



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

INFLUENCIA DE LA APLICACIÓN DE ULTRASONIDOS DE POTENCIA EN LA CINÉTICA DE CONGELACIÓN Y LA CALIDAD DE MANZANA GRANNY SMITH

TRABAJO FIN DE MÁSTER UNIVERSITARIO EN GESTIÓN DE
LA SEGURIDAD Y CALIDAD ALIMENTARIA

ALUMNO: Sergio Jiménez Requena

DIRECTOR: Juan Andrés Cárcel Carrión

Curso Académico: 2018-2019

VALENCIA, 28 de enero de 2019

INFLUENCIA DE LA APLICACIÓN DE ULTRASONIDOS DE POTENCIA EN LA CINÉTICA DE CONGELACIÓN Y LA CALIDAD DE MANZANA GRANNY SMITH

Jiménez-Requena, S., Cárcel, J. A

RESUMEN.

La congelación es una tecnología ampliamente aplicada a diferentes tipos de alimentos como método de conservación eficiente. Sin embargo, puede generar efectos perjudiciales en las matrices alimentarias, principalmente debido a la formación de cristales de hielo que dañan las paredes celulares. Esto podría facilitar la liberación del contenido intracelular durante el proceso de descongelación afectando negativamente a la calidad. Por lo tanto, resulta imprescindible el desarrollo de nuevas técnicas capaces de minimizar estos problemas. En este sentido, la aplicación de ultrasonidos de potencia durante la congelación en medio líquido se ha utilizado para controlar el proceso de nucleación y el tamaño de los cristales de hielo generados. Sin embargo, esta técnica no se ha aplicado en procesos de congelación en aire. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue la determinación de la influencia de la aplicación de ultrasonidos en la cinética de congelación en aire de manzana y en la calidad de la misma. Para ello, se realizaron distintas experiencias de congelación: congelación rápida en abatidor y congelación lenta con aplicación de ultrasonidos a diferentes potencias (0, 50, 100, 120 y 150 W). Se determinaron las cinéticas de congelación y el contenido en compuestos fenólicos totales, capacidad antioxidante total, capacidad de retención de agua y textura de las muestras frescas y congeladas. La aplicación de ultrasonidos en congelación lenta resultó especialmente interesante a potencias bajas (mejor contenido de polifenoles, capacidad antioxidante y capacidad de retención de agua).

PALABRAS CLAVE: Velocidad de congelación, nucleación, efecto esponja, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, capacidad de retención de agua, textura.

RESUM.

La congelació és una tecnologia àmpliament aplicada a diferents tipus d'aliments com a mètode de conservació eficient. No obstant això, pot generar efectes perjudicials en les matrius alimentàries, principalment a causa de la formació de vidres de gel que danyen les parets cel·lulars. Açò podria facilitar l'alliberament del contingut intracel·lular durant el procés de descongelació afectant negativament la qualitat. Per tant, resulta imprescindible el desenvolupament de noves tècniques capaces de minimitzar estos problemes. En este sentit, l'aplicació d'ultrasons de potència durant la

congelació al mig líquid s'ha utilitzat per a controlar el procés de nucleació i la grandària dels vidres de gel generats. No obstant això, esta tècnica no s'ha aplicat en congelació en aire. Per això, l'objectiu del present treball va ser la determinació de la influència de l'aplicació d'ultrasons en la cinètica de congelació en aire de poma i en la qualitat de la mateixa. Per a això, es van realitzar distintes experiències de congelació: congelació ràpida en abatidor i congelació lenta amb aplicació d'ultrasons a diferents potències (0, 50, 100, 120 i 150 W). Es van determinar les cinètiques de congelació i el contingut en compostos fenòlics totals, capacitat antioxidant total, capacitat de retenció d'aigua i textura de les mostres fresques i congelades. L'aplicació d'ultrasons en congelació lenta va resultar especialment interessant a potències baixes (millor contingut de compostos fenòlics, capacitat antioxidant i capacitat de retenció d'aigua).

PARAULES CLAU: Velocitat de congelació, nucleació, efecte esponja, compostos fenòlics, capacitat antioxidant, capacitat de retenció d'aigua, textura.

ABSTRACT.

Freezing is a technology widely applied to different types of food as an efficient method of conservation. However, it can generate undesirable effects in food matrices, mainly due to the formation of ice crystals that damage the cell walls. This could facilitate the release of intracellular content during the thawing process, negatively affecting quality. Therefore, the development of new techniques able to minimize these problems is essential. In this sense, the application of power ultrasound during freezing in liquid medium has been used to control the nucleation process and the size of the ice crystals generated. However, this technique has not been applied in freezing in air. Therefore, the objective of this work was to determine the influence of the application of ultrasound on the kinetics of freezing on apple in air and its quality. To do this, different freezing experiences were carried out: fast freezing, in blast freezer and slow freezing with the application of ultrasound at different powers (0, 50, 100, 120 and 150 W). Freezing kinetics and content of total phenolic compounds, antioxidant capacity, water retention capacity and texture of fresh and frozen samples were determined. The application of ultrasound in slow freezing was especially interesting at low ultrasonic power (better total phenolic content, antioxidant capacity and water retention capacity).

KEYWORDS: Freezing rate, nucleation, sponge effect, phenolic compounds, antioxidant capacity, water retention capacity, texture.

1. INTRODUCCIÓN.

1.1 Manzana como producto de interés.

La manzana es una fruta, perteneciente a la familia de las rosaceae, de consumo muy extendido a nivel global. La FAO estima que, actualmente, la producción mundial se encuentra alrededor de 85 millones de toneladas. Ésta ha ido al alza en los últimos años. Por países, China es el mayor productor y produce más manzanas (44.5 millones de toneladas) que el resto del mundo (USDA, 2018). La producción en Europa y Estados Unidos supone, respectivamente, un 16% y 6% de la producción mundial. En cuanto a los mercados, las zonas que más consumen son: Europa (31%), Medio Oriente (21%), Asia (17%), América Latina (11%) y China (7%).

Respecto a su composición nutricional, cabe destacar que el componente mayoritario es el agua con un 85%. En contraposición, presenta un contenido en grasa y colesterol prácticamente nulo. La mayor parte de sus azúcares derivan de la fructosa y en menor medida, glucosa y sacarosa. Es una fruta muy rica en fibra insoluble, principalmente en la piel, que estimula la actividad intestinal. Por otra parte, también es muy rica en pectina, es decir, fibra soluble, que el intestino no es capaz de absorber y que tiene la capacidad de retener agua. Solo una quinta parte de la pectina de la manzana se encuentra en la piel de la fruta, el resto en la pulpa.

Dentro de la dieta occidental, la manzana constituye una fuente importante de polifenoles (Boyer y Liu, 2004). Entre los diferentes tipos que se pueden encontrar en su composición, destacan los flavonoides, los flavonoles, las catequinas y procianidinas. La característica principal de estos compuestos químicos es su capacidad de reducción y prevención de la oxidación, evitando de esta forma, el daño a tejidos y células por los radicales libres del cuerpo (van der Sluis et al., 2004). De hecho, su actividad antioxidante se encuentra entre las más altas dentro de las frutas y verduras comúnmente consumidas. Por otro lado, la quercetina, compuesto más abundante dentro de los flavonoles, presenta capacidad anticancerígena. Además, todos estos polifenoles son importantes debido a su contribución a la calidad sensorial, tanto de las manzanas frescas como de las que son procesadas. Dentro de la gran cantidad de variedades de manzanas comerciales existentes, la variedad Granny Smith es una de las más populares. Fue introducida en Europa antes de 1868 y se cree que descende de manzanas salvajes francesas cultivadas en Australia (Warrington, 1994). Su piel es de un color verde brillante. Algunas piezas pueden desarrollar un tono rosado; sin embargo, esta característica se considera indeseable entre los productores. Su carne varía de color blanco a blanco verdoso, y son generalmente jugosas, crujientes y agrias. Debido a su baja concentración de compuestos volátiles aromáticos, esta variedad de manzanas presenta un sabor ácido. Tienen un bajo potencial de pardeamiento, baja producción de etileno y buena capacidad para el almacenamiento, aunque es susceptible al desarrollo de escaldaduras superficiales. Además, es una de las variedades con mayor contenido en polifenoles (Rodríguez et al., 2014).

