i$ ) como el punto final ( $T_g^f$ ) de la transición, pues se pensó que la pequeña disminución en la viscosidad del medio ya desde el inicio de la transición vítrea podría ocasionar pérdidas significativas a nivel nutritivo, sensorial o funcional del producto. La variación, tanto de  $T_g^i$  como de  $T_g^f$ , con el contenido de agua de las muestras en el equilibrio, expresada ahora en base húmeda ( $w_e^{bh}$ ), se ajustó al modelo de Gordon y Taylor (Ec. 22). Los valores de los parámetros  $K$  y  $T_g$  de los sólidos anhidridos  $T_{g(as)}$  estimados no linealmente se muestran en la Tabla IV.15 y la Figura IV.9 muestra los puntos experimentales y el comportamiento predicho por el modelo para  $T_g^i$ . La comparación estadística entre los ajustes individuales de los datos  $T_g - w_e^{bh}$  de las muestras OL y OA al modelo de Gordon y Taylor con el obtenido al considerar los datos de forma conjunta no mostró diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) al obtener un valor de  $E$  menor correspondiente al valor F-Snedecor (Tabla IV.16). Por tanto el proceso usado para la obtención del pomelo en polvo parece no tener ningún efecto sobre la  $T_g$ , lo que

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

puede estar relacionado con la composición similar en solutos, tanto los propios del pomelo, principalmente en sacarosa, glucosa y fructosa (Kelebek et al., 2010), como los solutos añadidos. Los parámetros  $T_{g(as)}$  y  $K$  en un sistema binario reflejan el grado de curvatura al representar la dependencia de la  $T_g$  con respecto al contenido en agua de un producto y pueden estar relacionados con la fuerza de la interacción entre los componentes del sistema (Gordon y Taylor, 1952). Los valores de  $T_{g(as)}$  y  $K$  obtenidos para el pomelo en polvo liofilizado y atomizado resultaron ser similares y están dentro del intervalo de lo publicado para alimentos con adición de solutos de alto peso molecular (Moraga et al., 2006; Syamaladevi et al., 2009; Telis y Martínez- Navarrete, 2010).

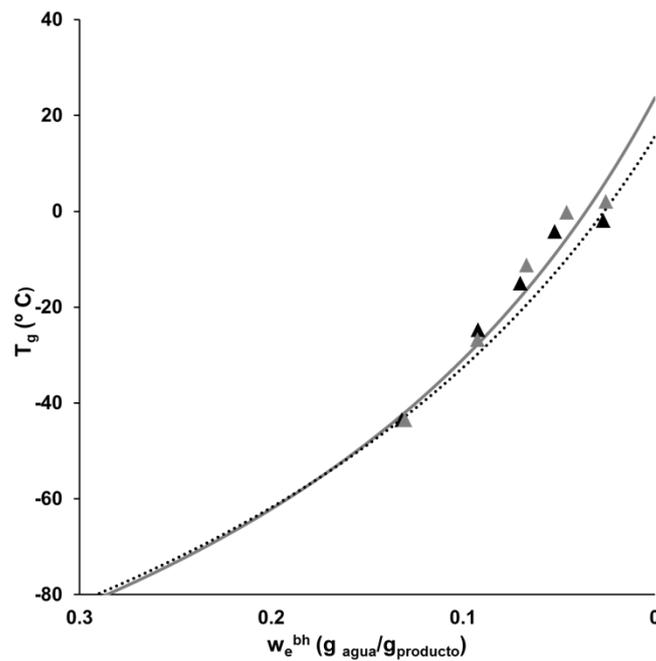
$$T_g = \frac{(1-w_e^{bh}) \cdot T_{g(as)} + K \cdot (w_e^{bh}) \cdot (T_{g(w)})}{(1-w_e^{bh}) + K \cdot (w_e^{bh})} \quad (22)$$

Dónde:  $w_e^{bh}$  es el contenido de agua de la muestra ( $g_{agua}/g_{producto}$ );  $T_{g(as)}$  es la temperatura de transición vítrea de los sólidos anhidridos ( $^{\circ}C$ );  $K$ , es la constante del modelo de Gordon y Taylor y  $T_{g(w)}$  es la temperatura de transición vítrea del agua ( $-135^{\circ}C$ ).

El efecto plastificante del agua sobre la temperatura de transición vítrea, fue evidente en ambos casos (Figura IV.9), con una gran reducción de la  $T_g$ , causada por el incremento del contenido de agua. Por ejemplo para el producto liofilizado, la  $T_g$  disminuyó desde  $6.29^{\circ}C$  hasta  $-7.68^{\circ}C$  cuando el contenido de agua aumentó desde 2 hasta 5  $g_{agua}/100g_{producto}$ .

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuando se trata de productos en polvo, la  $T_g$  suele ser considerada como un parámetro crítico, puesto que los problemas relacionados con los fenómenos de colapso y recristalización se relacionan con el estado gomoso de la matriz amorfa del producto (Collares et al., 2004; Roos, 1995b; Ahmed y Ramaswamy, 2006; Silva et al., 2006; Wang y Langrish, 2009). Dependiendo de la temperatura, la transición vítrea ocurrirá a valores críticos de contenido en humedad y actividad del agua inherentes a la muestra, los cuales pueden ser considerados factores de importancia para la estabilidad del producto (Moraga et al., 2004).



**Figura IV.9** Evolución de la temperatura de inicio de la transición vítrea ( $T_g^i$ ) en función del contenido en agua ( $w_e^{bh}$ ) de los productos en polvo liofilizado (OL: línea discontinua) y atomizado (OA: línea continua). Puntos experimentales y predicción del modelo de Gordon y Taylor ajustado.

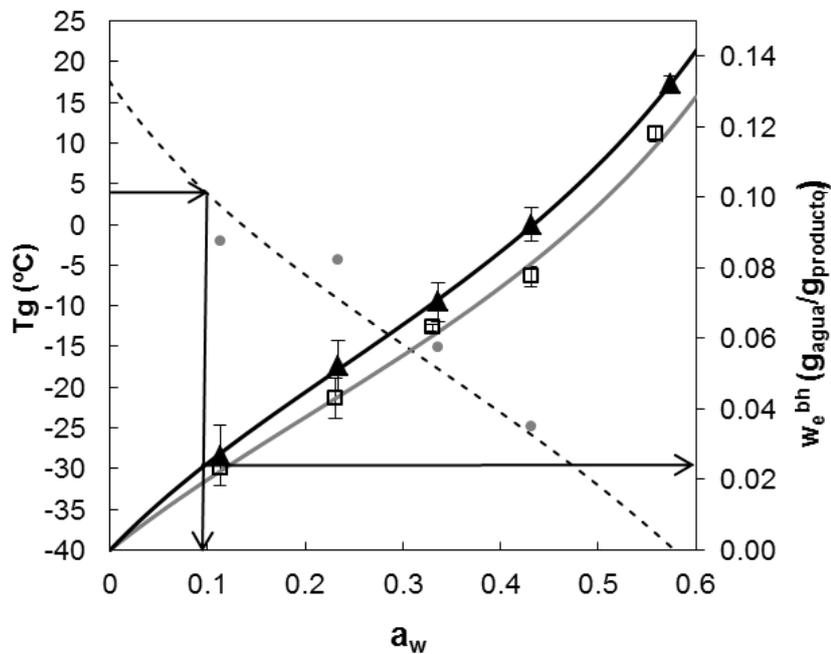
#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

El análisis combinado de la sorción de agua y la  $T_g$  evaluado en el punto de inicio de la transición, permitió obtener el diagrama de estabilidad  $T_g$ - $a_w$ - $w_e^{bh}$  tanto para los productos liofilizados (Figura IV.10) como para los atomizados (Figura IV.11). A partir de este análisis, se obtuvieron CWC y CWA para el inicio de la transición vítrea a las dos temperaturas a las que se trabajó, 4 y 20 °C (Tabla IV.15). No obstante, conviene recordar en este punto que, como la transición vítrea ocurre en un intervalo de temperaturas, también se puede hablar de un intervalo de CWC y CWA en los que una parte del producto se encontrará en estado vítreo y otra en estado gomoso (Tabla IV.15). Como puede observarse en esta tabla y en el diagrama de estabilidad para el producto liofilizado (Figura IV.10), a 20 °C no es posible mantener a todo el polvo en estado vítreo. Para el polvo atomizado a 20 °C esto sí que se consigue en unas condiciones de almacenamiento muy estrictas (un ambiente con una humedad relativa < 2.2% y una humedad del producto inferior a 0.5  $g_{\text{agua}}/100 g_{\text{polvo}}$ ). Por otra parte, considerar el final de la transición,  $T_g^f$ , puede relacionarse con el momento en que todo el producto ha pasado al estado gomoso. Esto ocurriría, a 20 °C, para el producto liofilizado, cuando se superen los valores  $CWA^f = 0.146$  y  $CWC^f = 2.8 g_{\text{agua}}/100 g_{\text{polvo}}$ . En el caso del atomizado sería para  $CWA^f = 0.198$  y  $CWC^f = 4.0 g_{\text{agua}}/100 g_{\text{polvo}}$ . Por tanto se trata de un producto muy vulnerable, que con pequeños aumentos en la temperatura o en la humedad relativa del ambiente en el que se almacene provocará la transición de la matriz amorfa del estado vítreo, en el cual la movilidad de las

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

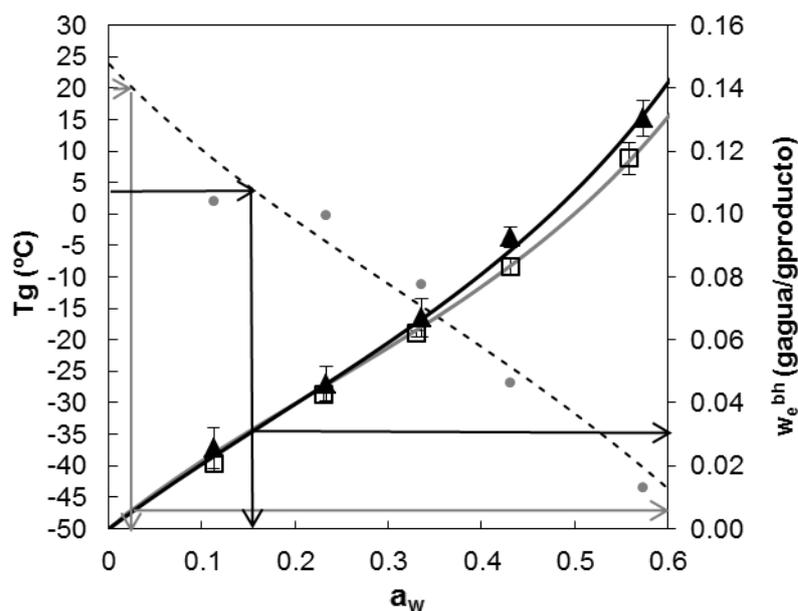
moléculas es prácticamente despreciable debido a la elevada viscosidad (sobre  $10^{12}$  Pa s), al estado gomoso en el que sí suceden reacciones de difusión que actúan en detrimento de la preservación de los polvos (Levine y Slade, 1986). Dado lo estricto de la humedad relativa de almacenamiento encontradas para ambos productos, como alternativa, podría resultar interesante la opción de almacenarlos en refrigeración.



**Figura IV.10** Relación temperatura de inicio de la transición vítrea ( $T_g^i$ )– actividad del agua ( $a_w$ ) (línea discontinua) y contenido de agua ( $w_e^{bh}$ )– $a_w$  (línea continua: negra para 4 °C y gris para 20 °C) para el polvo liofilizado (puntos experimentales y comportamiento predicho por los modelos de BET y Gordon y Taylor). Las flechas indican los valores críticos de  $a_w$  y  $w_e^{bh}$  para la transición vítrea a 4 °C.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Figuras IV.10 y IV.11 y en la Tabla IV.15 se observa que, a temperaturas de 4 °C, para asegurar el estado vítreo de todo el producto éste debe almacenarse en ambientes con humedades relativas  $\leq 9.8\%$  y  $15.2\%$ , lo que supone un contenido de humedad menor a  $2.4 \text{ g}_{\text{agua}}/100 \text{ g}_{\text{polvo}}$ ,  $3.1 \text{ g}_{\text{agua}}/100 \text{ g}_{\text{polvo}}$  para el polvo liofilizado y atomizado, respectivamente. A esta temperatura, el paso total al estado gomoso se alcanzará para  $CWA \geq 0.262$  y  $0.337$  y  $CWC \geq 5.7$  y  $6.7 \text{ g}_{\text{agua}}/100 \text{ g}_{\text{polvo}}$ , respectivamente.



**Figura IV.11** Relación temperatura de inicio de la transición vítrea ( $T_g^i$ ) – actividad del agua ( $a_w$ ) (línea discontinua) y contenido de agua ( $w_e^{bh}$ )- $a_w$  (línea continua: negra para 4 °C y gris para 20 °C) para el polvo atomizado (puntos experimentales y comportamiento predicho por los modelos de BET y Gordon y Taylor). Las flechas indican los valores críticos de  $a_w$  y  $w_e^{bh}$  para la transición vítrea a 4 °C y a 20 °C.

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

---

De esta forma se recomienda, en ambos casos, el almacenamiento en refrigeración del pomelo en polvo. En este caso las bajas temperaturas se sugieren 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, aunque sigue siendo necesario el uso de envases con una permeabilidad mínima al vapor de agua que garanticen que su humedad permanece por debajo de los valores críticos establecidos.

##### **IV.3.3 Cambios en las propiedades mecánicas en función de la humedad relativa y la temperatura**

Para evaluar los cambios en las propiedades mecánicas de los polvos almacenados a 4 y 20 °C, a diferentes humedades relativas, se realizó un ensayo de compresión a los diferentes polvos. Este ensayo, propuesto por Telis y Martínez-Navarrete (2010), permite detectar a nivel experimental de forma sencilla el efecto de la humectación de productos en polvo en sus propiedades mecánicas, en relación con el desarrollo de fenómenos de apelmazamiento, mediante el análisis de las curvas fuerza-distancia y el estudio de la evolución de la fuerza máxima obtenida.

De acuerdo a Mosquera et al. (2011), el colapso en productos en polvo implica cambios estructurales dependientes del tiempo que

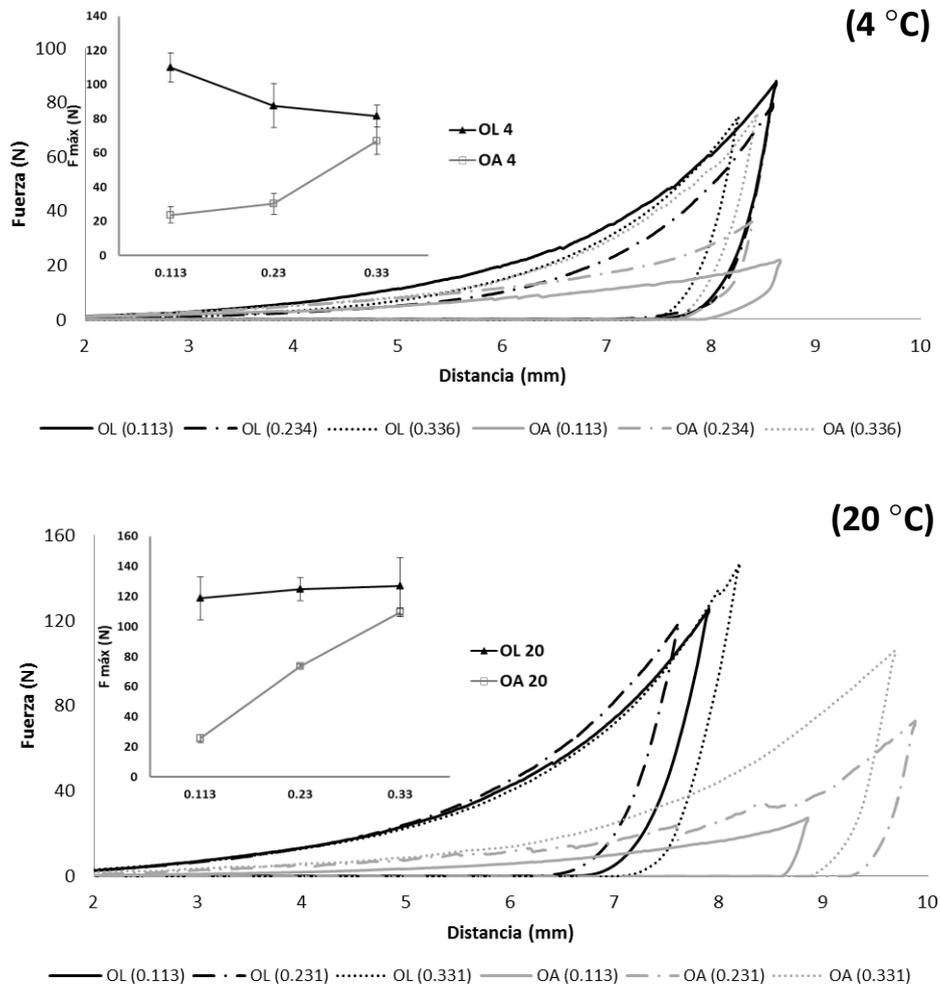
#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

suponen cambios en las propiedades mecánicas relacionadas con el apelmazamiento o la pegajosidad. Estos cambios ocurren como resultado de la disminución de la viscosidad del producto cuando alcanza temperaturas por encima de su  $T_g$  (Levine y Slade, 1988). En este sentido, y debido al bajo valor de CWA encontrado para los productos liofilizado y atomizado a 4 y 20 °C, el ensayo de compresión sólo se realizó sobre las muestras almacenadas a humedades relativas inferiores al 33% (Figura IV.12). En general las muestras liofilizadas presentaron mayores fuerzas de compresión que las atomizadas, en relación a las diferencias estructurales de ambos productos. El polvo atomizado suele tener un tamaño de partícula más homogéneo facilitando así la compactación de las muestras, mientras que el polvo liofilizado presenta partículas con formas variadas e irregulares que pueden dificultar su compresión.

Los resultados evidenciaron, en todos los casos, un comportamiento dependiente de la actividad del agua de la muestra y de la temperatura de almacenamiento. Para el caso de los polvos liofilizados almacenados a 4 °C (Figura IV.12), se observó una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) de la fuerza de compresión, al aumentar su  $a_w$  de 0.113 a 0.22 que se mantuvo más o menos constante hasta  $a_w = 0.33$ . De acuerdo a lo discutido en el apartado anterior, como  $CWA^i$  de este producto para el inicio de la  $T_g$  es 0.098, parte del producto ya se encontraba en estado gomoso a  $a_w = 0.113$ .

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



**Figura. IV.12** Ejemplo de curvas Fuerza-Distancia obtenidas del ensayo de compresión de los productos en polvo liofilizado (OL: líneas negras) y atomizado (OA: líneas grises) con diferentes  $a_w$  y almacenados a 4 y 20 °C. La gráfica interna representa la evolución del valor medio de la fuerza máxima ( $F_{máx}$ ) registrada en el ensayo en cada caso.

Cuanto mayor es su  $a_w$ , más parte del producto va pasando al estado gomoso, asociado al efecto plastificante que favorece el flujo viscoso y la consecuente disminución de  $F_{m\acute{a}x}$ . Cuando su  $a_w = 0.22$ , prácticamente todo el producto está en estado gomoso y no se aprecian más cambios en la  $F_{m\acute{a}x}$ . Este comportamiento también fue observado por Moraga et al. (2011) al estudiar el las propiedades mecánicas de rodajas de manzana liofilizadas y almacenadas a diferentes humedades relativas. Por su parte, las muestras liofilizadas almacenadas a 20 °C (Figura IV.12) no mostraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en la fuerza de compresión a las diferentes actividades del agua evaluadas. En este caso, todas las muestras ya se encontraban prácticamente en completo estado gomoso. De acuerdo a Barbosa-Cánovas et al. (2005), el proceso de apelmazamiento empieza con la formación de puentes interpartícula a partir de una determinada cantidad de agua, lo que supone el aumento de la fuerza necesaria para compactar la muestra. No obstante, la estructura heterogénea de las partículas del polvo liofilizado antes comentado permite, en estado gomoso, un empaquetamiento más fácil del mismo al ser compactado, lo que hace que no se observen cambios en la fuerza de compresión.

Para el caso de los polvos atomizados (Figura IV.12) el aumento de la actividad del agua supuso, para ambas temperaturas, un aumento significativo de la fuerza máxima compresión, más acusado cuanto mayor proporción de polvo se encuentra en estado gomoso. En este

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

---

caso, el aumento de la fuerza observada al compactar este polvo mucho más homogéneo, si que se corresponde con el desarrollo de los fenómenos de apelmazamiento, que se hace perceptible cuando aproximadamente la mitad del producto ha pasado al estado gomoso.

