

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



**ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN DE VOLÁTILES Y SU
EVOLUCIÓN DURANTE LA DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA
DE LA GUAYABA PALMIRA ICA-1 (*Psidium guajava* L.)**

Tesis Doctoral

Presentado por:

Clara Elizabeth Quijano Celis.

Dirigido por:

Amparo Chiralt Boix
Nuria Martínez Navarrete

Valencia 2011

RESUMEN

Para comprender la composición de volátiles en guayaba fresca (*Psidium guajava* L.) Palmira ICA-1, en este estudio se plantearon diferentes métodos de extracción: la extracción líquido-líquido (L-L), la destilación-extracción simultáneas con disolvente (SDE), la microextracción en fase sólida del espacio de cabeza (HS-SPME) y la extracción con fluidos supercríticos (SFE). Se establecieron semejanzas y diferencias en la composición de acuerdo al método usado. Los ésteres, aldehídos y alcoholes fueron los más representativos por L-L, SDE y HS-SPME, mientras que por SFE predominaron los hidrocarburos. Un total de 134 compuestos fueron identificados por los diferentes métodos de extracción. Se determinó la contribución sensorial mediante el cálculo de las unidades de olor (concentración del compuesto/umbral de olor) para los compuestos aislados por SDE, teniendo en cuenta el efecto de la temperatura durante el método de extracción. De igual forma se estudió la influencia del pH en la composición del aroma, 38 constituyentes volátiles se identificaron como enlazados a glicósidos.

De otro lado, se realizó un estudio del mecanismo hidrodinámico (HDM) de la deshidratación osmótica con y sin pulso de vacío. Las mayores pérdidas de agua, ocurrieron con los tratamientos a 50 °C y con disoluciones osmóticas de 50 y 40 °Brix. La mayor transferencia de solutos ocurrió a 40 y 50 °C con vacío pulsante. Se demostró la influencia de los parámetros como temperatura, tiempo y concentración de la disolución osmótica en la cinética de la pérdida de agua, ganancia de solutos y evolución de la composición de volátiles en el producto osmodeshidratado. En general, las mayores pérdidas de volátiles ocurrieron a 50 °C, mientras que las menores fueron a 30 y 40 °C hasta 2 h con disolución osmótica a 30 y 40 °Brix. Los ésteres fueron los compuestos que sufrieron mayores pérdidas durante el proceso de deshidratación osmótica a presión atmosférica y con pulso de vacío.

ABSTRACT

In this study, different methods of extraction for further comprehension of the volatiles composition of fresh guava (*Psidium guajava* L.) Palmira ICA-1 was used. Extraction methods like liquid-liquid extraction (L-L), simultaneous distillation-solvent extraction (SDE), headspace-solid phase microextraction (HS-SPME) and supercritical fluid extraction (SFE) were used. It was shown the differences and similarities of the volatile composition related to the used method. The most representative compounds found by L-L, SDE and HS-SPME were esters, aldehydes and alcohols, while by SFE the hydrocarbons were predominant. A total of 134 compounds were identified by the different extraction methods. The flavor contribution of the volatiles isolated by SDE was calculated by the ratio of concentration of the compound and its flavor threshold, taking into account the effect of temperature during the extraction procedure as well as the pH influence over the aroma composition. A total of 38 volatile constituents were identified as bonded to glycosides.

On the other side, a study about the hydrodynamic mechanism (HDM) of the osmotic dehydration with and without vacuum pulse was carried out. Major losses of water occurred with a treatment at 50 °C and with osmotic dissolution at 50 and 40 °Brix. Major transfer rate of the solutes was observed at 40 and 50 °C with pulsing vacuum. The significant effect of temperature, time of treatment, and the osmotic dissolution concentration on the kinetic of water loss, recovering of solutes and the evolution of the volatile composition in the osmodehydrated product was demonstrated. In general, the major losses of volatiles occurred at 50 °C, while the minor were at 30 and 40 °C up to 2 h with osmotic dissolution at 30 and 40 °Brix. Esters were the compounds which suffered higher losses during osmotic dehydration processes at atmospheric pressure and with vacuum pulse.

RESUM

Per a comprendre la composició de volàtils en guaiaba fresca (*Psidium guajava* L.) Palmira ICA-1, en este estudi es van plantejar diferents mètodes d'extracció líquid-líquid (L-L), la destilació-extracció simultànies amb dissolvent (SDE), la microextracció en fase sòlid del èspaci de cap (HS-SPME) i l'extracció amb fluids supercrítics (SFE). Es van establir semblances i diferències en la composició d'acord al mètode usat. Els ester, aldehids i alcohols van ser els més representatius per L-L, SDE i HS-SPME, metres que per SFE van predominar els hidrocarburs. Un total de 134 compostos van ser identificats pels diferents mètodes d'extracció. Es va determinar la contribució sensorial per mitjà del càlcul de les unitants d'olor (concentració del compost/llindar d'olor) per als compostos aïllats per DÓNES, tenint en compte l'efecte de la temperatura durant el mètode d'extracció. De la mateixa forma es va estudiar la influència del pH en la composició de l'aroma, 38 constituents volàtils es van identificar com enllaçats a glicósits.

D'un altre costat, es va realitzar un estudi del mecanismo hidrodinàmic (HDM) de la deshidratació osmòtica amb i sense pols de buit. Les majors pèrdues d'aigua, van ocórrer amb els tractaments a 50 °C i amb dissolucions osmòtiques de 50 i 40 °Brix. La major transferència de soluts va ocórrer a 40 i 50 °C amb buit polsen-te. Es va demostrar la influència dels paràmetres com a temperatura, temps i concentració de la dissolució osmòtica en la cinètica de la pèrdua d'aigua, guany de soluts i evolució de la composició de volàtils van ocórrer a 50 °C, metres que les menors van ser a 30 i 40 °C fins a 2 h amb dissolució osmòtica a 30 i 40 °Brix. Els ester van ser els compostos que van patir majors pèrdues durant el procés de deshidratació osmòtica a pressió atmosfèrica i amb pols de buit.

*A la memoria de mi Padre
Ejemplo de vida*

Al apoyo constante de mi madre

*A mi esposo
quien es
el pilar de mi vida,
gracias por su amor,
comprensión, paciencia
y respeto por mi profesión.*

*A mi hermana
y mi adorada familia*

Agradecimientos

La autora agradece de forma especial a mis tutoras las Dras. Amparo Chiralt y Nuria Martínez Navarrete en la Universidad Politécnica de Valencia por su colaboración y enseñanza en la realización del presente estudio.

Al Dr. Rolando Roldán, quien durante el ejercicio de su Decanatura en la Facultad de Ciencias, fue mi apoyo constante y me brindó la oportunidad de seguir con los estudios de Posgrado.

Al Dr Wolfram Baumann, director del Departamento de Química de la Universidad de los Andes, por su amistad, soporte continuo en mi trabajo de investigación y por seguir impulsando la investigación del grupo de Ciencias Agroalimentarias y del Aroma (CALIM).

Al Dr. Jorge A. Pino A., del Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia de la Habana, Cuba, por su amistad, enseñanza, colaboración permanente y guía en las investigaciones sobre el aroma de los frutos tropicales, cuya gran experiencia ha sido para mi enriquecedora.

Finalmente a todas aquellas personas que colaboraron con el cultivo y la recolección de los frutos en la Finca Yulima (Tolima), así como en la culminación del documento, a mis alumnos Tesistas por su comprensión y apoyo.

ÍNDICE	Pág
I. INTRODUCCIÓN	7
1. ASPECTOS GENERALES	9
1.1 LA GUAYABA	9
1.1.1 Descripción del fruto	10
1.1.2 Importancia de la guayaba	11
1.1.3 Composición química	12
1.2 EL AROMA DE LA GUAYABA	13
1.3 DESHIDRATACIÓN DE LOS ALIMENTOS	14
1.3.1 DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA DE LAS FRUTAS	14
II. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	17
2.1 OBJETIVOS	19
2.1.1 Objetivo general	19
2.1.2 Objetivos específicos	19
2.2 PLAN DE TRABAJO	20
2.2.1 Estudio de la composición de volátiles en guayaba fresca	20
2.2.2 Efecto de la variación del pH en la composición de volátiles y determinación de compuestos glicosídicamente enlazados.	20
2.2.3 Caracterización de la cinética de deshidratación osmótica	21
2.2.4 Efecto de la deshidratación osmótica en la composición de volátiles	22
III. ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN DE VOLÁTILES EN GUAYABA FRESCA	23
3.1 INTRODUCCIÓN	25
3.1.1 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN Y EQUIPOS USADOS PARA ESTUDIO DE VOLÁTILES	28
3.1.1.1 Destilación-extracción simultáneas con disolvente (SDE)	29
3.1.1.2 Extracción líquido-líquido (L-L)	31
3.1.1.3 Microextracción en fase sólida (SPME)	33
3.1.1.4 Extracción con fluido supercrítico (SFE)	36

3.1.1.5	Equipo concentrador para extractos Kuderma-Danish	38
3.2	MATERIALES Y MÉTODOS	39
3.2.1	Materia prima	39
3.2.2	Análisis realizados	40
3.2.2.1	Determinación de sólidos solubles	40
3.2.2.2	Determinación del valor del pH	41
3.2.2.3	Determinación de la dureza	41
3.2.2.4	Determinación de acidez	41
3.3	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL PARA CADA SISTEMA DE EXTRACCIÓN	42
3.3.1	Procedimiento para extracción por destilación-extracción simultáneas con disolvente (SDE)	42
3.3.2	Procedimiento para extracción líquido-líquido (L-L)	42
3.3.3	Procedimiento para microextracción en fase sólida (HS-SPME)	43
3.3.4	Procedimiento para extracción con fluido supercrítico (SFE)	43
3.4	ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO	45
3.4.1	Cromatografía de gases de alta resolución (GC-FID)	45
3.4.2	Cromatografía de gases de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)	46
3.4.3	Cuantificación e identificación de volátiles	46
3.5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
3.5.1	Características fisico-químicas de la materia prima	47
3.5.2	Comparación de los métodos de extracción en la obtención de compuestos volátiles	47
3.5.3	Estudio cuantitativo de los componentes volátiles	57
3.5.4	Potencia olfativa de los volátiles determinados	62
3.6	CONCLUSIONES	64
IV.	EFFECTO DE LA VARIACIÓN DEL pH EN LA COMPOSICIÓN DE VOLÁTILES Y DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS ENLAZADOS GLICOSÍDICAMENTE	67
4.1	INTRODUCCIÓN	69
4.2	MATERIALES Y MÉTODOS	71
4.2.1	Materia prima y preparación de la muestra	71

4.2.2	Extracción de volátiles a pH 7 y pH ácido natural	71
4.2.3	Separación, cuantificación e identificación de volátiles	72
4.3	EXTRACCIÓN DE GLICÓSIDOS	72
4.4	HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA	73
4.4.1	Obtención de agliconas	73
4.5	ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO	73
4.5.1	Cromatografía de gases de alta resolución (GC-FID)	73
4.5.2	Cromatografía de gases de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)	74
4.5.3	Análisis cualitativo y cuantitativo de agliconas	74
4.6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	74
4.6.1	Influencia del pH en la composición de volátiles	74
4.6.2	Volátiles enlazados glicosídicamente	77
4.7	CONCLUSIONES	84
V.	ESTUDIO CINÉTICO DEL PROCESO DE DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA	85
5.1	INTRODUCCIÓN	87
5.1.1	Deshidratación osmótica de frutas	87
5.1.2	Cinética de deshidratación osmótica	88
5.1.3	Variables del proceso de deshidratación osmótica	89
5.1.4	Proceso de impregnación a vacío	93
5.1.5	Mecanismo hidrodinámico	94
5.2	MATERIALES Y MÉTODOS	100
5.2.1	Materia prima	100
5.2.2	Equipos e instalaciones	101
5.2.3	Procedimiento experimental	101
5.2.4	Análisis realizados	102
5.2.4.1	Determinación de sólidos solubles	102
5.2.4.2	Determinación de pH	103
5.2.4.3	Determinación de acidez	103
5.2.4.4	Determinación de la variación de peso	104
5.2.4.5	Determinación de humedad	104
5.2.4.6	Determinación de densidad aparente y real	104

5.3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	105
5.3.1	Estudio de la cinética de deshidratación osmótica	106
5.3.2	Balance de masas	107
5.3.3	Cinética de pérdida de agua y ganancia de solutos	108
5.3.4	Cambios composicionales en la fase líquida de la fruta	114
5.4	CONCLUSIONES	118
VI.	CAMBIOS EN LA COMPOSICIÓN DE VOLÁTILES DURANTE LA DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA	121
6.1	INTRODUCCIÓN	123
6.2	MATERIALES Y MÉTODOS	124
6.2.1	Preparación de la muestra	124
6.2.2	Extracción de constituyentes volátiles	124
6.2.3	Análisis cromatográfico	125
6.2.4	Diseño estadístico	126
6.3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	127
6.3.1	Comportamiento de volátiles durante la deshidratación	127
6.3.2	Resultado estadístico	129
6.4	CONCLUSIONES	139
VII.	BIBLIOGRAFÍA	141
VIII.	ANEXOS	163
ÍNDICE DE FIGURAS		
Figura III.1	Equipo para destilación extracción con disolventes simultáneos	30
Figura III.2	Equipo para extracción líquido-líquido	32
Figura III.3	Procedimiento para microextracción en fase sólida	35
Figura III.4	Diagrama de fases del CO ₂ supercrítico	36
Figura III.5	Esquema de un sistema de extracción con fluido supercrítico (SFE)	37
Figura III.6	Equipo concentrador Kuderna-Danish con columna Vigreux	39

Figura III.7	Fotografía de la guayaba pera, entera y cortada en trozos	40
Figura III.8	Diagrama del equipo de extracción con fluido supercrítico (SFE)	44
Figura III.9	Distribución por grupo funcional de acuerdo a los métodos de extracción utilizados.	53
Figura IV.1	Distribución por grupo funcional a diferentes valores de pH por (SDE)	82
Figura V.1	Sistema sólido-líquido. Evolución de la deformación de relajación y HDM en un poro ideal	97
Figura V.2	Balace de materia del estudio cinético de la guayaba con y sin vacío pulsante.	107
Figura V.3	Cambio en la masa (ΔM), pérdida de agua (ΔM_w) y ganancia de soluto (ΔM_s) en tratamientos por deshidratación osmótica (OD) y deshidratación osmótica con vacío pulsante (PVOD) a 30 °C y diferentes concentraciones.	111
Figura V.4	Cambio en la masa (ΔM), pérdida de agua (ΔM_w) y ganancia de soluto (ΔM_s) en tratamientos por deshidratación osmótica (OD) y deshidratación osmótica con vacío pulsante (PVOD) a 40 °C y diferentes concentraciones.	112
Figura V.5	Cambio en la masa (ΔM), pérdida de agua (ΔM_w) y ganancia de soluto (ΔM_s) en tratamientos por deshidratación osmótica (OD) y deshidratación osmótica con vacío pulsante (PVOD) a 50 °C y diferentes concentraciones.	113
Figura V.6	Representación de 1-Y frente a la raíz cuadrada del tiempo.	117
Figura VI.1	Superficie de respuesta para la pérdida de volátiles totales de la guayaba deshidratada osmóticamente a presión atmosférica a: (a) 30 °Brix, (b) 40 °Brix y (c) 50 °Brix	136
Figura VI.2	Superficie de respuesta para la pérdida de volátiles totales de la guayaba deshidratada osmóticamente con vacío pulsante a: (a) 30 °Brix, (b) 40 °Brix y (c) 50 °Brix.	137

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I.1	Cuadro comparativo composicional de dos clasificaciones de guayaba por 100 g de producto comestible.	13
Tabla III.1	Fibras comerciales utilizadas para microextracción en fase sólida.	33
Tabla III.2	Comparación de los métodos de extracción utilizados en el estudio de la composición de volátiles.	49
Tabla III.3	Volátiles en guayaba fresca determinados por destilación-extracción con disolvente simultáneas (SDE)	59
Tabla IV.1	Comparación de los métodos de extracción utilizados en el estudio de la composición de volátiles	78
Tabla V.1	Parámetros cinéticos (variación de agua y solutos) para los diferentes tratamientos a 30, 40 y 50 ° C.	109
Tabla V.2	Constantes cinéticas para la pérdida de peso (ΔM).	114
Tabla V.3	Coefficientes de difusión para ambos tipos de tratamiento OD y PVOD a diferentes temperaturas y concentraciones de la solución osmótica.	116
Tabla VI.1	Distribución de las variables para los tratamientos de DO a presión atmosférica	131
Tabla VI.2	Distribución de las variables para los tratamientos de DO a vacío pulsante.	132
Tabla VI.3	Matriz de correlación de los componentes volátiles de la guayaba deshidratada osmóticamente a presión atmosférica	133
Tabla VI.4	Matriz de correlación de los componentes volátiles de la guayaba deshidratada osmóticamente con pulso de vacío	134
Tabla VI.5	Modelos de regresión múltiple para la pérdida de volátiles totales en la DO de guayaba.	135

I. INTRODUCCIÓN

1. ASPECTOS GENERALES, COMPOSICIÓN Y PROPIEDADES DE LA GUAYABA

1.1 LA GUAYABA

La guayaba (*Psidium guajava* L.) es originaria de América tropical, posiblemente con lugar de origen entre México y Perú. Es una planta arbórea, de 2 a 8 m, pero puede llegar a crecer hasta 12 m dependiendo de las condiciones climáticas. En otros países también se le conoce como guayabo, guara, arrayana, luma y guava (inglés). Se desarrolla en climas con una temperatura entre 18 y 28 °C. Pertenece a la familia de las Mirtáceas que incluye más de 200 especies. En Colombia se cultivan distintas variedades como son: cimarrona, coronilla, pera, costeña, australiana, china, manzana blanca, manzana roja, agria, peruana, brasilera, martinica, momposina, rosada, acanalada, colorada, blanca, polonuevo, llanera y algunas otras mejoradas como son la Trujillo-2, D-13, D-14, Palmira ICA-1 y Palmira ICA-2.

Los principales países productores en Latinoamérica son Colombia, Brasil, México, El Salvador, Venezuela, Perú y Ecuador. En Colombia existe una producción anual de 101 048 t (solo para consumo interno), de los cuales el 70 % es para consumo fresco y el 30 % para la industria. La mayoría del territorio colombiano cultiva la guayaba principalmente en los departamentos de Santander, Cundinamarca, Tolima, Valle, Antioquia y la Costa Atlántica. En el mercado a nivel nacional tiene una demanda alta, solo para la producción de bocadillo se destinan anualmente 38 000 t, con un valor de veintiun mil millones de pesos, sin contar el consumo en fresco, ni la preparación de jaleas, ni mermeladas dentro del país. A nivel internacional, los consumidores son principalmente EE.UU., Alemania, Japón y Canadá (pulpa congelada) (Cámara de Comercio, 2010).

De las guayabas existentes se escogió la guayaba pera (Palmira ICA-1), por su aroma exquisito, rendimiento en la pulpa e intensidad del color. Se propone obtener un producto con una nueva presentación que facilite la exportación, y genere una alternativa de consumo e ingresos. En Colombia se exportan alrededor de 192.000 t de guayaba, de todas éstas la más apetecida es la de color rojo aperada, debido a su alto

contenido nutricional en vitaminas A, B₁, B₂ y vitamina C, de igual manera es importante el contenido de aminoácidos esenciales tales como triptófano, lisina y metionina. La coloración roja se debe principalmente a la presencia de carotenos y el sabor ligeramente astringente a la presencia de taninos.

Uno de los principales inconvenientes que presenta la exportación de la guayaba se debe al fruto debido a que es altamente delicado y perecedero, produciendo una baja calidad del producto. Por esta razón, se exporta en dulce o como pasta de guayaba llamada “bocadillo”, como consecuencia de ello es importante el desarrollo de nuevos productos siendo la deshidratación osmótica una buena alternativa.

La deshidratación de frutos por convección ha sido usada a nivel industrial, por más de una década, como medio de obtención y conservación de fruta mínimamente procesada, sin embargo ocurren cambios en sus características sensoriales. La deshidratación osmótica es una técnica que permite reducir el contenido de agua por inmersión del alimento en una disolución concentrada con solutos como azúcar, xilosa o en otros casos con sal, ocasionando un flujo de agua hacia la disolución y de solutos hacia el interior de la fruta, hasta alcanzar el equilibrio termodinámico. Esta técnica protege y/o mejora las características organolépticas del producto final (color y sabor), además de presentar ventajas económicas frente a otros métodos de deshidratación.

1.1.1 DESCRIPCION DEL FRUTO

El tiempo de maduración del fruto varía entre los 120 a 150 días después de pasada la florecencia, aunque algunas variedades pueden llegar hasta los 300 días, dependiendo primordialmente de factores climáticos. La forma del fruto varía de redonda a ovoide y/o aplanada o acanalada. El color de la corteza del fruto presenta tonalidades que van de verde claro a oscuro y de amarillo a anaranjado; puede ser delgada, media o gruesa. La pulpa presenta diferentes tonalidades: blanca, crema, amarillenta, anaranjada, rojiza y morada. El peso del fruto cuando está maduro es variado; puede pesar de 25 hasta más de 600 g, con un porcentaje de semilla que va del 1 al 25% aproximadamente. Acerca del sabor, varía de dulce a muy ácido y respecto al

aroma se caracteriza por una nota exquisita casi siempre dulzona muy penetrante, fuerte, hasta ligeramente débil. Para el presente estudio se escogió la especie mejorada Palmira ICA-1, por el rendimiento de la pulpa, que puede llegar hasta los 450 g por fruto, el color rojo intenso y aroma especialmente dulce, que hacen de esta fruta un atractivo especial al paladar. El fruto aperlado tiene un diámetro que varía de 5 a 15 cm y una altura de 10 a 15 cm.

1.1.2 IMPORTANCIA DE LA GUAYABA

La guayaba es muy apetecida por su sabor y aroma especial. Se consume como zumo, refresco, en postre como jalea, en pasta para la elaboración de diversas clases de bocadillo que, mezclado con un alto contenido de azúcar, es el producto principal de exportación con una importancia económica en los departamentos de Cundinamarca, Boyacá y los Santanderes. Industrialmente la guayaba es una fruta altamente procesada, cuyo principal producto, el bocadillo se ha logrado colocar en los mercados internacionales.

La guayaba roja se usa para la elaboración del bocadillo del mismo color y combinada con la blanca dan la apariencia de tiras de colores. El bocadillo es una pasta del dulce de guayaba, que existe en diferentes presentaciones, puede ser dura y seca llamada bocadillo veleño, hasta una más fluida rellena con arequipe (dulce de leche), también es utilizada como material de relleno en pastelería.

Desde el punto de vista familiar es una buena alternativa para el consumo como refresco en agua, batido con leche y azúcar, que es llamado sorbete. Cocido a fuego lento con azúcar forma una jalea que se sirve con queso a manera de postre. Desde el punto de vista nutricional es un recurso económico y fácil de conseguir apreciado por su alto contenido en vitamina C, es vital para combatir los resfriados y desordenes estomacales.

La variedad más usada para la fabricación del zumo es la guayaba coronilla, de forma redondeada, que tiene un contenido de fibra menor y la guayaba pera es usada para la exportación de la pulpa pasteurizada. La producción de guayaba se encuentra en

todo el territorio nacional, pero respecto a cultivos tecnificados, Santanderes, Boyacá, Cundinamarca, Tolima, Huila, Valle del Cauca y la Costa Atlántica son los principales productores de esta variedad, las cosechas más grandes se presentan en Febrero y Diciembre. Sin embargo, con cultivos tecnificados, de buen riego y varias podas en el año, la producción es permanente.

1.1.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA.

La guayaba, inicialmente verde y dura, pasa a un estado de maduración en el transcurso de 15 días después de alcanzar su máximo diámetro. La cáscara, se torna de amarilla a rojiza dependiendo de la variedad. A medida que avanza la maduración se vuelve más aromática, menos dura y el contenido de azúcares aumenta considerablemente.

Es un recurso muy utilizado, gracias a su alto contenido de ácido ascórbico el cual puede llegar hasta 300 mg /100 g de pulpa. Es rica en fósforo, calcio, vitaminas y tiene una buena fuente de pectinas sobre todo cuando está madura (Calderón, 1995).

El agua es el componente mayoritario de las frutas frescas, posee un bajo contenido calórico, pero indiscutiblemente la propiedad más importante es el contenido de vitamina C, de seis a siete veces mayor que el encontrado en cítricos como la naranja. Sin embargo, algunas sus propiedades varían ligeramente de una variedad a otra que, en general, se clasifican por su color; como guayaba blanca (Glum Sali) y guayaba roja (Palmira ICA-1) (Tabla I.1).