1.2 Congelación de frutas.

La congelación ha sido utilizada a lo largo de la historia como un método eficaz de preservación de alimentos. Así, los alimentos son sometidos a bajas temperaturas (-10 °C o inferiores) cuando se desea preservar su calidad, obtener una estructura y consistencia especial (por ejemplo helado y yogurt congelado) o para llevar a cabo determinados procesos (Lund, 2000). Las bajas temperaturas favorecen una reducción significativa de la velocidad de crecimiento de los microorganismos y, a su vez, del deterioro de los productos congelados por la actividad de dichos microorganismos. También presenta la ventaja de la reducción de la actividad enzimática y de las reacciones oxidativas.

La formación de cristales de hielo a partir del agua del producto limita la actividad de la misma y las reacciones deteriorativas (Singh y Heldman, 2001). Sin embargo, esta formación de cristales de hielo también puede generar efectos no deseados como la ruptura de paredes celulares, con la consiguiente salida de componentes intracelulares (enzimas, ribosomas, etc.) o efectos estructurales. En este sentido, la velocidad y el tiempo de congelación son factores importantes que determinan la calidad final del producto. Para algunos productos, la congelación rápida es requerida para asegurar la formación de cristales pequeños, minimizando así, daños en la estructura del producto. Es por ello que resulta necesario el estudio y el desarrollo de nuevos procesos de congelación para la obtención de productos de mayor calidad a un menor coste de producción.

1.3 Ultrasonidos. Generalidades.

Los ultrasonidos son oscilaciones mecánicas en el tiempo que tienen lugar en el seno del material por el que se propagan (Cárcel, 2003) con una frecuencia superior al límite de audición humano (20 kHz). Se pueden clasificar en dos grupos, según sus aplicaciones industriales, dependiendo de su frecuencia y su intensidad (McClements, 1997), ultrasonidos de señal (o ultrasonidos de baja intensidad) y ultrasonidos de potencia (o ultrasonidos de alta intensidad).

Los ultrasonidos de potencia se aplican con intensidades superiores a 1W/cm² y frecuencias en el rango de 20-100 kHz. Su aplicación industrial se basa en introducir suficiente energía para producir cambios en los procesos o en los productos. Así, se utilizan para intensificar procesos como la emulsificación, la extracción de compuestos de interés tanto en condiciones convencionales como en condiciones supercríticas (Cárcel et al., 2012), el secado por convección a bajas y altas temperaturas, la inactivación de microorganismos y enzimas, o el desespumado (Cárcel et al., 2014). En su aplicación, actúan diferentes mecanismos como la cavitación, en medio líquido, y el efecto esponja, en medios sólidos. El primero consiste en el crecimiento y colapso de burbujas que generan importantes esfuerzos cortantes. En cuanto al segundo, las expansiones y contracciones rápidas y sucesivas de las ondas acústicas generan un importante estrés mecánico que

puede producir la formación de microcanales, favoreciendo la transferencia de materia (Cárcel et al., 2012).

1.4 Congelación asistida mediante ultrasonidos.

Los ultrasonidos de potencia han demostrado ser útiles en el control de procesos de cristalización, principalmente en la formación y el crecimiento de los cristales (Cheng et al., 2015). En este sentido, los procesos de congelación tienen una especial relevancia por la formación de cristales de hielo. Por ello, los ultrasonidos de potencia han generado un interés considerable para su aplicación en esta área por ser una técnica químicamente no invasiva, que opera sin contacto directo y que no presenta dificultades legislativas (Delgado et al., 2009). Varios estudios han indicado el potencial de los ultrasonidos para acelerar la tasa de congelación y mejorar la calidad de alimentos congelados como las patatas (Li y Sun, 2002), manzanas (Delgado et al., 2009) y setas (Islam et al., 2014).

El efecto más importante de la aplicación de ultrasonidos durante la congelación de alimentos se debe al fenómeno de cavitación acústica. La generación de multitud de microburbujas de cavitación multiplica la presencia de puntos de nucleación para la formación de cristales de hielo que permiten una congelación más rápida, con un descongelado más corto y un menor daño al producto (Zhang et al., 2018). Además, se mejora la transferencia de calor y masa por acción de la agitación violenta producida (Zheng y Sun, 2006), lo que podría generar un enfriamiento más rápido y uniforme de los productos.

Sin embargo, todos los estudios de aplicación de ultrasonidos en procesos de congelación se han realizado en sistemas de congelación por inmersión en soluciones a muy baja temperatura. Es decir, la aplicación de ultrasonidos se realiza en medio líquido. No se han encontrado aplicaciones de ultrasonidos para procesos de congelación con aire, siendo este método uno de los principales para congelar productos alimentarios.

1.5 Objetivos.

El objetivo general del presente trabajo fue determinar la influencia de la aplicación de ultrasonidos en la cinética de congelación con aire de manzana y en la calidad de esta. Para alcanzar este objetivo general se plantearon los siguientes objetivos particulares:

- Determinar la cinética de congelación de manzana, sin y con aplicación de ultrasonidos.
- Cuantificar la influencia del tipo de congelación sobre la velocidad de congelación a partir de parámetros objetivos.
- Evaluar la influencia de la potencia ultrasónica aplicada en la cinética de congelación
- Determinar la influencia del tipo de congelación sobre la calidad de la manzana.

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

2.1 Preparación de la muestra.

Para la consecución de los objetivos planteados se plantearon una serie de experiencias de congelación. Todas ellas se realizaron con manzanas de la variedad Granny Smith adquiridas en un mercado local en Valencia (España). Con ayuda de una mandolina en V y cuchillos afilados, se obtuvieron muestras de geometría cúbica de 2 x 2 x 2 cm de la pulpa de la manzana (**FIGURA 1.**). Nada más obtener dichas muestras se procedió a realizar los ensayos de congelación.

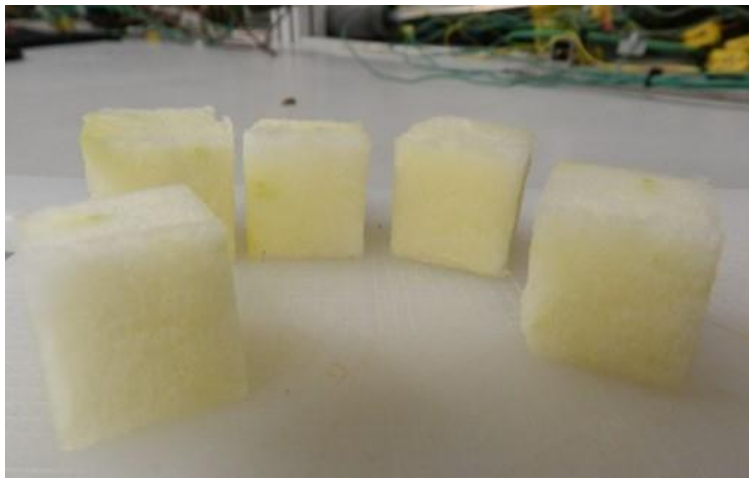


FIGURA 1. Muestras de manzana fresca en forma de geometría cúbica 2 x 2 x 2 cm.

2.2 Congelación.

La congelación de las muestras se llevó a cabo en dos sistemas diferentes: un abatidor de temperatura (Hiber, modelo 051S) y una cámara de congelación comercial modificada para poder aplicar ultrasonidos de alta intensidad. El objetivo fue comparar un proceso de congelación rápida (CR) que se produce en el primer sistema, con uno lento (CL) que es el que tiene lugar en el segundo

En el primer caso, el abatidor de temperatura utilizado consiste en una cámara de congelación de 77 x 79 x 70 cm provisto de un ventilador de 27 cm de diámetro. Dicho ventilador produce una turbulencia muy elevada del aire dentro de la cámara que minimiza la resistencia a la transferencia de calor por convección y, por lo tanto, hace que el proceso de congelación sea rápido. En las experiencias de congelación realizadas con este sistema (CR), se introdujeron cinco muestras de manzana en el interior del abatidor, previamente enfriado a -20°C. A cada una de las muestras se le colocó una sonda de temperatura (termopares tipo K) en su centro geométrico. Las sondas se conectaron a un sistema de adquisición de datos (Agilent, 84970A) que registró la evolución de la temperatura del interior de las muestras cada 10 segundos durante su congelación. El proceso de congelación finalizó

cuando las sondas indicaron una temperatura interna de -18°C . Estas condiciones de congelación se ensayaron por triplicado, con el fin de obtener unos resultados representativos.