##### **IV.3.4 Cambios de color en función de las condiciones de almacenamiento**

Uno de los parámetros sensoriales ampliamente usados para justificar la aceptación de un producto deshidratado es el color (Chong et al., 2013). Los cambios de color que se producen durante el almacenamiento de frutas deshidratadas parecen estar relacionados estrechamente con la actividad del agua y por tanto con la movilidad molecular de los sustratos responsables de diversas reacciones químicas de deterioro cuya velocidad de difusión se incrementa notablemente a temperaturas superiores a las de la transición vítrea. Estas reacciones químicas, dentro de las que se encuentran las reacciones de pardeamiento enzimático y no enzimático (Barbosa-Cánovas y Vega-Mercado, 1996; Roos, 1995a), son en gran medida las responsables de la formación de pigmentos oscuros que afectan no solo la calidad sensorial del producto sino que también pueden ocasionar la pérdida de su valor nutritivo.

Por lo anterior, la evolución de los diferentes parámetros de color de las muestras liofilizada (Figura IV.13) y atomizada (Figura IV.14) fue

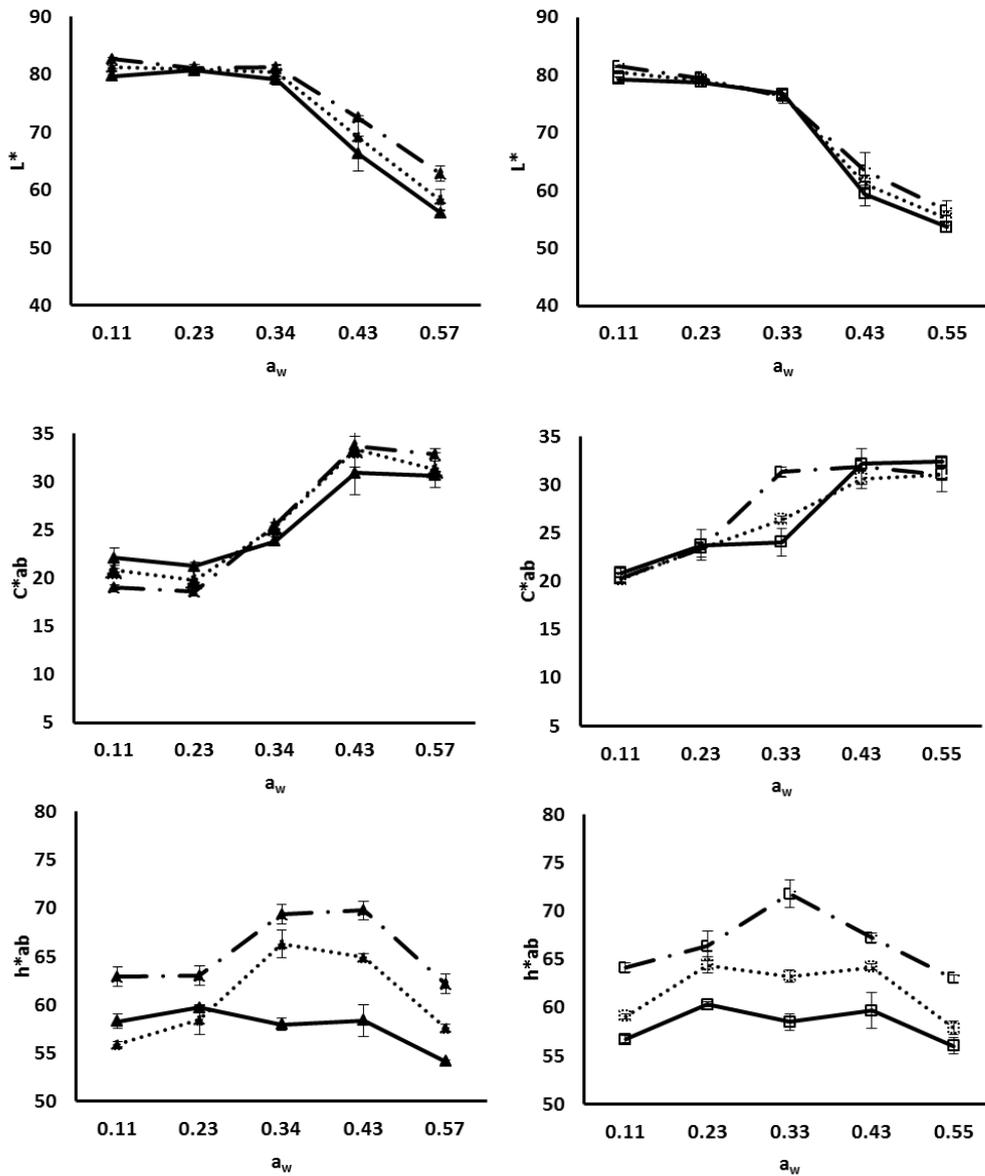
#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

estudiada. Mediante un ANOVA multifactorial, se evaluó el efecto de las condiciones de almacenamiento (temperatura, humedad relativa y tiempo), sobre las coordenadas  $L^*a^*b^*$ , el tono, croma y las diferencias de color con respecto al producto recién liofilizado o atomizado.

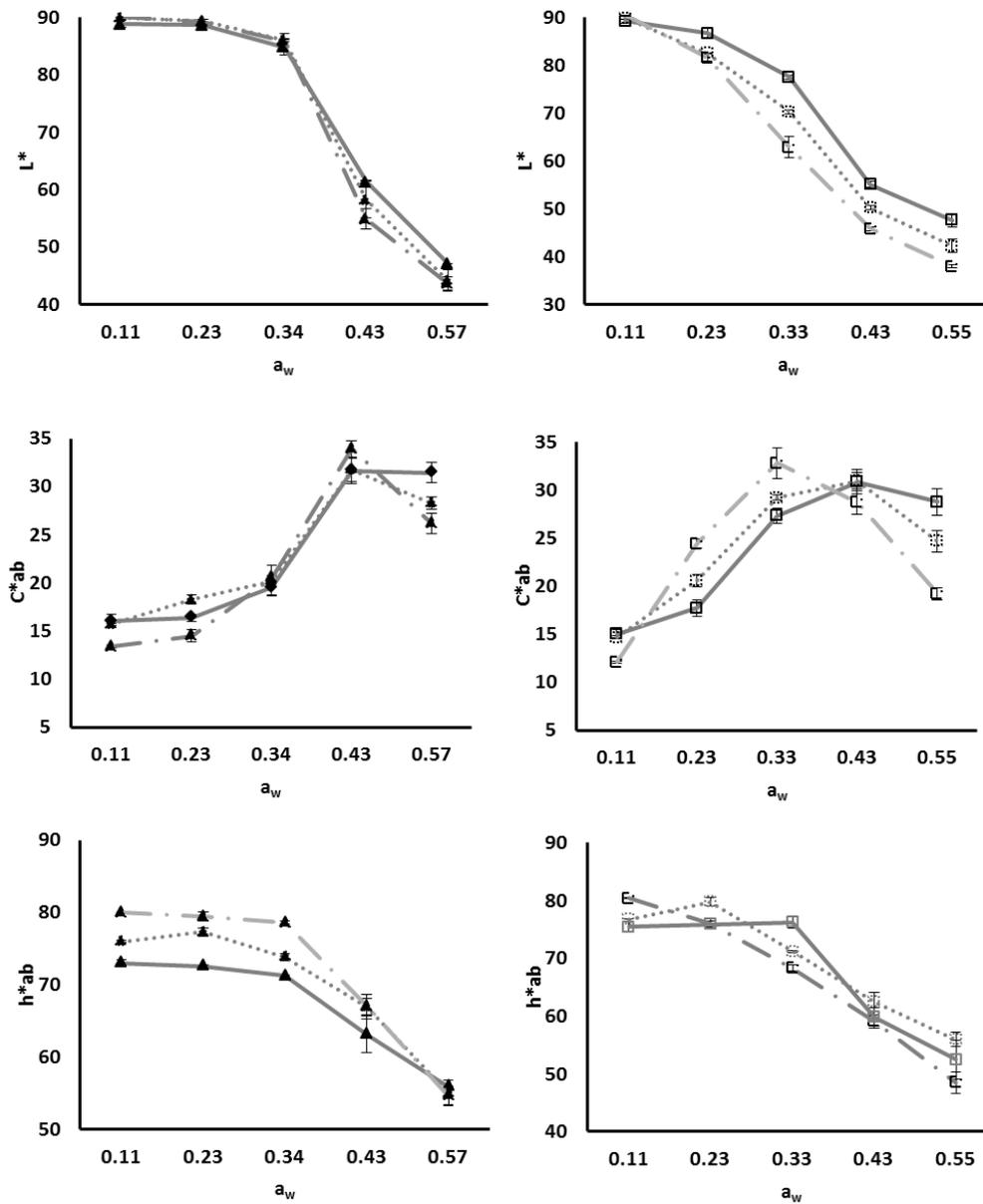
Tanto para el polvo liofilizado como para el atomizado, el ANOVA multifactorial realizado mostró un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) de la humedad relativa, la temperatura, el tiempo de almacenamiento y sus diferentes interacciones sobre los parámetros de color evaluados. Los cambios de color que se observan (Figuras IV.13 y IV.14, respectivamente) empiezan a ser significativos para  $a_w$  ligeramente superiores a  $CWA^f$ . Esto indica que todo el producto ha de estar gomoso y con una cierta movilidad molecular para que los cambios de color se hagan evidentes. Esos cambios suponen un oscurecimiento del producto (disminución de  $L^*$ ) y un aumento de la pureza de color, que podrían estar relacionados con el desarrollo de fenómenos de pardeamiento. Esto se traduce en un cambio de tono evidente al aumentar el tiempo de almacenamiento. Los cambios comentados que fueron, en general, más acusados a  $20\text{ }^\circ\text{C}$  que a  $4\text{ }^\circ\text{C}$ , pueden estar relacionados con fenómenos de pardeamiento enzimático o no enzimático.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



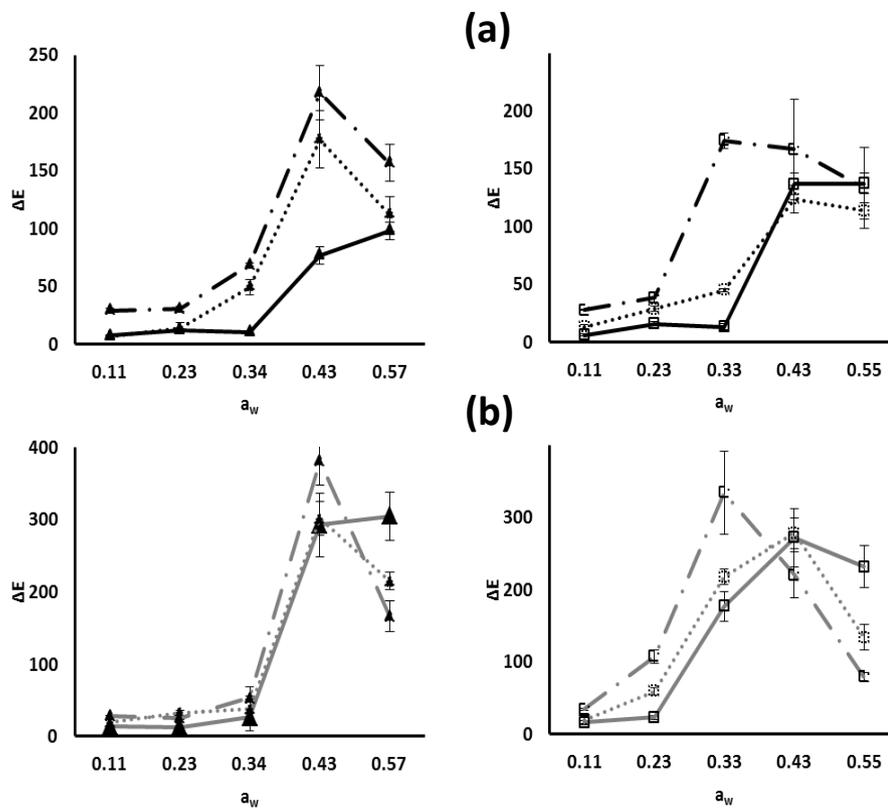
**Figura IV.13** Luminosidad ( $L^*$ ), croma ( $C^*_{ab}$ ) y tono ( $h^*_{ab}$ ) del pomelo en polvo liofilizado almacenado a 4°C (▲) y 20°C (□) en función del tiempo de almacenamiento: 1 mes (—), 4 meses (.....) y 8 meses (— · —).

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



**Figura IV.14** Luminosidad ( $L^*$ ), croma ( $C^*_{ab}$ ) y tono ( $h^*_{ab}$ ) del pomelo en polvo atomizado almacenado a 4 °C (▲) y 20 °C (□) en función del tiempo de almacenamiento: 1 mes (—), 4 meses (.....) y 8 meses (---).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



**Figura IV.15** Diferencias de color ( $\Delta E$ ) del pomelo en polvo liofilizado (a) y atomizado (b) almacenado a 4°C (▲) y 20°C (□) en función del tiempo de almacenamiento: 1 mes (—), 4 meses (.....) y 8 meses (---).

Los cambios de color comentados se traducen en las diferencias de color con respecto a los polvos recién liofilizados o recién atomizados, que se muestra en la Figura IV.15. Ya durante el primer mes que duró el equilibrado de las muestras, se produjo un cambio de color, entre 6 y 16 unidades, incluso en las muestras con menor  $a_w$ . Por su parte si se comparan los dos productos optimizados (Figura IV.15) se puede ver que sean cuales sean las condiciones de almacenamiento, los

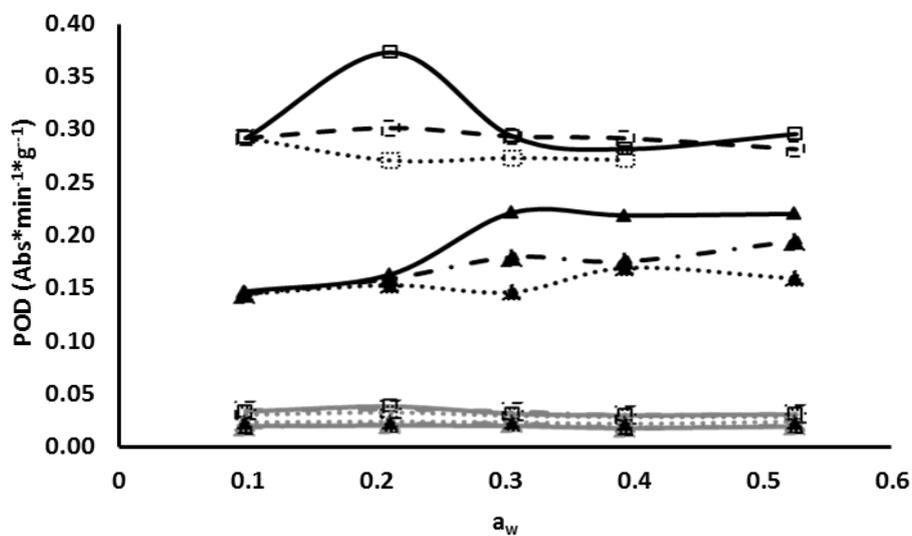
cambios de color que se dan en el polvo liofilizado son menores que los que se dan en el polvo atomizado.

Con el fin de conocer el posible origen de los cambios de color observados, se hizo un estudio de la actividad enzimática de la muestra. Aunque generalmente en frutas la presencia de polifenoloxidasas (PPO) es la mayor responsable de los cambios de color asociados al pardeamiento enzimático, estudios previos realizados en pomelo fresco no encontraron actividad PPO debido a que el alto contenido de ácido cítrico de esta fruta, provoca la quelación del cobre presente en la enzima, inhibiendo así su actividad (Iguar et al., 2010). Por tanto es posible que estos cambios de color sean asociados a la actividad de la POD. Por otra parte Robars et al. (1999) plantean que el papel de POD en el pardeamiento enzimático está limitado por la disponibilidad del peróxido de hidrógeno y en la mayoría de casos, con algunas excepciones, la oxidación a causa de esta enzima es rara vez importante. Aun así con el objetivo de asociar un posible efecto de la actividad enzimática en los cambios de color observados en el almacenamiento de los OL y OA, se cuantificó la actividad peroxidasa (POD) a cada  $a_w$ , temperatura y tiempo de almacenamiento (Figura IV.16).

Los resultados mostraron que el pomelo atomizado presentó una actividad POD más baja que los polvos liofilizados, lo cual puede ser resultado de la técnica de deshidratación usada. En el caso de la

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

atomización, las altas temperaturas aplicadas pudieron conllevar a una inhibición de la actividad de esta enzima. En ninguno de los casos se observó un efecto significativo claro del contenido de agua, ni del tiempo de almacenamiento sobre la POD. Sí que se observó un aumento significativo de la actividad enzimática en las muestras liofilizadas almacenadas a 20 °C con respecto a los almacenados a 4 °C.



**Figura IV.16** Actividad peroxidasa (POD) del pomelo en polvo liofilizado (línea negra) y atomizado (línea gris) almacenados a 4 °C ( $\blacktriangle$ ) y 20 °C ( $\square$ ) en función de la actividad de agua ( $a_w$ ) y el tiempo de almacenamiento: 1 mes (—), 4 meses (.....) y 8 meses (- · -).

La ausencia de correlación entre estos resultados y los cambios de color observados permiten establecer que, en ambos productos, los cambios de color pudieron deberse tanto al hecho en sí de la humectación de la muestra, como a otro tipo de mecanismos de pardeamiento no enzimático incluyendo las reacciones de Maillard, la

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

interacción de iones metálicos con compuestos fenólicos, o la degradación del ácido ascórbico (Robards et al., 1999). Estas reacciones de pardeamiento no enzimático son muy frecuentes en sistemas de baja humedad ( $a_w$ : 0.3-0.7) debido a que la deshidratación conlleva la concentración de los solutos los cuales pueden interaccionar de forma rápida.

En el caso de la reacción de Maillard, ésta está influenciada por muchos factores, incluyendo temperatura, tiempo, pH inicial, la actividad del agua, el estado físico de la matriz, la concentración de reactivo y el tipo de hidratos de carbono que participan (Labuza y Baisier, 1992). En este caso, la presencia de altas cantidades de glucosa, sacarosa y fructosa presentes en el pomelo deshidratado pueden reaccionar con aminoácidos libres o aminoácidos que forman parte de alguna cadena proteica dando lugar a la formación de productos como el furaldehído y/o 5-hidroximetil-2-furaldehído (HFM) los cuales se polimerizan rápidamente y forman polímeros de color pardo durante el almacenamiento (Damodaran et al., 2008). El efecto de la transición vítrea en la cinética de reacciones químicas de difusión controlada, tal como la reacción de Maillard, ha sido reportada por muchos investigadores. Por debajo de la temperatura de transición vítrea la velocidad de reacción disminuye notablemente como resultado de la alta viscosidad de la matriz amorfa, lo que limita la movilidad molecular (Karmas et al., 1992; Lievonen et al., 1998).

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

---

Por su parte, también la interacción o la degradación de los compuestos bioactivos de las frutas deshidratadas durante el almacenamiento pueden ser responsables de los cambios de color. Es así como la formación de complejos entre los compuestos fenólicos presentes en frutas y cationes polivalentes tales como el cobre y/o hierro, combinados con carbohidratos y proteínas, pueden dar lugar a compuestos de color pardo (o-quinonas) (Robards et al., 1999). De igual forma, la degradación de la vitamina C se asocia comúnmente con reacciones de coloración tanto en presencia o en ausencia de aminas. El ácido dehidroascórbico (DHAA) y los dicarbonilos formados durante la degradación de esta vitamina pueden participar en la degradación de Strecker con aminoácidos y pueden formar ácido sorbánico, que a la vez origina dímeros, trímeros, o tetrámeros muchos de color rojizo o amarillento. La polimerización posterior de estas sustancias originan melanoidinas (polímeros nitrogenados) o pigmentos no nitrogenados de tipo caramelo (Damodaran et al., 2008).