Tabla I.1 Cuadro comparativo composicional de dos variedades de guayaba

Contenido en 100 g de pulpa	Variedades	
	Blanca	Roja
Calorías	36	36
Agua (g)	86	86
Proteína (g)	0,9	0,9
Grasa (g)	0,1	0,1
Azúcares (g)	9,5	9,5
Fibra (g)	2,8	2,8
Cenizas (g)	0,7	0,7
Calcio (mg)	15	17
Fósforo (mg)	22	30
Hierro (mg)	0,6	30
Vitamina A (U.I.)	0,03	400
Tiamina (mg)	-	0,05
Riboflavina (U.I.)	0,03	0,03
Niacina (U.I.)	0,6	0,6
Vitamina C (mg)	240	220

1.2 EL AROMA DE LA GUAYABA

El aroma de guayaba ha sido estudiado por varios investigadores (Pino *et al.*, 1990; 1999; 2001b; 2002; 2002a; Steinhaus *et al.*, 2008, 2009; Quijano *et al.*, 1999; Vernin *et al.*, 1991; Nishimura *et al.*, 1989; Askar *et al.*, 1986;), que la definen como de sabor muy dulce. Su composición varía dependiendo del método de extracción, del pH de la fruta, del grado de madurez, de la variedad. Los estudios muestran alrededor de 200 compuestos identificados, donde predominan particularmente los ésteres. En dos variedades de guayaba blanca y rosada cosechadas en Japón (Nishimura *et al.*, 1989) se identificaron 122 compuestos, donde sobresalieron los aldehídos con seis átomos de carbono, responsables del aroma a verde. En la guayaba procedente de Egipto se identificaron 192 compuestos entre los que predominaron los ésteres etílicos, el acetato de 3-fenilpropilo, alcohol cinámico, junto con las γ - y δ -lactonas (Vernin *et al.*, 1991). En este trabajo se consideraron como constituyentes mayoritarios, el acetato de (*Z*)-3-hexenilo y su correspondiente alcohol, la 2-pentanona, el acetato de 3-fenilpropilo y el 3-fenilpropanol. Vernin cita en su artículo, que los componentes principales de la cáscara de la guayaba procedente de Filipinas fueron los sesquiterpenos y monoterpenos

de ellos los más abundantes fueron el β -cariofileno, aromadendreno, β -bisaboleno y los monoterpenos algunos de ellos oxigenados como el α -pineno, limoneno, 1,8-cineol, α -terpineol, detectados mediante el método de extracción del espacio de cabeza (*headspace*). Otros compuestos como tiazolidinas han sido identificadas en esta fruta (Fernández *et al.*, 2001). Compuestos azufrados fueron detectados en la guayaba por detección con quimioluminiscencia (König *et al.*, 1998).

1.3 DESHIDRATACIÓN DE LOS ALIMENTOS

La deshidratación desde la antigüedad, ha sido usada como una de las principales técnicas de conservación de los alimentos. El principal objetivo de la deshidratación es extender la vida útil, gracias a la reducción del contenido de humedad en los alimentos, disminuyendo la actividad acuosa, lo que genera una actividad microbiana menor, que junto con el valor del pH, si es ácido, alargan la vida del alimento sin deteriorarse, aunque algunas de sus propiedades organolépticas pueden cambiar. Uno de los métodos más antiguos de conservación de los alimentos es el secado solar, técnica rústica que se ha modificado por métodos más sofisticados como: el secado en hornos por convección, el secado por microondas, congelación seguida de la liofilización, centrifugación, prensado y la osmodeshidratación, entre otras (Pointing *et al.*, 1966).

1.3.1 DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA DE FRUTAS

La deshidratación osmótica de frutas y algunos vegetales ha sido usada desde mediados del siglo XX. Pointing *et al.* (1966), dieron este nombre al proceso mediante el cual un alimento con buena consistencia, entero o fraccionado, es inmerso en una disolución azucarada o con sal de elevada concentración en solutos, de manera que su presión osmótica sea superior a la del alimento a deshidratar. El gradiente de presión osmótica provoca un flujo de agua hacia la disolución, a la vez que los solutos de la disolución entran al alimento por procesos de capilaridad. La diferencia de presión igualmente genera salida de nutrientes como minerales y vitaminas hidrosolubles hacia la disolución.

La deshidratación osmótica también puede utilizarse como pre-tratamiento antes de otros procesos como la congelación o el secado de frutas, mejorando significativamente las propiedades del producto final. La combinación de la deshidratación osmótica con la congelación hace que disminuya la formación de cristales de hielo dentro de la fruta, al disminuir el contenido de agua, lo cual se ve reflejado en la disminución de modificaciones estructurales (Mugurama *et al.*, 1987; Ilker y Szczesniak, 1990) y sensoriales.

En cuanto al secado, la implementación de un pre-tratamiento osmótico mejora la retención de color, baja el nivel de degradación de la vitamina C, mejorando la estabilidad, al modificar o aumentar la composición de azúcar en la fruta. La concentración de esta produce un efecto protector (Torreggiani *et al.*, 2001), debido a que modifica la temperatura de transición vítrea de la fruta, aumentándolo y como consecuencia presenta un colapso estructural muy bajo (Ross y Karel, 1991; Levi y Karel, 1995, citado por Torreggiani *et al.*, 2001).

Una de las cualidades que más se ve beneficiada es el aroma y el sabor porque se potencia el contenido de azúcares y compuestos furánicos, piránicos y ésteres principalmente, reteniéndose éstos en los tejidos, mientras que los compuestos carboxílicos y algunos alcoholes se eliminan hacia la solución osmótica, debido probablemente a las diferentes solubilidades de estos compuestos en el agua (Torreggiani *et al.*, 2001). Se puede decir que la deshidratación osmótica mejora la calidad de sabor a fresco de algunas frutas (Marltini *et al.*, 1991; Panadés *et al.*, 2003), potencia el aroma de estas como la piña (Pino *et al.*, 1999) o fresa (Talens *et al.*, 2001) y prolonga la vida útil del producto.

II. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

2.1 OBJETIVOS

2.1.1 OBJETIVO GENERAL

El objetivo general consistió en caracterizar la composición de constituyentes volátiles en el aroma de la guayaba pera (*Psidium guajava* L., var. Palmira ICA-1) fresca, mediante diferentes métodos de extracción. Determinar la influencia del pH en la composición de volátiles durante la extracción y los constituyentes enlazados glicosídicamente. Establecer el efecto de los tratamientos osmóticos con disoluciones de sacarosa de diferente concentración, en la cinética de deshidratación con y sin pulso de vacío de la guayaba pera (*Psidium guajava* L., var. Palmira ICA-1) y su evolución en la composición del aroma.

2.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el perfil aromático de la guayaba pera fresca mediante distintos métodos de extracción.
- Identificar los constituyentes volátiles en fruta fresca mediante diferentes métodos de extracción como: destilación-extracción con disolvente simultáneas (SDE), extracción líquido-líquido (L-L), microextracción en fase sólida por espacio de cabeza (HS-SPME) y extracción mediante el uso de fluidos supercríticos (SFE).
- Estudiar la composición de volátiles en función del pH: a la acidez de la fruta y a pH neutro.
- Analizar los posibles constituyentes volátiles libres y los enlazados glicosídicamente.
- Caracterizar la cinética de deshidratación osmótica de la guayaba pera, en soluciones de sacarosa de diferentes concentraciones a presión atmosférica y mediante la aplicación del pulso de vacío.
- Estudiar el efecto de las soluciones osmóticas de diferente concentración, en sistema a presión atmosférica y con aplicación del pulso de vacío, desde el punto

de vista del aroma.

- Analizar el efecto de los tratamientos osmóticos a diferentes tiempos de deshidratación en la evolución del aroma.

2.2 PLAN DE TRABAJO

2.2.1 ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN DE VOLÁTILES EN LA GUAYABA FRESCA

- Preparación de la muestra fresca para el estudio de la composición de volátiles, mediante cuatro métodos de extracción: líquido-líquido (L-L), destilación-extracción con disolvente orgánico simultáneas (SDE), microextracción en fase sólida por espacio de cabeza (HS-SPME) y extracción con fluidos supercríticos (SFE).
- Concentración de los extractos obtenidos por extracción líquido-líquido y destilación-extracción simultáneas con disolvente.
- Análisis de la composición química del perfil cromatográfico obtenido en cada técnica, el cual comprende:
 - a) La identificación de la mayoría de los constituyentes en cada extracto mediante el análisis espectral de cada componente.
 - b) Cuantificación relativa de los compuestos frente a la concentración de un patrón interno por cromatografía de gases CG-FID y cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS).

2.2.2 EFECTO DE LA VARIACIÓN DEL pH, EN LA COMPOSICIÓN DE VOLÁTILES Y DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS ENLAZADOS GLICOSÍDICAMENTE

- Preparación de la muestra para la extracción de volátiles por el método LL a dos valores de pH.
- Obtención de los extractos, por el método anterior, secado y concentración de los mismos.

- Separación de los compuestos mediante métodos cromatográficos de los extractos obtenidos.
- Análisis de la composición química del perfil cromatográfico obtenido a cada valor de pH que comprende:
 - a) La identificación de la mayoría de los constituyentes en cada extracto mediante el análisis espectral de cada componente.
 - b) Cuantificación relativa de los compuestos frente a la concentración de un patrón interno por cromatografía de gases CG-FID y cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS).
- Aislamiento, purificación y liofilización de glicósidos mediante columna cromatográfica.
- Hidrólisis enzimática de compuestos enlazados glicosídicamente.
- Obtención del extracto de compuestos volátiles enlazados glicosídicamente.
- Separación de los compuestos mediante métodos cromatográficos de los extractos obtenidos.
- Análisis del perfil cromatográfico de los volátiles obtenidos por hidrólisis enzimática.
- Cuantificación relativa de los compuestos frente a la concentración de un patrón interno por cromatografía de gases con detector de llama (GC-FID) y cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS).

2.2.3 CARACTERIZACIÓN DE LA CINÉTICA DE DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA

- Preparación de las muestras y de las disoluciones osmóticas para los diferentes tratamientos osmóticos.
- Diseño experimental de los tratamientos osmóticos con y sin pulso de vacío y realización de los experimentos correspondientes.
- Caracterización de las propiedades fisicoquímicas de la materia prima y de las muestras a lo largo de los tratamientos osmóticos: variación de peso, volumen, densidad, contenido de humedad y sólidos solubles, a presión

atmosférica OD y con pulso de vacío (PVOD).

- La concentración de las soluciones osmóticas fueron de 20, 30, 40 y 50 (° Brix).
- Comprobación de los balances de materia para todas las series experimentales
- Análisis de la cinética de pérdida de peso y volumen, asociada con la pérdida de agua y ganancia de solutos en las muestras.
- Análisis de los cambios de composición ocurridos en la fracción líquida de las frutas a través de una aproximación difusional.
- Análisis de los rendimientos en cada tratamiento a través de la evolución de la pérdida de peso y volumen en función de la concentración alcanzada en la fase líquida de la muestra.

2.2.4 EFECTO DE LA DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA EN LA COMPOSICIÓN DE VOLATILES

- Preparación de las muestras para la extracción del aroma en guayaba pera fresca y deshidratada.
- Obtención de los extractos a diferentes tiempos de deshidratación con y sin pulso de vacío, por el método de extracción más adecuado.
- Concentración de los extractos obtenidos.
- Separación cromatográfica de los extractos obtenidos usando dos clases diferentes de fases estacionarias.
- Análisis de la evolución del aroma e identificación de los componentes en estudio, mediante la espectrometría de masas.
- Identificación de los compuestos volátiles mayoritarios y su cuantificación por cromatografía de gases (GC) y cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS).

III ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN DE VOLÁTILES EN GUAYABA FRESCA

3.1 INTRODUCCIÓN

La guayaba es un fruta ampliamente distribuida de la que existe diversidad de especies y de ellas alrededor de 80 se encuentran en Colombia (Calderón, 1995). Existen estudios sobre la composición del aroma de la guayaba, proveniente de diversos países, pero no en todos los casos se especifica la variedad, siendo importante para ver semejanzas y diferencias entre ellas. El estudio del perfil aromático, ha mostrando que la composición del aroma es una mezcla de compuestos con diferente grupo funcional (Quijano *et al.*, 1999, 2004).

Diversos métodos de extracción han sido utilizados para obtener los volátiles del aroma de guayaba: destilación a presión reducida, extracción líquido-líquido (L-L), destilación-extracción con disolvente simultáneas (SDE) y análisis del espacio de cabeza.

Stevens *et al.* (1970), Wilson y Shaw (1978, 1982), fueron los primeros investigadores que realizaron el estudio del aroma en el puré de guayaba. Reportan como constituyentes importantes dos hidrocarburos terpénicos y el β -cariofileno como uno de los componentes sensorialmente más importantes. Nishimura *et al.* (1989), mediante extracción con diclorometano en zumo de guayaba blanca y rosada y en el puré, identificaron 122 compuestos. De ellos, los ésteres, aldehídos y alcoholes fueron los componentes más representativos. En guayaba procedente de Egipto, Vernin *et al.* (1991), identificaron 132 volátiles, donde los ésteres y derivados terpénicos fueron los más abundantes. Los autores señalaron que la composición hallada era muy diferente a la informada en otros trabajos. Nuevamente este método fue empleado para analizar los compuestos volátiles en puré y se cuantificaron 51 compuestos (Jordán *et al.*, 2003). El componente más abundante fue la 3-hidroxi-2-butanona. Quijano *et al.* (1999), estudiaron la composición de volátiles en dos variedades de guayaba, mediante la extracción L-L y fraccionamiento del extracto sobre sílica gel; 86 compuestos fueron identificados en guayaba pera y 77 en guayaba manzana.

El análisis del espacio de cabeza es una técnica que permite aislar y concentrar sustancias volátiles en fase de vapor en equilibrio con la matriz condensada, se basa

en la adsorción de estos constituyentes sobre fibras de polaridad diferente, que unida a la alta sensibilidad de los métodos instrumentales, permite conocer la composición de volátiles sin uso de disolventes. De esta forma, Toulemonde y Beauverd (1985), utilizaron trampas sobre carbón activado con el paso de un gas de arrastre inerte. En este estudio se identificaron más de 50 componentes, algunos reportados por primera vez. En 1994, Bassols y Demole usaron el procedimiento dinámico e identificaron compuestos azufrados como el 2-pentanotiol, considerado como un contribuyente característico del aroma de la guayaba. Yen y Lin (1992), mediante el uso de la técnica de purga y trampa acoplada a la cromatografía de gases y a la espectrometría de masas (P&T-GC-MS), evaluaron la composición de la fracción volátil para el jugo de guayaba y definieron como constituyentes mayoritarios los ésteres y los alcoholes. Otro método de extracción de volátiles, es la HS-SPME, Paniandy *et al.* (2000), mediante éste, analizaron la pulpa y señalaron a la γ -butirolactona y al nerolidol como contribuyentes importantes del aroma.

Los estudios realizados revelan que los componentes del aroma de guayaba son principalmente: ésteres, aldehídos, alcoholes, terpenos y algunos compuestos azufrados. Como componentes mayoritarios son considerados, el β -cariofileno, alcoholes de tipo C_6 : (*Z*)-3-hexenol, (*E*)-3-hexenol, hexanol y aldehídos tal como: hexanal y (*E*)-2-hexenal, ésteres del ácido acético entre ellos el acetato de (*Z*)-3-hexenilo y acetato de 3-fenilpropilo, otros de composición variada como el alcohol cinámico y las γ - y δ -lactonas (Quijano *et al.*, 1999).

En la guayaba blanca, Yusof y Mohamed (1987), estudiaron en tres estados de maduración la composición química y de volátiles. Los estados de madurez fueron caracterizados de acuerdo a la evolución del color, pH, acidez, contenido de azúcares, sólidos solubles, vitamina C y constituyentes volátiles. De ellos los sesquiterpenos como el β -cariofileno y el α -selineno se perfilaron como los mayoritarios y los que más cambiaron con el progreso de la maduración fueron los ésteres y aldehídos.

En un estudio similar sobre guayaba blanca (cv. Coltibel), se analizaron los componentes volátiles y no volátiles en diferentes estadios de madurez, los aldehídos, (*E*)-2-hexenal, (*E*)-3-hexenal predominaron y durante la madurez, fueron los ésteres como el acetato de (*Z*)-3-hexenilo y acetato de (*E*)-3-hexenilo y los sesquiterpenos

como el β -cariofileno, α -humuleno y β -bisaboleno presentes en concentraciones altas (Soares, 2007). Los volátiles obtenidos fueron determinados con la técnica del espacio de cabeza y analizados mediante cromatografía de gases – masas (GC-MS). Respecto al contenido de ácido ascórbico se observó que decrece durante la maduración, mientras que la actividad de la enzima pectinmetilesterasa se incrementa con el progreso de la maduración.

La guayaba común en Cuba ha sido muy estudiada (Ortega y Pino, 1998; Pino *et al.*, 1990). Estos investigadores relacionaron las concentraciones de volátiles con la composición del aroma y su percepción sensorial, concluyeron que los aldehídos son contribuyentes importantes del aroma. Igualmente, Pino *et al.* (1999), en otro estudio concluyeron que los componentes volátiles sensorialmente importantes de la guayaba son el β -cariofileno, y los ésteres como el acetato de 3-fenilpropilo, acetato de (*E*)-3-hexenilo y el acetato de (*E*)-cinamilo.

Otras frutas del género *Psidium* también fueron analizadas por los mismos autores (Pino *et al.*, 2001a, 2002a, 2002b). De forma similar, en la guayaba llamada de Costa Rica cultivada en Cuba, Pino *et al.* (2002b) identificaron 173 compuestos, de ellos los mayoritarios fueron los sesquiterpenos.

Posteriormente se publican algunos estudios sobre la composición de volátiles en hojas mediante diferentes métodos de extracción, entre ellos la extracción de sustancias con fluidos supercríticos (SFE), Sagrero-Nieves *et al.* (2006), identificaron los sesquiterpenos, como constituyentes mayoritarios. Otros autores como Ekundayo *et al.* (2006) y Pino *et al.* (2001b), hallaron compuestos similares por otros métodos de extracción. García *et al.* (2009), realizaron un estudio sobre constituyentes volátiles libres y enlazados glicosídicamente en hojas de guayaba pera Palmira ICA-1, los terpenos fueron los constituyentes mayoritarios, algunos de ellos oxigenados. Quijano (2004), efectuó un estudio en diferente época del año sobre la composición del aroma en pétalos, sépalos y estambres en dos variedades de guayaba Palmira ICA-1 y Glum Sali, encontró diferencias muy marcadas en la composición de estas dos variedades, respecto a sus grupos funcionales.

De otro lado Steinhaus *et al.* (2008), en el extracto obtenido por el método de evaporación asistida con disolvente (SAFE), reportan 31 componentes volátiles en la

guayaba regional colombiana (variedad roja). Los resultados de la identificación de éstos compuestos junto con los factores de dilución revelan que los constituyentes de tipo furánico al igual que algunos compuestos azufrados, hexanol y ésteres son los contribuyentes importantes del aroma de esta fruta.

Los mismos autores, publicaron los resultados acerca de la cuantificación y cálculo de la actividad de olor (OAV) en diecisiete compuestos, mediante el ensayo de estabilidad isotópica (2009). Como compuestos impacto característicos de la guayaba el (Z)-3-hexenal, 3-sulfanil-1-hexanol, 4-hidroxi-2,5-dimetil-3 (2H)-furanona, acetato de 3-sulfanilhexilo, hexanal, butanoato de etilo, acetato de cinamilo y metional, algunos de estos ya habían sido reportados por Quijano *et al.* (1999). Posteriormente, se observaron cambios en la actividad de olor durante la maduración, en dos variedades regionales de guayaba mediante análisis por dilución isotópica (SIDA), donde se observó un decrecimiento en la concentración de aldehídos de seis carbonos y algunos compuestos azufrados (Sinuco *et al.*, 2010). Recientemente se efectuó un estudio sobre microencapsulación del aroma de la guayaba (Osorio *et al.*, 2011). En otro estudio el perfil de volátiles mediante HS-SPME, efectuado en polvo de guayaba, se encontró una similitud en la descripción sensorial desarrollada por olfatometría con respecto del análisis cromatográficos (Osorio *et al.*, 2011a)

Recientemente Peralta (2010), optimizó los parámetros para la obtención de pectina desodorizada y despigmentada en pulpa de guayaba Palmira ICA. Usaron SFE y etanol como cosolvente. El aroma obtenido en el extracto etanólico se atribuyó a la presencia de constituyentes impacto de la guayaba (Quijano *et al.*, 1999).

3.1.1 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN Y EQUIPOS USADOS PARA EL ESTUDIO VOLÁTILES

La composición del aroma en el alimento es complejo debido a varios factores como son: la diversidad de las especies, las condiciones de madurez, clase de procesamiento, volatilidad de los compuestos, pluralidad de las funciones químicas que lo constituyen, así como del sistema de extracción. Acerca de estos últimos

existen algunos métodos tradicionales y otros más novedosos que requieren equipos más sofisticados y mayor inversión. Dentro de los métodos tradicionales se encuentran el método de extracción líquido-líquido (Drawert y Rapp, 1968), destilación-extracción simultáneas con disolvente (Likens y Nickerson, 1964), por espacio de cabeza (*headspace*) (Bassols y Demole, 1994) y los más novedosos, la microextracción en fase sólida (Pawliszyn y Arthur, 1990, 1997, 1999a, 1999b) y la extracción con fluidos supercríticos (Chester *et al.*, 1994, 2000; Prasad, 1994), este último usado especialmente en la extracción del aceite de semillas. Los métodos usados en el presente estudio son descritos a continuación.

3.1.1.1 DESTILACIÓN-EXTRACCIÓN CON DISOLVENTE SIMULTÁNEAS (SDE)

La destilación extracción con disolvente simultáneas (Chaintreau, 2001), consiste en extraer los constituyentes del aroma en fase de vapor provenientes de la ebullición del zumo de la fruta con el disolvente también en esta misma fase. Los vapores provenientes de la fase acuosa, como orgánica son mezclados en forma continua. Esta técnica permite aislar los constituyentes volátiles de la fruta en un tiempo de 1 h. La Figura III.1, muestra un equipo para la destilación - extracción simultáneas con disolvente.

El equipo tradicional propuesto por Chaintreau (2001), consiste en un matraz (10) en el que se coloca la muestra homogenizada en disolución acuosa cuando se realiza al pH de la fruta o en disoluciones buffer para otro valor de pH. En el recipiente (2) se coloca el o los disolventes previamente destilados, provistos con una manta de calentamiento con control de temperatura. En (6) la parte baja del tubo en U se coloca una pequeña cantidad de agua destilada. El recipiente (10), se somete a ebullición mediante una manta de calentamiento. Se mezclan el vapor de agua y el o los disolventes que ascienden hasta los refrigerantes, donde son condensados. Las fases acuosa y orgánica se recolectan en el tubo en U y por diferencia de densidades se separan. Debido al efecto de sifón, cada fase cae en su respectivo matraz, de esta forma, el disolvente se enriquece con los volátiles extraídos, repitiéndose el proceso descrito durante el tiempo que se desee.