Por otro lado, como se ha comentado, también se realizaron experiencias de congelación en una cámara semi-industrial (Misa, Epta) de dimensiones $2.20 \times 1.20 \times 2.40 \text{ m}$ y capacidad de alcanzar una temperatura de hasta -20°C . Dicha cámara se modificó para facilitar las experiencias. Así, se dispuso una falsa pared que permitió dividir la cámara en una antecámara, cuya función básica consiste en hacer de barrera a la temperatura y humedad ambiental, y una post-cámara, que es donde tienen lugar las experiencias de congelación (CL). En dicha post-cámara se dispuso un soplante que genera una corriente de aire de 2 m/s y que incide directamente sobre el sistema portamuestras. Éste básicamente consiste en una bandeja que se sitúa justo debajo de un transductor de ultrasonidos de placa escalonada de 40 cm de diámetro. El transductor es excitado desde el exterior de la cámara mediante un generador-adaptador de la señal eléctrica (Pusonics S.L. España). De esta manera, se puede adaptar las señales eléctricas que llegan al transductor y modular la potencia entre valores de 0 y 200 W . Como en el caso de las experiencias CR, cada experiencia se realizó con cinco muestras de manzana, cada una de ellas provista con un termopar tipo K en el centro de la misma y conectado a un sistema de adquisición de datos (Agilent, 84970A). En este caso, el registro de la temperatura también se realizó cada 10 segundos. Durante las experiencias de congelación, la temperatura de la cámara de congelación se mantuvo constante en -20°C . El criterio de finalización fue el mismo que en el caso de las experiencias CR, es decir, alcanzar una temperatura en el interior de las muestras de manzana de -18°C . Este tipo de congelación lenta se realizó sin (CL0) y con aplicación de ultrasonidos a diferentes potencias: 50 , 100 , 120 y 150 W (CL50, CL100, CL120 y CL150 respectivamente). Cada una de estas condiciones se ensayaron por triplicado.

2.3 Parámetros de calidad.

Se determinaron diferentes parámetros de calidad en las muestras congeladas en las diferentes condiciones ensayadas y posteriormente descongeladas. Para evitar la influencia del proceso de descongelación, éste se realizó de la misma manera en todos los casos. Concretamente, las muestras, previamente etiquetadas, se depositaron en bolsas de plástico con cierre deslizante tipo zip y se introdujeron en un refrigerador a 5°C durante 90 minutos. Transcurrido ese tiempo, las muestras estaban totalmente descongeladas. Entonces, se retiraron del refrigerador y se procedió a la realización de las siguientes determinaciones.

2.3.1 CONTENIDO TOTAL DE COMPUESTOS FENÓLICOS (CFT).

Las muestras se trituraron con una batidora doméstica. Posteriormente, se introdujeron 5 gramos de dicha muestra triturada en un tubo tipo Falcón y se le adicionaron 20 ml de etanol. La mezcla se homogeneizó con un ultraturrax

(T25 Digital, IKA, Germany) a 13.000 rpm durante 3 minutos. Pasado ese tiempo, el tubo se cubrió con una lámina de aluminio y se colocó en un agitador magnético durante 20 minutos. Finalmente, la disolución fue filtrada (Filter-Lab, 1300/80) con ayuda de una bomba de vacío. El extracto obtenido se utilizó para la determinación del contenido total en compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante total. Estas determinaciones se realizaron tanto con muestras frescas como con muestras congeladas y posteriormente descongeladas.

El contenido total de compuestos fenólicos (CFT) se determinó siguiendo el método descrito por Singleton et al., (1999) que utiliza el reactivo Folin-Ciocalteu. Cada ensayo se realizó por triplicado, lo que supuso un número total de 63 determinaciones. Así, para cada muestra, se prepararon 3 cubetas desechables con capacidad de 4.5 mL en las que se añadió 0,1 mL de extracto y una cubeta con 0.1 mL de etanol que hizo de blanco. En todas las cubetas se añadió 0.2 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu, de forma lenta y cuidadosa, para que no se generasen burbujas en la punta de la micropipeta debido a la viscosidad del reactivo. Después se añadió 2 mL de agua destilada y se dejó incubando en oscuridad durante 3 minutos. Transcurrido este tiempo, se adicionó 1 mL de carbonato sódico (Na_2CO_3) y se volvió a dejar en incubación en oscuridad durante 1 hora. Después se midió la absorbancia máxima de las muestras en un espectrofotómetro (Helios λ , Thermo Electron Corporation) a una longitud de onda de 765 nm. El contenido en polifenoles totales se expresó como: mg ácido gálico (GAE) por gramo de materia seca de las muestras de manzana (mg GAE / g m.s.).

2.3.2 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ANTIOXIDANTE TOTAL (CAT).

La capacidad antioxidante se midió mediante el método FRAP (Benzie et al., 1996). Dicho método está basado en el poder de una sustancia antioxidante para reducir el Fe^{3+} a Fe^{2+} . Así, el complejo férrico 2,4,6-Tri(2-piridil)-s-triazina (TPZ), que es incoloro, es reducido a un complejo ferroso de coloración azul. Esta diferencia se mide a partir de la determinación de absorbancia máxima a 595 nm. Cuanto más antioxidante sea la muestra, mayor será la reducción y más alta resultará la señal de absorbancia. El método FRAP requiere de una preparación previa de reactivos. Concretamente, se prepararon un tampón acetato sódico anhidro 0.3 M pH 3.6; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 milimolar; TPTZ (2,4,6-Tri(2-piridil)-s-triazina) 10 mM en HCL 40 mM. Posteriormente, se preparó el reactivo FRAP mezclando 1.5 ml del tampón, 1.5 ml de la solución TPTZ y 1.5 ml de la solución FeCl_3 . Después, se diluyó el extracto de manzana con etanol en una proporción 1:1. En este caso, se utilizaron cubetas desechables de 1,5 ml a las que se les añadió 30 μL de agua destilada. A continuación, se adicionó 30 μL de muestra diluida (o de etanol en el caso del blanco) y por último 900 μL del reactivo FRAP. Después se introdujeron las cubetas en un baño (Tecton 200, P-Selecta, España) a 37°C durante 30 minutos. Finalmente se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (Helios λ , Thermo Electron Corporation) a 595nm. Para que estas absorbancias medidas pudieran ser expresadas en μmol TROLOX

/ gramos de muestra seca, se empleó una recta de calibrado con diluciones de trolox de concentración conocida, junto al mismo solvente utilizado para la extracción.

2.3.3 DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA (CRA).

La determinación de la capacidad de retención de agua (CRA) se realizó en muestras frescas y en muestras congeladas y posteriormente descongeladas. Para ello se emplearon tubos de centrifuga divididos en dos secciones (**FIGURA 2.**). Así, la sección inferior posee un reborde en la parte superior del mismo, con una rejilla metálica circular. Sobre dicha rejilla se colocó un papel de filtro (Filter-Lab, 1300/80) con la misma forma y tamaño. La muestra se colocó sobre dicho papel. Esta consistió en una lámina rectangular de 1 g obtenida de cada una de las muestras de manzana.