##### **IV.3.5 Cambios de los compuestos bioactivos en función de las condiciones de almacenamiento**

Como ya se ha comentado, durante la deshidratación por liofilización y atomización del pomelo, la remoción del agua de forma rápida, da lugar a la obtención de polvos con regiones amorfas muy sensibles a cambios en la temperatura y en el contenido en agua, por lo que la

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

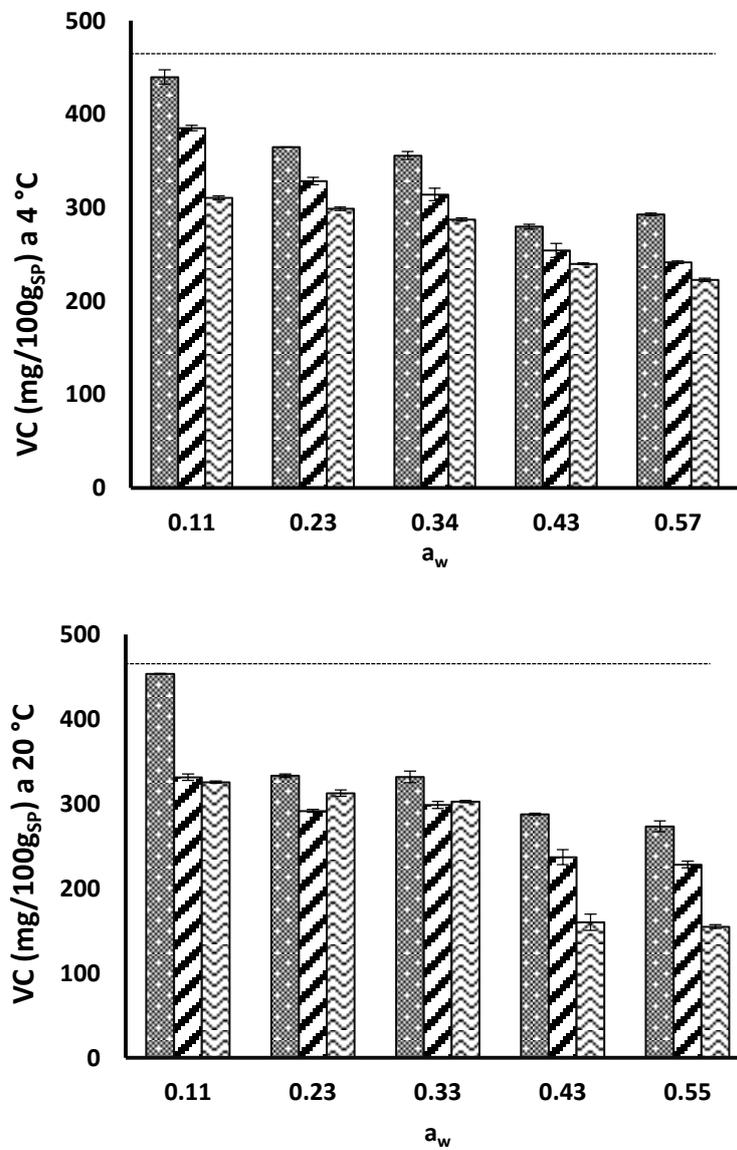
---

estabilidad de sus componentes funcionales durante el almacenamiento va a depender de la movilidad molecular y la disponibilidad del diluyente plastificante (agua) que facilita la difusión de los reactantes que pueden ocasionar la degradación de estos compuestos.

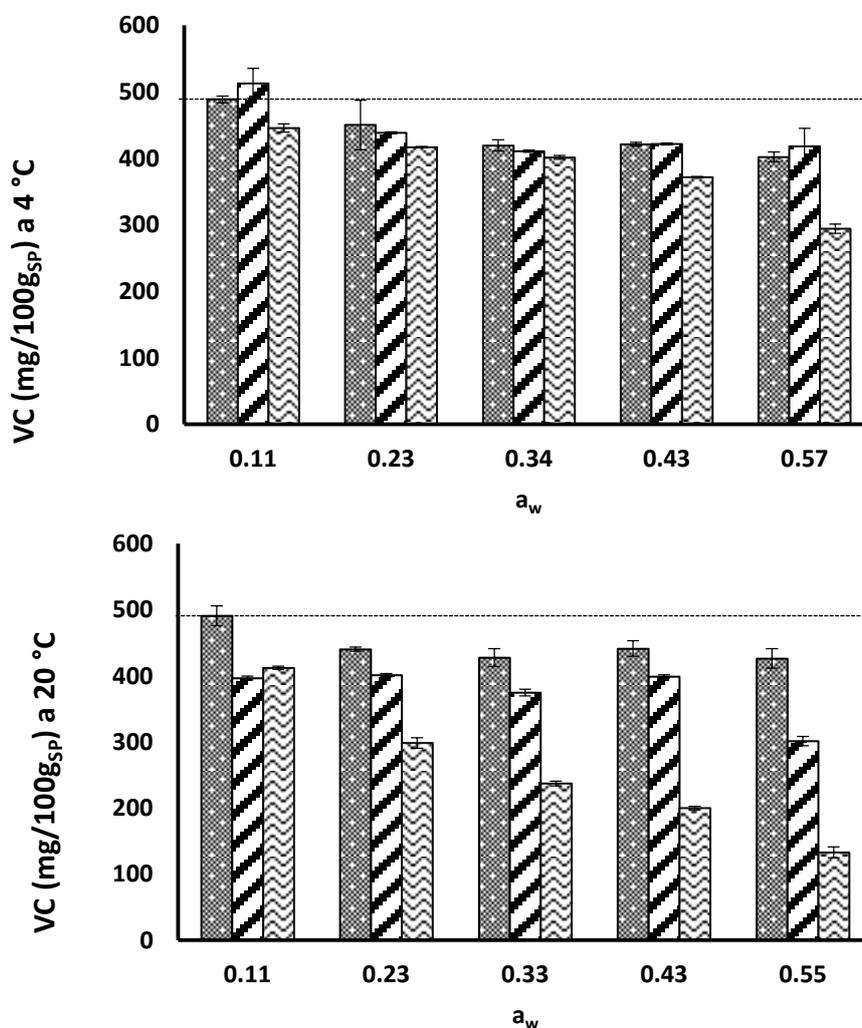
En este sentido, a las muestras optimizadas tanto liofilizadas como atomizadas, se les analizó la evolución del contenido en compuestos bioactivos y actividad antioxidante a distintas condiciones de almacenamiento: temperatura, humedad relativa y tiempo. Las Figuras IV.17 a IV.24 muestran la evolución de estos compuestos. Para cada compuesto y cada producto, se hizo un ANOVA multifactorial con los tres factores comentados (ANEXO II).

La vitamina C y los carotenoides totales, tanto en los productos liofilizados como en los atomizados, disminuyeron al aumentar la humedad relativa, el tiempo y la temperatura. Estas pérdidas se observan desde la humedad relativa más baja y, por lo tanto, desde el inicio de la transición vítrea. En relación con la vitamina C (Figuras IV.17 y IV.18), en el caso del producto atomizado, las pérdidas ocurridas durante el primer mes son del mismo orden a 4 °C que a 20 °C, aunque a 4 °C estas pérdidas no se incrementan, sino que se mantienen hasta los 4 meses (Figura A1VC, Anexo II).

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



**Figura IV.17** Contenido de **vitamina C** (VC: mg/100g<sub>SP</sub>) del pomelo en polvo **liofilizado** en función de la temperatura (4 y 20 °C) y del tiempo de almacenamiento: 1 mes (■), 4 meses (▨) y 12 meses (▩). La línea horizontal indica el contenido en el producto recién procesado (Tabla IV.14).



**Figura IV.18** Contenido de **vitamina C** (VC: mg/100g<sub>SP</sub>) del pomelo en polvo **atomizado** en función de la temperatura (4 y 20 °C) y del tiempo de almacenamiento: 1 mes , 4 meses y 12 meses . La línea horizontal indica el contenido en el producto recién procesado (Tabla IV.14).

La disminución de la vitamina C está asociada con el ligero incremento de la movilidad molecular que se produce desde el inicio del paso del material de material al estado gomoso y con el correspondiente

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

---

aumento de la cantidad de agua disponible para participar en las reacciones de deterioro desde las  $a_w$  más bajas. Factores como la concentración de oxígeno, presencia de catalizadores (iones metálicos), el pH, la temperatura y la luz pueden influir también en la velocidad de reacción y la consecuente degradación (Damodaran et al., 2008). De hecho la pérdida de vitamina C es mayor en el producto liofilizado que en el atomizado lo que puede relacionarse con la diferente estructura del producto y su nivel de compactación ya comentado en el apartado IV.3.3, asociada a la mayor presencia de oxígeno entre las partículas.

La solubilidad de la vitamina C, aumenta cuando aumenta la temperatura. Por tanto la degradación a temperaturas más altas se asocia a su mayor disolución (Shalmashi et al., 2008). De acuerdo a Hiat et al. (2010) el incremento de la  $a_w$  puede aumentar o disminuir la velocidad de reacción de la vitamina C, dependiendo de la influencia de la humedad sobre la viscosidad del sistema y el efecto de la disolución. Generalmente la degradación de la VC procede más rápido en sistemas acuosos que en sistemas de baja humedad.

En el caso de los carotenoides totales (Figuras IV.19 y IV.20), las pérdidas con el tiempo ocurren, mayormente, durante el primer mes. A partir de entonces, éstas son del mismo orden en los siguientes 4 meses, sobre todo si se almacena a 4 °C y menores que a partir de entonces (Figuras L1CT y A1CT, Anexo II). Incluso, en el caso del polvo

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

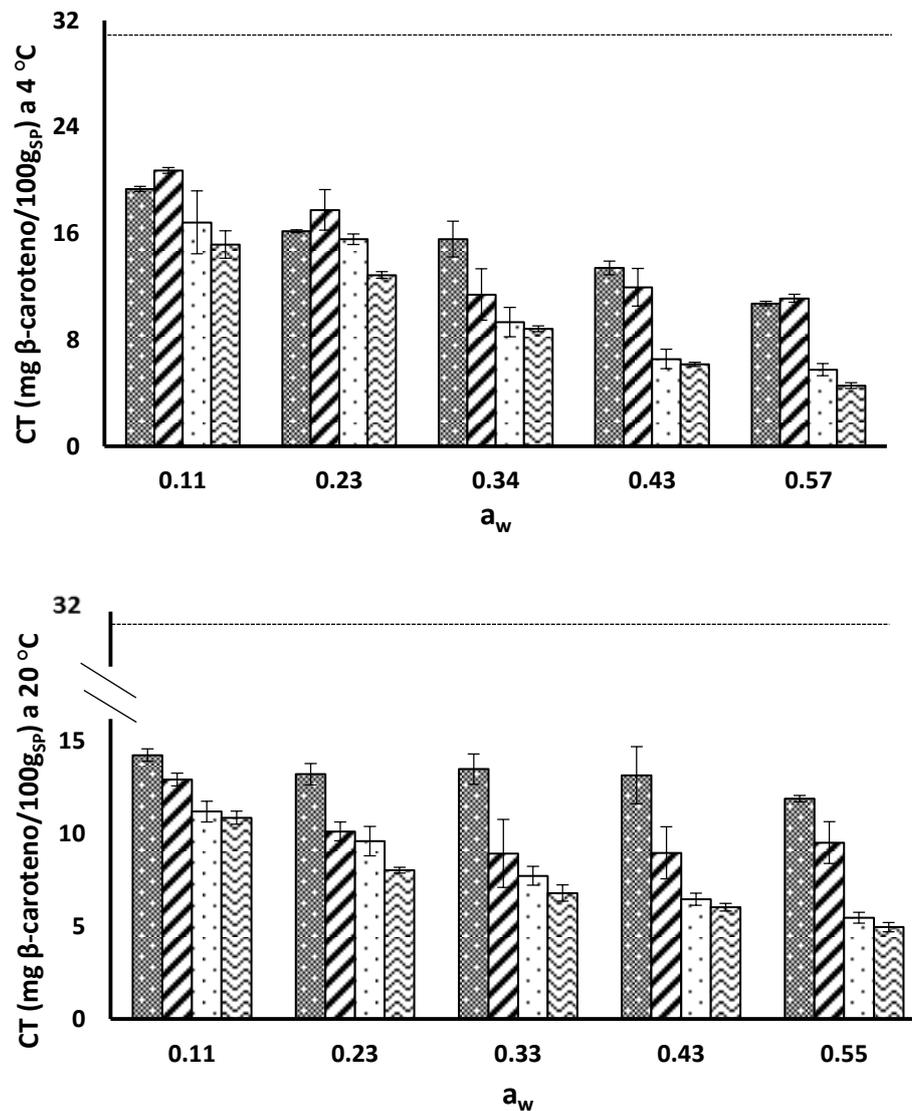
---

atomizado, no se observan, en general diferencias significativas entre 8 y 12 meses. De los dos productos, el atomizado presentó una mayor pérdida de CT, llegando inclusive a degradarse completamente a la mayor actividad del agua a partir de los 8 meses de almacenamiento a 20 °C (Figura IV.20). La degradación de los carotenoides se debe a que estos compuestos se oxidan fácilmente debido al gran número de dobles enlaces conjugados que contienen, dando lugar a reacciones de isomerización que conllevan a la pérdida de color y a la oxidación. A parte de factores como la temperatura, la luz, el oxígeno y la acidez que ocasionan la oxidación de los carotenoides (Gayathri et al., 2004), la disponibilidad de agua es un parámetro que afecta en gran medida estos compuestos, lo que en este caso se observa desde la menor  $a_w$ .

El contenido en fenoles totales (Figuras IV.21 y IV.22) a los 8 meses de almacenamiento, tanto en los liofilizados como en los atomizados, a 4 °C, parece mostrar un comportamiento anómalo. Observando el resto de datos, en el caso de los liofilizados parece que aumenta el contenido en fenoles, tanto más cuanto mayor es la temperatura de almacenamiento (Figura L1FT, Anexo II) y también más a las actividades del agua más altas (Figura L2FT, Anexo II), aunque este aumento, a 20 °C, se va perdiendo con el tiempo (Figura IV.21). En el caso de los atomizados, en la mayoría de casos sí que se registran pérdidas aunque éstas son menos a 20 °C que a 4 °C (Figura A1FT, Anexo II) y mayores a mayor  $a_w$  (Figura A2FT, Anexo II). Se observaron

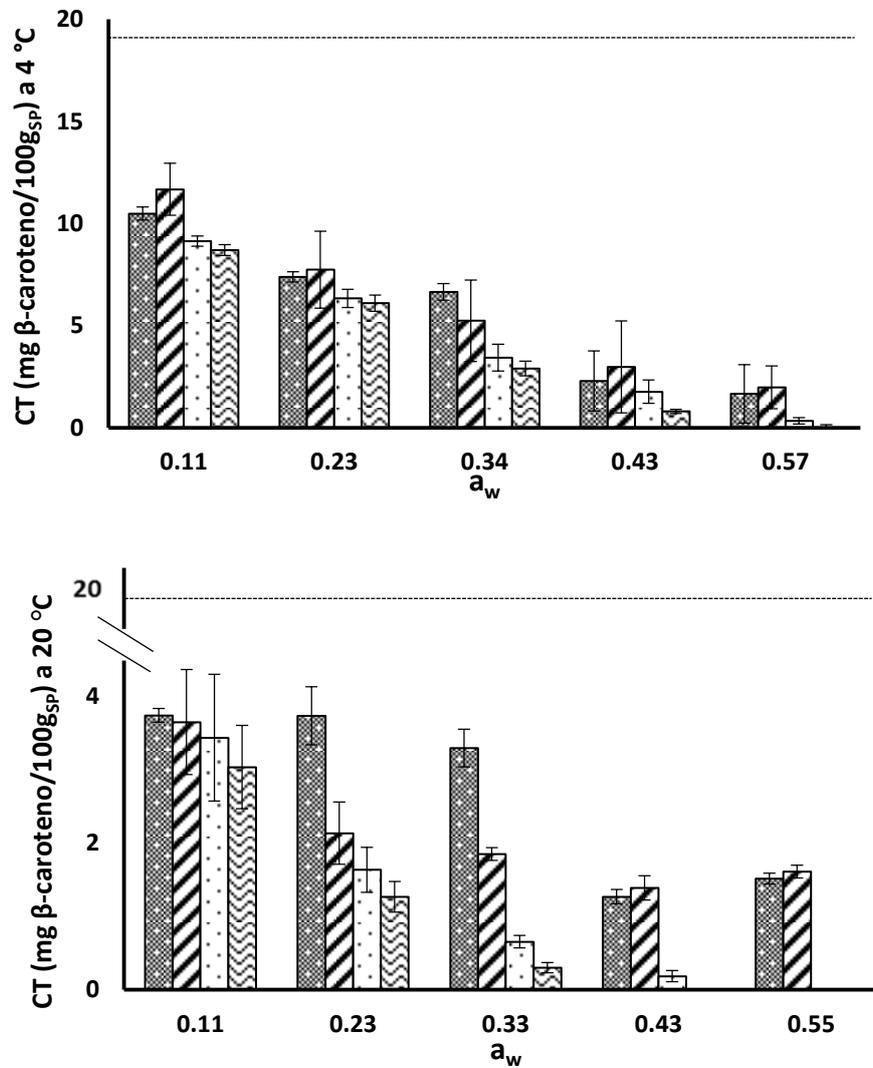
#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ganancias sólo durante el almacenamiento a las menores humedades relativas y durante el primer mes, especialmente a 20 °C.



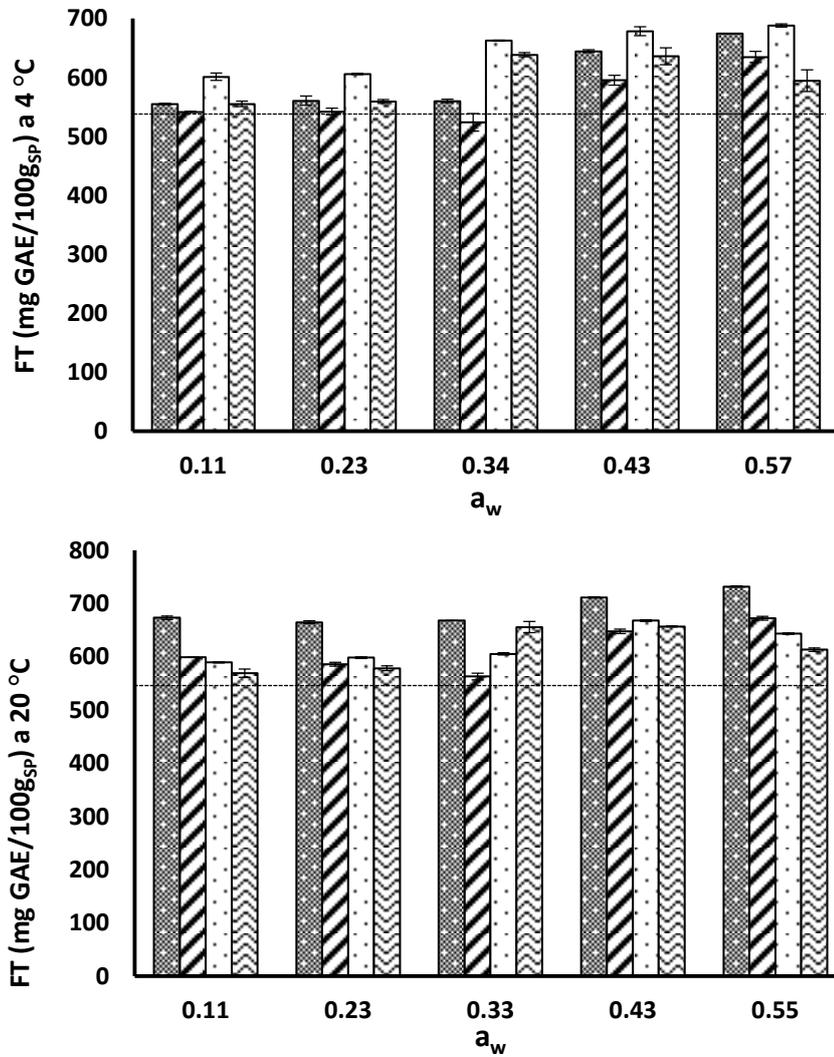
**Figura IV.19** Contenido de **carotenoides totales** (CT: mg β-caroteno/100g<sub>SP</sub>) del pomelo en polvo **liofilizado** en función de la temperatura (4 y 20 °C) y del tiempo de almacenamiento: 1 mes , 4 meses , 8 meses  y 12 meses . La línea horizontal indica el contenido en el producto recién procesado (Tabla IV.14).