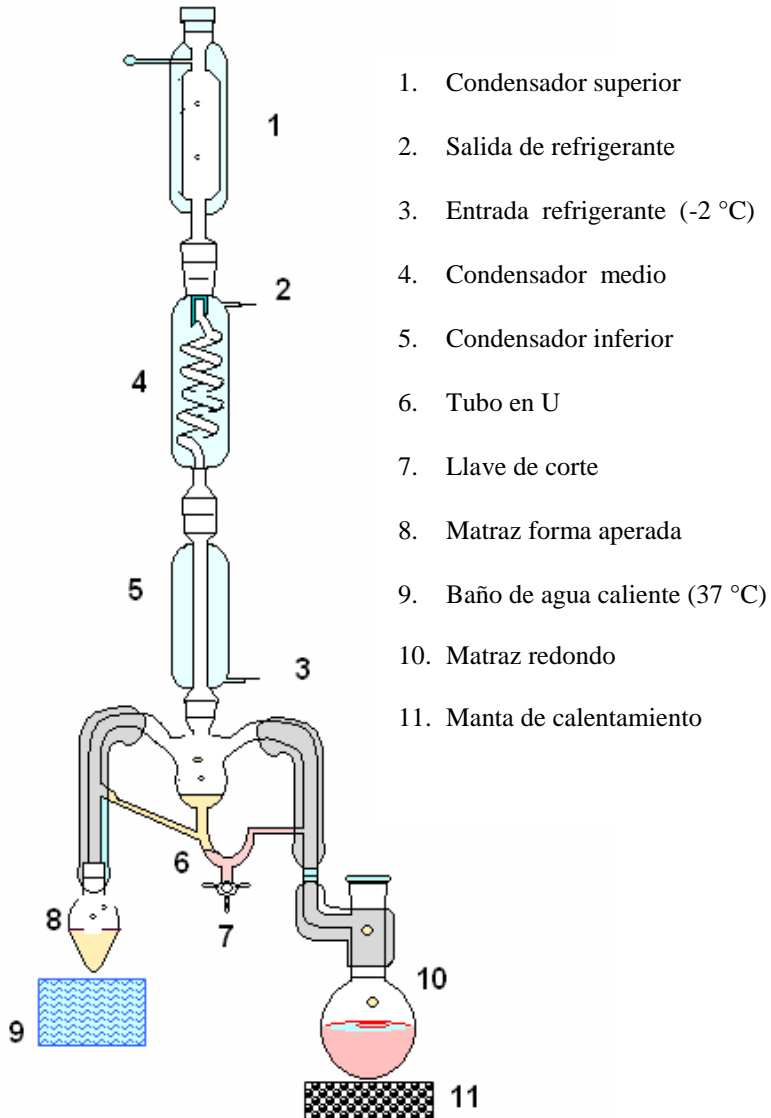


Figura III.1 Equipo para la destilación-extracción con disolvente simultáneas

3.1.1.2 EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO (L-L)

Es una técnica desarrollada por Drawert y Rapp (1968), mediante la cual se extraen los volátiles de la muestra en fase acuosa por contacto directo y continuo con el sistema de disolventes permitiendo obtener compuestos de diferente polaridad. En esta técnica, la muestra no es sometida a tratamiento térmico por lo tanto permite extraer constituyentes característicos de la fruta y otros generados por manipulación de la muestra a temperatura ambiente. Cuando se trabaja al pH de la fruta, el cual es ácido, ocurre liberación de compuestos debido a la acción de las enzimas, mientras que cuando se extrae a pH neutro hay una inhibición enzimática (Parada *et al.*, 2000). Para efectuar la extracción se requiere la eliminación de partículas en suspensión del zumo de la fruta mediante centrifugación con el fin de permitir el paso del disolvente más fácilmente a través de la muestra. El extracto obtenido es congelado para eliminar el agua y puede ser concentrado por una corriente suave de nitrógeno o por eliminación del sistema de disolventes a una temperatura no superior a los 40 °C. La Figura III.2, muestra un equipo para la extracción líquido- líquido (L-L).

La técnica se usa para muestras en estado acuoso, generalmente zumos de frutas libre de residuos, razón por la cual la muestra se somete a centrifugación, trabajando solo el sobrenadante que se coloca en un equipo L-L, para la extracción de volátiles. Este consta de un refrigerante (1), por el cual circula la mezcla de etanol-agua a 2 °C en forma continua, una columna (2) en la que se coloca el sobrenadante y el tubo (3), que permite recircular el sistema de disolvente a través de un vidrio sinterizado (4), que permite la salida del sistema de disolvente. En el balón (5) se coloca la fase orgánica provista de una manta de calentamiento (6) con control de temperatura. La fase orgánica se evapora a T° baja y asciende hacia el refrigerante y luego de condensarse cae en el tubo (2), forzando la salida por la parte inferior del tubo a través del vidrio sinterizado. La fase orgánica pasa a la fase acuosa ascendiendo por la parte externa a través del sobrenadante, extrayendo los volátiles. Por rebose, la fase orgánica cae en el balón (5), llevando consigo los volátiles.

El proceso recircula durante un tiempo determinado, obteniendo un extracto orgánico rico en volátiles.

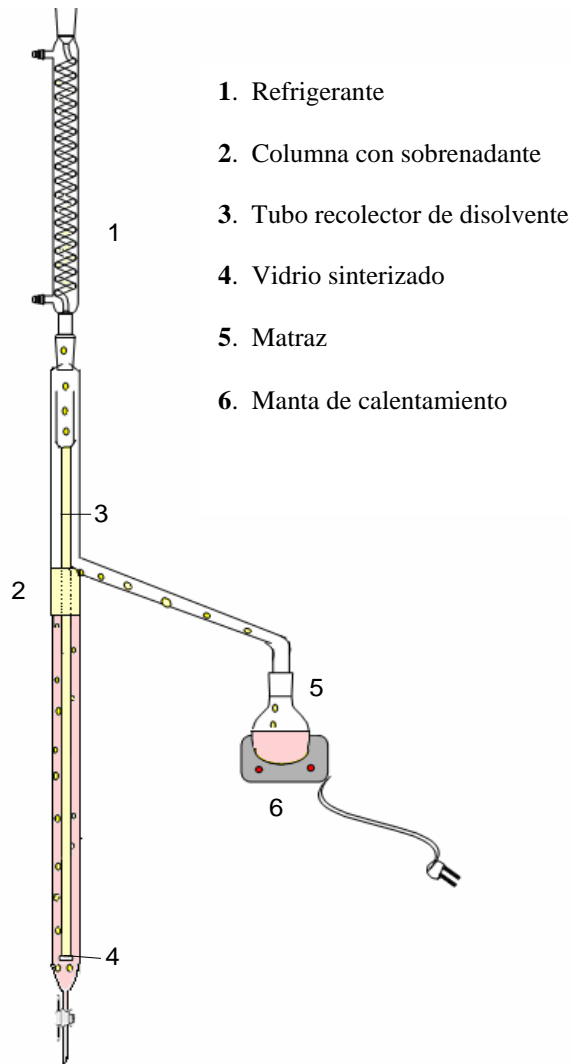


Figura III.2 Equipo para la extracción líquido-líquido

3.1.1.3 MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA POR ESPACIO DE CABEZA (HS-SPME)

La microextracción en fase sólida por espacio de cabeza, cuya sigla en inglés es SPME, es una de técnica de extracción de analitos que se adsorben sobre una fibra de gel de sílice recubierta con material polimérico. Los compuestos atrapados se desorben directamente en el puerto de inyección del cromatógrafo de gases y son conducidos a la columna cromatográfica mediante el gas de arrastre. El empleo de esta técnica elimina el uso de disolventes, reduce el tiempo de extracción y por tanto de análisis (Pawliszyn, 1999b).

La técnica es sencilla, pero requiere de un control estricto del tiempo de extracción, de la desorción de los volátiles en el inyector del cromatógrafo, además del control de temperatura de la muestra durante la exposición. Dependiendo de la composición de volátiles en la muestra, se escoge la fibra de acuerdo a la polaridad de la muestra. En la Tabla III.1 se muestran varias clases de recubrimientos de la fibra.

Tabla III.1 Fibras comerciales utilizadas para microextracción en fase sólida

Fase estacionaria/espesor de recubrimiento	Uso	Características
PDMS: Polidimetilsiloxano (7, 30 y 100 μm)	GC/HPLC	No polar, para compuestos volátiles
PA: Poliacrilato (85 μm)	GC/HPLC	Polar, para compuestos semivolátiles polares
CW/DBV: Carbowax / Divinilbenceno (65 μm)	GC	Polar, para alcoholes y compuestos volátiles
PDMS/DVB: Polidimetilsiloxano/divinilbenceno (65 μm)	GC	No polar para compuestos volátiles, aminas y nitroaromáticos.
CAR/PDMS: Carboxen/polidimetilsiloxano (75 y 85 μm)	GC	Para gases y compuestos de bajo peso molecular.
DVB/CAR/PDMS: Divinilbenceno/carboxen/polidimetilsiloxano (50/30 μm)	GC	Para detección de olores

En el análisis de volátiles por HS-SPME se deben tener en cuenta variables como: polaridad y estructura del analito, clase de fibra, interacción analito-fibra, tiempo de extracción, concentración de las sustancias, velocidad de agitación de la muestra (Pawliszyn, 1999a). Otro factor importante que se debe tener en cuenta es la adición de sal, debido al efecto que causa la adición sobre el aumento de la fuerza iónica, mejorando la extracción. Las más usadas son NaCl, NaHCO₃, K₂CO₃ y NH₄SO₄. Igualmente importante en la eficiencia de la extracción es el tamaño del vial, entre menor sea el volumen de este, menor será la cantidad de la muestra y por tanto, los tiempos de equilibrio serán más cortos (Pawliszyn, 1999a).

La desorción de los analitos por parte de la fibra depende de factores como la temperatura, volatilidad del analito, espesor de la fibra, profundidad de la inyección, temperatura del inyector y el tiempo de exposición de la fibra en la muestra y en el inyector.

La microextracción en fase sólida es una técnica novedosa que permite obtener perfiles de aroma especialmente en frutas frescas, jugos, vinos, algunos vegetales y para la determinación de pesticidas entre otros (Ibáñez *et al.*, 1998; Pawliszyn, 1997; Song *et al.*, 1998; Diaz-Maroto *et al.*, 2005; Raynie, 2006).

El equipo consta de un soporte que sostiene y protege la fibra similar a una micro columna capilar muy corta, que sale al exterior cuando es empujada por una especie de embolo que la sostiene. La fibra está recubierta con una fase polimérica líquida o sólida que adsorbe los volátiles provenientes del espacio de cabeza. Existen varias fibras usadas en la microextracción en fase sólida, de acuerdo con los compuestos que se desean extraer se escoge la más adecuada de acuerdo a la polaridad.

La extracción se puede hacer en el laboratorio o en el campo por ejemplo para obtener el aroma de flores en la planta. Cuando se realizan en el laboratorio, generalmente se utilizan viales de volumen variable de acuerdo a la muestra. La muestra generalmente viene disuelta en solución salina saturada, se usa agitación magnética enriquecer el espacio de cabeza y agilizar el estado de equilibrio entre la fase líquida y gaseosa. El soporte y las fibras son comercializados por Supelco Inc.

(Bellefonte, EE.UU.). Las fibras son activadas de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

La Figura III.3 muestra las dos etapas del procedimiento por HS-SPME. En la parte superior se encuentra la forma de adsorción y en la figura inferior la desorción de los volátiles en el inyector del cromatógrafo.

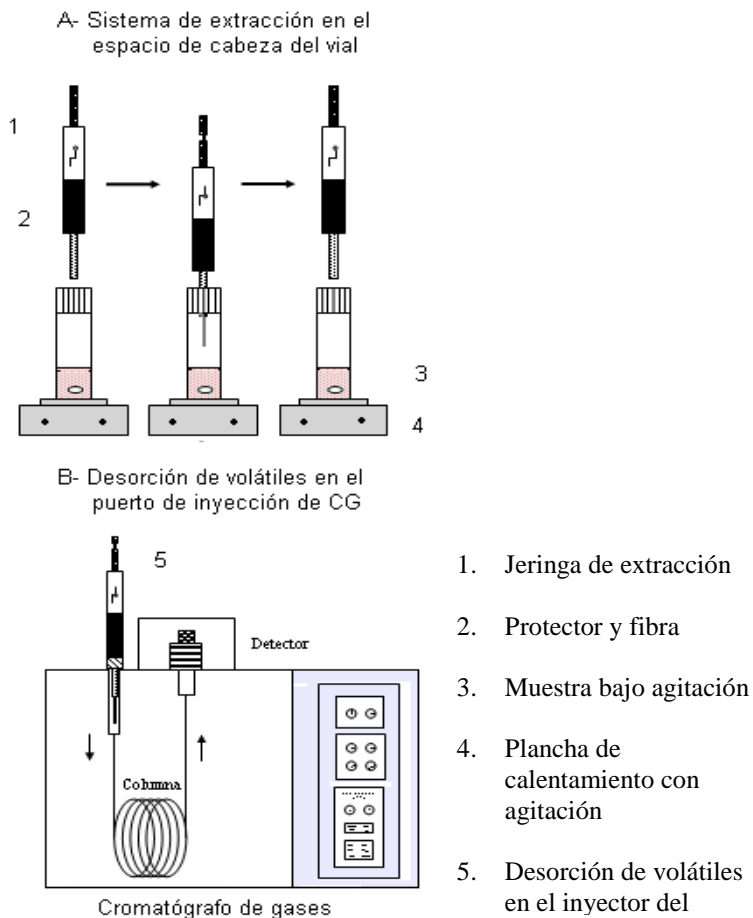


Figura III.3 Procedimiento para microextracción en fase sólida

3.1.1.4 EXTRACCIÓN CON FLUIDO SUPERCRÍTICO

La técnica de extracción con fluidos supercríticos (SFE), es una técnica basada en el aprovechamiento de las propiedades físicas de un fluido en estado supercrítico con el objeto de utilizarlo para realizar remoción parcial o total de algunos de los constituyentes de una muestra (Luque, 1993).

En un diagrama de fases de una sustancia pura se aprecia que la curva de equilibrio líquido-vapor se inicia en el punto triple y finaliza de manera abrupta en el punto crítico, a una presión y temperatura característica para cada fluido. De esta forma se define la región supercrítica (Figura. III.4).

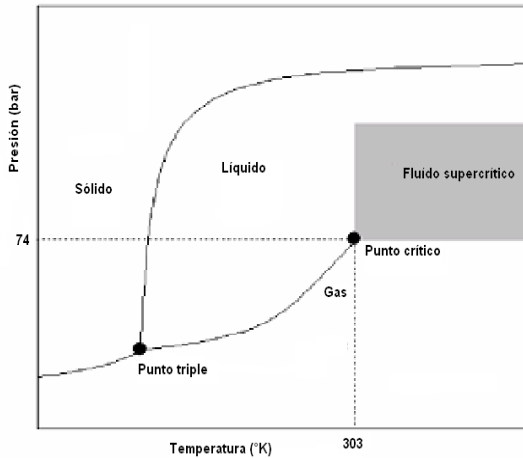


Figura III.4 Diagrama de fases del CO₂ supercrítico

Un fluido en estado supercrítico posee propiedades físicas intermedias entre un líquido y un gas. La densidad, difusividad, tensión superficial y viscosidad son algunas de éstas que hacen de un fluido en estado supercrítico aprovechable como si fuese un disolvente con propiedades de gas, con gran poder solubilizante sobre los compuestos presentes en la matriz de un sólido, que varía en función de la presión y temperatura. Al aumentar la presión, la densidad se incrementa al igual que la temperatura.

Gracias a las propiedades antes enunciadas los fluidos supercríticos pueden desplazarse a través de la muestra rápidamente, transportando los analitos fuera de la misma, lo que hace posible realizar extracciones en corto tiempo con rendimientos iguales o mayores que los alcanzados por medio de disolventes líquidos, así al permitir que una mayor cantidad de fase extractante llegue hasta los sitios activos de la matriz del sólido, mayor será la extracción de los analitos.

De otro lado, al variar la presión y la temperatura también varían la densidad, la viscosidad, difusividad y tensión superficial del fluido, al aumentar ésta última aumenta la difusividad y la tensión superficial, si se disminuye la viscosidad e incrementa la presión ocurre el efecto inverso.

El sistema de SFE, consta básicamente de cuatro componentes: un depósito o fuente del fluido (1), un sistema de impulsión cuya función es presurizar e impulsar el fluido (2), una celda o cámara de extracción (3) y un sistema de despresurización (4).

Una SFE se puede realizar normalmente de dos formas, dinámica ó estática, en la primera un flujo constante de fluido pasa por la cámara de extracción y en la segunda la cámara se llena con el fluido y se le proporciona el tiempo suficiente para realizar el proceso de extracción utilizando sólo una porción de fluido (Hostettmann, 1998). La Figura III.5 esquematiza este sistema.

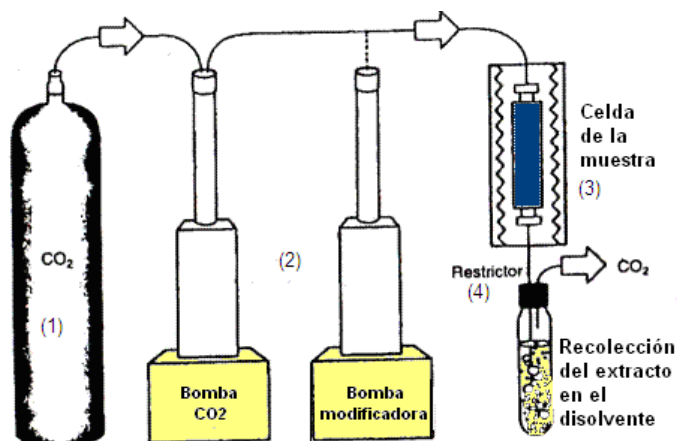


Figura III.5 Esquema de un sistema de extracción con fluido supercrítico

En aplicación de la SFE a semillas de frutos y en general en productos vegetales (Kristen *et al.*, 1995; Snyder *et al.*, 1996), se usa como fase extractante el CO₂ en estado supercrítico ya que proporciona las mejores condiciones para la obtención de extractos, entre otras se tiene por ejemplo: condiciones moderadas de extracción ($T_c = 31,1\text{ }^\circ\text{C}$ y $P_c = 7\ 396,7\text{ kPa}$) que permiten realizar la extracción de compuestos termolábiles sin alteración alguna de los mismos, no es tóxico ni inflamable ó corrosivo. El extracto puede ser eliminado por despresurización del sistema de extracción ya que es un gas en condiciones ambientales, su costo es considerablemente menor en comparación con los disolventes y es químicamente inerte en las condiciones de extracción.

La composición del aroma que se va a obtener depende del propósito para el cual se realiza la investigación. Por ejemplo, si se desea extraer los volátiles producidos por el material vegetal intacto sin ningún tratamiento de la muestra el método más aconsejable es el espacio de cabeza, mediante el cual la muestra, es colocada en una cámara hermética y los volátiles son arrastrados por un gas inerte, cuya mezcla pasa a través de una columna que contiene un material adsorbente (generalmente Tenax GC), para luego ser desorbidos con un disolvente apropiado. El tiempo de extracción puede variar dependiendo de la complejidad del perfil cromatográfico de la fruta en estudio, varía de minutos hasta 1 o 2 horas.

3.1.1.5 EQUIPO CONCENTRADOR PARA EXTRACTOS KUDERNA-DANISH.

El concentrador Kuderna-Danish (**Fig. III.6**), se usa como su nombre los dice los extractos obtenidos por sistemas de extracción L-L y SDE. Consta de un sistema de destilación fraccionada que permite retirar el disolvente del matraz aperado y de esta forma obtener el extracto con los volátiles.

El equipo está formado por un refrigerante (1), una columna Vigreux (2), un matraz de fondo redondo donde se recolectaron los disolventes destilados (3), un matraz de forma aperada (4) que se calienta en baño de agua (5) a una temperatura no superior a 37 °C hasta obtener de 0,1 a 0,2 mL.

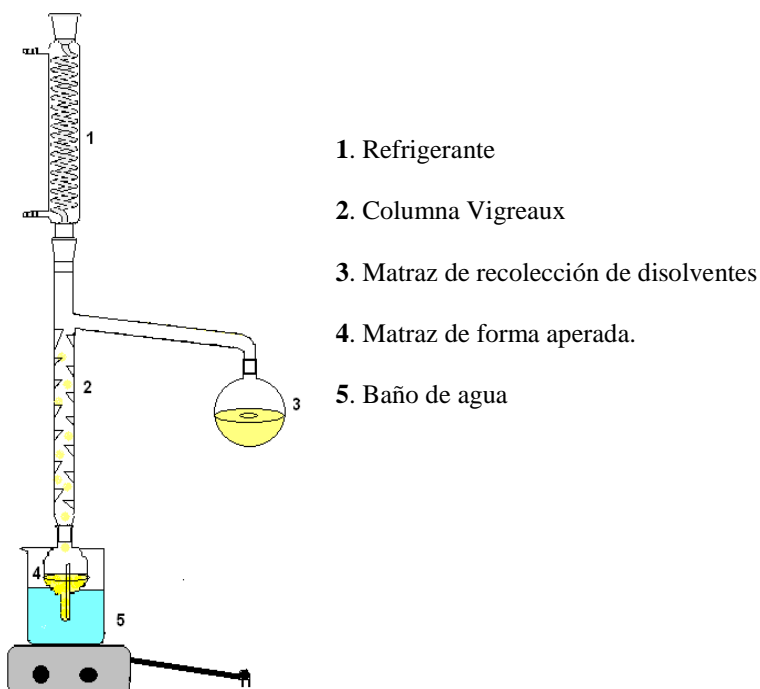


Figura III.6 Equipo concentrador Kuderna-Danish con columna Vigreux.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1 MATERIA PRIMA

La fruta de la variedad Palmira-ICA-1 (pera) fue recolectada en un cultivo tecnificado, de árboles en buen estado previamente marcados, en el municipio de Coello, Tolima (Colombia). La región se encuentra a 350 m sobre el nivel del mar, temperatura promedio 28 °C, humedad relativa 60 %, suelo franco arcilloso. La elección de las frutas se hizo *in situ* teniendo en cuenta, tamaño (8 a 10 cm de diámetro ecuatorial y 10 a 12 cm de altura), color de corteza amarillo brillante uniforme lo que corresponde al estado óptimo de madurez y ausencia de defectos superficiales.

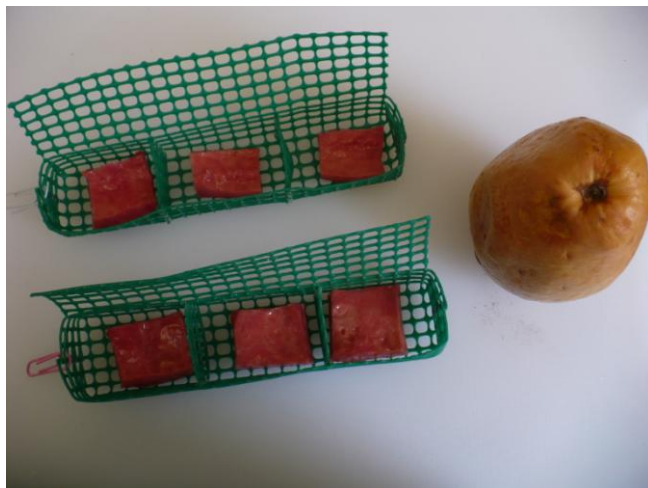


Figura III. 7 Fotografía de la guayaba pera, entera y cortada en trozos

Una vez seleccionadas fueron cortadas del árbol en las primeras horas de la mañana. El transporte se efectuó en cajas de cartón con compartimentos individuales por fruto, para evitar daños en la fruta. En el laboratorio las frutas se limpiaron con un paño absorbente ligeramente húmedo para retirar impurezas y se dejaron por una noche a temperatura ambiente (12 a 15 °C).

La fruta recolectada se distribuyó para cada proceso: líquido-líquido (L-L), destilación-extracción con disolvente simultáneas (SDE), micro extracción en fase sólida (SPME) y extracción con fluidos supercríticos (SFE).

3.2.2 ANALISIS REALIZADOS

3.2.2.1 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES

La fruta madura, desprovista de cáscara y semilla, fue homogenizada para determinar los sólidos solubles (°Brix) mediante un refractómetro termostatado a 20 °C (ABBE ATAGO, 3T). La lectura corresponde al contenido de sólidos solubles de la fracción líquida de la muestra, expresada en porcentaje.

Para cada ensayo se hicieron tres determinaciones y se calculó el valor medio cuando se obtuvo tres lecturas seguidas con una diferencia entre ellas menor de 0,2 °Brix.

3.2.2.2 DETERMINACIÓN DEL VALOR DE pH

La determinación del valor de pH de la fruta se realizó con un potenciómetro Fischer Scientific Ar 50, que se sumergió en la fruta previamente homogenizada. Se consideró la media de dos determinaciones efectuadas sobre la misma muestra con una diferencia de 0.1 unidades de pH a la temperatura de 20 °C.

3.2.2.3 DETERMINACIÓN DE LA DUREZA

Para la determinación de la dureza se tomaron cuatro medidas ecuatoriales y dos axiales con un durómetro manual modelo FT 327 (3-27 Lbs) (Italia), usando un cilindro de 1 cm de diámetro. La lectura se expresó en kilogramos fuerza por centímetro cuadrado (k-f/cm). El valor de la dureza se reporta tomando el promedio de las mediciones en cada fruta para inserción ecuatorial y axial.

3.2.2.4 DETERMINACIÓN DE ACIDEZ

Para la determinación de acidez se siguió el método de AOAC, 1996 para productos líquidos procedentes de frutas y verduras. Para ello se pesaron 10 g de muestra homogenizada en un matraz aforado de 100 mL que se completó con agua hasta la línea de aforo, una vez homogenizada la solución, se tomaron de la misma muestra 10 mL por triplicado, a cada una se le agregó fenolftaleina como indicador y se tituló con NaOH 0.1 N. La acidez fue calculada en porcentaje de acuerdo con la fórmula expresada a continuación:

$$Ac = C \frac{100}{M} V_1 \cdot \frac{100}{V_0} f \quad (\text{III.1})$$

donde:

M = masa del producto en gramos

V_0 = volumen de la alícuota de la muestra (mL)

V_1 = volumen de hidróxido de sodio usado en la titulación (mL)

C = concentración de NaOH, expresada en Normalidad (eq-g/L sln.)

f = factor correspondiente al miliequivalente como ácido cítrico ($f = 0,070$)

Para cada determinación se calculó el valor medio de las tres determinaciones de forma que no superen el 2 % del valor relativo de la muestra.