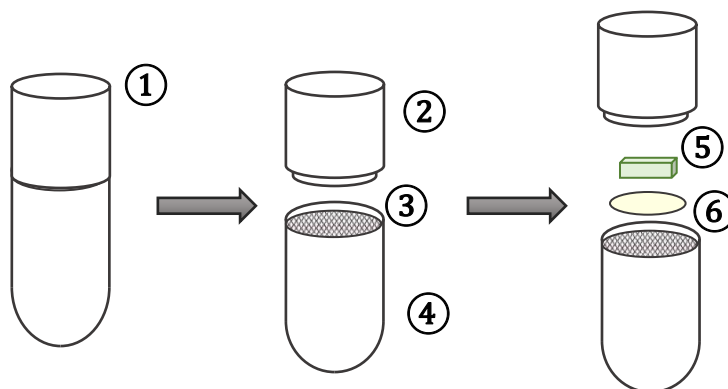


FIGURA 2. Montaje del tubo de centrifuga. 1. Tubo de centrifuga montado. 2. Sección superior del tubo. 3. Rejilla metálica. 4. Sección inferior del tubo. 5. Lámina de muestra de manzana. 6. Papel de filtro.

La determinación consistió en pesar en una balanza analítica en primer lugar, el tubo de centrifuga junto a la rejilla metálica (**m1**). En segundo lugar, se pesaron las muestras (**m2**). Seguidamente, se procedió al montaje de los tubos, tal y como se muestra en la **FIGURA 2**. Dichos tubos, se introdujeron en una centrifugadora a 4.000 rpm durante 10 minutos. Tras la centrifugación, se extrajeron y se retiraron las muestras y papeles de filtro. Cada tubo junto a su rejilla y el líquido extraído durante la centrifugación se volvió a pesar en la balanza analítica (**m3**). Para la determinación de cantidad de líquido absorbido por el filtro, éste se colocó sobre un vidrio de reloj, previamente tarado, y se pesó (**m4**). A continuación, el conjunto vidrio de reloj-filtro se introdujo en una estufa, donde se dejaron 24 horas a 100°C. Transcurrido este tiempo, se volvió a pesar el conjunto (**m5**). La diferencia resultante entre el peso de filtro húmedo y seco, junto con la cantidad de líquido liberado en el tubo tras la centrifugación indicó la cantidad de líquido liberado por la muestra (**ECUACIÓN 1**). Los resultados de CRA obtenidos se expresaron como: g agua retenida por 100 g agua total en producto.

$$CRA = \left[1 - \left(\frac{m3 - m1 + m4 - m5}{m2 \cdot H} \right) \right] \cdot 100 \quad (1)$$

Donde:

m1 = Masa del tubo de centrífuga más la rejilla (g).

m2 = Masa de muestra de manzana (g).

m3 = Masa del tubo de centrífuga con la rejilla más el líquido liberado por la muestra después de la centrifugación (g).

m4 = Masa del filtro húmedo después de la centrifugación (g).

m5 = Masa del filtro después de ser secado en estufa (g).

H = Contenido en humedad de la manzana (100-g agua / g materia fresca).

2.3.4 DETERMINACIÓN DE TEXTURA. ENSAYO DE PUNCIÓN.

La textura de las muestras frescas y de las muestras congeladas en las diferentes condiciones ensayadas y después descongeladas se estimó a través de un ensayo de punción (Paciulli et al., 2015). Para ello, se utilizó un analizador de textura TA-XT2 5M5, provisto de una sonda cilíndrica de 2 mm de diámetro. La velocidad constante de descenso de la sonda utilizada fue de 1 mm/s y el descenso fue hasta una penetración del 75% del grosor de la muestra. Para cada muestra se realizó una única punción en el centro de la misma. Todas las pruebas se realizaron a $21 \pm 1^\circ\text{C}$ ya que el texturómetro se colocó en el interior de una cabina con temperatura controlada. A partir de la curva de fuerza (N) vs tiempo (s) de cada experiencia, se determinó el primer pico de fuerza/rotura (F_{P1}) y la fuerza de punción máxima (F_{max}). Dónde F_{P1} representa la fuerza (N) que ejerce la sonda en el momento de la penetración de la misma en la muestra, mientras que, F_{max} es la fuerza máxima (N) alcanzada que ejerce la sonda hasta penetrar el 75% del grosor de la muestra.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1 Determinación del tiempo de congelación.

La determinación experimental de la temperatura de las muestras durante los procesos de congelación permitió distinguir 4 fases (**FIGURA 3.**) bien diferenciadas, tanto en las experiencias de congelación en abatidor (CR), como en la cámara de congelación lenta (CL) con o sin aplicación de ultrasonidos. Estas fases se definieron como: Fase 1: Fase de latencia en la que apenas cambia la temperatura registrada dentro de la muestra. Fase 2: Fase de refrigeración, en la que se observa una primera bajada de temperatura pronunciada. Fase 3: Fase de congelación en la que la

temperatura prácticamente no cambia ya que se está produciendo un cambio de fase de agua a hielo. Fase 4: Fase en la que se observa una segunda bajada de temperatura en el hielo formado.

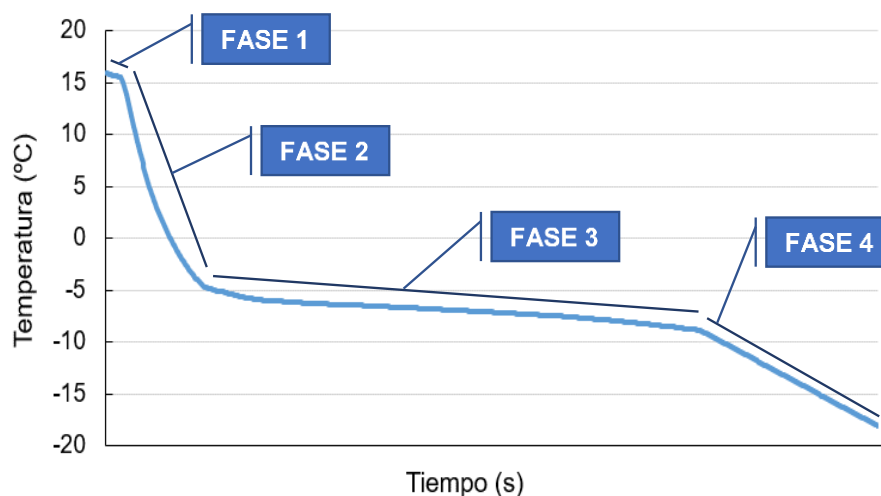


FIGURA 3. Evolución de la temperatura en el centro de las muestras de la manzana durante la congelación lenta en cámara de congelación (-20 °C; 2 m/s) con aplicación de ultrasonidos (120 W).

La influencia de los distintos procesos de congelación estudiados en la cinética de los mismos se realizó a partir de la comparación de los tiempos que se necesitaron para completar las fases definidas como: 2, 3 y 4 (F2, F3 y F4 respectivamente) (**TABLA 1**). Los datos relativos a la Fase 1 no se han incluido debido a que, la pequeña duración de la misma, hizo que no hubiera diferencias significativas entre los diferentes tratamientos de congelación.

TABLA 1. Promedio de tiempos registrados en completar Fases 2, 3 y 4 en las diferentes condiciones de congelación ensayadas.

Tipo de congelación	Tiempo (s)		
	Fase 2	Fase 3	Fase 4
CR	62 ± 5	273 ± 15	782 ± 9
CL0	118 ± 10	394 ± 21	2127 ± 24
CL50	109 ± 7	413 ± 3	3053 ± 8
CL100	90 ± 3	417 ± 4	4751 ± 27
CL120	93 ± 14	556 ± 20	5289 ± 1
CL150	123 ± 7	654 ± 17	5682 ± 1

Como cabría esperar, al comparar las muestras sometidas a congelación lenta (CL0) y congelación rápida (CR), se observó cómo estas últimas tardaron significativamente ($p < 0.05$) menos tiempo en completar cada una de las fases definidas. Este hecho se repitió en todas las fases de congelación.

Esto es debido a que el diseño del abatidor de temperatura utilizado en las experiencias CR persigue la reducción al máximo de la resistencia externa a la transferencia de calor mediante la agitación del aire. Además, la temperatura del entorno fue mucho menor en este caso. Así, las experiencias CR necesitaron un 90.3% menos de tiempo (62 ± 5 s) respecto a las experiencias CL0 (118 ± 10 s) para completar la Fase 2 (**FIGURA 4**).