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

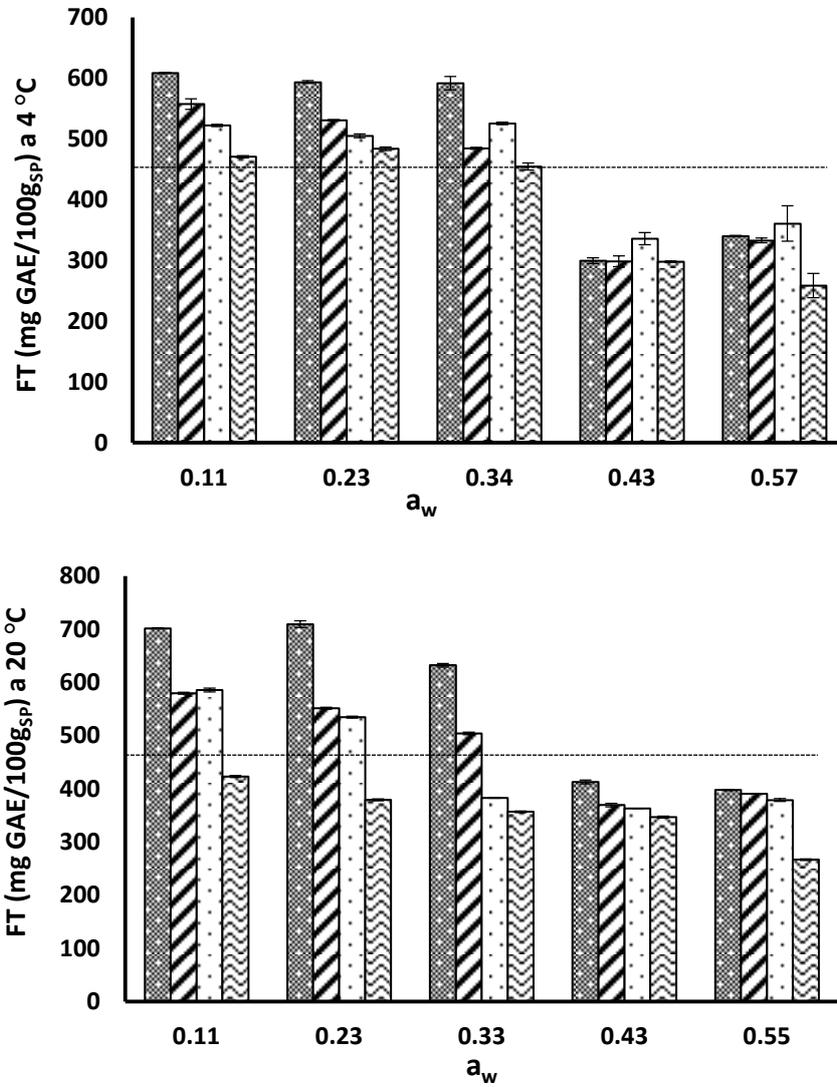


**Figura IV.20** Contenido de **carotenoides totales** (CT: mg  $\beta$ -caroteno/100g<sub>SP</sub>) del pomelo en polvo **atomizado** en función de la temperatura (4 y 20 °C) y del tiempo de almacenamiento: 1 mes , 4 meses , 8 meses  y 12 meses . La línea horizontal indica el contenido en el producto recién procesado (Tabla IV.14).

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



**Figura IV.21** Contenido de **fenoles totales** (FT: mg GAE/100g<sub>SP</sub>) del pomelo en polvo **liofilizado** en función de la temperatura (4 y 20 °C) y del tiempo de almacenamiento: 1 mes , 4 meses , 8 meses , y 12 meses . La línea horizontal indica el contenido en el producto recién procesado (Tabla IV.14).



**Figura IV.22** Contenido de **fenoles totales** (FT: mg GAE/100g<sub>SP</sub>) del pomelo en polvo **atomizado** en función de la temperatura (4 y 20 °C) y del tiempo de almacenamiento: 1 mes , 4 meses , 8 meses y 12 meses . La línea horizontal indica el contenido en el producto recién procesado (Tabla IV.14).

Teniendo en cuenta que los compuestos fenólicos actúan como sustratos en diversos tipos de reacciones, su degradación o

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

estabilidad va a depender de los complejos moleculares que puedan llegar a formar. En este sentido reacciones de autooxidación como resultado de la exposición a la luz o al oxígeno pueden dar lugar a la formación de radicales de tipo fenol que subsecuentemente pueden reaccionar con otros radicales formando dímeros, formando nuevas estructuras dependiendo de la localización precisa de los electrones en el tiempo de reacción. De acuerdo a Lea (1992), Los flavonoides que son los fenoles mayoritarios en el pomelo, no suelen ser atacados por las enzimas oxidativas, sin embargo en la presencia de sustancias transfer son oxidados y producen colores marrones por polimerización. En este sentido la mayor o menor interacción de estos compuestos y la polimerización o degradación está sujeta a factores complejos de demostrar.

En cuanto a la actividad antioxidante (Figuras IV.23 y IV.24), ésta disminuye con la temperatura y la humedad relativa (Figuras L3AOA y A3AOA, Anexo II). Este efecto de la HR, en el caso de los liofilizados, es muy poco apreciable a 4 °C. Con respecto al aumento del tiempo de almacenamiento este supuso una pérdida en el primer mes en ambos casos. A partir de entonces se observó un aumento con el tiempo excepto en el caso de los liofilizados almacenados a 20 °C que siguieron perdiendo capacidad antioxidante (Figuras A2AOA y L1AOA, Anexo II).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

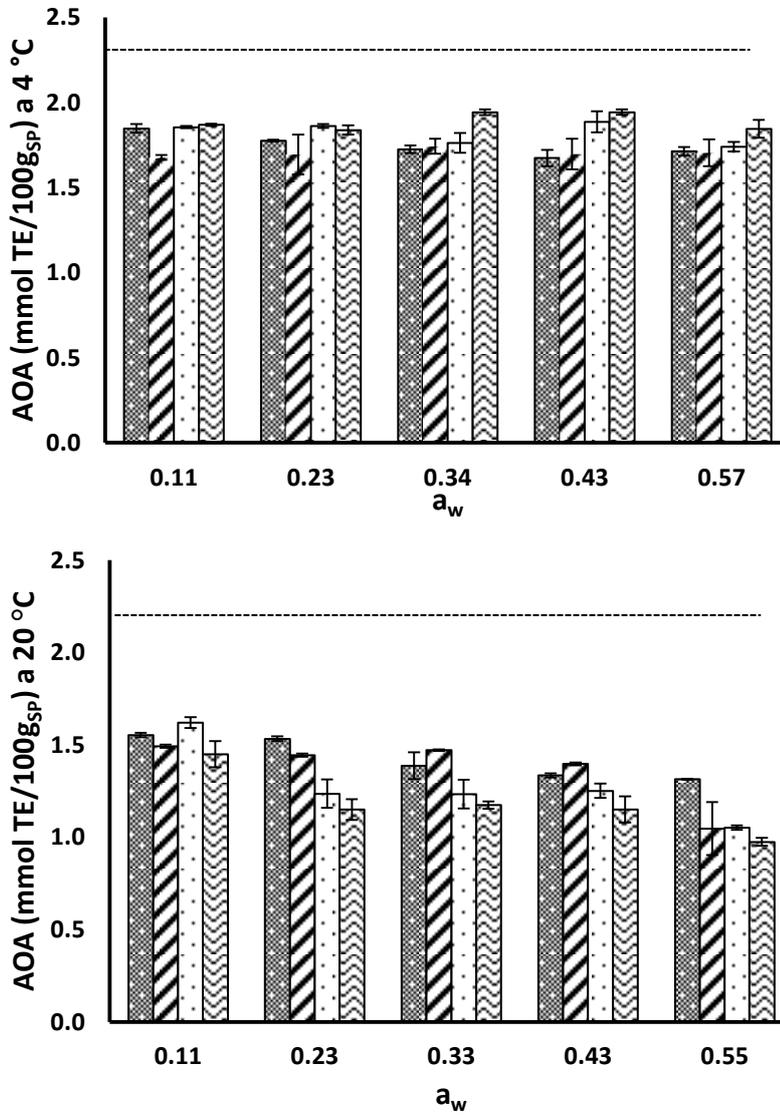
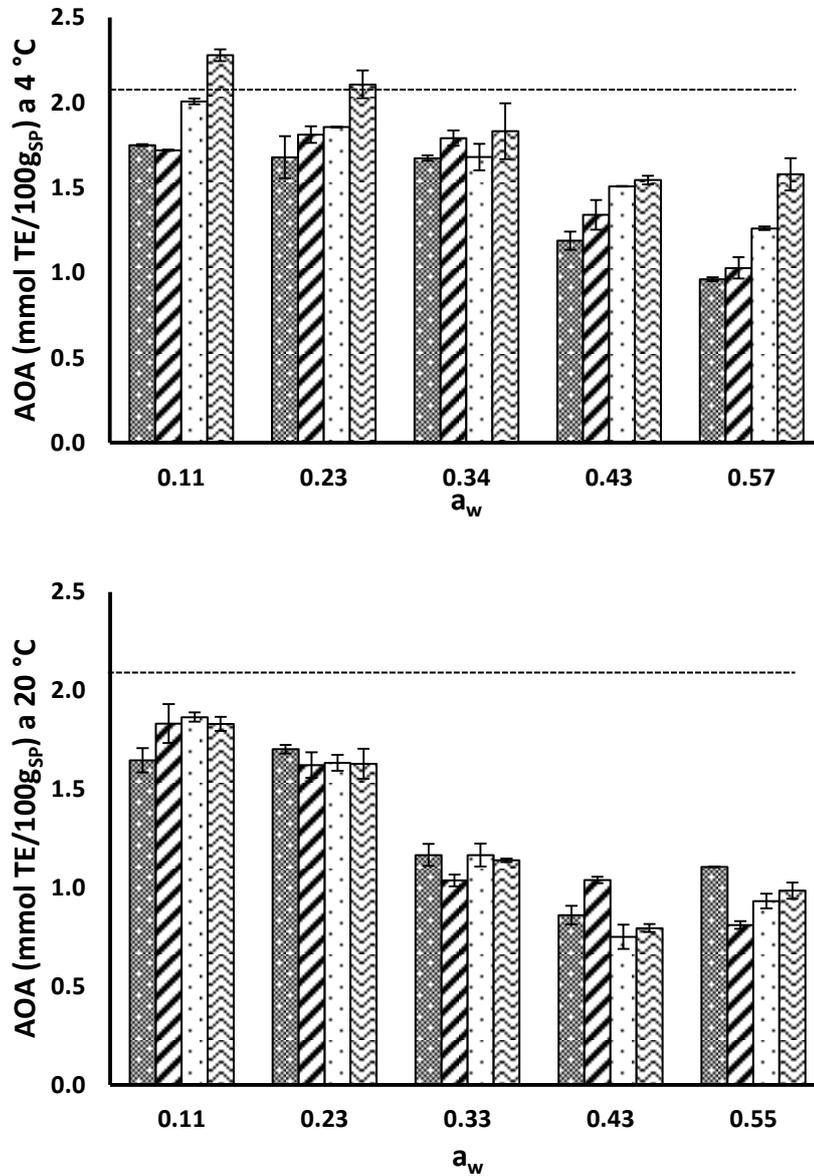


Figura IV.23 Actividad antioxidante (AOA: mmol TE/100g<sub>sp</sub>) del pomelo en polvo liofilizado en función de la temperatura (4 y 20 °C) y del tiempo de almacenamiento: 1 mes , 4 meses , 8 meses , 12 meses . La línea horizontal indica el contenido en el producto recién procesado (Tabla IV.14).

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



**Figura IV.24 Actividad antioxidante** (AOA: mmol TE/100g<sub>SP</sub>) del pomelo en polvo **atomizado** en función de la temperatura (4 y 20 °C) y del tiempo de almacenamiento: 1 mes , 4 meses , 8 meses  y 12 meses . La línea horizontal indica el contenido en el producto recién procesado (Tabla IV.14).

## **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

Como se ha comentado en apartados anteriores, la AOA en el pomelo está muy relacionada con el contenido en los fenoles totales, por tanto la evolución de estos compuestos bioactivos en cada producto pueden explicar su mayor o menor aumento. Aunque generalmente la oxidación enzimática o química de los polifenoles ocasiona una pérdida en la capacidad antioxidante, observaciones recientes sugieren que los polifenoles oxidados parcialmente pueden exhibir mayor actividad antioxidante que la de los fenoles no-oxidados, lo cual podría explicar el comportamiento observado en los polvos liofilizados a 4 °C, en donde la mayor AOA podría atribuirse a la formación de polifenoles de mayor tamaño con una mayor posibilidad de deslocalización de carga (Manzocco et al., 2001). Aunque en el OL almacenado a 20 °C también se observó un aumento de los FT, la AOA disminuyó con el aumento de la  $a_w$ . De acuerdo a Manzocco et al. (2001), a cierto nivel de complejidad molecular (números de monómeros > 4) los FT pueden presentar impedimento estérico y como consecuencia ocasionar la disminución de la AOA. Pero además, la pérdida de VC y CT también contribuye a la pérdida observada de AOA.

### **IV.4 ANÁLISIS SENSORIAL**

Los productos que se destinan a la alimentación deben cumplir con una serie de parámetros de calidad ya sean microbiológicos, físicos y nutricionales. Sin embargo el solo cumplimiento de estos aspectos no

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

es suficiente. Su calidad no estará plenamente definida si a esas características no se le suman las organolépticas, y es allí donde la aceptación de un producto por parte de un potencial consumidor, es un factor de decisión muy importante cuando se desea introducir un nuevo producto en el mercado, o mejorar uno existente. En este sentido el análisis sensorial permite valorar la percepción, por parte del consumidor, de un producto como un todo o de un aspecto específico del mismo.

Como se ha comentado anteriormente una de las posibles utilidades de las frutas en polvo, es su reconstitución para la obtención de zumos de frutas con características sensoriales muy similares a las del producto fresco. Los zumos comerciales que se encuentran en el mercado, en su mayoría, son elaborados mediante la aplicación de tratamientos térmicos que perjudican su calidad nutritiva, sensorial y funcional. Por ello se planteó un análisis sensorial que permitiera identificar diferencias y conocer la preferencia entre un zumo comercial, uno natural y los obtenidos a partir de la rehidratación de los productos en polvo liofilizado y atomizado. Adicionalmente fue planteada la rehidratación de la torta proveniente de la liofilización, antes de ser triturada. De acuerdo a estudios del grupo de investigación los parámetros reológicos y sensoriales del zumo rehidratado pueden variar significativamente en función del tamaño de partícula del polvo rehidratado (Silva et al., 2016).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

El PT y PL utilizados como materia prima para esta parte del estudio presentaron un contenido en agua de  $0.8710 \pm 0.0007$  y  $0.8752 \pm 0.0006$   $\text{g}_{\text{agua}}/\text{g}_{\text{producto}}$ , respectivamente. La humedad de los productos liofilizado y atomizado obtenidos fue de  $0.0241 \pm 0.0002$  y  $0.019 \pm 0.0006$   $\text{g}_{\text{agua}}/\text{g}_{\text{polvo}}$ , respectivamente. Con estos datos se añadió, a cada producto, la cantidad de agua necesaria para obtener finalmente un zumo procedente del producto liofilizado con  $0.1290\text{g}_{\text{SP}}/\text{g}$  y un zumo procedente del atomizado con  $0.1248\text{g}_{\text{SP}}/\text{g}$ , es decir, con los mismos solutos de pomelo que PT y PL, respectivamente.

### IV.4.1 Grado de aceptación de las muestras y probabilidad de compra

La puntuación media del grado de aceptación de las muestras para los diferentes atributos sensoriales evaluados (Apartado III.6.1), en los 5 zumos con los que se llevó a cabo la cata, se presentan en la Tabla IV.17. En general las puntuaciones no fueron muy altas lo que, asociado a la baja probabilidad de compra (Tabla IV.18), parece indicar que el pomelo es una fruta muy poco apreciada en España. De acuerdo al informe presentado por el Observatorio del Consumo y la Distribución Alimentaria del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (MARM, 2010) el consumo de esta fruta está muy poco extendido en España ya que solo un 16.4% de la población la prueba con cierta frecuencia, mientras que un 83.6% no la consume y dentro de estos un 39.2% lo hacen por su sabor amargo.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Tabla IV.17** Grado de aceptación de las muestras en base a los distintos parámetros analizados.

Muestras	AG	AP	CL	O	SB	SBA	DL	A	AT	CN
C	6.05 <sup>a</sup>	5.85 <sup>b</sup>	5.82 <sup>b</sup>	6.41 <sup>a</sup>	5.69 <sup>a</sup>	4.82 <sup>a</sup>	5.24 <sup>a</sup>	5.39 <sup>a</sup>	5.50 <sup>a</sup>	5.97 <sup>a</sup>
N	5.19 <sup>a</sup>	6.51 <sup>a</sup>	7.00 <sup>a</sup>	7.05 <sup>a</sup>	4.85 <sup>a</sup>	4.53 <sup>a</sup>	4.73 <sup>a</sup>	4.69 <sup>a</sup>	5.20 <sup>a</sup>	6.14 <sup>a</sup>
OA <sup>R</sup>	2.45 <sup>b</sup>	5.46 <sup>ab</sup>	5.54 <sup>bc</sup>	3.41 <sup>b</sup>	2.14 <sup>b</sup>	2.04 <sup>b</sup>	2.82 <sup>b</sup>	3.19 <sup>b</sup>	3.38 <sup>b</sup>	5.82 <sup>b</sup>
OL <sup>R</sup>	2.27 <sup>b</sup>	4.16 <sup>c</sup>	5.19 <sup>bc</sup>	3.84 <sup>b</sup>	2.12 <sup>b</sup>	2.22 <sup>b</sup>	2.53 <sup>b</sup>	3.08 <sup>b</sup>	3.11 <sup>b</sup>	4.08 <sup>b</sup>
TL <sup>R</sup>	2.00 <sup>b</sup>	2.78 <sup>d</sup>	4.60 <sup>c</sup>	3.45 <sup>b</sup>	1.73 <sup>b</sup>	1.80 <sup>b</sup>	2.16 <sup>b</sup>	3.12 <sup>b</sup>	2.97 <sup>b</sup>	2.72 <sup>c</sup>

Agrado general (AG), apariencia (AP), color (CL), olor (O), sabor (SB), sabor amargo (SBA), dulzor (DL), acidez (A), astringencia (AT), consistencia (CN) de las muestras C (comercial), N (natural), OA<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir del polvo atomizado), OL<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir del polvo liofilizado), TL<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir de la torta liofilizada).

**Tabla IV.18** Probabilidad de compra de las distintas muestras.

Muestras	Si (%)	No (%)	Indiferente (%)
C	28.37	40.55	31.08
N	24.32	50.00	25.68
OA <sup>R</sup>	0.00	94.59	5.41
OL <sup>R</sup>	4.05	90.54	5.41
TL <sup>R</sup>	1.35	94.60	4.05

C (comercial), N (natural), OA<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir del polvo atomizado), OL<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir del polvo liofilizado), TL<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir de la torta liofilizada).

## **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

Según los resultados obtenidos del análisis estadístico de los datos presentados en la Tabla IV.17 y del análisis de la probabilidad de compra en la Tabla IV.18, el zumo comercial y el zumo natural, en general, no presentaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre ellos en los diferentes parámetros evaluados, siendo mejor puntuados en la mayoría de los casos y presentando una mayor probabilidad de compra que los zumos procedentes de la rehidratación del pomelo.

Únicamente en la apariencia y el color, el zumo procedente del pomelo atomizado presentó puntuaciones similares a las del zumo comercial. Los zumos rehidratados a partir de los polvos atomizado y liofilizado, y de la torta liofilizada solo presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la apariencia y en la consistencia, lo cual estuvo muy relacionado con el carácter más líquido del producto atomizado y más viscoso de los productos liofilizados, especialmente el proveniente de la torta rehidratada.

### **IV.4.2 Análisis descriptivo de las muestras**

Una técnica sensorial que permite, de manera sencilla, obtener información sobre las características sensoriales de un producto percibidas por los consumidores es la utilización de las preguntas CATA. En una pregunta CATA los consumidores han de marcar entre un listado de características que se les proporcionan, aquellas consideran que describen mejor al producto. La mayor dificultad de

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

esta técnica radica en la elección de los términos o atributos que se les van a presentar a los consumidores, ya que es necesario asegurarse de que entre todos representen todas las posibles sensaciones que puedan ser percibidas por los consumidores. En este caso, los descriptores característicos de las muestras y la forma de evaluar su intensidad se determinaron en una sesión abierta con un panel de catadores entrenados, con experiencia en la evaluación de productos similares. A los resultados obtenidos (Tabla IV.19) se les aplicó el test no paramétrico de Cochran para estudiar si, entre las muestras, existían diferencias significativas en las frecuencias de mención de cada uno de los atributos sensoriales seleccionados. De acuerdo a este test, se encontraron diferencias significativas en las frecuencias de mención de once de los doce atributos CATA utilizados para describir las muestras, lo que indica que estos atributos pueden usarse para describir las diferencias significativas entre los zumos evaluados.