3.3 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL PARA CADA SISTEMA DE EXTRACCIÓN DE VOLÁTILES.

3.3.1 PROCEDIMIENTO PARA EXTRACCIÓN POR DESTILACIÓN-EXTRACCIÓN CON DISOLVENTE SIMULTÁNEAS (SDE)

La piel de la fruta y las semillas fueron retiradas manualmente. A 1 kg de fruta se le agregó 1 L de agua destilada y 300 μ g de n-decanol como patrón interno, después de homogenizar se sometió a extracción por SDE en un equipo con capacidad para 2 L de muestra. Una mezcla de 200 mL de pentano: éter etílico 1:1 (v/v) se usó como disolvente. El extracto, después de congelado y seco, fue concentrado usando una columna Vigreux hasta un volumen de 0,2 mL, en baño de agua a una temperatura no superior a los 37 °C. Posteriormente el extracto se analizó por GC-FID y GC-MS. El ensayo se hizo por triplicado.

3.3.2 PROCEDIMIENTO PARA EXTRACCIÓN LIQUIDO-LÍQUIDO (LL)

El tratamiento usado en la recolección, clasificación y tratamiento de las frutas, fue similar al descrito en el numeral 3.2.1. Se pesó 1Kg de pulpa desprovista de semillas y después de homogenizarla con 1 L de agua destilada se centrifugó a 7960 G

a 4 °C durante 30 min. Al sobrenadante obtenido se le agregó 1 L de agua destilada para facilitar la extracción debido a la viscosidad del sobrenadante. De esta forma, el zumo fue sometido a extracción con una mezcla de 200 mL, pentano: diclorometano 1:1 v/v, (cada disolvente fue previamente destilado usando una columna de fraccionamiento). En este sistema de extracción la muestra fue tratada a temperatura ambiente y el sistema de disolvente estuvo en contacto directo con la muestra durante 8 h. El extracto fue retirado y congelado para separar la fase orgánica de la fase acuosa y posteriormente se concentró en una columna Vigreux hasta 0,2 mL a una temperatura no superior a los 37 °C. El extracto se analizó por GC-FID y GC-MS. El ensayo se efectuó por triplicado.

3.3.3 PROCEDIMIENTO PARA MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA POR ESPACIO DE CABEZA (HS-SPME)

Se mezclaron 30 g de pulpa con 90 mL de una solución de NaCl al 20 % con ayuda de un homogenizador (Braun MR 400) por 10 min. La mezcla resultante fue centrifugada a 1826 g, del sobrenadante 7 g fueron colocados en un vial de 15 mL. La muestra se colocó en una baño de agua termostataado a 40 °C durante 15 min con una fibra de PDMS (100 µm), que fue expuesta al espacio de cabeza para absorber los volátiles durante 30 min. La muestra siempre se mantuvo bajo agitación magnética a 360 rpm. La desorción se efectuó durante 2 min (tiempo optimizado) en el inyector del cromatógrafo de gases a 250 °C. Se efectuaron ensayos preliminares para establecer las condiciones experimentales respecto al SPME, en cuanto a tiempo de extracción y de desorción de la muestra. En la Fig. III.3 se muestran los pasos del procedimiento. El ensayo se efectuó por triplicado.

3.3.4 PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN CON FLUÍDO SUPERCRÍTICO (SFE)

Para realizar la optimización por SFE se tomaron 6 guayabas pera en el mismo estado de madurez usado para las otras determinaciones. La pulpa fue cortada en

pedazos de aproximadamente $0,5 \text{ cm}^2$, los ensayos se efectuaron por triplicado y se mezclaron al azar. Una muestra representativa se pesó y colocó en un extractor.

La muestra se presurizó con CO_2 en un equipo a escala de laboratorio según el diagrama de proceso de la Figura III.8. Análisis previos sobre extracción del aroma de esta fruta fueron realizadas en un equipo con patente de SIC (Parada, 2002), se demostró que las mejores extracciones se obtuvieron a $40 \text{ }^\circ\text{C}$. En el caso de la guayaba, se hicieron varios ensayos variando la presión de extracción (10, 14 y 18 MPa), para buscar el mayor número de compuestos volátiles. Una muestra de 4,00 g de guayaba se colocó dentro del extractor cilíndrico de 2,54 cm d.i x 4,12 cm, el CO_2 empleado fue suministrado desde el cilindro de gas (1) y dirigido hacia la bomba (2) para ser comprimido. Cuando los ductos se llenaron con CO_2 comprimido, se abrió la válvula V_2 para dejar pasar el gas hacia el extractor (4), donde se encuentra la muestra y se inició el calentamiento de este mediante la resistencia (3), que está unida a un termopar (6) que regula las condiciones térmicas del extractor.

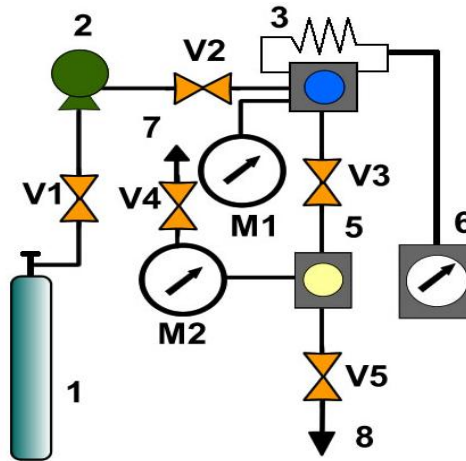


Figura III.8 Diagrama del equipo de SFE: (1) cilindro CO_2 ; (2) bomba; (3) resistencia; (4) extractor; (5) separador; (6) termopar; (7) salida de CO_2 ; (8) salida del extracto; V_1 - V_5 válvulas de cerrado. M_1 - M_2 manómetros

Cuando el manómetro M_1 indica la presión escogida para el ensayo (10, 14 y 18 MPa), la válvula V_2 se cerró en cada caso, para permitir que el CO_2 en estado supercrítico inicie la extracción durante 1 h. Posteriormente se abre la válvula V_3 , para

permitir que el extracto obtenido, junto con el fluido supercrítico, pasen al separador (5), donde luego de la extracción, se despresuriza el sistema hasta llegar a una presión manométrica en M_2 de 3 MPa. En ese momento se cierra la válvula V_3 . Posteriormente se abrió lentamente la válvula V_4 por donde fue evacuado el CO_2 (7), que ya no se encuentra en estado supercrítico y fácilmente se puede eliminar, mientras que la muestra permanece en el separador.

La despresurización se efectuó lentamente hasta alcanzar una presión manométrica en M_1 de 3 MPa. Posteriormente se despresurizó todo el sistema gradualmente hasta llegar a un gradiente de presión a 3,45 MPa (500 psi).

Los volátiles, fueron recolectados sobre 3,0 mL de éter etílico previamente colocado en el separador (5). Finalmente se abre la válvula V_5 muy lentamente y el extracto se recolectó en vial de 5,0 mL, provisto de un baño de hielo (8). El separador (5), después de cada ensayo fue lavado con 1 mL de éter etílico, para recoger trazas de muestra y unir las al extracto total.

El mayor número de constituyentes se obtuvo usando una presión real de 13,78 MPa (2000 psi) equivalente a los 14 MPa propuestos. El extracto fue congelado para retirar las trazas de agua y posteriormente se concentró en una columna Vigreux hasta 0,2 mL. El ensayo se efectuó por triplicado.

3.4 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

3.4.1 CROMATOGRAFÍA DE GASES DE ALTA RESOLUCIÓN (GC-FID)

Los componentes volátiles fueron analizados por cromatografía de gases de alta resolución con un equipo HP-6890 serie II (Agilent Technologies, California, EE.UU.), provisto con un detector de ionización de llama de hidrógeno (FID). El análisis se efectuó pasando cada extracto por una columna polar de sílica fundida HP-Innowax y otra de polaridad media HP-5MS, con iguales dimensiones (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m de espesor de película).

El programa de temperatura con el cuál se trabajó la columna fue el siguiente: se mantuvo isotérmicamente durante 4 min en 50 °C, luego se incrementó la temperatura

a razón de 4 °C/min, hasta llegar a 220 °C e isotérmicamente a esta temperatura durante 10 min. La temperatura del detector y del inyector fue de 220 °C. Como gas de arrastre se usó helio a un flujo de 1 mL/min y como gas auxiliar nitrógeno a 30 mL/min.

La relación de caudal (*split ratio*) fue de 1:10 y el volumen de inyección de 1 µL para los extractos provenientes de los métodos de extracción por SDE, L-L y SFE. En la técnica por SPME, la inyección se realizó en modo *splitless* por un tiempo de 2 min. En las mismas condiciones se inyectó una mezcla de parafinas normales de C₆ a C₃₀, con el fin de calcular para cada constituyente los índices de retención relativos (índices de Kováts).

Para la comparación de los métodos de extracción, los resultados se expresaron como porcentaje de área del cromatograma obtenido por GC-FID, sin tener en cuenta los factores de respuesta para cada constituyente. Además, en el método SDE, se realizó la cuantificación por el método de estándar interno, relacionando el área del patrón y su concentración con el área obtenida por GC-FID para cada constituyente.

3.4.2 CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS (GC-xMS)

Para el análisis de los extractos se usó un cromatógrafo de gases HP-6890 serie II (Agilent Technologies, California. EE.UU), acoplado a un detector selectivo de masas HP-5973, para obtener los espectros de masas de cada componente. Las columnas y condiciones cromatográficas fueron las mismas descritas anteriormente para el análisis por GC-FID. El detector operó en modo de ionización electrónica a 70 eV por 1,8 *scan/s* y con la fuente a 230 °C. La detección se realizó en modo *scan* entre 35 y 400 *uma*.

3.4.3 CUANTIFICACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS

Para cuantificar y comparar la composición de volátiles por cada método de extracción se sumaron las áreas de los compuestos obtenidos por CG-FID y se

expresaron como porcentaje del área cromatográfica, respecto al área total. La identificación de los compuestos se realizó combinando el criterio cromatográfico (índices de Kováts) para cada constituyente en columnas de HP-Innowax y HP-5MS y espectral (espectros de masas), los cuales se compararon con la literatura (Adams, 2001; Jenning y Shibamoto, 1980) y por comparación de espectros de masas, a partir de 6 librerías (NIST 2005/2006, EPA/NIH Mass Spectral Library; Willey and EPA/NIH, Adams, 2001), además de los incluidos en el sistema de manejo de datos del equipo en la biblioteca NIST, MS, Libraries, G1033A y los existentes en el archivo de espectros del grupo de investigación en Ciencias Agroalimentarias y del Aroma (CALIM).

3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.5.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LA MATERIA PRIMA

Las características físico-químicas del lote de frutas seleccionadas de acuerdo al grado de madurez óptimo fueron las siguientes: color de la cáscara amarillo uniforme, diámetro 6 a 9 cm, pH 4,2 a 4,5, 11 a 12 °Brix, humedad 83,5 %, acidez total de $0,69 \pm 0,2$ (expresada en ácido cítrico anhídrico como g/100 g de muestra) y dureza de 0,49 a 0,63 kg/cm².

3.5.2 COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN EN LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS VOLÁTILES

En el estudio del aroma no sólo es importante conocer la composición química, sino también la relación con el método usado, a fin de comprender las transformaciones que pueden ocurrir debido al tratamiento térmico durante los procesos de extracción.

La extracción L-L, método realizado a temperatura ambiente, permite obtener la composición de compuestos durante un tiempo mayor de extracción y además al estar los disolventes en contacto directo con la muestra el número de constituyentes es

mayor, mientras que por SDE, se obtienen los volátiles en fase de vapor y producidos por efecto del calor.

Mientras que por los otros dos métodos (HS-SPME y SFE), la composición del aroma se obtiene sin influencia del disolvente, ni de temperatura alta. La Tabla III.2 recoge los compuestos identificados, con los Índices de Kováts experimentales para las fases estacionarias HP-Innowax y HP-5MS, junto con los porcentajes obtenidos en cada uno de los extractos.

En total se identificaron 134 compuestos, de ellos 83 se detectaron por L-L, 69 por HS-SPME, 53 por SDE y 49 por SFE. En la Tabla III.2 se aprecian las composiciones diferentes de acuerdo al método de extracción utilizado. Estas diferencias eran de esperar de acuerdo a los principios en que se basa cada método.

En el método por SDE se destacan como mayoritarios el butanoato de etilo, hexanoato de etilo, (*E*)-2-hexenal, acetato de (*E*)-3-cinamilo, hexanal, alcohol (*E*)-cinamílico, en tanto que por L-L fueron: 1-penten-3-ol, (*E*)-2-hexenal, (*E*)-2-hexenal, acetato de hexilo, acetato de (*Z*)-3-hexenilo y éter difenílico. Por HS-SPME se detectaron el acetato de (*Z*)-cinamilo, acetato de (*Z*)-3-hexenilo y hexanal, mientras que por la SFE predominaron β -cariofileno, linoleato de metilo, octanoato de etilo, aunque en este extracto vale la pena anotar la presencia de compuestos terpénicos y parafinas como: el α -copaeno, α -humuleno seguido por pentacosano, tetracosano y tricosano, probablemente por el carácter apolar del CO₂.

Con el fin de facilitar la comparación por grupo funcional en los cuatro métodos los porcentajes se representan en la Figura III.9. Al comparar los resultados de los métodos de extracción se perfilaron como constituyentes mayoritarios por grupo funcional, los ésteres para SDE, L-L y HS-SPME y en segundo lugar, después de los hidrocarburos para SFE, en todos los casos sobresalieron los aldehídos y los alcoholes.

En la Figura III.9 se observa en los métodos usados que los ésteres fueron los compuestos predominantes en el aroma de la guayaba, hallados en número y porcentaje alto, especialmente por HS-SPME, seguido por los métodos SDE, L-L y en menor porcentaje por SFE.

Tabla III.2 Comparación de los métodos de extracción utilizados en el estudio de la composición de volátiles

Compuesto	Indices de Kováts		^a SDE (%)	^b L-L (%)	^c SPME (%)	^d SFE (%)
	HP-Innowax	HP-5				
acetaldehído	670	528	-	-	0,2	-
acetato de metilo	813	545	-	0,1	0,2	-
etanol	900	537	0,3	t	0,2	-
propanoato de etilo	940	717	-	1,5	-	-
2-pentanona	945	653	0,2	0,5	-	-
2-etilfurano	951	702	-	t	0,2	-
acetato de propilo	962	716	-	0,7	-	-
1-penten-3-ona	973	772	0,1	0,5	-	-
butanoato de metilo	980	729	2,0	2,3	0,2	-
decano	1000	1000	-	0,7	-	-
butanoato de etilo	1027	804	20,9	3,5	t	2,9
tolueno	1035	773	0,5	0,2	-	1,1
hexanal	1074	802	6,1	3,2	15,8	-
2-metilpropanol	1093	751	-	0,4	-	-
undecano	1100	1100	0,4	1,1	-	-
acetato de 3-metilbutilo	1110	876	-	0,2	0,1	-
m-xileno	1116	849	0,1	0,7	-	-
p-xileno	1119	872	-	0,1	-	-
etilbenceno	1122	868	0,5	0,4	-	-
(E)-3-hexenal	1138	769	0,5	2,7	1,2	-
α -felandreno	1148	1003	-	0,1	0,2	2,1
1-penten-3-ol	1149		0,8	7,3	-	t
mirceño	1151	991	0,1	t	0,1	-
3-heptanona	1155	850	-	0,8	-	-
2-furfural	1165	836	0,8	0,2	-	t
α -terpineno	1167	1006	-	0,1	0,3	-
o-xileno	1170	894	-	0,7	-	-
hexanoato de metilo	1175	926	0,2	-	0,6	-
dodecano	1200	1200	-	1,8	-	-
(Z)-2-hexenal	1204	852	2,1	1,1	0,6	-
butanoato de butilo	1207	995	0,1	-	t	-
(E)-2-hexenal	1212	855	16,8	7,3	-	4,2
limoneno	1212	1028	0,8	0,1	-	-

Tabla III.2

(continuación)

Compuesto	Indices de Kováts		^a SDE (%)	^b L-L (%)	^c SPME (%)	^d SFE (%)
	HP-Innowax	HP-5				
hexanoato de etilo	1227	998	18,3	2,5	1,3	2,3
p-cimeno	1253	1025	-	0,1	0,2	-
3-hidroxi-2-butanona	1263	718	-	2,7	-	-
acetato de hexilo	1265	1008	0,4	5,9	1,2	-
2-heptanol	1284	925	-	0,4	0,1	-
acetato de (<i>E</i>)-3-hexenilo	1299	1002	6,8	3,5	-	-
(<i>E</i>)-2-pentenol	1301		0,8	0,6	-	-
acetato de (<i>Z</i>)-3-hexenilo	1322	1005	1,4	4,8	23,4	1,8
6-metil-5-hepten-2-ona	1336	985	0,1	-	t	-
hexanol	1348	871	1,5	1,7	0,2	0,4
(<i>E</i>)-3-hexenol	1352		0,2	-	0,2	1,2
(<i>Z</i>)-3-hexenol	1373	859	1,9	3,3	-	-
nonanal	1383	1101	-	0,1	0,3	-
octanoato de metilo	1389	1127	-	-	0,4	-
(<i>E</i>)-2-hexenol	1394	861	1,5	0,4	-	-
tetradecano	1400	1400	-	0,9	-	-
octanoato de etilo	1426	1197	3,5	0,1	1,1	1,3
ácido acético	1429	600	0,1	-	0,3	-
butanoato de (<i>Z</i>)-3-hexenilo	1452	1186	0,8	t	0,5	-
decanal	1484	1202	-	0,1	0,5	-
<i>cis</i> -óxido de rosa	1485	1108	-	-	t	-
2,3-butanodiol	1487	789	0,6	0,4	-	0,8
benzaldehído	1490	960	0,1	0,1	0,2	t
3-hidroxibutanoato de etilo	1505		0,1	0,4	-	-
(<i>Z</i>)-teaspirano	1507	1294	-	-	3,3	-
α -copaeno	1519	1377	0,1	-	-	3,2
linalol	1534	1097	0,3	t	0,1	-
octanol	1544	1054	-	0,4	-	-
(<i>E</i>)-2-acetoxi-3-butanol	1559		-	0,6	0,3	-
<i>trans</i> - α -bergamoteno	1575	1435	-	-	-	1,8
aromadendreno	1590	1441	-	-	-	2,1
β -cariofileno	1604	1428	0,1	-	0,7	6,2
benzoato de metilo	1605	1091	0,1	-	-	-
γ -butirolactona	1611	915	-	1,1	0,1	-
ácido benzoico	1624	1276	-	0,1	t	-

Tabla III.2

(continuación)

Compuesto	Indices de Kováts		^a SDE (%)	^b L-L (%)	^c SPME (%)	^d SFE (%)
	HP-Innowax	HP-5				
decanoato de etilo	1633	1396	0,3	-	0,2	-
α -humuleno	1650	1455	-	-	-	3,5
hexanoato de (Z)-3-hexenilo	1654	1383	-	0,3	0,4	
benzoato de etilo	1664	1173	-	t	0,2	0,6
α -terpineol	1688	1188	-		t	
β -selineno	1695	1490	-	0,1	-	2,1
α -selineno	1725	1498	0,3	0,1	0,2	2,1
δ -cadineno	1727	1593	-	-	-	1,3
geranilacetona	1796	1455	0,1	-	1,9	-
<i>trans</i> -calamaneno	1800	1529	t	-	-	1,6
ácido hexanoico	1810	982	-	0,8	t	0,5
acetato de 2-feniletilo	1820	1258	-	t	0,2	-
octanoato de (Z)-3-hexenilo	1838	1580	0,1	-	0,1	-
3-fenilpropanoato de etilo	1870		-	0,2	-	-
1-metilnaftaleno	1875		-	0,7	-	-
nonadecano	1900	1900	-	-	-	0,7
(<i>E</i>)- β -ionona	1912	1489	-	0,8	2,0	-
acetato de 3-fenilpropilo	1926	1378	-	2,8	5,2	3,6
óxido de cariofileno	1962	1580	-	0,2	-	2,8
4-hidroxi-5-metil-3(2H)-furanona	1964		-	1,7	-	-
éter difenílico	1987		-	2,7	-	-
2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona	1994	1055	0,3	0,4	-	1,3
tetradecanoato de etilo	2025	1796	-	-	-	0,2
(<i>E</i>)-cinamaldehído	2033	1270	0,3	-	t	-
ácido octanoico	2035	1175	-	0,4	0,2	-
3-fenilpropanol	2036	1232	-	0,3	-	-
hexanoato de hexilo	2056	1385	0,9	-	t	-
heneicosano	2100	2100	-	-	-	2,1
acetato de (<i>E</i>)-cinamilo	2103	1446	0,3	4,2	-	-
(<i>E</i>)-cinamato de etilo	2108	1467	-	-	0,5	0,9
acetato de 3-fenil-2-propenilo	2139	1373	-	4,4	-	-
ácido nonanoico	2144	1271	-	0,1	0,1	-
(<i>E</i>)-nerolidol	2200	1563	-	0,1	-	0,5

Tabla III.2

(continuación)

Compuesto	Índices de Kováts		^a SDE (%)	^b L-L (%)	^c SPME (%)	^d SFE (%)
	HP-Innowax	HP-5				
docosano	2200	2200	-	-	-	2,8
alcohol (Z)-cinámico	2207	1262	-	-	-	3,9
alcohol (E)-cinámico	2207	1304	4,4	5,5	0,9	-
hexadecanoato de etilo	2227	1993	-	-	0,3	4,8
óxido de bisabolol- B	2230	1662	-	-	0,1	1,8
butanoato de (E)-cinamilo	2247	1643	0,3	0,1	0,1	-
tricosano	2300	2300	-	-	-	1,3
tetracosano	2400	2400	-	-	-	2,4
benzofenona	2410	1628	-	0,2	t	-
octadecanoato de etilo	2427	2197	-	-	-	5,1
(E)-9-octadecenoato de etilo	2442		-	0,7	-	-
ácido dodecanoico	2470	1571	-	-	0,6	0,4
(Z)-9-octadecenoato de etilo	2477	2096	-	0,2	-	-
oleato de etilo	2489	2179	-	0,1	0,3	4,2
linoleato de metilo	2491	2159	-	-	-	5,3
pentacosano	2500	2500	-	-	-	4,3
linoleato de etilo	2536	2159	-	-	-	2,9
4-hidroxi-β-ionol	2556		-	0,2	0,2	-
ácido tridecanoico	2578	1672	-	-	0,1	-
ácido 3-fenilpropanoico	2598		-	0,6	-	-
hexacosano	2600	2600	-	-	-	2,8
3-oxo-α-ionol	2637	1660	-	0,9	-	-
ácido tetradecanoico	2685	1780	-	-	0,9	0,8
ácido pentadecanoico	2785	1878	-	-	0,4	-
ácido hexadecanoico	2886	1992	-	-	2,2	-
2-fenilpropanoato de etilo		1320	-	-	-	3,1
acetato de (Z)-cinamilo		1389	-	0,5	27,8	4,9
isocarofileno		1409	-	-	-	1,9
dihidro-β-ionona		1436	-	-	0,4	-
trans-cadina-1(2),4-dieno		1535	-	-	-	1,4
cis-dihidrojasmonato de metilo		1656	-	-	0,1	-
selin-11-en-4-α-ol		1660	0,3	-	-	2,9
(Z)-9-hexadecenoato de etilo		1990	0,3	-	0,5	-

^a(SDE) destilación-extracción con disolvente simultáneas; ^b(L-L) Extracción Líquido-Líquido; ^c(SPME) microextracción en fase sólida; ^d(SFE) Extracción con fluidos supercríticos; - no detectado t:< 0,1 %

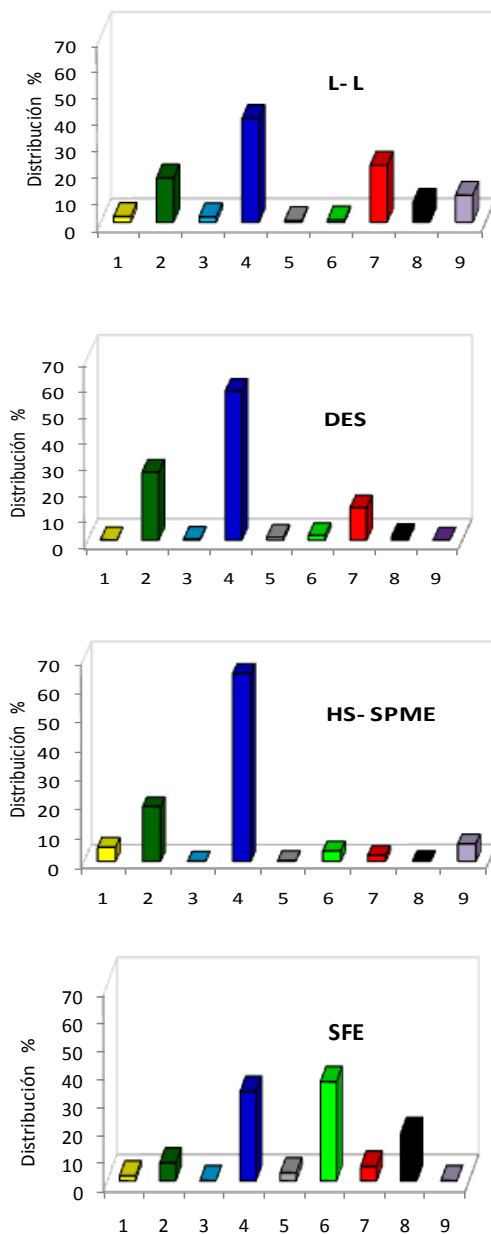


Figura III.9. Distribución por grupo funcional de acuerdo a los métodos de extracción utilizados. (1) ácidos, (2) aldehídos, (3) cetonas, (4) ésteres, (5) furánicos, (6) HC-terpénicos, (7) alcoholes, (8), HC. (9). composición variada.