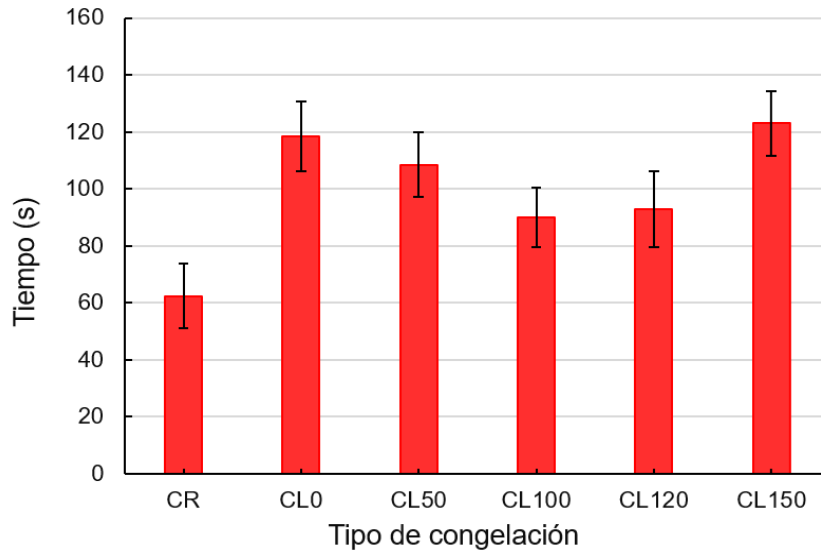


FIGURA 4. Tiempo medio (s) en completar la Fase 2 para las muestras sometidas a experiencias de congelación rápida (CR) y congelación lenta (CL0, CL50, CL100, CL120 y CL150) (95%).

Dentro de las experiencias CL, el tiempo de la Fase 2 se redujo significativamente ($p < 0.05$) cuando se aplicaron potencias de ultrasonidos moderadas. Así, comparando con las experiencias CL0, las CL50 (109 ± 7 s) redujeron el tiempo un 8% y las CL100 (90 ± 3 s) y CL120 (93 ± 14 s) un 24% y 21.2% respectivamente. En estos casos, la vibración acústica a potencias moderadas podría movilizar las moléculas de agua del material e incrementar la transferencia de energía en el interior de las muestras y entre ellas y la cámara de congelación. Sin embargo, la aplicación de una potencia de ultrasonidos más elevada en las experiencias CL150, aumentó el tiempo de la Fase 2 (123 ± 7 s), provocando un incremento del 4.2% en comparación con las experiencias CL0. Este hecho podría atribuirse a la generación de calor provocado por la vibración acústica, que a esta potencia sería más influyente que la mejora de transferencia de calor con el entorno.

En cuanto a la Fase 3, las experiencias CR necesitaron de un 44.3% menos de tiempo (273 ± 15 s) que las experiencias CL0 (394 ± 21 s). La aplicación de ultrasonidos a las potencias más bajas (CL50 y CL100) no afectó significativamente al tiempo de la Fase 3 (**FIGURA 5**). Sin embargo, la aplicación de potencias más elevadas, CL120 y CL150, produjo un incremento del tiempo de la Fase 3 respecto a CR del 104% y 140% respectivamente. En esta fase es cuando tiene lugar el paso del agua a hielo, con lo que se produce una liberación de energía en el material que debe ser evacuado por el ambiente. Cuando se aplican potencias de ultrasonidos bajas, los efectos de ultrasonidos podrían afectar el proceso de nucleación, pero el aporte

energético adicional no afecta al tiempo de congelación. Sin embargo, a potencias más elevadas, esta energía adicional dificultaría el proceso de cambio de fase.

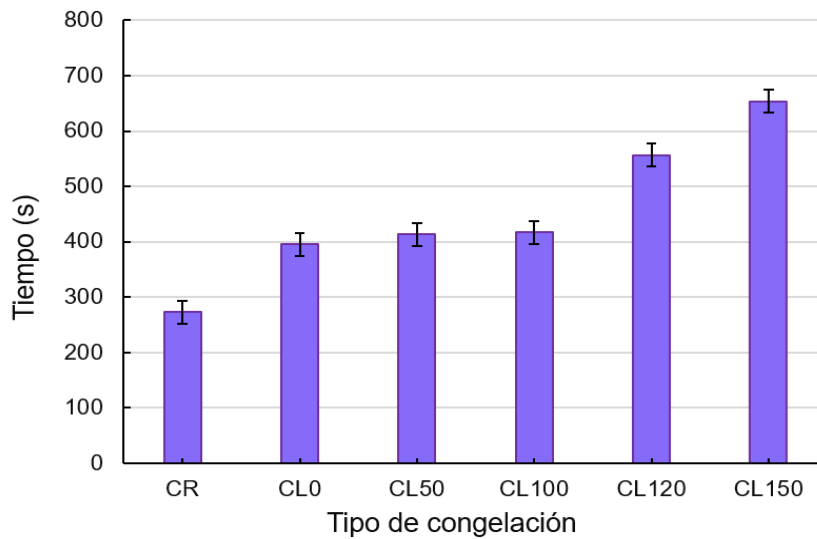


FIGURA 5. Tiempo medio (s) en completar la Fase 3 para las muestras sometidas a experiencias de congelación rápida (CR) y congelación lenta (CL0, CL50, CL100, CL120 y CL150) (95%).

Por último, el tiempo necesario para completar la Fase 4 en las experiencias de congelación lenta fue proporcional a la potencia acústica aplicada (**FIGURA 6**). En estas condiciones, prácticamente toda el agua de las muestras se encuentra en forma de hielo. La vibración incluida por la aplicación de ultrasonidos no podría movilizar la estructura rígida del hielo, como sí que lo podría conseguir en la Fase 2, en la que el agua está en forma líquida.

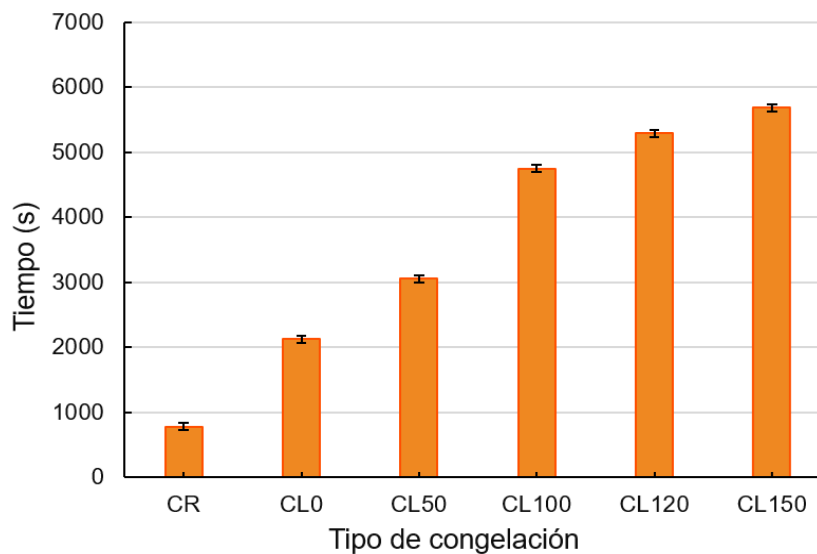


FIGURA 6. Tiempo medio (s) en completar la Fase 4 para las muestras sometidas a experiencias de congelación rápida (CR) y congelación lenta (CL0, CL50, CL100, CL120 y CL150) (95%).

En estas condiciones, dicha vibración no genera un movimiento traslacional de moléculas, sino que supone la generación de calor adicional debido al rozamiento entre partículas y, por lo tanto, ralentiza la bajada de temperatura que tiene lugar en esta fase.