De los 11 atributos considerados, 4 estaban relacionados con la reología (turbio, viscoso, líquido, con pulpa), 6 con el sabor (sabor a pomelo, agradable, artificial, amargo, ácido, no demasiado dulce) y 1 estaba relacionado con el olor (olor a pomelo). El único atributo que no presentó diferencias significativas en la frecuencia de mención fue “poco sabor a pomelo”. El número de catadores que marcó esta casilla fue del mismo orden para todas las muestras y por tanto, este atributo no sirvió para diferenciar entre muestras.

**Tabla IV.19** Frecuencia de mención de los atributos CATA y valor de p del test de Cochran para determinar los atributos que presentan diferencias significativas entre las muestras.

Atributos	p (test Cochran)	Frecuencia de mención				
		C	N	OA <sup>R</sup>	OL <sup>R</sup>	TL <sup>R</sup>
No demasiado dulce	0.028	25	35	38	41	38
Ácido	<0.0001	20	53	42	35	21
Amargo	<0.0001	29	30	62	57	61
Con pulpa	<0.0001	28	28	2	29	58
Viscoso	<0.0001	3	3	1	48	61
Líquido	<0.0001	38	44	41	7	1
Turbio	<0.0001	13	6	10	41	43
Poco sabor pomelo	0.143*	14	7	18	16	15
Sabor artificial	0.004	15	9	27	20	15
Sabor agradable	<0.0001	37	21	74	2	3
Sabor a pomelo	<0.0001	28	31	16	19	9
Olor a pomelo	<0.0001	27	43	6	15	12

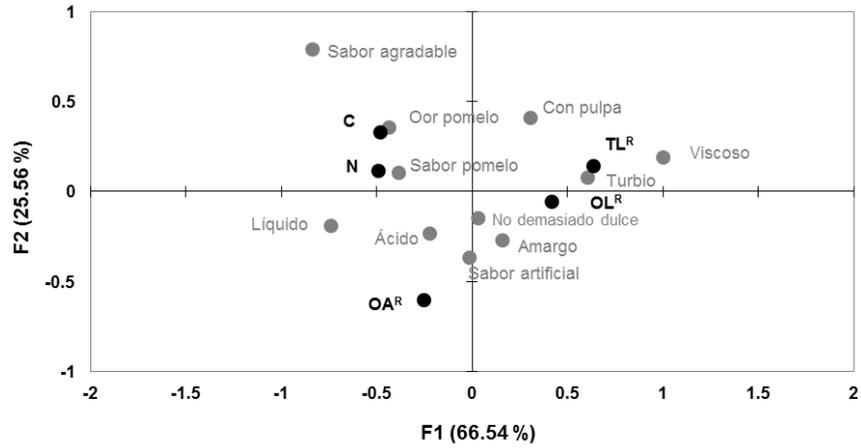
\*Atributos que no presentan diferencias significativas con el test de Cochran. C (Comercial), N (Natural), OA<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir del polvo atomizado), OL<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir del polvo liofilizado), TL<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir de la torta liofilizada).

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

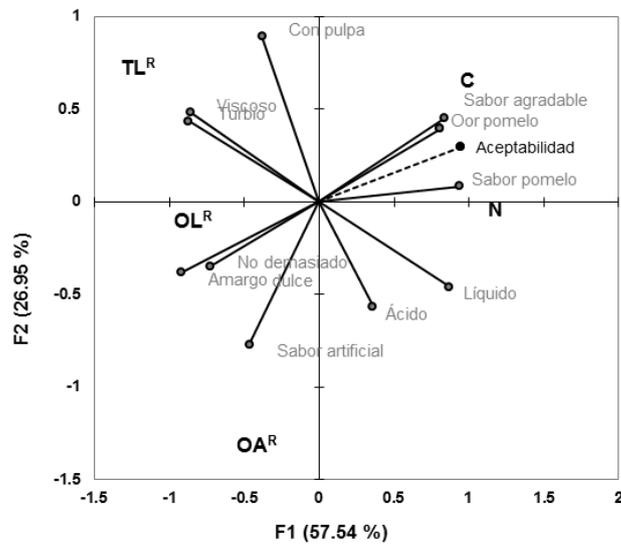
Con los atributos CATA se realizó un análisis de correspondencia con las muestras. Las dos primeras dimensiones de este análisis representaron el 92.01% de la variabilidad total de los datos experimentales, en concreto, el 66.54% la primera y el 25.56% la segunda, como puede verse en la Figura IV.25. Los términos “olor a pomelo” y “sabor a pomelo” fueron fuertemente asociados al zumo natural y al comercial. Por otro lado, estos zumos también fueron percibidos como ácidos y líquidos, al igual que el obtenido a partir de polvo atomizado rehidratado, aunque éste último también se le atribuyó un sabor artificial, amargo y no demasiado dulce. Estas últimas características se asocian igualmente al zumo obtenido a partir de polvo liofilizado. Por su parte los dos zumos obtenidos a partir de pomelo liofilizado, en torta o en polvo, fueron descritos con atributos semejantes como “con pulpa”, “viscoso” y “turbio”. Además, el término “sabor agradable”, aunque alejado en el gráfico de todas las muestras, aparece más asociado al comercial.

Para entender qué características sensoriales fueron las que influyen más en la aceptabilidad de los productos, los datos sensoriales de las preguntas CATA se estudiaron en combinación con los datos de aceptabilidad de los consumidores. Para ello se llevó a cabo un Análisis Multifactorial considerando las respuestas a las preguntas tipo CATA y la puntuación de aceptabilidad correspondiente (Figura IV.26).

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



**Figura IV.25** Análisis de correspondencia para la descripción de las muestras de zumo de pomelo. C (comercial), N (natural), OA<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir del polvo atomizado), OL<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir del polvo liofilizado), TL<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir de la torta liofilizada).



**Figura IV.26** Análisis multifactorial empleando las puntuaciones de aceptabilidad y los datos de las preguntas CATA de las muestras C (comercial), N (natural), OA<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir del polvo atomizado), OL<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir del polvo liofilizado), TL<sup>R</sup> (zumo rehidratado a partir de la torta liofilizada).

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Las dos primeras dimensiones de éste análisis explicaron el 84.49% de la variabilidad total de los datos experimentales. Según los resultados, el zumo comercial y el natural fueron los que más gustaron a los consumidores por su “olor a pomelo”, “sabor a pomelo” y “sabor agradable”. Por su parte, las muestras con menor grado de aceptación por parte de los consumidores fueron los zumos procedentes de la reconstitución del polvo atomizado y de la torta liofilizada, el primero por su “sabor artificial” y el segundo, por su carácter más “turbio” y “viscoso”.

##### **IV.4.3 Adecuación de algunas características sensoriales**

Las escalas JAR se utilizan en la ciencia del consumo y, con frecuencia, en los estudios de optimización de productos para identificar la valoración de los consumidores con respecto a ciertos atributos clave para la aceptabilidad del alimento en estudio. El análisis de las puntuaciones en estas escalas indican la dirección a seguir a la hora de hacer un cambio en la formulación para mejorar un prototipo (Popper, 2014).

En este sentido, para determinar si hay que modificar algunos de los atributos evaluados con esta escala, hay que llevar a cabo un análisis de penalización. Este análisis tiene como objetivo comparar los datos del grado de aceptación de las muestras con los obtenidos para cada atributo evaluado con las escalas JAR. La hipótesis de este análisis es

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

que el mayor valor de grado de aceptación lo pondrá un consumidor cuando crea que la muestra “está bien así” (punto medio de la escala JAR) respecto a cada atributo evaluado en la escala JAR. Con el análisis de penalización se estudia en cuanto mejoraría o empeoraría el grado de aceptación del producto si se modificaran aquellos atributos para los que los consumidores han encontrado al producto “poco...” o “muy...”. Es decir, analiza cuanto cambia la aceptabilidad del producto con los diferentes “defectos” encontrados en la muestra respecto de dichos atributos. El análisis de penalización toma como significativos y, por tanto, susceptibles de mejora aquellos atributos para los que más del 20% de consumidores los encontraban desviados del punto medio “está bien así” y, además, lo penalizan con una caída de más de un punto en el agrado general (Popper, 2014).

La Figuras IV.27, IV.28, IV.29 y IV.30, muestran el análisis de penalización realizado para las muestras C, N, OL<sup>R</sup> y OA<sup>R</sup>, respectivamente. En este caso, el zumo rehidratado a partir de torta liofilizada no se tuvo en cuenta puesto que fue la muestra peor puntuada y apenas tuvo probabilidad de compra. En este análisis el porcentaje de encuestados (eje X) representado frente a la caída de la aceptabilidad (eje Y) permite obtener una mayor comprensión de los atributos que más afectaron a la calificación de la aceptabilidad de los zumos (Plaehn y Home, 2008). Como se trata de un análisis de atributo por atributo, se pueden identificar diferentes mejoras

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

potenciales de los productos que corresponderá a los atributos que queden situados en la esquina superior derecha de la gráfica (Popper, 2014). La situación perfecta sería encontrar a todos los atributos en el área inferior izquierda del gráfico ya que esto significaría que hay pocos consumidores que piensan que el nivel del atributo en cuestión no es correcto y, además, el impacto sobre el agrado general de esa muestra es pequeño.

Los atributos que se desviaron significativamente del punto idóneo en todos los zumos fueron “demasiado astringente” y “demasiado poco dulce”. Además también se alejó del punto medio el atributo “demasiado ácido”, excepto en el zumo obtenido de la rehidratación polvo atomizado. El 55.41% y el 56.76% de los consumidores consideraron demasiado astringente y ácido, respectivamente, el zumo procedente de polvo liofilizado, lo que hizo que su aceptabilidad callera en 1.17 y 1.76 puntos respectivamente. Otro atributo relacionado con la baja aceptabilidad de esta muestra fue el poco dulzor, penalizado por el 87.8% de las personas que lo probaron, lo que supuso una caída de su aceptación de 1.89 puntos. El zumo rehidratado a partir de polvo atomizado fue el que menos atributos mejorables presentó, siendo sus penalizaciones en la aceptabilidad cercanas a la unidad.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

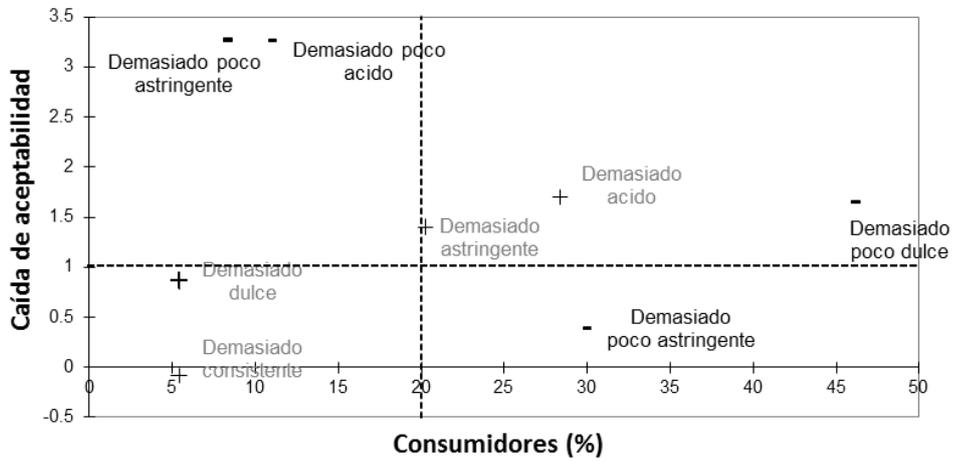


Figura IV.27 Análisis de penalización para el zumo comercial.

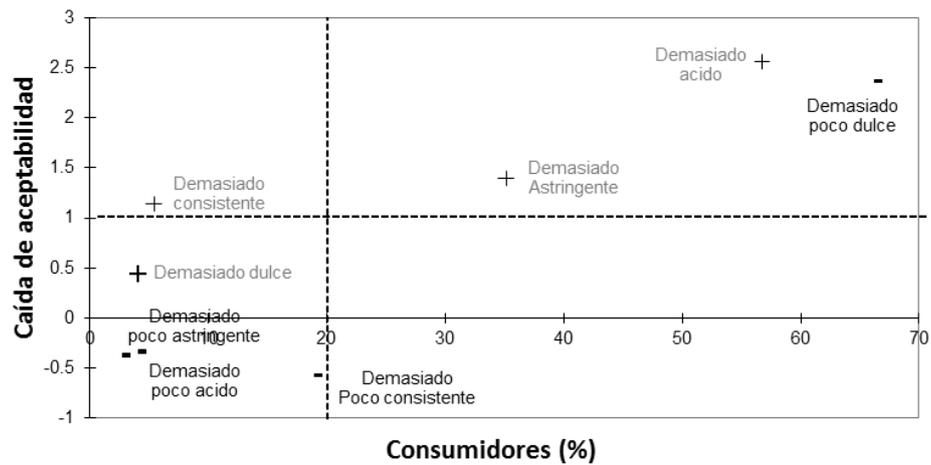


Figura IV.28 Análisis de penalización para el zumo natural.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

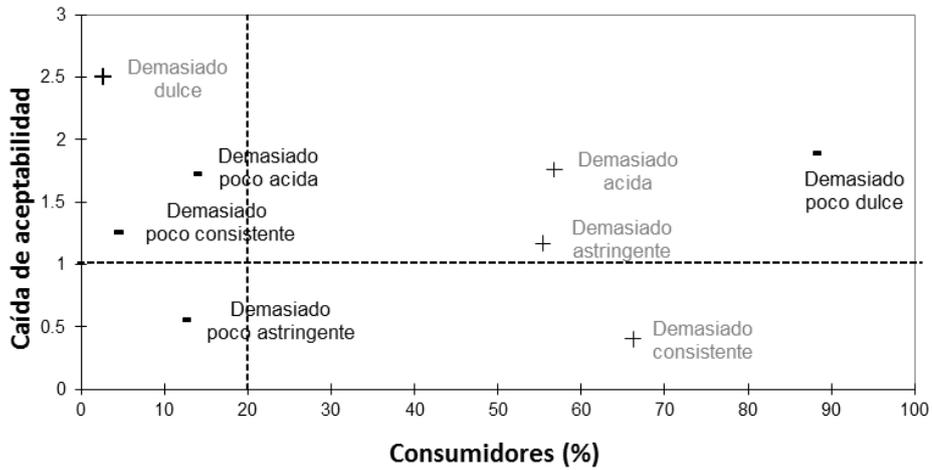


Figura IV.29 Análisis de penalización para el zumo rehidratado a partir de polvo liofilizado.

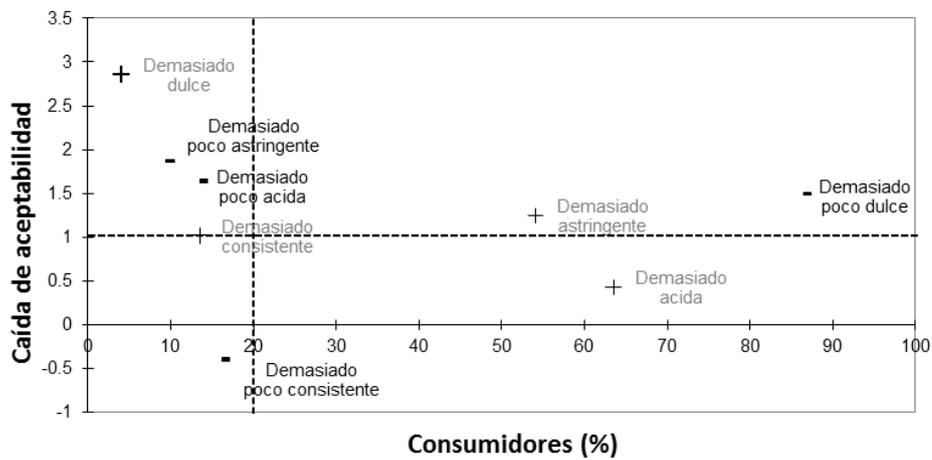


Figura IV.30 Análisis de penalización para el zumo rehidratado a partir de polvo atomizado.

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---

En cuanto al dulzor de esta muestra, el 86.5% de los consumidores consideraron que debería ser mucho más dulce y el 54% menos astringente. A diferencia de los demás zumos, la acidez no fue un parámetro penalizado. Es destacable la penalización del sabor dulce y ácido en el zumo comercial ya que es la única muestra que presentaba en su formulación azúcar. A pesar de ello, esto hace que su aceptabilidad caiga alrededor de 1.6 puntos en la escala. Por último, el zumo natural fue percibido por el 66.2% y el 56.71% de los consumidores como “poco dulce” y “demasiado ácido” disminuyendo el agrado general de la muestra en 2.36 y 2.56 puntos respectivamente. Además, el 35% de las personas que probaron la muestra la calificaron como “demasiado” astringente.

El pomelo es un cítrico que destaca por su acidez natural, por ello las muestras en estudio son percibidas como ácidas y poco dulces. Sin embargo, este problema se podría resolver realizando nuevas formulaciones de los productos, por ejemplo adicionando distintas concentraciones de azúcar a las muestras con el objetivo de obtener un producto más aceptado con independencia de la probabilidad de compra. Cabe destacar que el atributo “dulzor” ha sido penalizado en todas las muestras con una caída en la aceptabilidad de entre 1.5 y 2 puntos.



## ***V. CONCLUSIONES***

## **V. CONCLUSIONES**

---

1. As for freeze-drying (FD), a greater water content prior to the freezing of the samples leads to a more diluted system, which makes it easier for the water to crystallize and sublimate resulting in a product with a lower water content and a greater porosity. However, arabic gum (AG) plays a cryo-protective role leading to a smaller amount of ice being formed during the freezing step prior to FD that is compensated for by the steric role of the bamboo fiber (BF), which also contributes to the increase in the porosity of the powder. In this way, the powders with the lowest water content were obtained when the greatest amount of both solutes was added. However, the incorporation of the solutes affects the color and, in particular, the AG increases the hygroscopicity of the powder. In addition, a greater water content prior to the FD and intermediate levels of both solutes contribute to a better preservation of the total phenols, vitamin C, total carotenoids and antioxidant activity. Higher concentrations of AG favor the retention of vitamin C but not of total carotenoids. As a result of all the interactions, the optimized FD process in this study is the result of formulating the grapefruit pulp by adding 4.2 g of GA and 0.58 g of BF per 100 g of grapefruit pulp and bringing the sample to 90 g water / 100g feed mixture.

2. As for spray-drying (SD), the higher the inlet air temperature, the lower the water content of the obtained powders and the greater the product yield, but also the greater the degree of vitamin C degradation. BF also favors the product yield and contributes to the retention of vitamin C. Meanwhile, the higher the AG concentration, the greater the product yield, despite obtaining a powder with a less natural color, greater hygroscopicity and lower antioxidant capacity. The best combination for obtaining the best

## **V. CONCLUSIONES**

---

spray-dried powder is an air inlet temperature of 120 °C and the addition of 4g AG and 2g BF/100g liquidized grapefruit.

**3.** FD can be proposed as a better drying technology than SD as it provides a powdered grapefruit with a lower water content, less hygroscopicity and luminosity, a greater porosity, a higher content of phenols and carotenoids and more antioxidant activity. In addition, the powder yield of the FD is much higher compared to the SD and far fewer by-products are generated.

**4.** The results obtained from the encapsulation study do not allow for a precise conclusion of the role of the solutes in FD, although it can be seen how spray-drying benefits from the joint addition of AG and BF. In freeze-dried products, the protective role the solutes play against the degradation of the bioactive compounds can be counteracted by their barrier effect, also against the extraction of these compounds. It is against temperature that the protective role of solutes is most clearly observed.

**5.** As for antioxidant activity, phenolic compounds, specifically flavonoids, contribute significantly to the free radical scavenging activity and the inhibition of b-carotene bleaching. On the other hand, ascorbic acid and  $\alpha$ -tocopherol contribute to an increase in the reducing power. Therefore, of the methods used to measure the antioxidant capacity of grapefruit, DPPH, the inhibition of b-carotene bleaching and reducing power are the most readily recommended, with TBARS being the one that seems to be the least correlated with the bioactive compounds of this fruit. The formulations proposed with the joint addition of AG and BF are confirmed as being more suitable for the purposes of protecting the antioxidant capacity of the

## **V. CONCLUSIONES**

---

samples than using the solutes separately in the two drying processes studied.

6. The specific surface for the sorption of the water is of the same order in the powdered grapefruit, whether obtained by FD or SD, and decreases when the temperature increases in both cases. The amorphous matrix of the obtained products changes from a glassy to a liquid-like rubbery state when the glass transition temperature ( $T_g$ ) is reached; this is dependent on the water content of the samples and no differences can be observed regardless of the process by which the powder has been obtained. In any case, due to the low  $T_g$  values of grapefruit powder, keeping the product in a cool and very dry environment thereby ensuring the glassy state during storage is recommended.