Sobresalieron los ésteres provenientes de los alcoholes metílico, etílico y cinamílico, entre otros. De ellos, el acetato de (*Z*)-cinamilo se destacó como el compuesto mayoritario aislado por HS-SPME, seguido por hexanoato y octanoato de etilo, butanoato de etilo y el acetato de (*Z*)-3-hexenilo, identificados también en la guayaba del Brasil (Idstein y Schreier, 1985). Fueron comunes en los métodos usados, los ésteres provenientes del ácido acético, butanoico, hexanoico y octanoico y del alcohol metílico y etílico. De estos, el butanoato, hexanoato y octanoato de etilo, además del acetato de (*Z*)-3-hexenilo fueron identificados mediante los cuatro métodos aunque en proporción variada.

Ésteres procedentes de alcoholes insaturados en el tercer átomo de carbono, considerados como contribuyentes importantes del aroma herbáceo, no fueron detectados por el método SFE. Respecto a los acetatos provenientes de alcoholes aromáticos como el 3-fenilpropilo, identificado por los métodos L-L, HS-SPME y SFE y el 3-metilbutilo y 2-feniletilo no fueron detectados por SDE. De forma similar, se encontraron los ésteres del alcohol (*E*)- y (*Z*)-cinámico. Los compuestos que se incrementaron por efecto de la temperatura fueron principalmente el butanoato, hexanoato y octanoato de etilo, además del acetato de (*E*)-3-hexenilo. Sin embargo, por SPME el acetato de (*Z*)-3-hexenilo y acetato de (*Z*)-cinamilo incrementaron notablemente la concentración al igual que el número de compuestos.

Los aldehídos ocuparon el segundo lugar en porcentaje principalmente por el método SDE, seguido por HS-SPME, L-L y en proporción muy baja por SFE. Acerca de los nueve compuestos identificados, ocho se encontraron por HS-SPME, siete por L-L, seis por SDE y dos por SFE. El compuesto que se incrementó en mayor proporción por el método de extracción en caliente (SDE) fue (*E*)-2-hexenal, seguido por el hexanal y el (*Z*)-2-hexenal, probablemente por efecto de calentamiento que pueden quedar atrapados en la pectina. Otros aldehídos insaturados en el carbono 2 y 3, como isómeros *cis* y *trans*, también se identificaron en concentraciones altas y son considerados como los responsables del aroma a verde en frutas como el kiwi (Fisher y Scott, 2000), igualmente el hexanal fue el segundo en importancia en el extracto por HS-SPME. Aldehídos de cadena lineal diferentes al hexanal no tuvieron una representación marcada, como lo muestran el acetaldehído, nonanal y decanal.

Los alcoholes ocuparon un tercer lugar en importancia. De los 14 identificados 12 se encontraron por L-L, nueve por SDE, cinco por HS-SPME y cuatro por SFE. El porcentaje más alto se obtuvo por el método de extracción L-L, el 1-penten-3-ol sobresale como el mayoritario de todos los alcoholes seguido por el (Z)-3-hexenol.

Una de las características más notorias fue la presencia de los alcoholes de 5 y 6 átomos de carbono con insaturación en el carbono 2 y 3 con sus respectivos isómeros geométricos. Nuevamente al igual que los aldehídos, los alcoholes lineales saturados de 2, 6 y 8 átomos de carbono se identificaron en algunos de estos métodos al igual que los alcoholes (*E*)- y (*Z*)-cinámico.

Los ácidos presentaron una concentración relativamente baja en los diferentes métodos. El compuesto mayoritario fue el ácido hexadecanoico, seguido del hexanoico por L-L. Mientras que por SDE, solo se identificó el ácido acético. De los once ácidos en total, diez fueron identificados mediante HS-SPME, cinco por L-L, tres por SFE y uno solamente por SDE.

Respecto a los compuestos de tipo sesquiterpenos y monoterpenos, de los 24 identificados, 15 corresponden al extracto por SFE con un porcentaje alto respecto de los obtenidos por los otros métodos; sobresalen el β -cariofileno, α -copaeno, aromandendreno y el selin-11-en-4- α -ol. Por SPME, de los 11 identificados sobresalen la geranilcetona y el β -cariofileno, este último considerado como uno de los mayoritarios por otros autores (Wilson y Shaw, 1978, Pino *et al.*, 1999). Otros compuestos fueron el limoneno, linalol, α -selineno y el selin-11-en-4- α -ol, éste último en el extracto por SFE, presentó mayor concentración que por SDE.

Resulta característico señalar el número de hidrocarburos de peso molecular medio, extraídos por SFE cuyo porcentaje es alto respecto de los demás métodos, posiblemente debido a la baja polaridad del CO₂ y la presión, lo que favorece la extracción de compuestos poco polares y de mayor peso molecular. De ellos sobresalen los de cadena lineal de 24, 25 y 26 átomos de carbono, mientras que por L-L, se encontraron 11 compuestos de peso molecular más bajo, de ellos 6 fueron aromáticos, vale la pena mencionar la presencia de los 3 isómeros del xileno. Con relación a los métodos SDE y HS-SPME, el número de estos compuestos fue relativamente menor, 4 y 12 respectivamente.

Con respecto a las cetonas, la concentración fue muy baja en todos los métodos, se identificaron cinco por L-L; de estas la 3-heptanona fue la mayoritaria y con anillo aromático sólo se identificó la benzofenona. En los otros métodos de extracción el porcentaje fue más bajo y por SFE no se detectaron. La poca representación de estos compuestos, independiente del método usado, indica que las cetonas no son constituyentes representativos de la guayaba. De forma similar, se presenta el comportamiento de los compuestos furánicos: cuatro se identificaron por L-L, dos por SDE, uno por HS-SPME y SFE.

Los constituyentes clasificados como de naturaleza variada, llaman especialmente la atención los hidroxicompuestos 3-hidroxi-2-butanona y 4-hidroxi- β -ionol, los cuales por poseer un átomo de carbono asimétrico, presentan enantiomería, cualidad que los hace interesantes de analizar desde el punto de vista sensorial, al igual que los compuestos C_{13} norisoprenoides como son las iononas y el β -teaspirano.

Es importante señalar que al hacer una comparación olfativa de los extractos entre sí, por los métodos SDE y L-L el aroma frutal es similar y muy fuerte, mientras que por SFE el aroma es un poco más floral. Analizando la composición obtenida por los diferentes métodos de extracción, el L-L, aunque requiere mayor tiempo de tratamiento y extracción, exhibe una amplia variedad de compuestos, por lo cual se recomienda para fraccionamiento de extractos (Quijano *et al.*, 1999) y para comparar la composición de volátiles libres con los enlazados a glicosídeos. Por otro lado elimina efectos debido a la temperatura alta. El método por SDE, requiere un tiempo de trabajo más corto que por L-L y por el SFE, lo que permite procesar un mayor número de muestras. El método HS-SPME, es muy versátil y rápido aunque no se usa para cuantificar con patrón interno debido a que no se puede garantizar la cantidad de compuesto adsorbido en la fibra y las condiciones de reproducibilidad de datos son más exigentes con respecto a los otros métodos debido a que pequeñas variaciones de temperatura, control de tiempos de acondicionamiento de la fibra y extracción pueden variar notablemente si no se hacen con exactitud. Por tanto, el método por SDE se seleccionó para evaluar los cambios de composición del aroma durante la deshidratación osmótica, por disponibilidad, economía, control del tiempo y facilidad para obtener los extractos, hecho que se discute en el siguiente capítulo. Para el

estudio de los compuestos enlazados glicosídicamente se usó la extracción por L-L a pH neutro.

Resumiendo, se puede afirmar que existen diferencias significativas en la composición de una misma fruta, esto se explica por los diferentes métodos utilizados para las extracciones de los constituyentes volátiles, en los que la temperatura, la polaridad del disolvente, el efecto de la presión y el análisis por espacio de cabeza dan lugar a composiciones diversas en una misma fruta.

Los constituyentes recolectados por espacio de cabeza, representan los volátiles que expele la fruta, sin interferencia de disolventes, bajo condiciones específicas. Igualmente hay diferencias cuando el extracto es obtenido a temperatura ambiente como en el caso del L-L o sometido a tratamiento térmico como en SDE. Al cortar y licuar las frutas, se rompen las células y enzimas tipo hidrolasa que actúan al pH ácido natural de la fruta, generando compuestos que posiblemente se encuentran enlazados, o incrementan la concentración de los ya existentes.

Adicionalmente, durante la extracción por efecto de la temperatura pueden ocurrir transformaciones e hidrólisis aumentando la concentración de algunos compuestos y/o disminuyendo la de otros, lo cual depende de la fruta y del proceso. Esas transformaciones pueden dar lugar en mayor o menor grado a discrepancias en la composición de volátiles.

3.5.3 ESTUDIO CUANTITATIVO DE LOS COMPONENTES VOLÁTILES DE LA GUAYABA

De acuerdo a lo comentado en el párrafo anterior, la cuantificación de volátiles se hizo únicamente por el método de extracción que resultó ser más rápido, con mayor facilidad de manejo de la muestra y similitud con el tratamiento térmico por ello se escogió la destilación-extracción con disolvente simultáneas. La Tabla III.3 muestra la composición de volátiles obtenidos por SDE, la desviación estándar y el umbral de olor calculado para cada compuesto como se explicará en el numeral 3.5.4. La cuantificación de los constituyentes del aroma en el extracto obtenido se realizó por el método del patrón interno, relacionando el área relativa del patrón y su concentración

con el área relativa obtenida por CGAR para cada constituyente. La concentración de cada constituyente se expresó en mg equivalentes de n-decanol/kg de pulpa. La identificación se efectuó teniendo en cuenta los mismos criterios enunciados en el numeral 3.4.3.

La composición de los compuestos volátiles permitió identificar 54 constituyentes en total, correspondientes a una concentración entre 8890 a 8916,2 mg/kg. De ellos, 19 fueron ésteres, nueve alcoholes, nueve terpenos, siete aldehídos, cuatro hidrocarburos, tres cetonas, dos compuestos furánicos y un ácido. Los constituyentes mayoritarios fueron el butanoato de etilo (20,8 %), hexanoato de etilo (18,3 %) y el (*E*)-2-hexenal (16,8 %). Cantidades diferentes fueron reportadas por otros autores, que aunque usaron el mismo método de extracción, las variaciones en la concentración se deben primordialmente a las diversas variedades (Chyau *et al.*, 1989, 1992; Pino *et al.*, 2002a).

Acerca de los ésteres, predominaron principalmente los provenientes del ácido acético, butanoico y hexanoico, con los alcoholes metílico, etílico y cinámico, al igual que los compuestos insaturados de 6 átomos de carbono. El butanoato de etilo como componente mayoritario no se ha reportado en otras variedades. El acetato de (*E*)-cinamilo, es uno de los compuestos detectado en diferentes concentraciones, aún en una mismo tipo de guayaba, dependiendo de factores como el estado de madurez y el sitio de la recolección (Nishimura *et al.*, 1989, Stevens *et al.*, 1970). Ocurre lo contrario con las especies del *Psidium* reportadas por Pino *et al.* (2002a, 2002b).

Con relación a los aldehídos, aunque se identificaron solo siete compuestos que representaron el 27 % del extracto total (2328 µg/kg de pulpa), el compuesto más abundante fue el (*E*)-2-hexenal con 16,8 % (1500 µg/kg de pulpa) y seguido por el hexanal, (*Z*)-2-hexenal y (*E*)-3-hexenal, aldehídos a los cuales se les atribuye el aroma a verde (Stevens, 1970, Idstein y Schreier, 1985). Compuestos aromáticos como el cinamaldehído, benzaldehído y acetaldehído, detectados como minoritarios por otros autores (Idstein y Schreier, 1985 Nishimura, 1989) presentaron un comportamiento similar en la guayaba pera.

TABLA III. 3 VOLATILES EN GUAYABA FRESCA DETERMINADOS POR SDE

Compuesto	^a Promedio (mg/kg)	^b Desv.Estándar (mg/kg)	^c UO (mg/kg)	^d log VAO
acetaldehído	12	1,2	17	0
acetato de metilo	34	4	52	0
etanol	25	4	100000	-4
2-pentanona	15	2	50	-1
1-penten-3-ona	12	1,2	1	1
butanoato de metilo	180	20	59	0
butanoato de etilo	1859	300	1	3
tolueno	45	5	-	nc
hexanal	545	110	4,5	2
undecano	24	2	-	nc
m-xileno	12	1,4	-	nc
etilbenceno	45	5	-	nc
(<i>E</i>)-3-hexenal	48	6	24,2	0
1-penten-3-ol	68	10	400	-1
mircenol	10	1,3	15	0
2-furfural	70	7	3000	-2
hexanoato de metilo	21	2	70	-1
(<i>Z</i>)-2-hexenal	185	32	15	1
butanoato de butilo	10	1,1	400	-2
(<i>E</i>)-2-hexenal	1500	300	17	2
limoneno	70	10	210	0
hexanoato de etilo	1631	300	1	3
acetato de hexilo	33	3,0	80	0
acetato de (<i>E</i>)-3-hexenilo	606	100	-	nc
(<i>E</i>)-2-pentenol	75	9	410	-1
acetato de (<i>Z</i>)-3-hexenilo	123	20	5	1
6-metil-5-hepten-2-ona	12	1,2	50	-1
hexanol	135	20	2500	-1
(<i>E</i>)-3-hexenol	15	2	-	nc
(<i>Z</i>)-3-hexenol	170	30	70	0
(<i>E</i>)-2-hexenol	130	20	-	nc

Tabla III. 3

(continuación)

Compuesto	^a Promedio (mg/kg)	^b Desv.Estándar (mg/kg)	^c UO (mg/kg)	^d log VAO
octanoato de etilo	310	60	92	1
ácido acético	12	2	50000	-4
butanoato de (Z)-3-hexenilo	68	11	320	-1
2,3-butanodiol	52	8	-	nc
benzaldehído	13	1,6	350	-1
3-hidroxi-butanoato de etilo	12	1,2	-	nc
α -copaeno	12	1,4	-	nc
linalol	25	4	6	1
β -cariofileno	12	1,6	132	-1
benzoato de metilo	10	1,4	230	-1
decanoato de etilo	30	5	100	-1
α -selineno	23	4	-	nc
geranilacetona	12	1,2	60	-1
<i>trans</i> -calamaneno	t	-	-	nc
octanoato de (Z)-3-hexenilo	t	-	410	-2
4-hidroxi- 2,5-dimetil-3(2H)-furanona	23	3	460	-1
(<i>E</i>)-cinamaldehído	25	3	-	nc
hexanoato de hexilo	76	14	100	0
acetato de (<i>E</i>)-cinamilo	24	4	9	0
alcohol (<i>E</i>)-cinámico	39.4	90	25	1
butanoato de (<i>E</i>)-cinamilo	23	3	12	0
selin-11-en-4- α -ol	23	3	-	nc
(Z)-9-hexadecenoato de etilo	t	-	-	nc

^aValor promedio expresado en mg equivalentes de n-decanol/kg de pulpa; ^bdesviación estándar (S) de valores promedio; ^cUO: umbral de olor expresado en mg equivalentes de n-decanol /kg de pulpa; ^dvalor de actividad de olor (VAO) expresado en mg equivalentes de n-decanol/kg de pulpa; nc: no calculado; t < 10 mg equivalentes de n-decanol /kg de pulpa; - : no detectado.

Respecto a los alcoholes, el más representativo fue el alcohol (*E*)-cinámico con un 4,4 %, seguido por alcoholes de seis átomos de carbono como son el (Z)-3-hexenol, encontrado como mayoritario (Idstein y Schreier, 1985). La cantidad total de éstos en el extracto fue de 12,2 % (1097 μ g/kg de pulpa). El hexanol, (*E*)-2-hexenol, (*E*)-3-hexenol, son compuestos considerados como característicos del aroma a guayaba (Idstein y Schreier, 1985; Nishimura, 1989; Chyau, 1992). Otros alcoholes

insaturados con 5 átomos de carbono, entre ellos, el (*E*)-2-pentenol, 1-penten-3-ol, al igual que los dihidroxilados, como el 2,3-butanodiol, fueron detectados con menos del 1 % del extracto total.

Los monoterpenos y sesquiterpenos caracterizados en cáscara (Verni, 1991), entre ellos el β -cariofileno, α -copaeno y α -selineno, fueron identificados en pulpa aunque en porcentaje del 2,2 %. De los nueve identificados, cinco fueron sesquiterpenos, en su mayoría hidrocarburos y uno oxigenado y de los cuatro monoterpenos, solo el linalol y la geranilcetona fueron oxigenados. En la mayoría de los estudios que se han hecho sobre compuestos volátiles de guayaba, los hidrocarburos terpénicos han estado presentes en baja concentración por el método de extracción por L-L o SDE, lo cual concuerda con la composición de las frutas en estudio. El β -cariofileno, reportado en guayaba en concentraciones apreciables (Wilson y Shaw, 1978; Stevens *et al.*, 1970; McLeod y Gonzalez de Troconis, 1982; Nishimura *et al.*, 1989), en la guayaba pera presentó baja concentración. Los constituyentes azufrados identificados en guayaba procedente del Brasil (Idstein y Schreier, 1985) no se encontraron en esta variedad, como tampoco los compuestos azufrados como el 3-sulfanil-1-hexanol y el acetato de 3-sulfanilhexilo, hallados en un importante estudio por Steinhaus *et al.* (2008, 2009).

Compuestos furánicos con características sensoriales importantes en los alimentos y poseedores de una nota a caramelo como el 4-hidroxi -2,5-dimetil-3-(2H)-furanona, junto con otros de su mismo grupo funcional identificados en esta fruta, son considerados como productos formados por oxidación de los azúcares (Nishimura *et al.*, 1989).

El contenido de hidrocarburos en la guayaba pera fue de 3,5 % (312 mg/kg de pulpa), en su mayoría compuestos con anillo aromático y uno de cadena lineal como fue el undecano.

Compuestos carbonílicos como las cetonas, las cuales no han sido muy comunes en las diversas variedades de guayaba, tampoco fueron la excepción en la guayaba pera bajo estudio. Las cantidades no alcanzaron a llegar al 1 %. Sin embargo, de éstas la 2-pentanona y la 6-metil-5-hepten-2-ona, oxidadas en el átomo de carbono 2 y la 1-penten-3-ona oxidadada en el carbono 3 no se ha identificado en otras variedades.

Los ácidos no tuvieron gran relevancia en la guayaba pera, solo el ácido acético fue identificado (0,1 %) a concentración muy baja. Igualmente, los hidroxiácidos identificados en algunas frutas como piña y uchuva muy interesantes desde el punto de vista sensorial generadores de las lactonas no se identificaron, solamente hidroxicompuestos con función cetónica como la 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona y la 4-hidroxi- 2,5-dimetil-3(2H)-furanona.

3.5.4 POTENCIA OLFATIVA DE LOS VOLÁTILES DETERMINADOS

Respecto a la potencia olfativa de los compuestos volátiles en los alimentos puede ser cuantificada por medidas de olfatometría o por el uso de los valores de actividad de olor (VAO). Este valor, propuesto originalmente por Rothe y Thomas (1963) y Buttery *et al.* (1990), se define como la relación entre la concentración del compuesto y su umbral de olor. Se acostumbra para facilitar la interpretación a expresar los resultados de esta relación como logaritmo de base 10. Así pues, los compuestos que posean el $\log \text{VAO} \geq 0$, estarán aportando al aroma característico del alimento. Numerosas aplicaciones de este procedimiento han sido reportadas en la literatura (Buttery *et al.*, 1990; Tamura *et al.*, 1995; Ortega *et al.*, 1998; Pino y Mesa, 2006).

Los umbrales de olor en agua de la mayoría de los compuestos identificados en este trabajo han sido reportados anteriormente (van Gemert y Nettenbreijer, 1977). La Tabla III.3 muestra los umbrales de olor y los valores de actividad de olor obtenidos (expresados como $\log \text{VAO}$) para la mayor parte de los compuestos identificados. Si se observa al umbral de detección de un compuesto como una cantidad separada, entonces el VAO para ese compuesto dará el número de concentraciones umbrales que tal compuesto está presente en la fruta. Este valor representará entonces alguna indicación de la importancia de tal constituyente al aroma total.

Es importante señalar al menos dos simplificaciones de este concepto: primero considerar que la intensidad percibida es proporcional al VAO y el uso frecuente de umbrales de olor determinados en medios distintos al de la muestra. Con atención al primer punto, el uso de la ley de Stevens o Ferchner (Baird y Noma, 1978) pudiera ser más aceptable como la mejor representación de la intensidad olfativa; sin embargo,

estos valores no están al alcance. Segundo, el uso de umbrales de olor determinados en un medio, generalmente agua, ignora la influencia de otras sustancias no volátiles de la fruta que pueden interactuar con los volátiles en el desprendimiento de ellos. A pesar de estas limitaciones, el concepto de VAO sigue siendo considerado una herramienta útil en las investigaciones de aromas.

De acuerdo a los VAO de los compuestos evaluados, los mayores contribuyentes al aroma de esta variedad parecen ser el butanoato de etilo, hexanoato de etilo, hexanal, (*Z*)-2-hexenal y (*E*)-2-hexenal. Los ésteres se caracterizan por aportar notas olfativas “frutales”, mientras que el hexanal y (*E*)-2-hexenal contribuyen a las notas “grasa” y “verde-frutal”, respectivamente (Arctander, 1969).

Otros compuestos que parecen contribuir al aroma de esta variedad, pero en menor proporción son: acetaldehído, acetato de metilo, 1-penten-3-ona, butanoato de metilo, (*E*)-3-hexenal, mirceno, limoneno, acetato de hexilo, acetato de (*Z*)-3-hexenilo, (*Z*)-3-hexenol, octanoato de etilo, linalol, hexanoato de hexilo, acetato de (*E*)-cinamilo y alcohol (*E*)-cinámico.

Al comparar los resultados obtenidos con la literatura, se encuentra que Ortega *et al.* (1998) reportaron al hexanoato de etilo, (*Z*)- y (*E*)-2-hexenal como los contribuyentes más importantes de las variedades cubanas estudiadas. Steinhaus *et al.* 2008, coincide con Ortega *et al.* (1998), Quijano *et al.* (1999), acerca de la contribución del (*Z*)-3-hexenal, hexanal, alcohol cinámico, butanoato de etilo y los compuestos furánicos como grandes contribuyentes en la guayaba colombiana, además de estos compuestos reportan el *trans*-4,5-epoxy-(*E*)-2-decenal y el metional, en la guayaba rosada, pero no describe su variedad.

Como no se tiene referencia de umbrales de olor para algunos de los compuestos identificados, se requiere de estudios sensoriales posteriores para determinar la contribución real de estos compuestos volátiles al aroma de la guayaba pera Palmira ICA-1 de la región del Tolima.