Por lo tanto, y desde un punto de vista exclusivamente cinético, en un proceso de congelación lenta, la aplicación de ultrasonidos a potencias moderadas (100 W) podría acelerar el proceso de bajada de temperatura hasta la temperatura de congelación. Durante la fase de congelación, podría afectar a la naturaleza de la misma sin influir en el tiempo de proceso. Sin embargo, una vez congelada la muestra, su aplicación solo supondría una fuente adicional de calor que ralentizaría la bajada de temperatura.

3.2 Determinación del contenido total de compuestos fenólicos (CFT).

Para identificar la influencia del proceso de congelación en la calidad de las muestras, se determinó el contenido en polifenoles (mg GAE / g m.s) en las muestras frescas antes de congelar y en las muestras congeladas y después descongeladas. En todas estas condiciones, la determinación se realizó por triplicado.

TABLA 2. Contenido medio en compuestos fenólicos totales (CFT) de muestras de manzana frescas y muestras congeladas y después descongeladas (congelación rápida CR y congelación lenta CL con aplicación de ultrasonidos a diferentes potencias, 0 (CL0), 50 (CL50), 100 (CL100), 120 (CL120) y 50 (CL150) W).

FRESCA	CR	CL0	CL50	CL100	CL120	CL150
4,9 ± 1,3	4,2 ± 1,4	7 ± 1	6 ± 2	4 ± 1	4 ± 1	6 ± 1

Tomando como referencias a las muestras frescas, se observó que la congelación rápida (CR) produjo una disminución del CFT en torno al 14.3%. Por el contrario, la congelación lenta supuso un incremento de este parámetro. Así, las muestras CL0 mostraron un CFT un 43% superior que las muestras frescas. Esto podría deberse a que, la formación de cristales de hielo más grandes debido a la congelación lenta, podría favorecer la liberación de compuestos fenólicos o la formación de otros nuevos.

En cuanto a la aplicación de ultrasonidos, su influencia sobre el CFT dependió de la potencia aplicada. Así, a las potencias intermedias ensayadas (CL100 y CL120) se obtuvo una ligera reducción de CFT en comparación con las muestras frescas, similar a las encontradas en las experiencias CR. Por el contrario, a la potencia acústica más pequeña, 50 W (CL50), y a la más elevada, 150 W (CL150), se observó un incremento significativo del CFT, alcanzando un nivel similar al de las muestras CL0. El ANOVA de estos datos indicó que el tipo de congelación empleado fue un factor significativo en el CFT de las muestras, con un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$). Como se puede observar en la **FIGURA 7.**, los intervalos LSD mostraron que no hay diferencias significativas entre el CFT de las muestras CR, CL100 y CL120, y que este, fue significativamente inferior al observado en las experiencias CL50 y CL150. En cuanto a las experiencias CL0, presentaron un valor de CFT significativamente ($p < 0.05$) superior al resto.

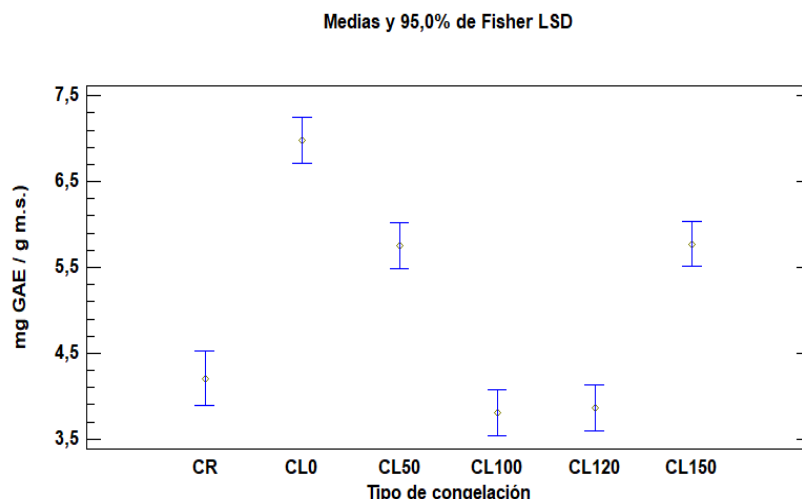


FIGURA 7. Contenido medio en compuestos fenólicos totales (CFT) e intervalos LSD (95%) de las muestras para el factor tipo de congelación: congelación rápida (CR) y congelación lenta con aplicación de ultrasonidos a diferentes niveles de potencia (CL0, CL50, CL100, CL120 y CL150).

En las experiencias CL50, la potencia aplicada es pequeña, de forma que el efecto que ejercen los ultrasonidos sobre el tamaño de los cristales de hielo formados es reducido. Esto explicaría el valor de CFT similar al obtenido en experiencias CL0. Al aumentar la potencia (CL100 y CL120), los ultrasonidos generan un mayor estrés mecánico sobre la estructura y podrían limitar la formación de los cristales de hielo grandes de la misma manera que lo haría un proceso de congelación rápida (CR). Sin embargo, al aumentar la potencia (CL150), la mayor tensión mecánica producida por los ultrasonidos no sólo evitaría la formación de cristales de hielo grandes, sino que, también podría dañar la estructura, favoreciendo así la liberación o la formación de nuevos compuestos polifenólicos a través de la activación de vías metabólicas secundarias, como propone Moreno et al. (2017)

3.3 Determinación de la capacidad antioxidante total (CAT).

Otro de los parámetros de calidad analizado fue la capacidad antioxidante de las muestras después de su descongelación. Los resultados de CAT obtenidos en las diferentes experiencias, mostraron que aquellas muestras tratadas mediante CR presentaron un aumento significativo ($p < 0.05$) de la CAT en torno al 11.1% ($20 \pm 3 \mu\text{molTROLOX/g m.s.}$) respecto a la de las muestras frescas ($17 \pm 3 \mu\text{molTROLOX/g m.s.}$) (**FIGURA 8.**). Por otro lado, y de la misma forma que en el caso de la determinación de CFT, las muestras sometidas a CL0 obtuvieron el mayor valor de CAT, comparado tanto con las muestras frescas como las sometidas a CR y CL.

La aplicación de ultrasonidos influyó en los valores de CAT obtenidos. Dicha influencia dependió de la potencia aplicada. Al emplear potencias intermedias (CL100 y CL120) se obtuvo una reducción de la CAT, en comparación con las muestras frescas. Así, esta reducción fue del 56% en las experiencias CL100 y del 50% en las experiencias CL120. A la potencia más

baja ensayada (CL50) la reducción fue inferior (6%) respecto a la muestra fresca mientras que a la potencia más alta empleada (CL150) se obtuvieron valores similares CL0. Estos resultados van en la misma dirección que los obtenidos por Santacatalina et al. (2014) en las experiencias de secado de manzana asistido acústicamente. Es decir, los ultrasonidos producirían una reducción de la capacidad antioxidante de las muestras.

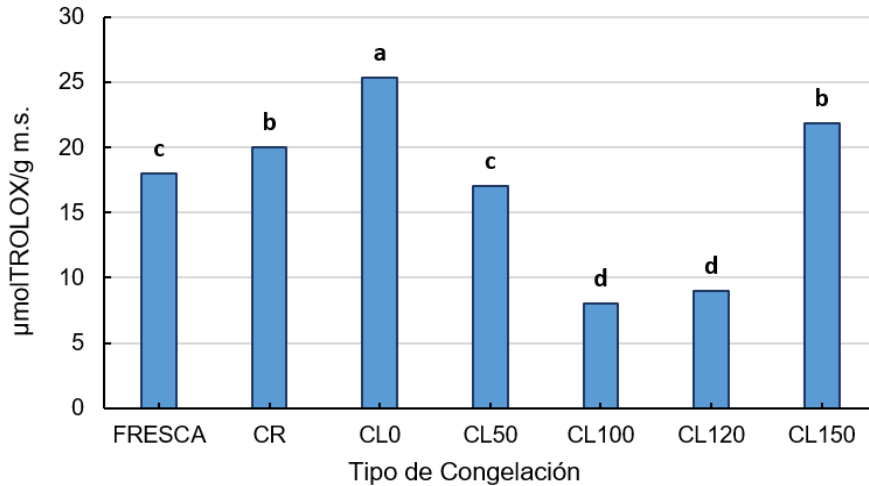


FIGURA 8. Capacidad media antioxidante (CAT) de las muestras frescas y las muestras tratadas mediante congelación rápida (CR) y congelación lenta (CL0, CL50, CL100, CL120 y CL150). Letras iguales indican que no existen diferencias significativas (95%).