7. The transition of the amorphous matrix of grapefruit powder from the glassy to the rubbery state is related to changes in the functional, nutritional and sensory properties of the product. The most critical aspect is the degradation of the bioactive compounds that starts when the glass transition begins. On the other hand, the caking of the free-flowing powders begins to be perceived when a certain quantity of the product is already in the rubbery state, while in order to appreciate changes in color, which seem to correspond to a non-enzymatic browning associated with the degradation of phenols and vitamin C, the whole product must already be in the rubbery state. In this sense, for the purposes of relating the loss in bioactive compounds, the change in the mechanical properties and the color change with the glass transition, it is recommended that the initial temperature, the

## **V. CONCLUSIONES**

midpoint or the temperature at the end point of the glass transition, respectively, are taken into consideration.

**8.** Of the studied bioactive compounds, carotenoids are the most sensitive to storage conditions. On the whole, FD powders enjoy a greater stability during storage, as smaller losses in phenols, carotenoids and antioxidant activity were observed. Nevertheless, in no case is it recommendable to store the powder, even under refrigeration and maintaining a surrounding relative humidity in the order of 10%, for over one month, in order to avoid major degradations of the bioactive compounds.

**9.** The smell and taste of grapefruit are not widely liked and, therefore, neither is the juice from this fruit, which is also found to be acidic. The juice obtained from the rehydration of the FD and SD grapefruit is also perceived to have an artificial flavor, besides being bitter and not too sweet. However, the consistency of the juice obtained from the FD powder was better evaluated. Rehydrating the powder to the level of the natural juice, instead of that of the crushed grapefruit, and the incorporation of sugar at this stage would probably improve the assessment.



# *REFERENCIAS*

## REFERENCIAS

---

- Abad-García. B., Garmón-Lobato. S., Berrueta. L. A., Gallo. B., Vicente. F. (2012a). On line characterization of 58 phenolic compounds in Citrus fruit juices from Spanish cultivars by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection coupled to electrospray ionization triple quadrupole mass spectrometry. *Talanta*, 99, 213-224.
- Abad-García. B., Berrueta. L. A., Garmón-Lobato. S., Urkaregi. A., Gallo. B., Vicente. F. (2012b). Chemometric characterization of Fruit juices from Spanish cultivars according to their phenolic compound contents: I. Citrus Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 3635-3644.
- Agudelo. C., Marchirant. E., Martínez-Lahuerta. J. J., Igual. M., Martínez-Navarrete. N. (2014). Optimization of grapefruit pulp formulation for freeze-drying. In: Ahrné L (Ed.) *Actas 28th EFFoST International Conference*. Uppsala, Sweden: Elsevier, p. 41.
- Agudelo. C., Igual. M., Camacho. M.M., Martínez-Navarrete. N. (2017a). Effect of process technology on the nutritional, functional, and physical quality of grapefruit powder. *Food Science and Technology International*, 23, 61-74.
- Agudelo. C., Barros. L., Santos-Buelga. C., Martínez-Navarrete. N., Ferreira. I.C.F.R. (2017b). Phytochemical content and antioxidant activity of grapefruit (*Star Ruby*): A comparison between fresh freeze-dried fruits and different powder formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 80, 106-112.
- Ahmed. J., Ramaswamy. H.S. (2006). Physico-chemical properties of commercial date pastes (*Phoenix dactylifera*). *Journal of Food Engineering*, 76, 348-352.
- Almeida. M. M. B., De Sousa. P. H. M., Arriaga. Â. M., Campos do Prado, G. M., Magalhães. C. E. C., Maia. G. A., De Lemos. T. L. G. (2011). Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International*, 7, 2155- 2159.
- Al-Muhtaseb. A. H., McMinn. W. A. M., Magee. T. R. A. (2002). Moisture Sorption Isotherm Characteristics of Food Products: A Review. *Food and Bioproducts Processing*, 80, 118–128.
- Amitava. D., Kimberly. K. (2014). Chapter 15 – Antioxidant vitamins and minerals. *Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements*, 277–294.
- Anagnostopoulou. M. A., Kefalas. P. (2012). Bioflavonoid profile of citrus juices from Greece. *Biomedical Chromatography*, 26, 1252- 1268.
- AOAC (2000). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, MD: AOC International.

- Ares. G., Barreiro. C., Deliza. R., Giménez. A., Gámbaro. A. (2010). Application of A Check-All-That-Apply question to the development of chocolate milk desserts. *Journal of Sensory Studies*, 25, 67-86.
- Aturki. Z., Braudi. V., Sinibaldi. M. (2004). Separation of flavanone-7- O-glycoside diastereomers and analysis in citrus juices by multidimensional liquid chromatography coupled with mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 5303–5308.
- Barbosa-Cánovas. G., Vega-Mercado. H. (1997). Dehydration of foods. Chapman Hall, New York, USA, p. 330.
- Barbosa-Cánovas. G., Ortega-Rivas. E., Juliano. P., Yan. H. (2005). Food powders: physical properties, processing and functionality. New York: Kluwer Academic/Plenum Publisher, p. 367.
- Barreca. D., Bisignano. C., Ginestra, G., Bisignano. G., Bellocco. E., Leuzzi. U., Gattuso. G. (2013). Polymethoxylated, C- and O-glycosyl flavonoids in tangelo (*Citrus reticulata* x *Citrus paradisi*) juice and their influence on antioxidant properties. *Food Chemistry*, 141, 1481-1488.
- Barros. L., Pereira. C., Ferreira. I. C. F. R. (2013). Optimized analysis of organic acids in edible mushrooms from Portugal by ultra-fast liquid chromatography and photodiode array detection. *Food Analytical Methods*, 6, 309- 316.
- Benlloch-Tinoco. M., Moraga. G., Camacho. M. M., Martínez-Navarrete. N. (2013). Combined drying technologies for high quality kiwifruit powder production. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 3544–3553.
- Boeing. J. S., Barizao. E. O., Silva. B. C. E., Montanher. P. F., De Cinque. Almeida. V., Visentainer. J. V. (2014). Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities from the berries: Application of principal component analysis. *Chemistry Central Journal*, 8, 1–9.
- 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.
- Cai. Y. Z.; Corke. H. (2000). Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. *Journal of Food Science*, 65, 1248-1252.
- Caparino. O. A., Tang. J., Nindo. C. I., Sablani. S. S., Powers. J. R., Fellman. J. K. (2012). Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (*Philippine 'Carabao' var.*) powder. *Journal of Food Engineering*, 111, 135-148.
- Cardoso. P. C., Tomazini. A. P. B., Stringheta. P. C., Ribeiro. S. M.R., Pinheiro-Sant'Ana. H. M. (2011). Vitamin C and carotenoids in organic and conventional fruits grown in Brazil. *Food chemistry*, 126, 411-416.

## REFERENCIAS

---

- Cassanova. M. A. (2016). Viabilidad económica de producción industrial de fruta en polvo en función del proceso. Tesina de Master. Master en Ingeniería Agronómica, Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Chong. Chien Hwa., Law. Chung Lim., Figiel. Adam., Wojdylo. Aneta., Oziembowski. Maciej. (2013). Colour, phenolic content and antioxidant capacity of some fruits dehydrated by a combination of different methods. *Food Chemistry*, 141, 3889-3896.
- Chun. J., Lee. J., Ye. L., Exler. J., Eitenmiller. R. R. (2006). Tocopherol and tocotrienol contents of raw and processed fruits and vegetables in the United States diet. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 196-204.
- Collares. F.P., Finzer. J. R. D., Kieckbusch. T. G. (2004). Glass transition control of the detachment of food pastes dried over glass plates. *Journal of Food Engineering*, 61, 262 – 267.
- Contreras-Calderón. J., Calderón-Jaimes. L., Guerra-Hernández. E., García-Villanova. B. (2011). Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Research International*, 44, 2047-2053.
- Daher. C F., Abou-Khalil. J., Baroody. G M. (2005). Effect of acute and chronic grapefruit, orange, and pineapple juice intake on blood lipid profile in normolipidemic rat. *Medical Science Monitor*, 11, 1-24.
- Dai. J., Mumper. R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15, 7313–7352.
- Damodaran. S., Parkin. K. L., Fennema. O. R. (2008). Fennema's Food Chemistry, 4<sup>th</sup> ed. CRC Press, Boca Ratón, FL, p. 1160.
- De Ancos. B., Cano, M. P., Hernández. A., Monreal. M. (1999). Effects of microwave heating on pigment composition and color of fruit purees. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 663–670.
- Delgado-Vargas. F., Jimenez. A. R., Pardes-Lopez. O. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins and betalainsecharacteristics, biosynthesis, processing and stability. Critical Reviews. *Food Science and Nutrition*, 40, 173-289.
- Deepa. N., Kaura. C., George. B., Singh. B., Kapoor. H. (2007). Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annuum L.*) genotypes during maturity. *LWT: Food Science and Technology*, 40, 121–129.
- Deyhim. F., Garcia. K., Gonzalez. J., Lopez. E., Ino. S., Garcia, M., Patil, B.S. (2006). Citrus juice modulates bone strength in male senescent rat model of osteoporosis. *Nutrition*, 22, 559–563.
- Díaz-Juárez. J. A., Tenorio-López. F. A., Zarco-Olvera. G., Del Valle-Mondragón. L., Torres-Narváez. J. C., Pastelín-Hernández. G. (2009).

- Effect of *Citrus paradisi* extract and juice on arterial pressure both in vitro and in vivo. *Phytoterapy Research*, 23, 948-954.
- Dickinson. E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17, 25–39.
- Djoukeng. J. D., Arbona. V., Argamasilla. R., Gomez-Cadenas. A. (2008). Flavonoid profiling in leaves of citrus genotypes under different environmental situations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 11087-11097.
- Dow. C. A., Going. S. B., Chow. H. H. S., Patil. B. S., Thomson. C. A. (2012). The effects of daily consumption of grapefruit on body weight, lipids, and blood pressure in healthy, overweight adults. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 61, 1026-1035.
- Duarte. J., Galisteo. M., Ocete. M. A., Perez-Vizcaino. F., Zarzuelo. A., Tamargo. J. (2001). Effects of chronic quercetin treatment on hepatic oxidative status of spontaneously hypertensive rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 221, 155-160.
- Dugo. P., Presti. M. L., Öhman. M., Fazio. A., Dugo. G., Mondello. L. (2005). Determination of flavonoids in citrus juices by micro-HPLC-ESI/MS. *Journal of Separation Science*, 28, 1149-1156.
- 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.
- Fang. Z., Bhandari. B. (2010). Encapsulation of polyphenols - A review. *Trends in Food Science and Technology*, 21, 510-523.
- FAO - Food and Agricultural Organization of the United Nations. (2012). Citrus Fruit. Fresh and processed. Annual statistics.
- Fazaeli. M., Emam-Djomeh. Z., Kalbasi. A. A., Omid. M. (2012). Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. *Food and bioproducts processing*, 90, 667-675.
- Fernandes, F. A. N., Rodrigues. S., Law. C. L., Mujumdar, A. S. (2011). Drying of exotic tropical fruits: A comprehensive review. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 163-185.
- Ferreres. F., Gil-Izquierdo. A., Andrade. P.B., Valentao. P., Tomás-Barberán, F.A. (2007). Characterization of C-glycosyl flavones O-glycosylated by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1161, 214–223
- Freudig. B., Hogekamp. S., Schubert. H. (1999). Dispersion of powders in liquids in a stirred vessel. *Chemical Engineering and Processing*, 38, 525–532.

## REFERENCIAS

---

- Gabas. A. L., Telis. V. R. N., Sobral. P. J. A., Telis-Romero. J. (2007). Effect of maltodextrin and arabic gum in water vapor sorption thermodynamic properties of vacuum dried pineapple pulp powder. *Journal of Food Engineering*, 82, 246–252.
- Gattuso. G., Barreca. D., Gargiulli. C., Leuzzi. U., Caristi. C. (2007). Flavonoid composition of citrus juices. *Molecules*, 12, 1641-1673.
- García-Castello. E. M., Rodríguez-López. A. D., Mayor. L., Ballesteros. R., Conidi. C., Cassano. A. (2015). Optimization of conventional and ultrasound assisted extraction of flavonoids from grapefruit (*Citrus paradisi* L.) solid wastes. *LWT - Food Science and Technology*, 64, 1114-1122.
- Ghasemzadeh. N. A., Ghasemzadeh. M. A. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 6697-6703.
- Gharsallaoui. A., Roudaut. G., Voilley. C. O., Saurel. R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40, 1107-1121.
- Glicksman. M. Gum arabic. In *Food Hydrocolloids* (1983); Glicksman, M., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, p. 7-30.
- Gordon. M., Taylor. J. S. (1952). Ideal copolymers and second-order of synthetics rubbers. I. Non-crystalline copolymers. *Journal of Applied Chemistry*, 2, 493–500.
- Gorinstein. S., Leontowicz. H., Leontowicz. M., Krzeminski. R., Gralak. M., Delgado-Licon. E., Martinez Ayala. A. L., Katrich. E., Trakhtenberg. S. (2005). Changes in plasma lipid and antioxidant activity in rats as a result of naringin and red grapefruit supplementation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 3223-3228.
- Goulas. V., Manganaris. G. A. (2012). Exploring the phytochemical content and the antioxidant potential of Citrus fruits grown in Cyprus. *Food Chemistry*, 131, 39-47
- Greenspan. L. (1977). Humidity fixed point of binary saturated aqueous solutions. *Journal of Research of the National Bureau of Standards*, 81, 89–96.
- Heleno. S. A., Barros. L., Sousa. M. J., Martins. A., Ferreira. I. C. F. R. (2010). Tocopherols composition of Portuguese wild mushrooms with antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 119, 1443-1450.
- 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.

## REFERENCIAS

---

- 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., Ramires. S., Mosquera. L. H., Martínez-Navarrete. N. (2014). Optimization of spray drying conditions for lulo (*Solanum quitoense* L.) pulp. *Powder Technology*, 256, 233–23.
- Infoagro. (2011). El cultivo del pomelo. <http://www.infoagro.com/citricos/pomelo.htm>. Acceso en abril 2016.
- ISO. 2007. General guidance for the design of test room. Standard No. 8589:2007. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- Jafari. S. M., Assadpoor, E., He. Y., Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Technology*, 26, 816-835.
- Jayaprakasha. G. K., Girenavar. B., Patil. B. S. (2008). Radical scavenging activities of Rio Red grapefruits and Sour orange fruit extracts in different in vitro model systems. *Bioresource Technology*, 99, 4484-4494.
- Karmas. R., Buera. M. P., Karel. M. (1992). Effect of glass transition on rates of nonenzymatic browning in food systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 873–879.
- Kelebek. H. (2010). Sugars, organic acids, phenolic compositions and antioxidant activity of Grapefruit (*Citrus paradisi*) cultivars grown in Turkey. *Industrial Crops and Products*, 32, 269-274.
- Kha. T. C., Nguyen. M. H., Roach. P. D. (2010). Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *Journal of Food Engineering*, 98, 385-392.
- Kha. T. C., Nguyen. M. H., Roach. P. D., Stathopoulos. C. E. (2014). Microencapsulation of Gac oil: Optimisation of spray drying conditions using response surface methodology. *Powder Technology*, 264, 298-309.
- Krokida. M. K., Maroulis. Z. B., Saravacos. G. D. (2001). The effect of the method of drying on the colour of dehydrated products. *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 53-59.
- Labuza. T. P., Baiser. W. M. (1992). The kinetics of nonenzymatic browning. In H. G. Schwartzberg & R. W. Hartel (Eds.), *Physical chemistry of foods* New York: Marcel Dekker, p. 595-649.
- Laine. P., Kylli. P., Heinonen. M., Jouppila. K. (2008). Storage stability of microencapsulated cloudberry (*Rubus chamaemorus*) phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 11251-11261.

## REFERENCIAS

---

- Langrish. T. A. G. (2009). Degradation of vitamin C in spray dryers and temperature and moisture content profiles in these driers. *Food and Bioprocess Technology*, 2, 400–408.
- Levine. H., Slade. L. (1986). A polymer physicochemical approach to the study of commercial starch hydrolysis products (SHPs). *Carbohydrate Polymers*, 6, 213-244
- Levine, H. Slade, L. (1988). *Cryoletters*, 9, 21 IDS: M1923
- Lievonen. S. M., Laaksonen. T. J., Roos. Y. H. (1998). Glass transition and reaction rates: Nonenzymatic browning in glassy and liquid systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2778–2784.
- Manzocco. L., Mastrocola. D., Nicoli. M. C., Marangoni. V. (2001). Review of non- enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends in Food Science Technology*, 11, 340-346.
- MARM-Ministerio de Medio ambiente y medio rural marino. (2010). Monográfico zumos y pomelo. [http://www.mapama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/Monogr%C3%A1fico del consumo de zumos y pomelo. OCDA. Octubre 2010 tcm7-132028.pdf](http://www.mapama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/Monogr%C3%A1fico_del_consumo_de_zumos_y_pomelo.OCDA._Octubre_2010_tcm7-132028.pdf). Acceso en mayo 2016.
- Martínez-Navarrete. N., Andrés. A., Chiralt. A., Fito. P. (1998). Termodinámica y cinética de sistemas alimento entorno. Editorial Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, p, 374.
- Mattietto. R., Lopes. A., Menezes. H. (2010). Caracterização física e físico-química dos frutos da cajazeira (*Spondias mombin* L.) e de suas polpas obtidas por dois tipos de extrator. *Brazilian Journal of Food Technology*, 13, 156-164.
- Mertens-Talcott. S U., Zadezensky. I., De Castro. W V., Derendorf. H., Butterweck. V. (2006). Grapefruit-drug interactions: can interactions with drugs be avoided?. *Journal of clinical pharmacology*, 46, 1390-1416.
- Miranda. M., Vega-Gálvez. A., López. J., Parada. G., Sanders. M., Aranda. M., Uribe. E., Di. K. (2010). Impact of air-drying temperature on nutritional properties, total phenolic content and antioxidant capacity of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa Willd.*). *Industrial Crops & Products*, 32, 258-263.
- Mirhosseini. H., Tan. C. P., Hamid. N., Yusof. S., Boo. H. C. (2009). Characterization of the influence of main emulsion components on the physicochemical properties of orange beverage emulsion using response surface methodology. *Food Hydrocolloids*, 23, 271–280.

## REFERENCIAS

---

- 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). Water sorption isotherms and phase transitions in Kiwifruit. *Journal of Food Engineering*, 72, 147-156.
- 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., Moraga. G., De Córdoba. P. F., Martínez-Navarrete. N. (2011). Water content-water activity-glass transition temperature relationships of spray-dried borajó 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.
- Mullen. W., Marks. S. C., Crozier. A. (2007). Evaluation of phenolic compounds in commercial fruit juices and fruit drinks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 3148-3157.
- Muzaffar. Khalid., Kumar. Pradyuman. (2016). Moisture sorption isotherms and storage study of spray dried tamarind pulp powder. *Powder Technology*, 291, 322-327.
- Oetjen. G. W., Haseley. P. (2004). *Freeze-Drying* 2nd ed., Wiley-VCH, Weinheim, p. 408.
- Okos. (1986). Physical and chemical properties of food. Michigan: American Society of Agricultural Engineers, p. 35–77.
- Olives Barba, A., Cámara Hurtado, M., Sanchez-Mata, M.C., Fernández-Ruiz. V., Lopez Saenz de Tejada M. (2006). Application of a UV-vis detection-HPLC method for a rapid determination of lycopene and  $\beta$ -carotene in vegetables. *Food Chemistry*, 95, 328–336.
- Osorio. O., Martínez-Navarrete. N., Moraga. G. Carbonell. J.V. (2008). Effect of thermal treatment on enzymatic activity and rheological and sensory properties of strawberry purees. *Food Science and Technology*, 14, 103-108.
- Oyelami. O.A., Agbakwuru. E. A., Adeyemi. L.A., Adedeji. G.B. (2005). The effectiveness of Grapefruit (*Citrus paradisi*) seeds in treating urinary tract Infections. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 11, 369-371.