3.6 CONCLUSIONES

La composición de volátiles de la guayaba pera se caracteriza por un alto contenido de ésteres, seguida de aldehídos y alcoholes, en menor proporción los terpenos, cetonas, hidrocarburos y ácidos. La concentración de ésteres, aldehídos, alcoholes y terpenos juegan un papel importante en las características sensoriales de las frutas, el aroma de esta variedad por SDE es muy intenso y está asociado con el aroma de la guayaba.

- 1- La composición de volátiles de la guayaba pera, presenta un alto contenido en ésteres, seguida de aldehídos y alcoholes para los métodos de extracción L-L y HS-SPME y de hidrocarburos para SFE. En todos los casos sobresalieron principalmente los aldehídos y los alcoholes.
- 2- Un total de 134 compuestos se identificaron mediante los diferentes métodos, de estos 83 estuvieron presentes en el extracto L-L y 69 por HS-SPME, 53 por SDE y 49 por SFE. Se puede deducir que los compuestos mayoritarios correspondientes al aroma de la guayaba pera son el acetato de (*Z*)-cinamilo, acetato de (*Z*)-3-hexenilo, butanoato de etilo, (*E*)-2-hexenal, hexanoato de hexilo, identificados en los diferentes métodos de extracción.
- 3- Respecto al número de compuestos por grupo funcional de los 134 identificados, 40 fueron ésteres, 24 terpénicos, 18 hidrocarburos, 14 alcoholes, 11 ácidos, 9 aldehídos, 5 cetonas, 4 furánicos y 9 de composición variada.
- 4- De la cuantificación relativa de volátiles mediante el método de extracción por SDE, el butanoato de etilo, hexanoato de etilo y el (*E*)-2-hexenal son los compuestos que presentan una concentración superior a los 1000 mg equivalentes de *n*-decanol /kg de pulpa.
- 5- Se recomienda el uso del método de extracción por L-L para la cuantificación de volátiles para fraccionamiento del extracto, así como para el estudio de volátiles enlazados glicosídicamente.
- 6- Los constituyentes recolectados por espacio de cabeza, representan los volátiles que expele la fruta, sin interferencia de disolventes, bajo condiciones específicas.

Igualmente hay diferencias cuando el extracto es obtenido a temperatura ambiente como en el caso del L-L o sometida a tratamiento térmico como en SDE.

- 7- Durante la extracción y en la concentración de los extractos, por efecto de la temperatura ocurren transformaciones e hidrólisis aumentando la concentración de algunos compuestos y/o disminuyendo la de otros, lo cual depende de la fruta y del proceso. Esas transformaciones dan lugar en mayor o menor grado a diferencias en la composición de volátiles.

**IV. EFECTO DE LA VARIACIÓN DEL pH EN
LA COMPOSICIÓN DE VOLÁTILES Y
DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS
ENLAZADOS GLICOSÍDICAMENTE**

4.1 INTRODUCCIÓN

Desde tiempos remotos el hombre ha utilizado mecanismos como la fermentación y tratamiento térmico entre otros para obtener alimentos más estables y con características sensoriales atractivas. Tal es el caso de la fabricación del vino, la torrefacción del café, el horneado de carne y otros más. Existen algunos estudios preliminares orientados a conocer la composición de volátiles en función del pH del medio, que indican la posibilidad de que éstos estén enlazados glicosídicamente (Parada *et al.*, 2000). En el caso particular de las frutas se han encontrado numerosos compuestos no volátiles principalmente unidos a glicósidos, los cuales, por hidrólisis enzimática, ácida u otras transformaciones generan compuestos con importantes propiedades sensoriales, asociados con el aroma.

En el estudio sobre la composición del aroma, los llamados precursores, son compuestos no volátiles generadores de aroma, los cuales han sido ampliamente estudiados en frutas. Muchos de los constituyentes que conforman el aroma son obtenidos por procesos enzimáticos, por efecto del pH ácido natural o por temperatura y constituyen el perfil aromático de la fruta. La aglicona parte volátil, se encuentra enlazada a compuestos no volátiles de carácter glicósidico (Ortiz-Serrano *et al.*, 2007; Sakho *et al.*, 2000; Chassagne *et al.*, 1998) o a polioles de naturaleza terpénica (Brodelius, 1994), y también a grupos fosfatos (Schwab *et al.*, 1989), estos últimos no muy comunes. Muchos estudios muestran que la mayoría de los volátiles se hallan enlazados generalmente a través del OH del carbono anomérico de los azúcares o compuestos con función química polar (alcoholes, ácidos, aldehídos, fenoles, fenilpropanoides, hidroxiácidos, norisoprenoides y monoterpenoles) los cuales son liberados por hidrólisis ácida o enzimática.

Uno de los grupos de investigación que impulsó el estudio en glicósidos fueron Stahl *et al.* (1993), quienes publicaron una revisión hasta 1991 de compuestos enlazados glicosídicamente, recopilando más de 150 especies de 35 familias diferentes y 200 agliconas con diversas estructuras tales como constituyentes aromáticos, alcoholes alifáticos C₁₃-norisoprenoides, monoterpenoides, sesquiterpenoles.

Existen tres hipótesis acerca de la generación de estos compuestos. Se plantea que una vez biosintetizados los constituyentes del aroma son transportados en forma glicosidada hasta las células secretoras en donde se hidrolizan y excretan como volátiles libres. Una segunda hipótesis propone que en los tejidos de las plantas, la glicosidación funciona como un mecanismo de protección cuando los compuestos lipofílicos volátiles se encuentran en alta concentración pudiendo llegar a destruir las membranas y una tercera hipótesis, considera dichos compuestos como una forma de suministrar energía acumulada durante el desarrollo de la planta.

La composición de las agliconas puede clasificarse por su origen biogénico. Unos conformados por alcoholes, hidroxíesteres y ácidos alifáticos provenientes del metabolismo de ácidos grasos, otros con estructura aromática, provenientes del ácido cinámico y los norisoprenoides (Winterhalter, 1990) derivados del metabolismo de los carotenoides.

Unos de los estudios que más han aportado al conocimiento de la composición de los compuestos enlazados glicosídicamente, han sido las investigaciones desarrolladas en uva y vino (*Vitis vinifera* cv Sauvignon Blanc 102), donde un sin número de compuestos de composición química variada son generados por transformaciones durante el tratamiento térmico y en condiciones de acidez. Las investigaciones en frutas tropicales (Henderich *et al.*, 1992; Suárez *et al.*, 1991; Ortiz-Serrano *et al.*, 2007; Chassagne *et al.*, 1998; Pérez *et al.*, 1996, 1999; Boido *et al.*, 2002) han contribuido, a enriquecer el estudio de la biosíntesis de algunos de éstos compuestos.

Se observan diferencias cuando se compara la composición de los extractos obtenidos a pH neutro y a pH ácido natural por extracción L-L, deduciéndose que algunos alcoholes e hidroxíesteres son componentes producidos por hidrólisis ácida o enzimática.

En la extracción de los glicósidos es necesario inactivar las glicosidasas para evitar que se produzcan hidrólisis debidas al pH ácido natural de la fruta, razón por la que se trabaja a pH 7 mediante el uso de soluciones amortiguadoras.

4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1 MATERIA PRIMA Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La fruta fue recolectada del mismo cultivar, transportada y preparada de la misma forma que en el numeral 3.2.1 del capítulo anterior. Se escogió el método de extracción L-L, para analizar la composición de volátiles a los diferentes valores de pH. Para obtener los glicósidos, se pesó 1kg de pulpa de acuerdo al procedimiento descrito en 3.3.2, pero en lugar de agua se usó 1 L de disolución amortiguadora de fosfatos a pH 7. Después de centrifugar el sobrenadante fue pasado directamente a través de una columna que contiene una resina de Amberlita XAD-2 (resina adsorbente no iónica) con el fin de retener selectivamente los glicósidos. Posteriormente, las impurezas son retiradas con agua y los glicósidos fueron eluidos con metanol (Duque *et al.*, 1993). Este método es sencillo y rápido, siendo uno de los más usados.

Para la extracción de volátiles a pH ácido natural, se pesó la fruta libre de cáscara para licuarla con agua destilada (1 L por cada kg de pulpa), la semilla se retiró por filtración.

4.2.2 EXTRACCIÓN DE VOLÁTILES A pH ÁCIDO NATURAL y pH 7

El filtrado fue sometido a centrifugación durante 30 min a 7960 G, a una temperatura de 4 °C. El sobrenadante se sometió a extracción L-L al pH ácido natural (4,2) con agua destilada, como patrón interno se usó n-decanol. El mismo procedimiento se efectuó por aparte a pH 7, con solución tampón de fosfatos, de acuerdo con el método descrito por Drawert y Rapp, (1968), la extracción se efectuó durante 8 h a temperatura ambiente y con una mezcla de disolventes (pentano: diclorometano 1:1 v/v). Este procedimiento se usó para analizar la composición de volátiles que puedan venir enlazados glicosídicamente. Los extractos obtenidos se secaron con sulfato de sodio y se concentraron en una columna Vigreux hasta 0,2 mL.

El análisis cromatográfico GC-FID y GC-MS se efectuó de la misma forma que en el capítulo III numeral 3.4.1 y 3.4.2. La fase acuosa se reservó para la extracción de glicósidos.

4.2.3 SEPARACIÓN, CUANTIFICACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE VOLÁTILES

El extracto concentrado fue sometido a análisis cromatográfico. Los métodos de separación e identificación de volátiles enlazados son los mismos que se utilizaron para la determinación de volátiles libres (GC-FID y GC-MS). La cuantificación se realizó relacionando el área del patrón (n-decanol) y su concentración con el área obtenida por GC-FID para cada constituyente. La concentración se expresó en mg equivalentes de n-decanol/Kg de pulpa. La identificación se llevó a cabo mediante el análisis de los espectros de masas para cada compuesto, con la ayuda del criterio cromatográfico de los índices de Kováts enunciado en 3.4.3.

4.3 EXTRACCIÓN DE GLICÓSIDOS

Al residuo acuoso de pH neutro proveniente del numeral anterior (libre de volátiles), se le adicionaron 250 mL de una disolución tampón para disminuir la viscosidad de la fase acuosa y facilitar el paso del extracto por la resina Amberlita XAD-2 (resina adsorbente no iónica); empacada en una columna de vidrio (40 cm x 4 cm), con el fin de retener los glicósidos; posteriormente, se lavó con 3 L de agua y los glicósidos se eluyeron con 1 L de metanol. El eluido metanólico se concentró hasta sequedad a presión reducida en un rotaevaporador. El concentrado se redisolvió en agua destilada (pH 7) y se le retiraron los volátiles remanentes con eter etílico por extracción L-L. Nuevamente se rotaevaporó para retirar residuos de disolvente sin llevar a sequedad, luego se congeló, liofilizó y pesó. El extracto glicosídico, se reservó para efectuar la hidrólisis enzimática. Se obtuvo 0,8 g /Kg de pulpa del extracto glicosídico.

4.4 HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

Se redisolviéron 0,5 g del extracto glicosídico con 50 mL de disolución amortiguadora de citrato-fosfato (pH 5,5), adicionando como estandar interno 1 mL de disolución de fenil- β -D-glucopiranosido correspondiente a 1000 μ g de fenol liberado/kg de pulpa. Se agregaron 0,6 mL de enzima glicosídica comercial conocida como Rohapect D5L y se sometió durante 24 h a hidrólisis en un baño termostatado a 37 °C, bajo agitación suave en un recipiente cerrado.

4.4.1 OBTENCIÓN DE AGLICONAS

El extracto proveniente de la hidrólisis enzimática descrita en el párrafo anterior, se dejó en reposo por 1 h, a 12 °C. Los constituyentes volátiles liberados fueron extraídos, mediante agitación manual con éter etílico por 5 veces con volúmenes de 25 mL cada vez. El extracto orgánico que contiene las agliconas se secó con sulfato de sodio anhídrido y colocado bajo congelación a -18 °C por 2 h. El extracto fue filtrado rápidamente sobre papel y el eluido se concentró en una columna Vigreux (en baño de agua a 37 °C) hasta 0,2 mL. Se hizo un blanco en paralelo.

4.5 ANALISIS CROMATOGRÁFICO

4.5.1 CROMATOGRAFÍA DE GASES DE ALTA RESOLUCIÓN (GC-FID)

Los componentes volátiles obtenidos, fueron analizados por cromatografía de gases de alta resolución con un equipo HP-6890 serie II (Agilent Technologies, California. EE.UU.), provisto con un detector de ionización de llama de hidrógeno (FID). El análisis cromatográfico, las columnas cromatográficas, el programa de temperatura y las condiciones de análisis fueron exactamente igual a los descritos en el capítulo III, numeral 3.4.1, para la determinación de compuestos. Se usaron dos fases estacionarias diferentes, HP-5MS y HP- Innovax. El volumen de inyección 1 μ L en cada caso.

4.5.2. CROMATOGRAFÍA DE GASES DE ALTA RESOLUCIÓN ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS (GC-MS).

Para el análisis por espectrometría de masas, de cada uno de los componentes en los extractos, se utilizó un cromatógrafo de gases HP-6890 serie II (Agilent Technologies, California, EE.UU.) acoplado a un detector selectivo de masas HP 5973, para obtener los espectros de masas de cada componente. Las columnas y condiciones cromatográficas fueron las mismas descritas anteriormente para el análisis por GC-FID. El detector operó en modo de ionización electrónica a 70 eV por 1,8 *scan/s* y con la fuente a 230 °C. La detección se realizó en modo *scan* entre 35 y 400 *uma*.

El espectro de cada uno de los componentes en los diferentes extractos fue tomado del modo de impacto electrónico, con una energía de ionización de 70 eV. La relación de *split* fue de 1:13. El volumen de inyección 1 μ L.

4.5.3 ANALISIS CUANTITATIVO Y CUALITATIVO DE AGLICONAS

La cuantificación se realizó, relacionando el área del patrón interno correspondiente al fenol liberado (numeral 4.4) y su concentración, con el área obtenida por CG-FID para cada constituyente. La concentración se expresó en mg equivalentes de fenol/Kg de pulpa.

La identificación se llevó a cabo mediante el análisis de los espectros de masas para cada compuesto, con la ayuda del criterio cromatográfico de los índices de Kováts, descrita en el numeral 3.4.3.

4.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.6.1 INFLUENCIA DEL pH EN LA COMPOSICIÓN DE VOLÁTILES

La Tabla IV.1 muestra la composición de volátiles obtenidos en función del pH. Como se puede observar se identificaron 65 compuestos a pH ácido natural, de ellos, cuatro son ácidos, cuatro aldehídos, tres cetonas, 24 ésteres, 10 alcoholes, 13

hidrocarburos, tres compuestos furánicos y cuatro de composición variada. A pH neutro, se identificaron 51, de ellos dos son ácidos, tres aldehídos, una cetona, 17 ésteres, 13 hidrocarburos, 10 alcoholes, tres furánicos y dos de composición variada.

La concentración de los aldehídos y ésteres fue superior a pH ácido natural y similar el porcentaje de alcoholes. Los compuestos mayoritarios a éste pH fueron: 2-propanol, alcohol (*Z*)-cinamílico, acetato de (*Z*)-3-hexenilo, (*E*)-2-hexenal, butanoato de etilo y acetato de hexilo, con concentraciones superiores a los 500 mg/kg de pulpa. La mayor representación de compuestos a pH ácido natural (4,2) fueron los ésteres, seguido por los hidrocarburos y los alcoholes. A pH 7 se observa una disminución en número y concentración de volátiles, lo cual concuerda con la influencia del pH ácido en la liberación de compuestos o por acción de las enzimas. Sin embargo presentan mayor concentración el acetato de hexilo, acetato de citronelilo y el acetato de etilo, siendo éste último compuesto identificado por primera vez en guayaba.

Los ésteres, tanto en número como en concentración fueron el grupo más representativo, 24 identificados a pH ácido natural y 17 a pH neutro. De ellos los más comunes son los derivados del etanol y en menor cantidad del metanol. De manera similar se encuentran los ésteres procedentes de alcoholes de seis átomos de carbono y algunos de ellos insaturados. Se encontraron diez derivados del ácido acético, entre ellos el acetato de etilo, acetato de propilo y acetato de hexilo, acetato de citronelilo y los acetatos de (*Z*) y (*E*)-3-hexenilo, otros con anillo aromático como el acetato de 3-fenil-2-propenilo, el acetato de (*E*)-cinamilo, acetato de 3-fenilpropilo, uno hidroxilado como es el acetato de 2-hidroxietilo, algunos de ellos se presentaron en menor concentración a pH neutro. Este grupo es característico de las frutas maduras.

Esteres cíclicos, estimados como importantes sensorialmente y muy interesantes debido a sus propiedades enantioméricas, son los de los hidroxiacidos que por efecto de la temperatura se deshidratan formando las lactonas. De ellas, solo la γ -hexalactona, fue hallada a pH ácido natural y en mayor concentración a pH neutro.

Se identificaron aldehídos de seis carbonos con insaturación en los carbonos 2 o 3; de ellos el (*E*)-2-hexenal, tuvo una concentración ligeramente mayor respecto a los otros aldehídos insaturados como el (*E*)-3-hexenal y (*Z*)-2-hexenal. Un aldehído importante como el hexanal también ha sido reportado por otros autores en guayaba (Paniandy *et*

al., 2000; Chyau *et al.*, 1992) y en frutos de la familia *Psidium* (Pino *et al.*, 2001a, 2001b, 2002), así como en hojas (Pino *et al.*, 2001b) con nota aromática a “verde”, (Pino 1997; Hatanaga *et al.*, 1986). La concentración de estos aldehídos al pH de la fruta, posiblemente se debe a procesos hidrolíticos por acción de una lipoxidasa e hidroxiperoxiliasa, sobre ácidos insaturados como linolénico y linoleico, o por algún otro proceso no enzimático como la misma acidez de la fruta (Hatanaga *et al.*, 1986).

Los alcoholes, por su parte, mostraron una concentración importante al pH ácido natural. El 2-propanol, (*Z*)-3-hexenol, alcohol (*Z*)-cinámico, hexanol, seguido por el hexanol, (*E*)-2-acetoxi-3-butanol y un alcohol no muy común como el 2,3-butanodiol, fueron identificados a los tres valores de pH.

Nuevamente se observa al igual que en los aldehídos, instauraciones en los átomos de carbono 2 y 3 de los alcoholes con seis átomos de carbono, asociados como responsables del aroma a hierba fresca. Alcoholes con características aromáticas como el alcohol (*Z*)-cinámico, muestran una importante concentración tanto a pH ácido como neutro, pero no como enlazado, mientras que su isómero el alcohol (*E*)-cinámico no se identificó a estos dos valores de pH.

Los ácidos por efecto de la acidez, incrementaron la concentración aunque no tan marcadamente como se esperaba. La concentración total fue similar al pH ácido natural y neutro. El ácido hexanoico, el 3-fenilpropanoico y en menor proporción, el ácido benzoico mostraron una mayor concentración al pH de la fruta que al pH neutro, lo que sugiere que pueden estar posiblemente enlazados a glicósidos.

Compuestos nitrogenados, como el nicotinato de etilo, solo se identificaron a pH ácido. Se identificaron también volátiles como el 4-hidroxi- β -ionol y la β -ionona, detectados con frecuencia en vino (Salinas *et al.*, 2004; Williams *et al.*, 1993, 1995) y frutas tropicales (Osorio *et al.*, 2006; Ollé *et al.*, 1998), son característicos por su aroma agradable, considerados como compuestos provenientes de la degradación de los carotenoides y contribuyentes importantes al aroma en frutas. De ellos, el 3-oxo- α -ionol tuvo una mayor concentración al pH neutro, aunque a pH ácido también fue detectado sugiriendo que puede estar enlazado a glicósidos.

Se identificaron un número importante de hidrocarburos en los dos extractos, principalmente con anillo aromático. Solo un constituyente de estructura terpénica el

trans- α -bergamoteno fue hallado a pH ácido. Esta baja representación puede deberse a la polaridad de los disolventes usados.

4.6.2 VOLÁTILES ENLAZADOS GLICOSÍDICAMENTE

Con el objeto de conocer los compuestos provenientes de precursores glicosídicos, se planteó el estudio de la composición de volátiles obtenidos por el método de extracción L-L y a diferentes valores de pH, lo cual permite efectuar un análisis preliminar de los compuestos que pueden estar unidos a azúcares como agliconas.

Después de obtener los glicósidos y efectuar una hidrólisis enzimática con una glicosidasa comercial, el extracto proveniente de este tratamiento (pH 5,5) después del análisis correspondiente, permitió identificar un total de 35 compuestos. De ellos, 15 ácidos, 10 alcoholes, dos ésteres, tres fenoles, un compuesto furánico y cuatro de composición variada. No se detectaron aldehídos.

El grupo más importante y representativo corresponde a los ácidos, con un 53,6 % respecto del extracto total, seguido por los ésteres, con un porcentaje del 14,5 %, los alcoholes con 12 %, compuestos furánicos con el 9 %, y compuestos varios con un 10 % y una mínima cantidad de hidrocarburos.

La Tabla IV.1 describe la composición de volátiles a pH ácido natural, neutro (expresados en mg equivalentes de n-decanol/kg de pulpa) y los constituyentes obtenidos por hidrólisis enzimática (expresados en mg equivalentes de fenol/kg de pulpa). Para visualizar mejor los resultados de la Figura IV.1 se muestra la composición en porcentaje, por grupo funcional, para cada uno de los diferentes valores de pH.