El ANOVA de estos datos indicó la significación ($p < 0.05$) de la influencia del tipo de congelación y los intervalos LSD mostraron la existencia de tres grupos de valores de CAT. El más bajo, obtenido en las experiencias con ultrasonidos de potencia media CL100 y CL120. Uno superior en las experiencias CR y CL150 (el valor obtenido por las experiencias CL50 fue de rango similar). Y, por último, el más elevado en las experiencias CL0.

Como en el caso de CFT, la formación de cristales que fueran capaces de provocar roturas parciales en las células de las muestras podría explicar estos datos obtenidos. De esta forma, la salida de líquidos intracelulares podría provocar reacciones que generen a su vez otros compuestos con una mayor CAT.

En cuanto a la aplicación de ultrasonidos, resultó perjudicial para la CAT a las potencias intermedias (CL100 y CL120), en cambio, la aplicación de ultrasonidos a potencias bajas (CL50) alcanzó resultados similares a los obtenidos mediante CR. Las vibraciones ultrasónicas podrían acelerar los fenómenos de intercambio de materia, como el transporte del oxígeno ambiental que podría acelerar procesos de oxidación. A elevadas potencias (CL150), el efecto sobre la estructura de las muestras podría limitar este transporte con lo que la CAT resulta similar a la obtenida en las experiencias CR o CL0.

3.4 Determinación de la capacidad de retención de agua (CRA).

La humedad inicial de la manzana fue 84.7%. Las muestras frescas fueron capaces de retener $95,51 \pm 0,02$ g agua retenida / 100 g agua de la muestra. Dicha capacidad de retención de agua (CRA) disminuyó en las muestras congeladas y después descongeladas.

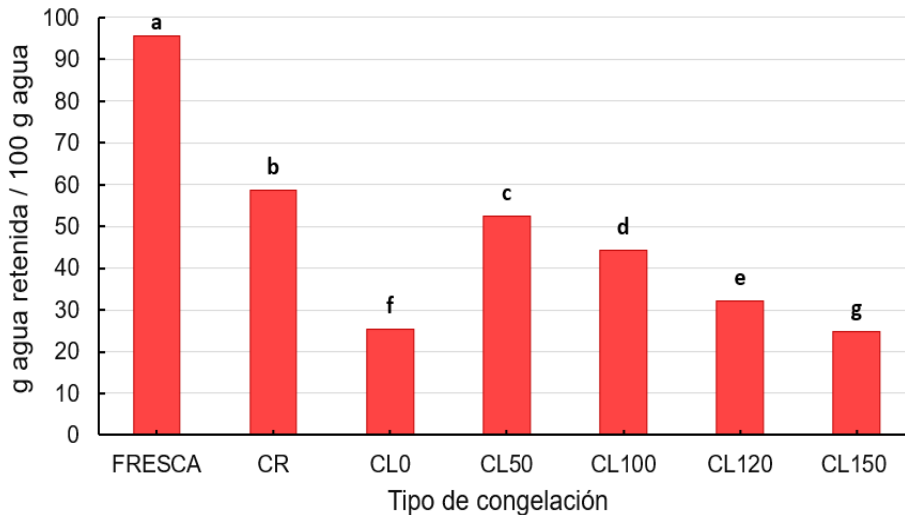


FIGURA 9. Capacidad media de retención de agua (CRA) de las muestras frescas y las muestras tratadas mediante congelación rápida (CR) y congelación lenta (CL0, CL50, CL100, CL120 y CL150). Letras diferentes indican la existencia de diferencias significativas (95%) determinadas a partir de intervalos LSD.

Así, al someter a las muestras a CR, el valor de CRA disminuyó en un 39% ($58,66 \pm 0,03$ g agua retenida / 100 g agua), respecto a la muestra fresca. Esta reducción alcanzó el 74% en las muestras CL0. La aplicación de ultrasonidos influyó en los valores de CRA dependiendo dicha influencia de la potencia aplicada. De esta forma, a la potencia más baja ensayada (CL50) se obtuvo un valor de similar al obtenido en las muestras CR. Dicho valor disminuyó al aumentar la potencia de los ultrasonidos empleada. Así, al aplicar la máxima potencia (CL150) se alcanzó prácticamente el mismo valor que el obtenido en las muestras CL0. El ANOVA indicó que el tipo de congelación empleado fue un factor significativo en la CRA de las muestras, con un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$). La determinación de los intervalos LSD permitió observar cómo la CRA disminuyó significativamente ($p < 0.05$) de forma importante al aplicar una potencia máxima de 150 W a las muestras.

La CRA es una medida del daño estructural producido por la congelación. Así, el mayor valor de CRA obtenido en las experiencias CR que en las CL se explicaría por la formación de cristales de hielo más pequeños en la congelación rápida, lo que originaría un menor daño a la estructura. La aplicación de ultrasonidos a potencias bajas (CL50) podría contribuir también a la formación de dichos cristales pequeños, explicando así, los valores de CRA similares a los de las experiencias CR. En cambio, a potencias mayores, los efectos de los ultrasonidos no sólo podrían afectar a la formación de cristales, sino también a la propia estructura de la manzana, lo que se traduciría en una menor CRA.

3.5 Determinación de textura (F_{P1} y F_{max}).

Los valores promedio de F_{P1} y F_{max} obtenidos para cada una de las muestras tratadas se muestran en la **FIGURA 10**. Como se puede observar, los valores más elevados, tanto para F_{P1} ($4,38 \pm 0,03$ N) como para F_{max} ($6,63 \pm 0,03$ N) se obtuvieron en las muestras frescas. La congelación, independientemente del método aplicado, disminuyó ambos valores.

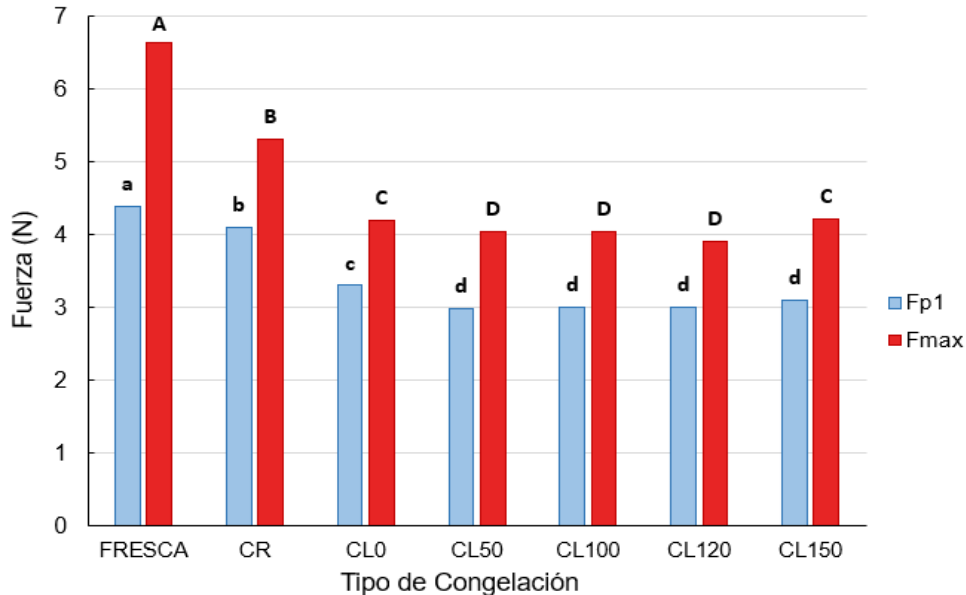


FIGURA 10. Primer pico de fuerza medio (F_{P1}) y fuerza de punción máxima media (F_{max}) en muestras frescas y muestras tratadas mediante congelación rápida (CR) y congelación lenta con aplicación de ultrasonidos a diferentes potencias (CL0, CL50, CL100, CL120 y CL150). Letras diferentes indican la existencia de diferencias significativas (95%) determinadas a partir de intervalos LSD.