## REFERENCIAS

---

- Park. H. J., Lee. Y., EunJ. B. (2016). Physicochemical characteristics of kimchi powder manufactured by hot air drying and freeze drying. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 5, 193-198.
- Peleg. H., Naim. M., Rouseff. R. L., Zehavi. U. (1991). Distribution of bound and free phenolic acid in oranges (*Citrus sinensis*) and grapefruits (*Citrus paradisi*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 57, 417–426.
- Peterson. J., Dwyer. J., Beecher. G., Bhagwat. S., Gebhardt. S., Haytowitz. D., Holden. J. (2006). Flavanones in oranges, tangerines (mandarins), tangors, and tangelos: a compilation and review of the data from the analytical literature. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 66-73.
- Pinela. J., Barros. L., Dueñas. M., Carvalho. A. M., Santos-Buelga. C., Ferreira. I. C. F. R. (2012). Antioxidant activity, ascorbic acid, phenolic compounds and sugars of wild and commercial *Tuberaria lignosa* samples: Effects of drying and oral preparation methods. *Food Chemistry*, 135, 1028-1035.
- Plaehn. D., Horne. J. (2008). A regression-based approach for testing significance of —just-about-right variable penalties. *Food Quality and Preference*, 19, 21-32.
- Popper. R. (2014). Use of Just-About-Right Scales in Consumer Research. In book *Novel Techniques in Sensory Characterization and Consumer Profiling*, p, 137-155.
- Pua. C. K., Hamid. N. S. A., Rusul. G., Rahman. R. A. (2007). Production of drum-dried jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) powder with different concentration of soy lecithin and gum Arabic. *Journal of Food Engineering*, 78, 630–636.
- Pulido. R., Hernandez-Garcia. M., Saura-Calixto. F. (2003). Contribution of beverages to the intake of lipophilic and hydrophilic antioxidants in the Spanish diet. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57, 1275–1282.
- Quek. S.Y., Chok. N. K., Swedlund. P. (2007). The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chemical Engineering and Processing*, 46, 386–392.
- Razo-Aguilera. G., Baez-Reyes. R., Álvarez-González. I., Paniagua-Pérez. R., Madrigal-Bujaidar. E. (2011). Inhibitory effect of grapefruit juice on the genotoxicity induced by hydrogen peroxide in human lymphocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 2947-2953.
- Rapisarda, P., Pannuzzo, P., Romano, G., Russo, G. (2003). Juice components of a new pigmented citrus hybrid *Citrus sinensis* (L.) Osbeck x *Citrus clementina* Hort. ex Tan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1611–1616.

- Ratti. C. (2001). Hot air freeze-drying of high-value foods: A review. *Journal of Food Engineering*, 49, 311-319.
- Robards. K., Prenzler. P. D., Tucker. G., Swatsitang. P., Glover. W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66,401, 436.
- Roos, Y. H. (1995a). Phase Transitions in Food. Academic Press, San Diego, CA, p. 73-107.
- Roos, Y.H. (1995b). Glass transition- related physical changes in food. *Food Technology*, 10, 97-102.
- Roos. J., Kasum. C.M. (2002). Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review of Nutrition*, 22,19–24.
- Rothman. L. (2007). The use of just-about-right (JAR) scales in food product development and reformulation. In H. Macfie (Ed.), *Consumer-led food product development*. Oxford: Woodhead Publishing, p. 407-433.
- Sablani. S. S., Shrestha. A. K., Bhandari. B. R. (2008). A new method of producing date powder granules: Physicochemical characteristics of powder. *Journal of Food Engineering*, 87, 416–421.
- Sagar. V. R., Suresh Kumar. P. (2010). Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 47, 15-26.
- Saifullah. M., Yusof. Y.A., Chin. N. L., Aziz. M. G., Mohammed. M. A. P., Aziz. N. A. (2014). Tableting and dissolution characteristics of mixed fruit powder. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 18-25.
- Selman. J.D. (1994). Vitamin retention during blanching of vegetables. *Food Chemistry*, 49, 137-147.
- Sharma. K., Ko. E. Y., Assefa. A. D., Ha. S., Nile. S. H., Lee. E. T., Park. S. W. (2015). Temperature-dependent studies on the total phenolics, flavonoids, antioxidant activities, and sugar content in six onion varieties. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23, 243–252.
- Shulman. M., Cohen. M., Soto-Gutierrez. A., Yagi. H., Wang. H., Goldwasser. J., et al. (2011) Enhancement of Naringenin Bioavailability by Complexation with Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin. *PLoS ONE* 6(4): e18033.
- Silva. M. A., Sobral. P. J. A., Kieckbusch. T.G. (2006). State diagrams of freeze-dried camucamu (*Myrciaria dubia* (HBK) Mc Vaugh) pulp with and without maltodextrin addition. *Journal of Food Engineering*, 77, 426 – 432.
- Silva. M. A., Agudelo. C.A., Camacho. M.M., Martínez-Navarrete. N. (2016). Etapa clave para ajustar la viscosidad de un zumo liofilizado. *Tecnifood*, 104, 86-88.

## REFERENCIAS

---

- Slavin. J. I., Lloyd. B. (2012). Health Benefits of Fruits and Vegetables. *Advances in Nutrition*, 3, 506-516.
- Solval. K.M., Sundararajan. S., Alfaro. L., Sathivel. S. (2012). Development of cantaloupe (Cucumis melo) juice powders using spray drying technology. *LWT- Food Science and Technology*, 46, 287–293.
- Spiess. W. E. L., Wolf. W. R. (1983). The results of the COST 90 Project on water activity. In R. Jowitt, F. Escher, B. Hallstrom, H. F. T. Meffert, W. E. L. Spiess, & G. Vos (Eds.), *Physical properties of foods* London/New York: Applied Science Publishers, p. 65-91
- Stahl. W., Sies. H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*, 24, 345-351.
- Staudte. H., Sigusch, B. W., Glockmann. E. (2005). Grapefruit consumption improves vitamin C status in periodontitis patients. *British Dental Journal*, 199, 213 – 217.
- Sun. Y., Qiao. L., Shen. Y., Jiang. P., Chen. J., Ye. X. (2013). Phytochemical profile and antioxidant activity of physiological drop of citrus fruits. *Journal of Food Science*, 78, 37.42.
- Syamaladevi. R. M., Sablani. S. S., Tang. J., Powers. J., Swanson. B. G. (2009) State diagram and water adsorption isotherm of raspberry (*Rubus idaeus*). *Journal of Food Engineering*, 91, 460-467.
- Tang. X. C., Pikal. M. J. (2004). Desing of Freeze-drying processes for pharmaceutical. Practical advice. *Pharmaceutical Research*, 21, 191- 200.
- Telis. V. R. N., Martínez-Navarrete. N. (2009). Collapse and color changes in grapefruit juice powder as affected by water activity, glass transition, and addition of carbohydrate polymers. *Food Biophysics*, 4, 83–93.
- Telis. V. R. N., Martínez-Navarrete. N. (2010). Application of compression test in analysis of mechanical and color changes in grapefruit juice powder as related to glass transition and water activity. *LWT- Food Science and Technology*, 43,744-751.
- Tsami. E., Krokida. M. K, Drouzas, A. E. (1998). Effect of drying method on the sorption characteristics of model fruit powders. *Journal of Food Engineering*, 38, 381-392.
- Tyagi. Y. K., Kumar. A., Raj. H. G., Vohra. P., Gupta. G., Kumari. R., Kumar. P., Gupta. R. K. (2005). Synthesis of novel amino and acetyl amino-4-methylcoumarins and evaluation of their antioxidant activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 40, 413–420.
- USDA - United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service. (2011). USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 28. Full Report (All Nutrients) 09112, Grapefruit, raw, pink and red, all areas.

## REFERENCIAS

- <http://www.ars.usda.gov/services/docs.htm?docid=8964>. Acceso en febrero 2016.
- Van den Berg. C., Bruin. S. (1981). Water activity and its estimation in food systems: theoretical aspects. In: Rockland, L.B., Stewart, G.T. (Eds.), *Water Activity: Influences on Food Quality*. Academic Press, London/New York, p. 1–43.
- Vanamala. J., Reddivari. L., Yoo. K. S., Pike. L. M., Patil, B.S. (2006). Variation in the content of bioactive flavonoids in different brands of orange and grapefruit juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 157-166.
- Vashisth. T., Singh. R. K, Pegg. R.B. (2011). Effects of drying on the phenolics content and antioxidant activity of muscadine pomace. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1649-1657.
- Vieira da Silva. B., Barreira. J.C.M., Oliveira. M. B. P. P. (2016). Natural phytochemicals and probiotics as bioactive ingredients for functional foods: Extraction, biochemistry and protected-delivery technologies. *Trends in Food Science and Technology*, 50, 144-158.
- Wang. Y., Chen. S., Yu. O. (2011). Metabolic engineering of flavonoids in plants and microorganisms. *Applied Microbiology Biotechnology*, 9, 949–56.
- Wang. L., Huo. X. (2016). Willingness-to-pay price premiums for certified fruits —A case of fresh apples in China. *Food Control*, 64, 240-246.
- Wang. S., Langrish. T. A. (2009). Review of process simulations and the use of additives in spray drying. *Food Research International*, 42, 13-25.
- 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.
- Yu. J., Wang. L., Walzem. R. L., Miller. E. G., Pike. L. M., Patil. B. S. (2005). Antioxidant activity of citrus limonoids, flavonoids, and coumarins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2009–2014.
- Zhou. Z. Q. (2012). *Citrus fruits nutrition*. Beijing, China: Science Press.
- Zhang. M., Duan. C., Zang. Y., Huang. Z., Liu. G. (2011). The flavonoid composition of flavedo and juice from the pummelo cultivar (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) and the grapefruit cultivar (*Citrus paradisi*) from China. *Food Chemistry*, 129, 1530-1536.
- Zou. Z., Xi. W., Hu. Y., Nie. C., Zhou. Z. (2015). Antioxidant activity of Citrus fruits, *Food Chemistry*, 196, 885-896.



*ANEXOS*

## ANEXO I. CUESTIONARIO PARA LA EVALUACIÓN SENSORIAL DEL ZUMO DE POMELO

- En esta cata, evaluará **5 muestras de zumo de pomelo**. Pruebe cada muestra y evalúela en función de su grado de aceptación.

Por favor, indique

- Hombre
- Mujer

Indique el grupo de edad al que pertenece

- Entre 18-30 años
- Entre 31-45 años
- Entre 46-60 años
- Mayor de 60 años

Indique la frecuencia de consumo de zumo de pomelo

- Diariamente
- Varias veces a la semana
- Pocas veces al mes
- Sólo en ocasiones

MUESTRA: **-214-**

OBSERVA Y PRUEBA LA MUESTRA Y DINOS:

(1) ¿Cuánto te agrada en general este producto?

Me disgusta mucho

Indiferente

Me gusta mucho

(2) ¿Cuánto te agrada la apariciencia de este producto?

Me disgusta mucho

Indiferente

Me gusta mucho

(3) ¿Cuánto te agrada el color de este producto?

Me disgusta mucho

Indiferente

Me gusta mucho

(4) ¿Cuánto te agrada el olor de este producto?

Me disgusta mucho

Indiferente

Me gusta mucho

(5) ¿Cuánto te agrada el sabor de este producto?

Me disgusta mucho

Indiferente

Me gusta mucho

(6) ¿Cuánto te agrada el **sabor amargo** de este producto?

Me disgusta mucho      Indiferente      Me gusta mucho

(7) ¿Cuánto te agrada el **dulzor** de este producto?

Me disgusta mucho      Indiferente      Me gusta mucho

(8) En cuanto al **dulzor**, en tu opinión, el producto **debería ser**:

Mucho menos dulce	
Algo menos dulce	
Está bien así	
Algo más dulce	
Mucho más dulce	

(9) ¿Cuánto te agrada la **acidez** de este producto?

Me disgusta mucho      Indiferente      Me gusta mucho

(10) En cuanto a la **acidez**, en tu opinión, el producto **debería ser**:

Mucho menos acido	
Algo menos acido	
Está bien así	
Algo más acido	
Mucho más acido	

(11) ¿Cuánto te agrada la **astringencia** de este producto?

Me disgusta mucho

Indiferente

Me gusta mucho

(12) En cuanto a la **astringencia** en tu opinión, el producto **debería ser:**

Mucho menos astringente	
Algo menos astringente	
Está bien así	
Algo más astringente	
Mucho más astringente	

(13) ¿Cuánto te agrada la **consistencia** de este producto?

Me disgusta mucho

Indiferente

Me gusta mucho

(14) En cuanto a la **consistencia**, en tu opinión, el producto **debería ser:**

Mucho menos consistente	
Algo menos consistente	
Está bien así	
Algo más consistente	
Mucho más consistente	

(15) Marque las características que considere que representan a este zumo

- Olor a pomelo
- Sabor a pomelo
- Sabor agradable
- Sabor artificial
- Poco sabor a pomelo
- Turbio
- Líquido
- Viscoso
- Con pulpa
- Amargo
- Ácido
- No demasiado dulce

(16) ¿Cuál de las siguientes afirmaciones describe mejor la **probabilidad de que compres** este producto si el precio fuera adecuado?

Definitivamente lo compraría	
Probablemente lo compraría	
Tal vez si, tal vez no lo compraría	
Probablemente no lo compraría	
Definitivamente no lo compraría	

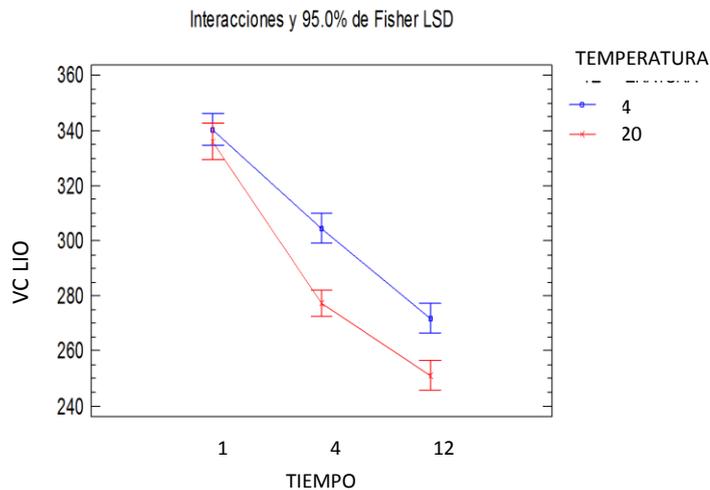
**MUCHAS GRACIAS POR TU COLABORACIÓN**

ANEXO II. ANOVA MULTIFACTORIAL DE LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS Y LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN RELACIÓN CON EL TIEMPO, LA TEMPERATURA Y LA HUMEDAD RELATIVA DE ALMACENAMIENTO

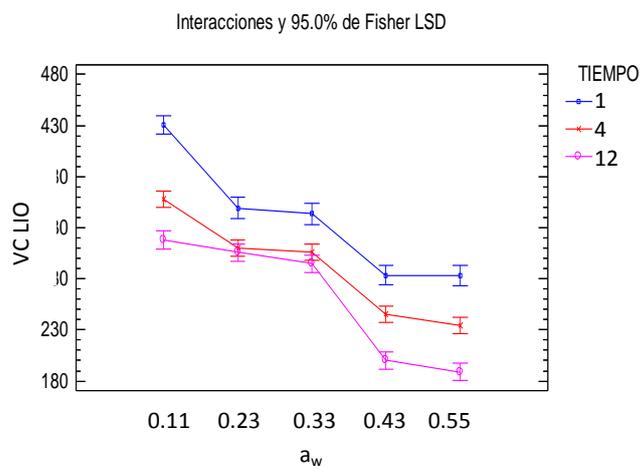
**Tabla A1.** Prueba de múltiples rangos para la VC del polvo liofilizado (OL) y atomizado (OA) en función de la temperatura (T: °C), el tiempo (t: meses) y la actividad del agua ( $a_w$ ) de almacenamiento.

T		t			$a_w$				
4	20	1	4	12	0.11	0.23	0.33	0.43	0.55
X		X			X				
	X		X			X	X <sup>OL</sup>		
				X			X <sup>OA</sup>	X	
									X

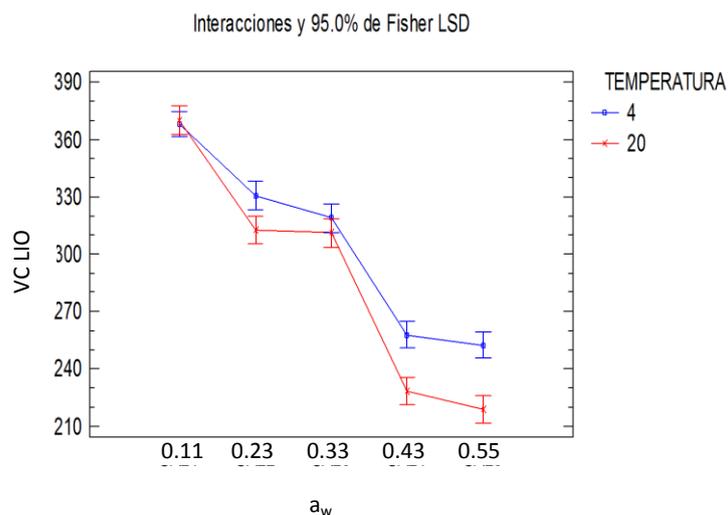
Las cruces (x) indican los grupos homogéneos dentro de cada variable



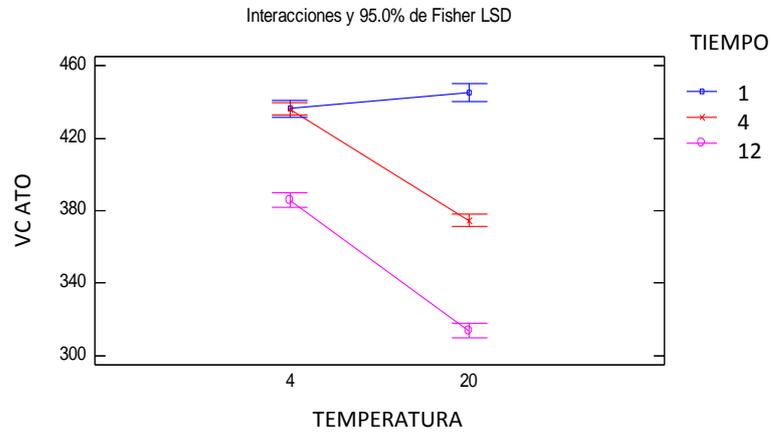
**Figura L1VC.** Gráfico de interacción de la temperatura (°C) y el tiempo de almacenamiento (meses) para la VC de los polvos liofilizados.



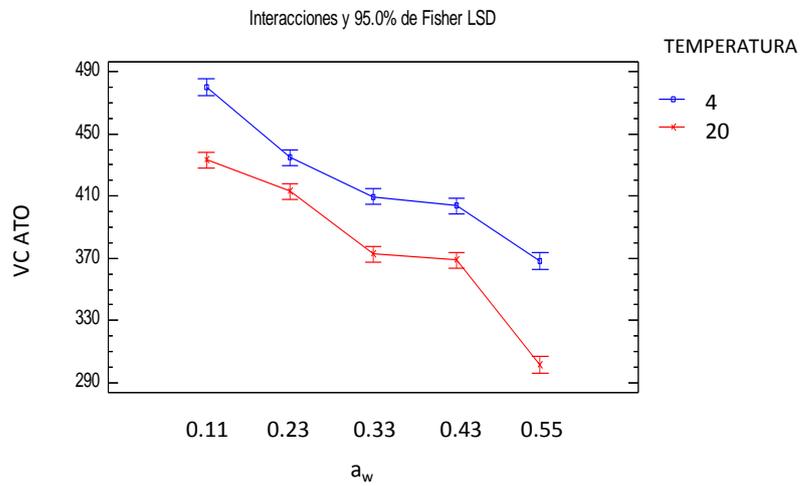
**Figura L2VC.** Gráfico de interacción del tiempo (meses) y la actividad del agua ( $a_w$ ) de almacenamiento para la VC del polvo liofilizado.



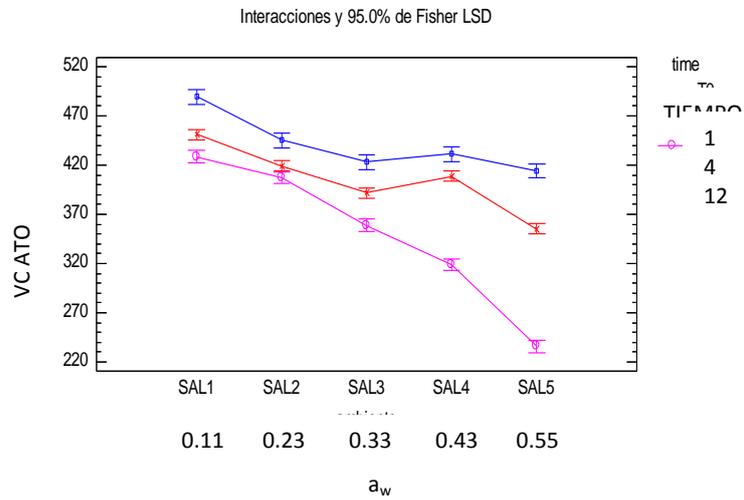
**Figura L3VC.** Gráfico de interacción de la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) y la actividad del agua ( $a_w$ ) de almacenamiento para la VC del polvo liofilizado.