Tabla IV.1 Composición de volátiles de la guayaba pera en función del pH

Compuesto	Indices de Kováts		^a pH 4,2	^b pH 7	^c pH 5,5
	HP-Innowax	HP-5	Desv.Estándar (mg/kg)	Desv.Estándar (mg/kg)	Desv.Estándar (mg/kg)
acetato de etilo	865	581	410 ± 1,53	636 ± 4,5	-
2-propanol	894	-	920 ± 2	-	t
propanoato de etilo	940	717	162 ± 3,5	-	-
2-pentanona	945	653	48 ± 2	-	-
acetato de propilo	962	716	99 ± 2	51 ± 1	-
butanoato de metilo	980	729	188 ± 2,5	40 ± 2,5	-
decano	1000	1000	104 ± 1	-	-
2-butanol	1003	-	-	-	3425 ± 1,5
butanoato de etilo	1027	804	525 ± 2	474 ± 4,5	-
tolueno	1035	773	254 ± 4	-	254 ± 1
hexanal	1074	802	440 ± 3	10 ± 2	-
2-metilpropanol	1093	5921	20 ± 3	119 ± 4	-
undecano	1100	1100	170 ± 4,5	-	-
<i>m</i> -xileno	1116	849	-	48 ± 1	-
<i>p</i> -xileno	1119	872	-	62 ± 1,5	-
etilbenceno	1122	868	54 ± 5	89 ± 2	-
(<i>E</i>)-3-hexenal	1138	769	323 ± 3,5	-	-
1-penten-3-ol	1149	683	-	25 ± 6	-
3-heptanona	1155	850	121 ± 4,6	-	-
<i>o</i> -xileno	1170	894	97 ± 7,5	63 ± 2	-
dodecano	1200	1200	-	157 ± 6,5	-
(<i>Z</i>)-2-hexenal	1204	852	156 ± 4,51	-	-
dodecano	1200	1200	240 ± 5	-	-
(<i>E</i>)-2-hexenal	1212	855	520 ± 5	245 ± 5	-
hexanoato de etilo	1227	998	377 ± 5,1	246 ± 3,5	-
<i>o</i> -metiletilbenceno	1246	889	106 ± 4	-	-
<i>p</i> -cimeno	1253	1025	-	124 ± 1	-
3-hidroxi-2-butanona	1263	718	325 ± 9,5	393 ± 1	-
acetato de hexilo	1265	1008	508 ± 8	836 ± 5	-
metilpropionato de (<i>Z</i>)-2-hexenilo	1270	-	84 ± 4	74 ± 6	-
(<i>E</i>)-2-pentenol	1274	751	63 ± 3	27 ± 2	-
1,2,4-trimetilbenceno	1275	899	48 ± 5	49 ± 3	-

Tabla IV.1

(continuación)

Compuesto	Índices de Kováts		^a pH 4,2 ^a	^b pH 7 ^b	^c pH 5,5 ^c
	HP-Innowax	HP-5	Desv.Estándar (mg/kg)	Desv.Estándar (mg/kg)	Desv.Estándar (mg/kg)
acetato de (<i>E</i>)-3-hexenilo	1299	1002	-	98 ± 3	-
acetato de (<i>Z</i>)-3-hexenilo	1322	1005	590 ± 5	-	-
hexanol	1348	871	193 ± 3	-	-
(<i>Z</i>)-3-hexenol	1373	859	400 ± 2	277 ± 2	-
nonanal	1383	1101	-	42 ± 2	-
(<i>E</i>)-2-hexenol	1394	861	60 ± 2	-	-
tetradecano	1400	1400	281 ± 1	300 ± 5	-
1-octen-3-ol	1420	979	-	45 ± 1,5	-
metil-1,3-ciclopentano	1424	980	37 ± 2	33 ± 3	-
octanoato de etilo	1426	1197	37 ± 0,5	-	-
ácido acético	1429	600	-	-	702 ± 4,6
acetato de 2-hidroxietilo	1503	763	-	-	7407 ± 1
3-hidroxibutanoato de etilo	1505	882	42 ± 2	-	-
octanol	1544	1054	-	20 ± 0,5	18 ± 1
(<i>E</i>)-2-acetoxi-3-butanol	1559	1050	90 ± 4	24 ± 0,5	-
2,3-butanodiol	1563	789	53 ± 3	26 ± 1	71 ± 1
<i>trans</i> - α -bergamoteno	1575	1435	t	-	-
acetato de citronelilo	1583	1353	168±0,5	251 ± 1,1	-
γ -butirolactona	1611	915	-	17 ± 1	-
ácido 2-metilbutanoico	1620	756	-	-	55 ± 1,5
1,2-etanodiol	1638	-	-	-	134 ± 1
hexanoato de (<i>Z</i>)-3-hexenilo	1654	1383	93 ± 2	64 ± 1	-
naftaleno	1707	1181	77 ± 2	71 ± 2	-
1,3-butanodiol	1739	-	-	-	45 ± 1,5
γ -hexalactona	1679	1056	82 ± 2	212 ± 1,5	-
naftaleno	1707	1181	77 ± 2	71 ± 2	-
5-etil-(3)-2-H-furanona	1750	-	43 ± 2	43 ± 2	-
nicotinato de metilo	1784	-	-	-	70 ± 2

Tabla IV.1

(continuación)

Compuesto	Indices de Kováts		^a pH 4,2	^b pH 7	^c pH 5,5
	HP-Innowax	HP-5	Desv. Estandar (mg/kg)	Desv. Estandar (mg/kg)	Desv. Estandar (mg/kg)
octadecano	1800	1800	36 ± 2	23 ± 3	-
nicotinato de etilo	1807	-	48 ± 1	-	-
ácido hexanoico	1810	982	124 ± 1	45 ± 2	457 ± 0,5
3-fenilpropanoato de etilo	1870	-	32 ± 2	-	-
alcohol bencílico	1871	1032	-	-	64 ± 1
1-metilnaftaleno	1875	-	98 ± 3	102 ± 1	-
2-feniletanol	1889	1107	-	-	639 ± 1,6
(<i>E</i>)-β-ionona	1912	1489	120 ± 2	115 ± 2	-
acetato de 3-fenilpropilo	1926	1378	374 ± 2	-	-
ácido (<i>E</i>)-2-hexenoico	1932	-	-	-	40 ± 0,5
4-hidroxi-5-metil-3(2H)-furanona	1964	-	110 ± 2	156 ± 3,7	-
2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona	1994	1055	65 ± 2	254 ± 2	386 ± 0,6
ácido octanoico	2035	1175	10 ± 1	199 ± 5	t
3-fenilpropanol	2036	1232	35 ± 0,5	115 ± 5,5	-
acetato de (<i>E</i>)-cinamilo	2103	1446	540 ± 1,5	47 ± 2	-
acetato de 3-fenil-2-propenilo	2139	1373	383 ± 1,1	203 ± 2,5	-
ácido nonanoico	2144	1271	-	-	t
propionato de cinamilo	2172	1556	137 ± 0,5	101 ± 0,5	-
2-vinilguayacol	2173	-	-	-	60 ± 2
alcohol (<i>Z</i>)-cinámilico	2207	1262	814 ± 1	1253 ± 3	-
alcohol (<i>E</i>)-cinámilico	2210	1304	-	-	380 ± 2
ácido decanoico	2255	2134	-	-	782 ± 1,1
dietilftalato	2340	-	27 ± 2	27 ± 1	-
glicerina	2377	-	-	-	188 ± 1,15
4-vinilfenol	2380	-	-	-	130 ± 1,1
ácido benzoico	2401	-	22 ± 1	-	8700 ± 0,6
(<i>E</i>)-9-octadecenoato de metilo	2430	-	106 ± 1	74 ± 1	-
ácido laúrico	2463	-	-	-	157 ± 2
linoleato de metilo	2477	2096	30 ± 1	-	-
3-hidroxi-β-damascona	2513	-	-	-	160 ± 0,6
4-vinil siringol	2538	-	-	-	1080 ± 1

Tabla IV.1

(continuación)

Compuesto	Indices de Kováts		^a pH 4,2	^b pH 7	^c pH 5,5
	HP-Innowax	HP-5	Desv. Estandar (mg/kg)	Desv. Estandar (mg/kg)	Desv. Estandar (mg/kg)
4-hidroxib- β -ionol	2556	-	61 \pm 1,5	-	-
ácido 3-fenilpropanoico	2598	-	83 \pm 2,5	-	t
ácido tetradecanoico	2634	1780	-	-	1641 \pm 3
3-oxo- α -ionol	2640	1660	139 \pm 0,5	236 \pm 1,5	2627 \pm 2
3-hidroxib-5,6-epoxib- β -ionona	2666	-	-	-	2023 \pm 1,1
ácido (Z)-cinámico	2682	1441	-	-	1040 \pm 1,5
ácido pentadecanoico	2720	1878	-	-	1320 \pm 1,5
ácido (E)-cinámico	2832	1454	-	-	3780 \pm 2
ácido hexadecanoico	2886	1992	-	-	9127 \pm 2,5

^a Concentración de volátiles extraídos a pH ácido natural (4,2) expresado como mg equivalentes de n-decanol/kg de pulpa \pm desviación estándar; ^b Concentración de volátiles extraídos a pH neutro expresado como mg equivalentes de n-decanol/kg de pulpa \pm desviación estándar; ^c Concentración de volátiles liberados por hidrólisis enzimática a pH 5,5 \pm desviación estándar expresado como mg equivalentes de fenol/kg de pulpa; t: < 0,1 mg/kg de pulpa; - no detectado.

En el extracto obtenido por hidrólisis enzimática se caracterizan los ácidos por su elevada concentración y un número alto de ellos, siendo los mayoritarios: el ácido hexadecanoico, ácido benzoico, ácido (E)-cinámico y el ácido (Z)-cinámico y de cadena lineal, además del primero, están el decanoico, tetradecanoico y pentadecanoico. Entre los ácidos con menos átomos de carbono, el acético se presenta como enlazado glicosídicamente, ya que no fue identificado ni a pH ácido natural ni neutro. Otros ácidos como el octanoico y nonanoico solo se identificaron en trazas.

Los ácidos, en su mayoría, se puede deducir que están enlazados glicosídicamente. De estos, algunos son mayoritarios. Los ácidos hexanoico y octanoico, así como el benzoico y el 3-fenilpropanoico, se identificaron en baja concentración al pH de la fruta. Vale la pena mencionar la presencia de ácidos insaturados como el (E)-2-hexenoico y los (E)- y (Z)-cinámicos.

Otro grupo importante de compuestos son los alcoholes, quince de ellos fueron identificados como agliconas y nueve solo a pH ácido natural y ácido; principalmente alcoholes con átomos de dos a cinco átomos de carbono y con 1, 2 y 3 grupos hidroxilo, entre ellos están el 1,2-etanodiol, 2,3-butanodiol y 1,3-butanodiol. El 2-butanol, se perfila como el alcohol mayoritario en forma glicosídica.

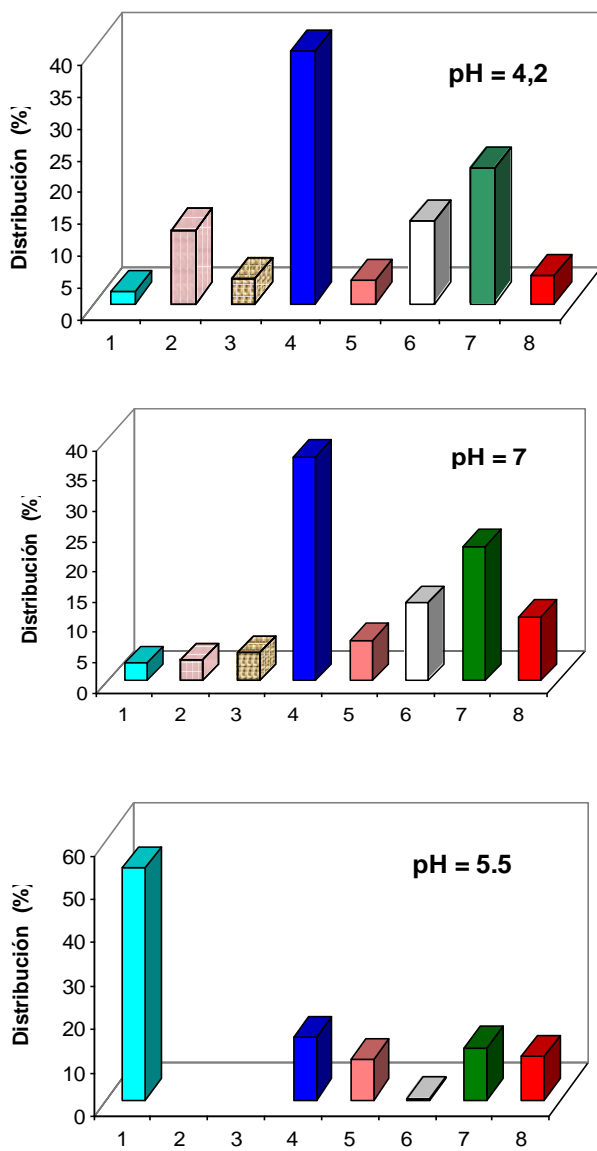


Figura IV.1 Distribución por grupo funcional de los compuestos identificados en la fracción volátil de la guayaba pera a pH: ácido natural (4,2), neutro (7), liberadosa enzimáticamente a (5,5) por L-L. (1) ácidos, (2) aldehídos, (3) cetonas, (4) ésteres, (5) furanos, (6) hidrocarburos, (7) alcoholes, (8) composición variada.

Compuestos aromáticos de cadena alifática de uno a tres átomos de carbono se encuentran en concentración media. Los alcoholes insaturados de cadena lineal no fueron detectados, pero si los aromáticos con insaturación en la cadena alifática, el alcohol (*E*)-cinamílico se identificó como enlazado glicosídicamente, mientras que su isómero (*Z*) no, a pH neutro este último presentó una mayor concentración que a pH ácido natural. Respecto a los compuestos fenólicos, como el 4-vinilfenol (Sefton *et al.*, 1993), 4-vinilsiringol (Boido *et al.*, 2002) y 2-vinilguayacol (Sánchez *et al.*, 2005), con importante significado sensorial en frutos como la uva, fueron identificados en la guayaba como enlazados a glicósidos, mientras que a pH neutro o natural no fueron encontrados.

Otro grupo interesante de compuestos, desde el punto de vista biogénico, lo forman los C₁₃-norisoprenoides, constituyentes importantes en el aroma por poseer atractivas propiedades sensoriales. Se les considera como productos de degradación de terpenos de alto peso molecular. Entre ellos, figuran la 3-hidroxi- β -damascona, 3-hidroxibutanona, 3-oxo- α -ionol y 5-hidroxi-5,6-epoxi- β -ionona, algunos de ellos derivados de la α - y β -ionona. El 3-oxo- α -ionol es uno de los más abundantes. Estos tres norisoprenoides, han sido reportados como enlazados glicosídicos en frutas como papaya (Schwab *et al.*, 1989), carambolo (Henderich *et al.*, 1992), lulo (Suárez *et al.*, 1991a), frambuesa (Pabst *et al.*, 1992), nectarines (Aubert *et al.*, 2003) entre otras. Los aldehídos no fueron hallados como agliconas.

En relación a los compuestos furánicos característicos del aroma a caramelo solo la 2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona fue identificada como aglicona. Compuestos con grupo funcional mixto de importancia sensorial, como el acetato de 2-hidroxietilo y la 2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona, son interesantes por poseer un átomo de carbono asimétrico, que le confiere propiedades sensoriales diferentes a sus isómeros. Otros autores han identificado este constituyente en frutas como fresa, piña y mango (Pikenhagen *et al.*, 1981).

Respecto a los compuestos con función cetónica, se observa que el grupo oxo en la cadena alquílica, se da principalmente en el carbono 2, como en la 2-pentanona, la 2-heptanona y un compuesto hidroxicetónico como es la 3-hidroxi-2-butanona. Compuestos hidroxicetónicos e hidroxieésteres como la 3-hidroxi-2-butanona y el

acetato de 2-hidroxietilo se hallaron como volátiles libres en la guayaba pera en baja concentración- Algunos de estos compuestos han sido encontrados también en piña (Sinuco *et al.*; 2004).

Constituyentes nitrogenados y azufrados, como el nicotinato de etilo y benzotiazol, hallados en guayaba en forma libre, se detectaron enlazados también glicosídicamente. Su biogénesis no es muy bien conocida.

4.7 CONCLUSIONES

- 1- Mediante la extracción L-L a diversos valores de pH, los grupos predominantes fueron principalmente los ésteres, seguidos por los alcoholes, hidrocarburos y aldehídos, y en menor proporción, los terpenos, cetonas, hidrocarburos y ácidos.
- 2- El extracto L-L a pH ácido natural, se caracterizó por el aroma a guayaba fresca muy dulce lo que es probable que se deba al mayor contenido de ésteres, la mayoría provenientes del etanol, hexanol y alcohol cinámico con el ácido acético principalmente. Además presenta un matíz ligeramente a verde, posiblemente por los aldehídos y alcoholes de seis carbonos. El extracto proveniente de los compuestos liberados enzimáticamente se caracteriza por un aroma dulce similar a uno de los productos comerciales de la guayaba conocido como bocadillo, aunque con menor intensidad. Mientras que el extracto a pH neutro, presenta una nota menos floral y ligeramente más alcohólica.
- 3- Los constituyentes volátiles enlazados glicosídicamente fueron 35, con grupo funcional diverso, obteniéndose en concentración descendente: ácidos, alcoholes, fenoles y algunos C₁₃-norisoprenoides. Los constituyentes mayoritarios, en orden descendente de concentración, fueron: ácido benzoico, acetato de 2-hidroxietilo, ácido (*E*)-cinámico, 2-butanol, 3-oxo- α -ionol, ácido tetradecanoico, 3-oxo- α -ionol, 3-hidroxi-5,6-epoxi- β -ionona y el ácido tetradecanoico. Esta identificación de volátiles enlazados glicosídicamente es la primera en pulpa de guayaba, además del primer estudio hecho sobre guayaba cultivada en Colombia.

**V. ESTUDIO CINÉTICO DEL PROCESO
DE DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA**

5.1 INTRODUCCIÓN

El proceso de deshidratación osmótica (OD), favorece la pérdida de agua, la ganancia de solutos y conlleva cambios en el volumen, textura y aroma. La disminución del contenido de agua supone un aumento de la vida útil de producto (Moreno *et al.*, 2003).

La deshidratación desde la antigüedad ha sido usada como una de las principales técnicas de conservación de los alimentos. El principal objetivo de la deshidratación es extender la vida útil, gracias a la reducción del contenido de humedad en los alimentos, disminuyendo la actividad del agua, lo que genera una actividad microbiana menor, que junto con el valor del pH si es ácido, alargan la vida del alimento sin deteriorarse, aunque algunas de sus propiedades organolépticas pueden cambiar.

5.1.1 DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA DE FRUTAS

La deshidratación osmótica de frutas y algunos vegetales ha sido usada desde mediados del siglo XX. Pointing *et al.* (1966), dieron el nombre al proceso mediante el cual un alimento con buena consistencia entero o fraccionado, es inmerso en una disolución azucarada o con sal de alta presión osmótica, generando un gradiente de presión osmótica por el que el alimento provoca un flujo de agua hacia la solución, a la vez que los solutos de la disolución entran al alimento por procesos de capilaridad. La diferencia de presión osmótica igualmente genera salida de nutrientes como minerales y vitaminas hidrosolubles hacia la disolución (Dixon y Jenn, 1977).

La deshidratación osmótica también puede utilizarse como pre-tratamiento en el procesamiento de frutas, antes de la congelación y el secado de frutas, mejorando significativamente las propiedades del producto final. Al combinarse la deshidratación osmótica como pre-tratamiento y posterior congelación la formación de cristales de hielo dentro de la fruta se reduce significativamente al disminuir el contenido de agua, lo cual se ve reflejado en la disminución de modificaciones estructurales y sensoriales de ésta. La combinación de estos dos tratamientos mejora la calidad de los tejidos, que conserva mejor las propiedades texturales (Mugurama *et al.*, 1987), estrechamente

relacionadas con la estructura celular (Ilker *et al.*, citado por Torreggiani *et al.*, 2001).

En cuanto al secado, la implementación de un pre-tratamiento osmótico mejora la retención de color, baja el nivel de degradación de la vitamina C, mejora la estabilidad al modificar la composición de azúcar en la fruta, es decir aumentándola. La concentración de azúcar produce un efecto protector (Torreggiani *et al.*, 2001), debido a la modificación de la temperatura de transición vítrea de la fruta, aumentándola, y como consecuencia presenta un colapso estructural menor (Roos y Karel, 1991; Levi y Karel, 1995, citado por Torreggiani *et al.*, 2001).

Una de las cualidades que más se ve beneficiada es el aroma y el sabor porque se potencia el contenido de azúcares y compuestos furánicos, piránicos y ésteres principalmente, reteniéndose estos en los tejidos, mientras que los compuestos carboxílicos y algunos alcoholes se eliminan hacia la solución osmótica, debido probablemente a las diferentes solubilidades de estos compuestos en el agua (Torreggiani *et al.*, 2001). Se puede decir que la OD, mejora la calidad de sabor fresco de algunas frutas (Marltini *et al.*, 1991), potencia aromas clave en el aroma de muchas frutas como piña (Pino *et al.*, 1999), evita la fermentación y prolonga la vida útil del producto (Talens *et al.*, 2001).

5.1.2 CINÉTICA DE DESHIDRATACION OSMOTICA

La cinética de deshidratación se ha analizado desde varios puntos de vista teniendo en cuenta varios fenómenos como: pérdida de agua, ganancia de sólidos, cambio de volumen y pérdida de peso (Pointing *et al.*, 1966; Garrote y Bertone, 1989). Una explicación a estos fenómenos fue propuesta y ampliamente conocida como es el modelo (Fito y Chiralt, 1997; Barat *et al.*, 1997) que contempla la cinética de los cambios de composición del producto desde dos puntos de vista: el primero de ellos comprende los cambios de composición de la fracción líquida de la fruta que producen cambios morfológicos de textura, calidad y estabilidad del producto y segundo la cinética de la pérdida de peso, relacionada con la pérdida de agua y ganancia de solutos que determinan la rentabilidad del proceso.

La pérdida de agua en la deshidratación osmótica ocurre principalmente en las dos

primeras horas, mientras que alrededor de los primeros 30 min del tratamiento ocurre la mayor ganancia de sólidos. Pasado este tiempo aproximadamente los flujos en los dos sentidos se hacen más lentos hasta llegar al equilibrio (Conway *et al.*, 1983; Guennengues, 1986; Giangiacomo *et al.*, 1987). La velocidad de transferencia de masa de otras sustancias hidrosolubles (sales, ácidos orgánicos, minerales, azúcares, etc.) es tan lenta que puede considerarse despreciable (Dixon y Jen, 1977; Moreno *et al.*, 2000).

5.1.3 VARIABLES DEL PROCESO DE DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA

En el proceso de deshidratación osmótica de los alimentos existen algunas variables clasificadas como variables de proceso e intrínsecas. Las primeras hacen referencia a la composición, concentración de la solución osmótica, temperatura aplicada durante el tratamiento tiempo del proceso, presión del trabajo etc. (Barat *et al.*, 1998). Las segundas se refieren a variables del producto en sí que se va a deshidratar como son: tamaño, forma, estado de madurez, compactación de los tejidos, contenidos de sólidos solubles e insolubles, espacios intercelulares, la presencia de gas y la actividad enzimática, entre otras (Fito *et al.*, 1993). De acuerdo a esto se discuten algunas de ellas a continuación:

- Efecto de la naturaleza de la materia prima. Estructura, tamaño y geometría.

Cada fruta tiene una composición, forma y estructura particular. Respecto a su estructura física algunos autores explican la influencia de esta variable (Pointing, 1973; Islam y Flink, 1982; Lenart y Flink, 1984a). Respecto a lo compacto del tejido (Giangiacomo *et al.*, 1987), el contenido inicial de sólidos solubles e insolubles (Lennart y Flink, 1984a, 1984b), los espacios intercelulares, la presencia de gas, la relación entre las diferentes fracciones pécticas (pectina soluble en agua y protopectina) (Forni *et al.*, 1986), así como el nivel de gelificación de pectina (Moy *et al.*, 1978) y la actividad enzimática de la fruta (Giangiacomo *et al.*, 1987) afectan a los mecanismos de transporte implicados en la deshidratación osmótica (Fito *et al.*, 1994a; Lazarides, 1998; Mavroudis *et al.*, 1998; Chiralt *et al.*, 1999), de tal forma que cuanto mayor sea la

porosidad de la fruta, será mayor la ganancia de sólidos.

Por otro lado, la ganancia de solutos y la pérdida del agua también están relacionadas con la geometría y tamaño del producto. (Lerici *et al.*, 1985; Torreggiani, 1993). A mayor relación superficie volumen, aumenta la pérdida de agua y se incrementa la ganancia de solutos (Acosta, 1996).

- Efecto de la naturaleza del agente osmótico.

La naturaleza del agente osmótico, es importante para definir el comportamiento del producto durante el proceso de deshidratación osmótica (Barat *et al.*, 1998, 2001a). En función de las propiedades físicas de la disolución osmótica, se observa un comportamiento u otro, debido a la diferente interacción entre el soluto, el agua y la matriz sólida del alimento (Chafer *et al.*, 2001). Como consecuencia de que la disolución osmótica es rica en solutos que deprimen la actividad de agua, se crea una diferencia de presión osmótica entre el alimento a deshidratar y la disolución (Barrera, 2001). Agentes osmóticos como la glucosa, sorbitol, glicerina y almidón de maíz hidrolizado son usados en la deshidratación de frutas pero especialmente la sacarosa (Biswal y Bozorgmehr, 1992) debido su disponibilidad, sabor, aroma y disminución del pardeamiento enzimático (Karel, 1975; Tregunno y Golf, 1996). Para hortalizas, tubérculos, carnes y pescados se emplea el cloruro de sodio. Algunos autores han estudiado ampliamente el uso de otros agentes (Mercado, 1990; Guilbert *et al.*, 1995).

- Efecto de la concentración de la disolución osmótica.

Como en toda disolución, a mayor concentración se favorece la transferencia de masa y pérdida de agua (Torreggiani, 1995). Al incrementarse los sólidos solubles en ella, se incrementa la viscosidad, la presión osmótica así como la velocidad del transporte (Martínez-Monzó *et al.*, 1998a, 2001; Cháfer *et al.*, 2001; Barat *et al.*, 2001b, 2001c; Talens *et al.*, 2000, 2001). Esta gran concentración produce, mayor presión osmótica, mayor fuerza impulsora y los tiempos de deshidratación se hacen más cortos. Esta propiedad también ha sido usada para agregar sustancias que enriquezcan el

alimento y para evitar que la pared celular se descomponga, como es el caso de agregar calcio cuyos iones disueltos participan en la reforzamiento celular aumentando la ganancia de soluto osmótico, como en mango (Cortés *et al.*, 2007; Pérez, 1999).

- Efecto de la temperatura.

La temperatura es uno de los parámetros que más influyen en la velocidad de la OD. El incremento de la temperatura incrementa la energía cinética de las moléculas transferidas tanto para la eliminación de agua, como para la entrada de sólidos solubles (Lazarides *et al.*, 1999; Lazarides, 2001). A temperaturas menores de 40 a 50 °C, las membranas celulares mantienen su funcionalidad limitando el transporte, se conserva el color y se mantienen las características sensoriales. Por encima de estas temperaturas, ocurre pérdida de actividad biológica celular, lo que trae como consecuencia que el transporte sea más rápido, pero cambia negativamente la estructura del tejido de la fruta además de la textura, sabor y aroma.

El cambio más importante sufrido por la fruta, además de los mencionados anteriormente, son los cambios texturales y estructurales como son el ablandamiento por el efecto de la temperatura y la pérdida de turgor celular. No obstante, acerca de la temperatura no se puede generalizar porque cada alimento tiene una temperatura adecuada dependiendo de su estructura celular (Torregiani, 1993).