Este descenso fue relativamente pequeño en las muestras CR, en las que se obtuvo una disminución del 6.4% en F_{P1} ($4,1 \pm 0,3$ N) y del 20% en F_{max} ($5,3 \pm 0,2$ N) respecto a las muestras frescas. Sin embargo, dicha disminución se vio incrementada en las muestras sometidas a congelación lenta. Así, las muestras CL0 presentaron valores un 20% en F_{P1} ($3,3 \pm 0,2$ N) y un 25% en F_{max} (4 ± 1 N) significativamente inferiores ($p < 0.05$) a los obtenidos en las muestras CR. El tamaño de los cristales de hielo formados podría afectar a la estructura de la matriz afectando a la consistencia de la misma.

La aplicación de los ultrasonidos también afectó a los valores de F_{P1} y F_{max} . En todas las potencias ensayadas, ambos valores resultaron significativamente ($p < 0.05$) inferiores a los de las muestras CR y CL0. En este caso, la influencia de la potencia aplicada, aunque significativa, fue relativamente poco importante en comparación con la influencia del proceso de congelación lenta. Aun así, es de destacar que los valores obtenidos en las experiencias CL50, CL100 y CL120 resultaron muy próximos entre sí, mientras que al aplicar la máxima potencia (CL150) se alcanzó prácticamente los valores obtenidos en las muestras CL0.

La textura es una propiedad muy importante en las frutas, atribuida principalmente a la integridad estructural de la pared celular y presión

generada dentro de las células. De esta manera, el mayor valor, tanto de F_{P1} como de F_{max} de las experiencias CR en comparación con las CL, se explicaría por un menor daño sufrido en la integridad estructural debido al menor tamaño de los cristales de hielo formados durante la congelación. Asimismo, el empleo de ultrasonidos a baja (CL50) y media potencia (CL100 y CL120) podría afectar de forma negativa a la integridad estructural de la pared celular de las muestras, reduciendo los valores de F_{P1} y F_{max} en comparación con las experiencias CL0. Sin embargo, la aplicación de ultrasonidos de alta potencia, CL150, parece afectar al crecimiento de cristales de hielo de tamaño pequeño y provocando un menor impacto sobre la integridad celular de las muestras.

4. CONCLUSIONES.

Se identificaron 4 fases distintas en el proceso de congelación. Las experiencias CR necesitaron el menor tiempo para completar cada una de dichas fases. La aplicación de ultrasonidos de potencia supuso, en general, una importante ralentización del proceso de congelación. Este hecho fue especialmente relevante a potencias elevadas (CL150) debido a la generación de calor producida por la vibración acústica. Sin embargo, a potencias moderadas (CL100 y CL120) se aceleró la fase de refrigeración en comparación con la congelación lenta convencional (CL0).

En cuanto a la calidad de las muestras congeladas, las CR mostraron un descenso de CFT y CAT, una mejora de CRA y mayores valores de F_{P1} y F_{max} en comparación con las muestras CL0. Estos efectos se podrían explicar por la formación de cristales de hielo de menor tamaño durante la congelación rápida.

Respecto a la aplicación de ultrasonidos, potencias moderadas redujeron la CFT. Esto se podría atribuir a la generación de un estrés mecánico sobre la estructura de la muestra, limitando la formación de cristales de hielo como haría un proceso de CR. A potencias elevadas (CL150) se incrementaron los valores de CAT por encima de los obtenidos mediante procesos de CR. La aplicación de potencias bajas (CL50) podría facilitar la formación de cristales de hielo pequeños, disminuyendo el impacto sobre la CRA y produciendo un menor daño estructural de las muestras en comparación con CL0. En cuanto a la textura, los ultrasonidos no produjeron diferencias significativas respecto a CL0.

5. BIBLIOGRAFÍA.

- Addie A. van der Sluis; Matthijs Dekker; M. A. J. S. van B. (2004). Activity and Concentration of Polyphenolic Antioxidants in Apple Juice . 2 . *Effect of Novel Production Methods*.
- Benzie, I.; Strain, J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70- 76.
- Boyer, J.; Liu, R. H. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits, 15, 1–15.
- Cárcel, J.A.; García-Pérez, J.V.; Riera, E.; Rosselló, C.; Mulet, A. (2014). Drying assisted by ultrasound (Chapter 8). In *Modern Drying Technology Vol. 5, Process Intensification* (pp.

237–278).

- Cárcel, J. A. (2003). Influencia de los ultrasonidos de potencia en procesos de transferencia de material. *Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia*.
- Cárcel, J. A.; García-Pérez, J. V.; Benedito, J.; Mulet, A. (2012). Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. *Journal of Food Engineering*, 110(2), 200–207.
- Cheng, X.; Zhang, M.; Xu, B.; Adhikari, B.; Sun, J. (2015). The principles of ultrasound and its application in freezing related processes of food materials: A review. *Ultrasonics - Sonochemistry*, 27, 576–585.
- Delgado, A. E.; Zheng, L.; Sun, D. W. (2009). Influence of ultrasound on freezing rate of immersion-frozen apples. *Food and Bioprocess Technology*, (2(3)), 263–270.
- Islam, N.; Zhang, M.; Adhikari, B.; Xinfeng, C. (2014). The effect of ultrasound-assisted immersion freezing on selected physicochemical properties of mushrooms.
- Li, B.; Sun, D. W. (2002). Effect of power ultrasound on freezing rate during immersion freezing of potatoes. *Journal of Food Engineering*, 55(3), 277–282.
- Lund, B. M.; Baird Parker, T.C.; Gould, G.W. (2000) (Eds) The Microbiological Safety and Quality of Food.Vol.1. Aspen Publishers, Inc., USA. pp.122-145. *Aspen Publishers, Inc., USA*.
- McClements, D. J. (1997). Ultrasonic characterization of Foods and Drinks: Principles, Methods and Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37: 1-46.
- Moreno, C.; Brines, C.; Mulet, A.; Rosselló, C.; Cárcel, J. A.; Brines, C., J. A. C. (2017). Antioxidant potential of atmospheric freeze-dried apples as affected by ultrasound application and sample surface, 3937(May).
- Paciulli, M.; Ganino, T.; Pellegrini, N.; Rinaldi, M.; Zaupa, M.; Fabbri, A.; Chiavaro, E. (2015). Impact of the industrial freezing process on selected vegetables — Part I . Structure , texture and antioxidant capacity. *FRIN*, 74, 329–337.
- Rodríguez, Ó.; Santacatalina, J.V.; Simal, S.; García-Pérez, J.V.; Femenia, A.; Roselló, C. (2014). Influence of power ultrasound application on drying kinetics of apple and its antioxidant and microstructural properties. *Journal of Food Engineering*, 129, 21–29.
- Santacatalina, J.V.; Rodríguez, O.; Simal, S.; Cárcel, J.A.; Mulet, A.; García-Pérez, J. V. (2014). Ultrasonically enhanced low-temperature drying of apple: Influence on drying kinetics and antioxidant potential. *Journal of Food Engineering*, 138, 35–44.
- Singh, R. P.; Heldman, D. R. (2001). Introduction to Food Engineering. Chapter 7:Food freezing . *AcademicPress*. California, EE. UU.
- Singleton, V.L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299, 152-178.
- United States Department of Agriculture, F. A. S. (2018). Fresh Apples, Grapes, and Pears: *World Markets and Trade*.
- Warrington, I. J. (1994). The ‘Granny Smith’ apple. In *Fruit Var. J.* 48. (pp. 70–73).
- Zhang, M.; Niu, H.; Chen, Q.; Xia, X.; Kong, B. (2018). Influence of ultrasound-assisted immersion freezing on the freezing rate and quality of porcine longissimus muscles, 136(October 2017), 1–8.
- Zheng, L.; Sun, D. W. (2006). Innovative applications of power ultrasound during food freezing processes — A review. *Trends in Food Science and Technology*, 17(1), 16–23.