**Figura A1VC.** Gráfico de interacción del tiempo (meses) y la temperatura (°C) de almacenamiento para la vitamina C (VC) del polvo atomizado.



**Figura A2VC.** Gráfico de interacción de la temperatura (°C) y la actividad del agua (a<sub>w</sub>) de almacenamiento para la vitamina C (VC) del polvo atomizado.

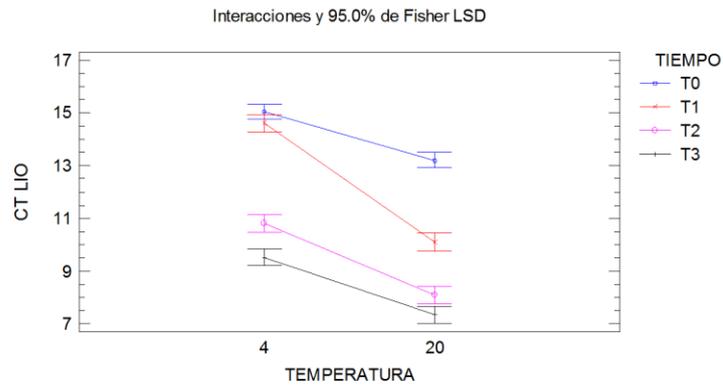


**Figura A3VC.** Gráfico de interacción del tiempo (meses) y la actividad del agua ( $a_w$ ) de almacenamiento para la vitamina C (VC) del polvo atomizado.

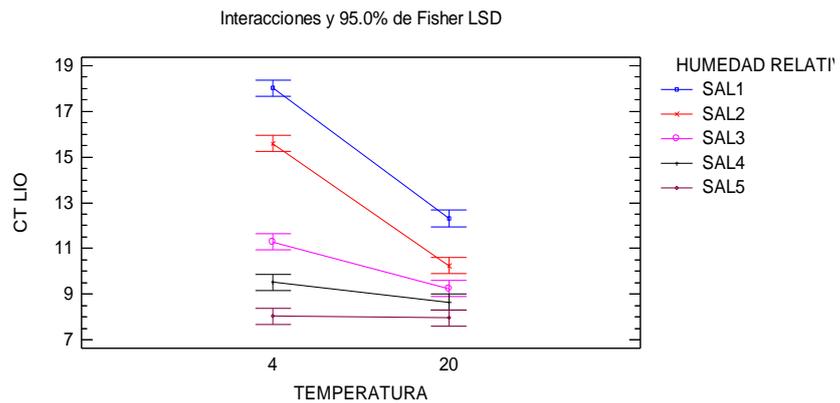
**Tabla A2.** Prueba de múltiples rangos para los CT del polvo liofilizado (OL) y atomizado (OA) en función de la temperatura (T: °C), el tiempo (t: meses) y la actividad del agua ( $a_w$ ) de almacenamiento.

T		t				$a_w$				
4	20	1	4	8	12	0.11	0.23	0.33	0.43	0.55
X		X	X <sup>OA</sup>			X				
	X		X <sup>OL</sup>				X			
				X	X <sup>OA</sup>			X		
					X <sup>OL</sup>				X	X <sup>OA</sup>
										X <sup>OL</sup>

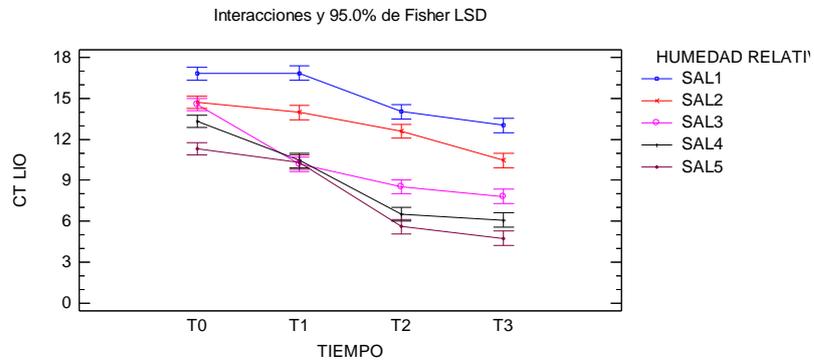
Las cruces (x) indican los grupos homogéneos dentro de cada variable



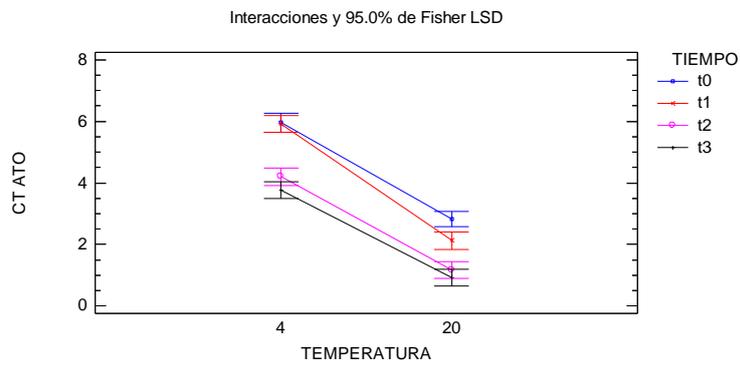
**Figura L1CT.** Gráfico de interacción del tiempo (meses) y la temperatura (°C) de almacenamiento para los carotenoides totales (CT) del polvo liofilizado.



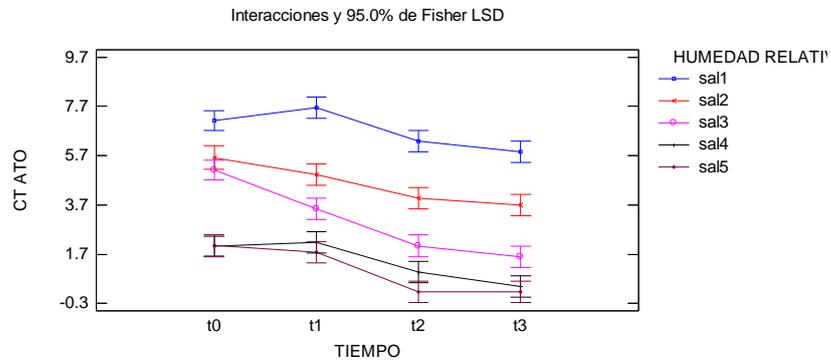
**FIGURA L2CT.** Gráfico de interacción de la temperatura y la humedad relativa de almacenamiento para los carotenoides totales de los polvos liofilizados liofilizados



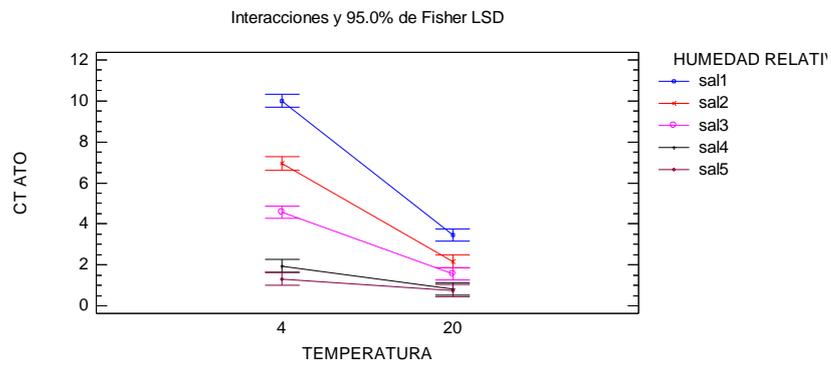
**FIGURA L3CT.** Gráfico de interacción del tiempo y la humedad de almacenamiento para los carotenoides totales de los polvos liofilizados



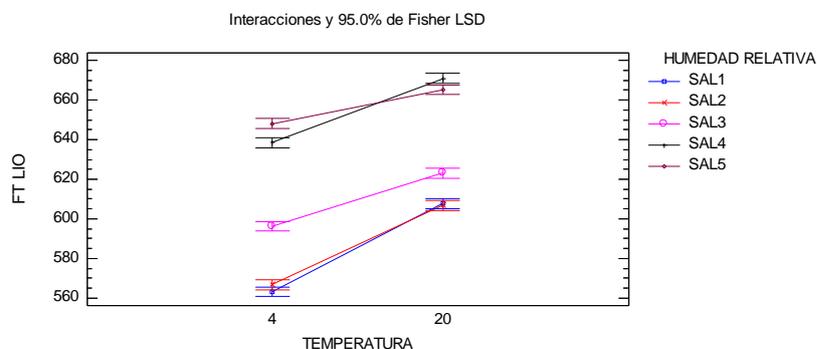
**FIGURA A1CT.** Gráfico de interacción del tiempo y la temperatura de almacenamiento para los carotenoides totales de los polvos atomizados



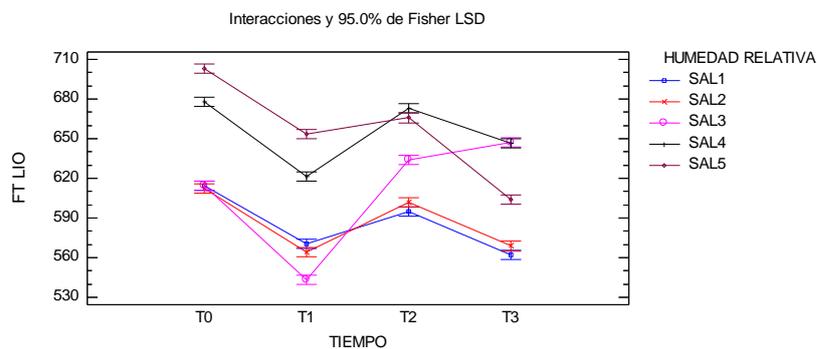
**Figura A2CT.** Gráfico de interacción del tiempo y la humedad relativa de almacenamiento para los carotenoides totales de los polvos atomizados



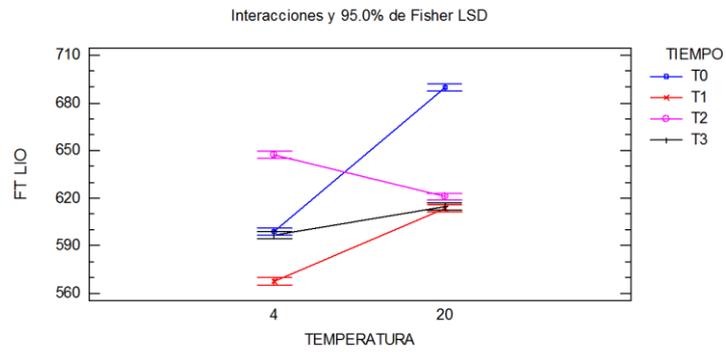
**Figura A3CT.** Gráfico de interacción de la temperatura y la humedad relativa de almacenamiento para los carotenoides totales de los polvos atomizados



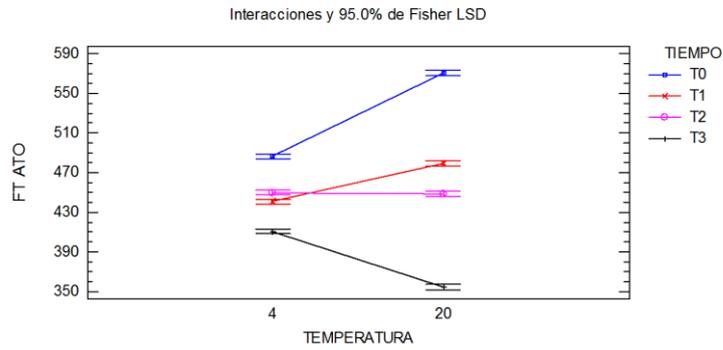
**Figura L1FT.** Gráfico de interacción de la temperatura y la humedad relativa de almacenamiento para los fenoles totales de los polvos liofilizados



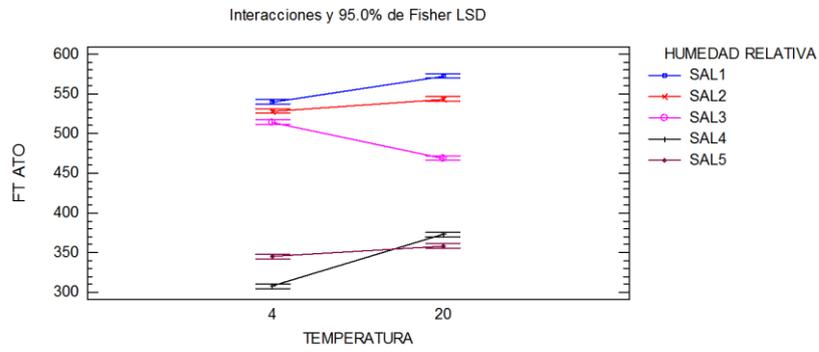
**Figura L2FT.** Gráfico de interacción del tiempo y la humedad relativa de almacenamiento para los fenoles totales de los polvos liofilizados



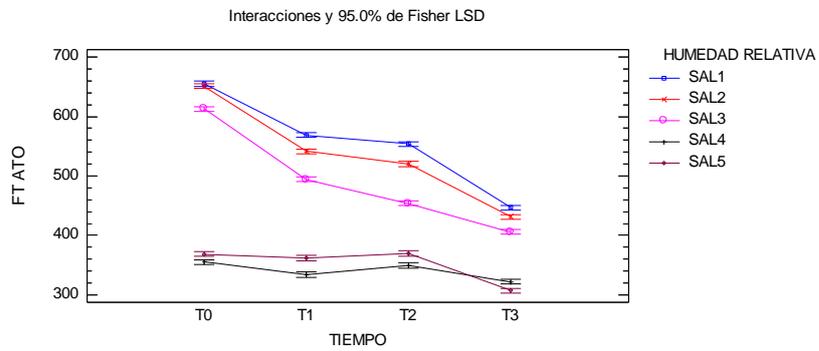
**Figura L3FT.** Gráfico de interacción del tiempo y la temperatura de almacenamiento para los fenoles totales de los polvos liofilizados



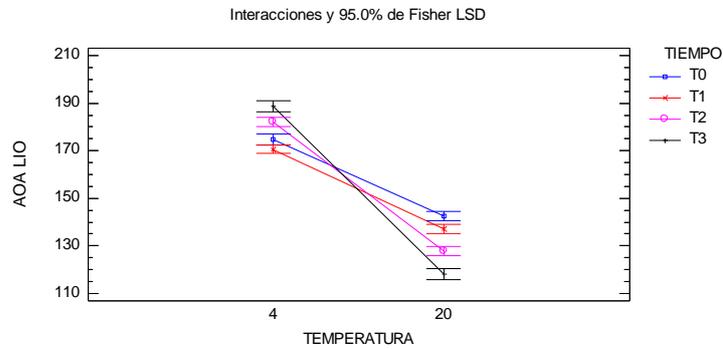
**Figura A1FT.** Gráfico de interacción del tiempo y la temperatura de almacenamiento para los fenoles totales de los polvos atomizados



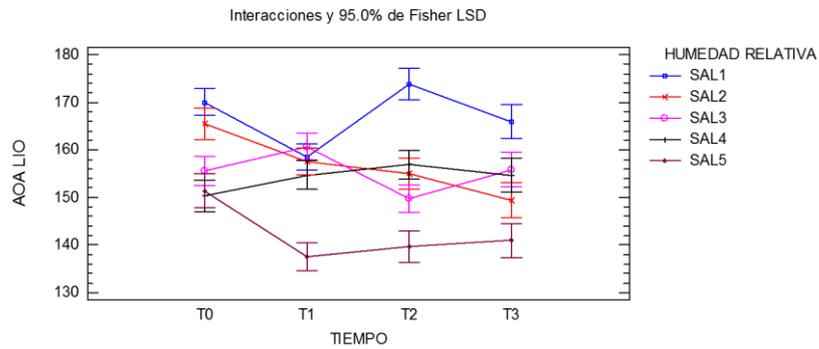
**Figura A2FT.** Gráfico de interacción de la temperatura y la humedad relativa de almacenamiento para los fenoles totales de los polvos atomizados



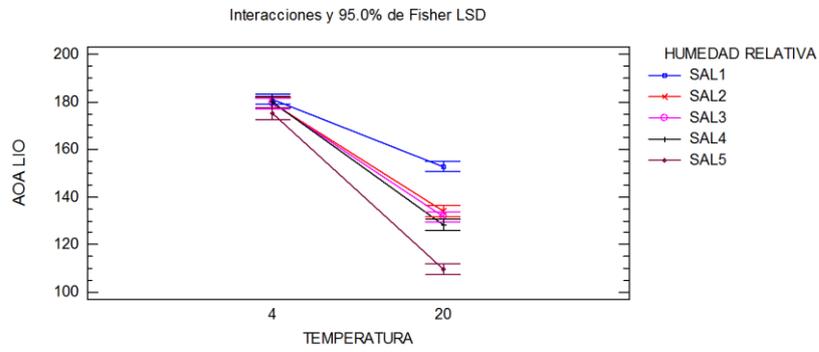
**Figura A3FT.** Gráfico de interacción del tiempo y la humedad relativa de almacenamiento para los fenoles totales de los polvos atomizados



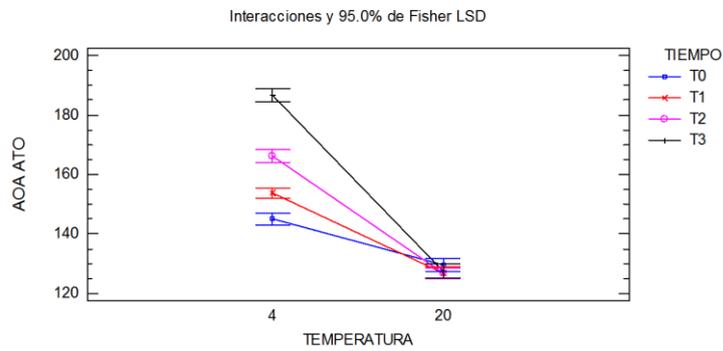
**Figura L1AOA.** Gráfico de interacción del tiempo y la temperatura de almacenamiento para la actividad antioxidante de los polvos liofilizados



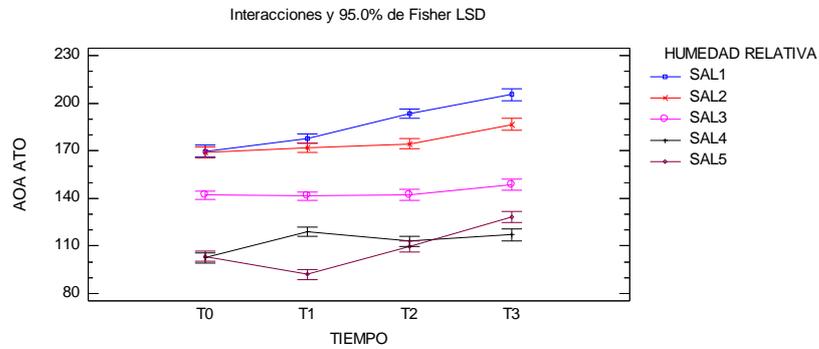
**Figura L2AOA.** Gráfico de interacción del tiempo y la humedad relativa de almacenamiento para la actividad antioxidante de los polvos liofilizados liofilizados



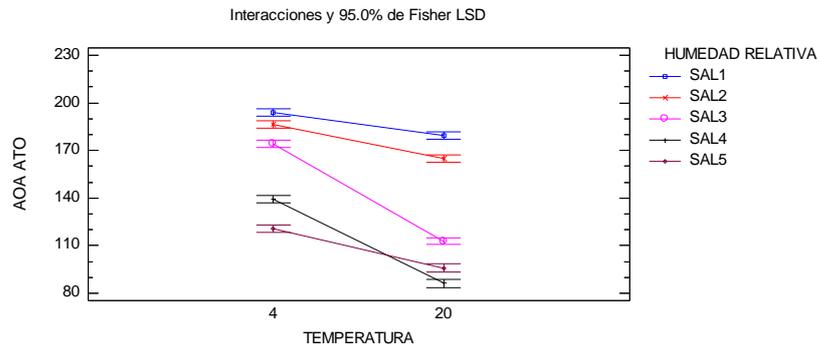
**Figura L3AOA.** Gráfico de interacción de la temperatura y la humedad relativa de almacenamiento para la actividad antioxidante de los polvos liofilizados



**Figura A1AOA.** Gráfico de interacción del tiempo y la temperatura de almacenamiento para la actividad antioxidante de los polvos atomizados



**Figura A2AOA.** Gráfico de interacción del tiempo y la humedad relativa de almacenamiento para la actividad antioxidante de los polvos atomizados



**Figura A3AOA.** Gráfico de interacción de la temperatura y la humedad relativa de almacenamiento para la actividad antioxidante de los polvos atomizados