- Efecto de la presión de trabajo.

En el secado osmótico, la presión de trabajo tiene gran importancia en el mecanismo y la velocidad de la deshidratación del alimento. Cuando se habla de presión de trabajo se hace referencia a procesos que se desarrollan a presión atmosférica y a los procesos efectuados a vacío, cuando se aplica pulso de vacío (Barat *et al.*, 1998). El empleo de vacío en la deshidratación osmótica contribuye a disminuir el tiempo de trabajo. Esto ocurre debido a la eliminación de aire del interior de la fruta, con lo que aumenta la interfase de contacto entre el alimento y la disolución osmótica (Barat *et al.*, 1998). El gas ocluido sufre una expansión para equilibrarse con la presión a que se

somete el sistema y al restituir la presión atmosférica se produce la entrada de líquido externo en los poros ocupados inicialmente por gas, en el mismo sentido. La aplicación del pulso de vacío, acelera la transferencia de masa (Fito y Chiralt, 2000; Escriche *et al.*, 2000b; Barat *et al.*, 2001b).

Este método requiere equipos un poco más costosos. Sin embargo, la disminución del tiempo de proceso de deshidratación compensa la mayor inversión en el dinero usado para el equipo (Mata, 1993; Pastor, 1994; Pensaben, 1994; Barat, 1998).

- Efecto de la agitación del sistema.

La agitación del sistema también influye en la velocidad de deshidratación. El agua que sale de la fruta se difunde lentamente a través de la disolución osmótica, lo que hace que en la interfase entre la fruta y el jarabe se produzca un efecto de dilución que demora el tiempo de deshidratación. Si la disolución es agitada suavemente, el agua que sale de la fruta se difunde con mayor velocidad, evitando el efecto de dilución (Camacho, 2004).

- Efectos del transporte en el tejido vegetal.

No se puede dejar de mencionar el efecto que puede producir en el tejido vegetal el proceso de deshidratación osmótica. Este sufre variaciones, dependiendo de la disolución en la que se encuentre; el tejido se hincha o encoge dependiendo de los factores anteriores, así como de la difusión extracelular y la permeabilidad de las membranas. La superficie de la membrana, directamente en contacto con la disolución, deberá ser la más afectada en cuanto a su estructura, mientras que las más alejadas permanecerán completamente turgentes (QI, *et al.*, 1998). En algunos casos, la acumulación superficial del soluto, por concentración alta de la disolución, puede causar una ruptura de la estructura celular y alterarla produciendo daño en los tejidos por cristalización del soluto, o incluso concentraciones muy altas pueden llegar a encoger el tejido, con cambios significativos en el volumen que llegan a obstaculizar los

fenómenos de transporte (Lenart y Flink, 1984b).

- Efecto sobre la estructura celular.

Algunos autores (Alzamora *et al.*, 1997), han estudiado como los efectos que producen los tratamientos de OD sobre la estructura celular:

- colapso de la matriz porosa.
- Cambios en la estructura de la pared celular.
- Pérdida de la funcionalidad de la membrana plasmática.
- Incapacidad de recuperación del volumen original.
- Encogimiento del tejido, etc.

5.1.4. PROCESO DE IMPREGNACIÓN A VACÍO

La superficie interna y externa de los poros o espacios intercelulares presentes en la fruta juegan un papel importante en la velocidad de transferencia de masa cuando están en contacto con la solución osmodeshidratante, sobre todo cuando se utilizan a presiones sub-atmosféricas.

La mayoría de los alimentos sólidos son porosos y muy sensibles a los fenómenos de transporte durante su proceso, creandose gradientes de presión en el sistema. Las operaciones unitarias en el sistema que implican transferencia sólido-líquido son muy habituales en la industria de los alimentos, como en encurtidos, conservas, obtención de aceites esenciales, deshidratación osmótica, salado de alimentos por inmersión, en salmuera entre otros, siendo la impregnación a vacío una alternativa para acortar los tiempos de proceso (Chiralt y Fito, 1997; Gonzalez *et al.*, 1999).

La impregnación a vacío permite mejorar algunas propiedades físicas del producto durante el procesamiento, como el color, textura, enriquecimiento de nutrientes (sales de calcio o antiparaldeantes, (Fito *et al.*, 2001a, 2001b y 2001c). Las sales de calcio dan firmeza al tejido parenquimático como en el caso de patatas, tomates, o manzanas peladas, (Drake y Spayd, 1983), mejoran la vida útil de almacenamiento (Poovaiah y Moulton, 1982), reducen el marchitamiento (Conway y Sams, 1983), previenen el

derrumbe de la estructura (Bangerth *et al.*, 1972). La impregnación a vacío, permite la adición de criostabilizantes y crioprotectores a frutas en tratamientos previos a la congelación (Ayala, 2001; Talens *et al.*, 2002), el incremento de la velocidad del salado en carnes y pescados (Barat *et al.*, 2001c; Andrés *et al.*, 2001a, 2001b), entre otros.

5.1.5 MECANISMO HIDRODINÁMICO

La estructura porosa de los alimentos es responsable de la acción del mecanismo hidrodinámico de los alimentos (HDM) en los procesos con cambios de presión. Este mecanismo, propuesto por Fito y Pastor (1994), describe y modela (Fito, 1994) como un fenómeno de transferencia de materia, que ocurre en operaciones sólido-líquido y que es importante cuando se trabaja en condiciones de vacío. Los autores explicaron que el gas atrapado en los poros del alimento, sufre una expansión para equilibrarse con la presión impuesta al sistema, lo que implica un nivel de desgasificación de la estructura porosa del alimento y por otra, una penetración del líquido por capilaridad cuando el sistema ha alcanzado el equilibrio. Una vez suspendido el vacío, se establece la presión atmosférica y se forma un nuevo gradiente de presión, que hace que los espacios intercelulares o poros se llenen parcialmente del líquido. La entrada de la disolución en el tejido supone un aumento de la superficie de contacto dentro de los poros que contribuye al incremento de la velocidad de transporte (Fito y Chiralt, 2000). La cantidad del líquido depende del nivel de desgasificación y por tanto de la presión de trabajo. Esta penetración puede ser reversible y está controlada por la expansión del gas ocluido en los espacios intercelulares.

Las variaciones de presión pueden tener acoplados fenómenos de deformación-relajación de la matriz sólida del alimento poroso. La actuación del HDM y de los fenómenos de deformación-relajación (DRP), afectan a la microestructura del alimento, las propiedades mecánicas y las físicas del producto obtenido (Andrés, 1995; Fito y Chiralt 1995; Fito *et al.*, 1996).

La Figura V.1 ilustra el comportamiento de los fenómenos de deformación-relajación y HDM de un sistema poroso sumergido en un líquido, en las diferentes etapas de un proceso de impregnación. El volumen de gas atrapado en el interior del

poro (V_g) a $t = 0$, antes de cualquier interacción sólido-líquido, se tomó como referencia para los cálculos:

$$V_{g0} = 1 \quad (\text{V.1})$$

La relación entre el volumen total del gas (V_{g0}) en una muestra a $t = 0$ y el volumen inicial de la muestra (V_0), se define como la porosidad efectiva del producto (ε_0):

$$\varepsilon_0 = \frac{V_{g0}}{V_0} \quad (\text{V.2})$$

Cuando se lleva a cabo una operación de impregnación a vacío, el sistema es sometido a una presión de vacío (p_1), durante un tiempo t_1 (Figura V.1), esta situación provoca la expansión del gas ocluido en el interior de los poros, una salida parcial del mismo y en cierta medida una deformación de la matriz sólida (Etapa I-A en la Figura V.1); aumenta el valor de V_g . Cuando la presión interior (p_i) se hace igual a la presión exterior (p_e), (a $t = t'$) se detiene la salida del gas desde el interior de los poros.

Entonces el volumen del gas en los mismos aumenta en X_{cl} , como consecuencia de la deformación, alcanzando un valor de:

$$V_{glA} = 1 + X_{cl} \quad (\text{V.3})$$

Se puede asumir que, en este momento, actúa el mecanismo hidrodinámico y el líquido externo empieza a entrar en el poro por efecto capilar (etapa 1-B, en la Figura V.1). El gas residual se comprime hasta alcanzar una nueva situación de equilibrio justo cuando $p_i = p_1 + p_{cr}$, siendo por la presión capilar, a $t = t_1$. Se asume que no existe deformación entre t' y t_1 . En el equilibrio, el volumen de gas disminuye en la misma proporción en que penetra el líquido por HDM (X_{vl}):

$$V_{glB} = 1 + X_{cl} - X_{vl} \quad (\text{V.4})$$

Cuando se restaura la presión atmosférica en el sistema la presión externa (p_e), se iguala a la presión del líquido (p_2) y la fuerzas debidas a las diferencias entre la presión externa e interna pueden producir, tanto deformación de la matriz sólida como

impregnación por HDM (etapa 2 en la Figura V.1). Al igual que antes, cualquier cambio en el volumen de la muestra (debido a cambios en la presión externa) se asume que es debido a cambios en el volumen del gas interno principalmente. En el equilibrio $t = t_2$, el cambio de volumen y la penetración del líquido en el poro, durante la etapa 2 será X_{c2} y X_{v2} , respectivamente.

La penetración neta de líquido por HDM y la deformación de la matriz sólida (X_c) a lo largo de la operación de impregnación a vacío puede calcularse como:

$$X_v = X_{v1} + X_{v2} \quad (V.5)$$

$$X_c = X_{c1} + X_{c2} \quad (V.6)$$

Los valores del volumen del gas en los poros después de la etapa 2 (Figura V.1) serían:

$$V_{g2} = 1 + X_c - X_v \quad (V.7)$$

El valor de cualquier variable referida a un poro ideal, puede extenderse al total del volumen de la muestra, multiplicando por la porosidad efectiva de producto (ϵ_o), mostrado en ecuaciones V.8 y V.9. Por tanto, se puede definir la penetración (X) y deformación netas (γ), por unidad de volumen de muestra inicial, mediante las ecuaciones V.10 y V.11.

$$X = \epsilon_o X_v \quad (V.8)$$

$$\gamma = \epsilon_o X_c \quad (V.9)$$

$$X = X_1 + X_2 \quad (V.10)$$

$$\gamma = \gamma_1 + \gamma_2 \quad (V.11)$$

El fenómeno de deformación de la matriz sólida, como resultado de los gradientes de presión impuestos al sistema, se supone que va seguido por una relajación debida al comportamiento viscoelástico de la matriz. Parece evidente que el acoplamiento de

ambos fenómenos HDM y DRP, afectará profundamente los valores de X y de γ .

Para la etapa 1, la ecuación de equilibrio mecánico viene dada por (V.12) (Fito *et al.*, 1996), mientras que para la etapa 2, viene dada por la ecuación (V.13).

$$X_1 - \gamma_1 = \varepsilon_e \left(1 - \frac{1}{r_1} \right) - \frac{\gamma_1}{r_1} \tag{V.12}$$

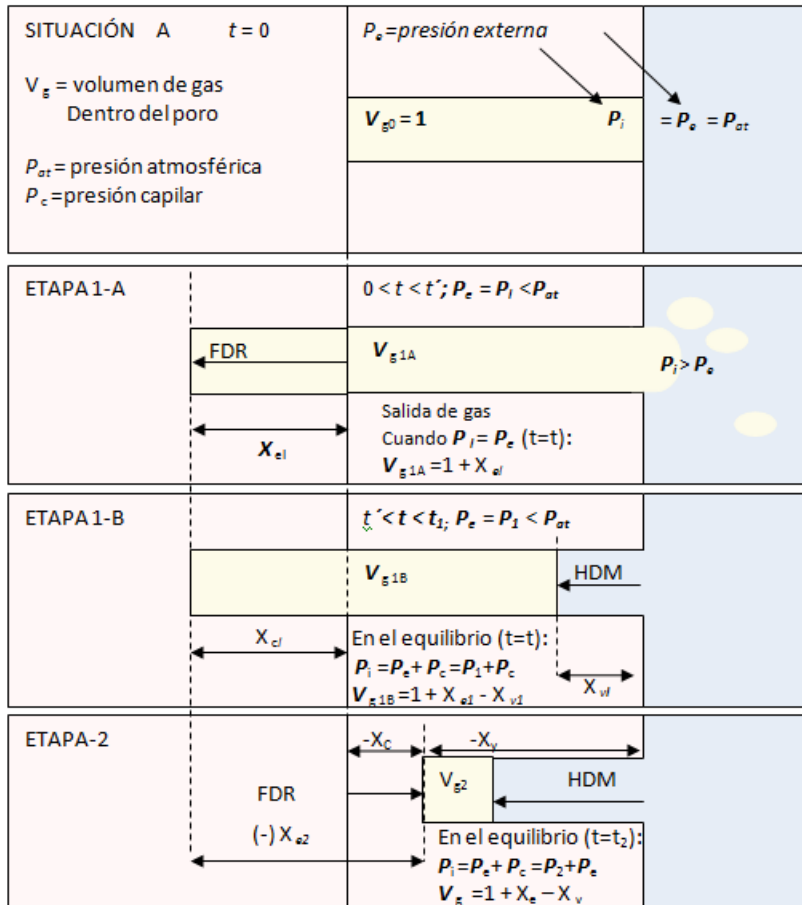


Figura. V.1 Sistema sólido-líquido. Evolución de la deformación de relajación y HDM en un poro ideal (adaptado de Fito *et al.*, 1996)

$$X - \gamma = \varepsilon_e \left(1 - \frac{1}{r_2} \right) - \frac{\gamma_1}{r_2} \quad (\text{V.13})$$

La ecuación V.13 será la de equilibrio para el HDM acoplado con DRP, para operaciones sólido-líquido a vacío. Puede utilizarse para calcular los valores de ε_e , a partir de los valores experimentales X , γ , y γ_1 .

$$\varepsilon = \frac{(X - \gamma)r_2 + \gamma_1}{r_2 - 1} \quad (\text{V.14})$$

La determinación experimental de γ_1 no es fácil. No obstante, cuando se trabaja a presiones relativamente bajas, r_2 es muy grande, y puede admitirse por tanto:

$$(X - \gamma) r_2 \gg \gamma_1 \quad (\text{V.15})$$

Por lo que γ_1 puede despreciarse y además, si se tiene en cuenta que en muchos casos puede aceptarse que no ocurre deformaciones, el valor de γ es igual a cero y las ecuaciones V.12 y V.13 se convierten en:

$$X = \varepsilon \left(1 - \frac{1}{r_2} \right) \quad (\text{V.16})$$

El modelo de HDM propuesto por Fito y Pastor (1994), no tiene en cuenta las deformaciones del producto. Sin embargo, ocurren cambios a nivel estructural, provocados por cambios de presión debido a las propiedades viscoelásticas soportadas por la estructura (Pastor, 1994; Andrés, 1995; Fito *et al.*, 1996; Salvatore *et al.*, 1998; Grass *et al.*, 2002), llevando a concluir que el HDM, ocurre acoplado a fenómenos de deformación-relajación (DRP) de la matriz sólida del alimento poroso. La actuación del HDM y de DRP, está afectada por la microestructura del alimento y por las propiedades mecánicas que le caracterizan, así como por las propiedades del flujo del líquido externo en los poros (Talens, 2002), produciendo a la vez cambios importantes en las

propiedades físicas del producto (Martínez-Monzó, 1998; Martínez-Monzó *et al.*, 1997, 1998, 2001; Fito *et al.*, 2001, 2002).

Se ha propuesto un modelo matemático (Fito y Chiralt, 1995; Andrés, 1995; Fito *et al.*, 1996) teniendo en cuenta los posibles cambios de volumen que implica la operación, explicando de esta forma los dos mecanismos HDM y DRP, en operaciones con cambio de presión. Mediante este modelo, aplicado a un gran número de frutas y vegetales estudiadas, puede explicarse la deformación de las muestras debido a cambios producidos durante la impregnación a vacío, quedando demostrada la viabilidad del cambio composicional por la acción de un simple pulso de vacío en el sistema disolución producto (Salvatori *et al.*, 1998; Sousa *et al.*, 1998; Fito y Chiralt, 2000; Fito *et al.*, 1999, 2000, Andrés *et al.*, 2001a; Gras *et al.*, 2001, 2002).

Las deformaciones relativas del volumen de la muestra (γ), así como la variabilidad de la impregnación X de la misma, en este tipo de operaciones, dependen esencialmente de varios parámetros como son (Fito *et al.*, 1996 y 1999; Chiralt *et al.*, 1999):

- La forma y tamaño de la muestra.
- La estructura del tejido que depende no solo de la porosidad total sino del tamaño y distribución de los poros y su comunicación entre ellos y el exterior.
- El tiempo de relajación de la matriz que es función de las propiedades mecánicas del material.
- La influencia de la velocidad del flujo de gas y del líquido por el HDM, que a su vez es función de la estructura (tamaño y forma de los poros, así como la viscosidad de la solución).

Estos factores afectan a la cinética de los tres fenómenos acoplados en la impregnación a vacío: la salida del gas, la deformación de la matriz sólida y la entrada del líquido. Los resultados del proceso de impregnación dependerán de cual de ellos sea el fenómeno limitante de cada período (t_1 y t_2) (Panadés *et al.*, 2003; Pino *et al.*, 2008).

Pueden definirse los tiempos característicos de penetración (t_p) o relajación (t_r) para el HDM y DRP. Si los valores de t_r son mucho más largos que los t_p , el transporte de gas- líquido ocurre sin deformar la muestra:

$$\gamma_1 = 0 \quad (V.17)$$

$$X = \varepsilon_e \left(1 + \frac{1}{r} \right) \quad (\text{V.18})$$

En el caso opuesto de que $t_r \ll t_p$, el principal efecto será la deformación, y el HDM no actuará en forma significativa:

$$X_i \rightarrow 0 \quad (\text{V.19})$$

Ocurre que cuando t_r y t_p están en el mismo orden de magnitud, el acoplamiento de los mecanismos anteriormente descritos conduce a la ecuación donde y puede ser negativa o positiva.

En conclusión los tratamientos a vacío, durante las operaciones sólido-líquido en alimentos, pueden afectar sensiblemente la cinética de los fenómenos de transferencia de masa y calor, como consecuencia de las modificaciones estructurales, físicas y químicas debidas a la actuación de HDM y DRP. La calidad del producto final puede verse afectada, por tanto, por las mismas razones. Algunas modificaciones pueden ser caracterizadas por los valores de X y γ , ambos relacionados con la porosidad eficaz de la matriz sólida y con las variables de operación. El análisis de las relaciones entre la cinética del HDM-DRP y las propiedades estructurales y mecánicas del producto inicial y final y las variables del proceso, es necesario para una mejor modelación de las operaciones sólido-líquido (Panadés, 2006).

5.2 MATERIALES Y METODOS

5.2.1 MATERIA PRIMA

La experimentación se llevó a cabo, utilizando guayaba pera fresca, Palmira Ica-1 proveniente de un cultivo tecnificado de la Hacienda Yulima, en el municipio de Coello, Tolima. La elección de las frutas para los distintos tratamientos se basó en parámetros como tamaño, color, dureza, grado de madurez, y que estuviera libre de imperfecciones a nivel superficial.

Para la preparación de las diferentes concentraciones de las disoluciones osmóticas

se usó azúcar blanca comercial (grado alimentario) en agua destilada a concentraciones (20, 30, 40, 50 y 60 °Brix). No se consideraron los resultados a 60 °Brix, porque la pulpa quedó demasiado dura y sin aroma.

5.2.2 EQUIPOS E INSTALACIONES

Los ensayos se efectuaron en el Laboratorio de Fitoquímica y Aromas del Departamento de Química de la Universidad de los Andes en Bogotá, Colombia, a presión atmosférica (560 mm Hg).

Los materiales y equipos utilizados para la experimentación fueron los siguientes:

- baño de acero inoxidable con recirculación y control de temperatura
- recipientes plásticos con capacidad para 5000 mL.
- agitador mecánico Kika Laboratorios Technik. RW 20DZM.n. Brasil
- canastas plásticas para ensayos por triplicado de 20 cm de largo por 7 cm de diámetro, cada una dividida en 3 compartimentos.

Para la realización de los experimentos con pulso de vacío se usó una bomba de alto vacío (Fisher Scientific, Maxima plus, Model M8C, serial 922036) conectada a una cámara (termita hermética) provista de un manómetro y termómetro. Dos trampas, una vacía y otra con cloruro de calcio se conectaron entre la bomba y la termita para proteger la bomba de sustancias provenientes de la muestra.

5.2.3 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Las frutas seleccionadas se limpiaron manualmente con agua destilada y se secaron manualmente con un paño adsorbente teniendo cuidado de no maltratarlas. Se procedió a retirar la cáscara de la fruta con un pelador manual. La base y la punta de la fruta se retiraron con un cuchillo, al igual que las semillas. De cada fruto se obtuvieron 8 muestras (cascos), las cuales fueron pesadas individualmente en una balanza analítica marca Ohaus Explorer con sensibilidad de 0,0001 g. Las muestras fueron colocadas en las cestillas usando código de colores para poderlas diferenciar, facilitando el estudio del efecto de la deshidratación osmótica sobre cada muestra (**Fig. III. 7**).

Las cestas que contenían las muestras se introdujeron en el tanque del equipo deshidratador que contenía la disolución osmótica, inmersa en un baño de María. La temperatura del baño, fue controlada con un termopar y un termómetro de vidrio previamente confirmado su calibración. La de la disolución se controló con un termómetro de vidrio. Las temperaturas usadas fueron 30, 40 y 50 °C para cada concentración osmótica. La agitación se efectuó a 150 rpm, de forma constante.

Las disoluciones osmóticas y las muestras presentes en el tanque cumplían con una proporción de 20:1 permitiendo así tener un control sobre la concentración total de la disolución. Las muestras fueron retiradas a los 15, 30, 60, 120, 180, 280 y 360 minutos. En cada caso se escurrió la canasta y las muestras se pasaron sobre papel adsorbente para retirar la disolución superficial. Posteriormente se realizaron operaciones de control de peso, humedad y contenido de sólidos solubles. Para cada concentración de sacarosa se llevó a cabo un tratamiento a presión atmosférica (560 mm Hg). Los tratamientos con pulso de vacío se llevaron a cabo aplicando una presión de 50 mbar durante 10 min al inicio del proceso. Una vez cumplido este tiempo se restauró la presión atmosférica (Fito *et al.*, 1994a).

5.2.4 ANALISIS REALIZADOS

5.2.4.1 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES

La determinación de los sólidos solubles fue realizada mediante la medida del índice de refracción al zumo de la muestra homogenizada a 8000 r.p.m. con un equipo ultraturax. La lectura (°Brix) correspondiente al contenido de los sólidos solubles de la fracción líquida de la muestra expresada en porcentaje y realizada en un equipo ABBE ATAGO, 3-T a 20 °C. Como valor se consideró el promedio de tres repeticiones para cada muestra con diferencias entre ellas de 0.1 °Brix.

La fracción de sólidos solubles referidos a la composición total (fracción líquida + matriz sólida) X_s , se expresa de acuerdo a la fórmula:

$$X_s = \frac{Z_s X_w}{(1 - Z_s)} \left(\frac{kg \text{ soluto}}{kg \text{ fruta}} \right) \quad (V.20)$$

donde:

X_w = La fracción másica del agua en la fruta.

Z_s = Fracción másica de solutos en la fase líquida.

X_s = Fracción másica de solutos en la fruta.

5.2.4.2 DETERMINACIÓN DE pH

El pH fue determinado en un potenciómetro marca Fischer Scientific AR-50 (doble canal/ pH/ion/Conductividad). La medición se realizó sumergiendo el electrodo en el puré de la fruta previamente homogenizada. Se consideró en promedio de dos determinaciones efectuadas en la misma muestra con una diferencia menor a 0.1 unidades de pH.

5.2.4.3 DETERMINACIÓN DE ACIDEZ

El porcentaje de acidez se determinó de acuerdo a la norma española (UNE 34-211-81) para productos líquidos derivados de productos vegetales como frutas y verduras.

Se pesaron 10 g de del puré de frutas en un matraz aforado de 100 mL que se completó con agua hasta la marca de aforo. A una alícuota de 10 mL, se le agregaron tres gotas de fenolftaleína como indicador. La acidez (Ac) expresada como gramos de ácido cítrico anhidro/100 ml de zumo se calculó:

$$Ac = \frac{100}{M} V_1 \cdot C \frac{100}{V_o} f \quad (V.21)$$

donde:

M = Masa de la muestra (g)

V_o = Volumen de la alícuota

V_1 = Volumen de la solución de hidróxido de sodio usada en la titulación.

C = Normalidad de la solución de hidróxido de sodio (mL)

f = Factor de conversión correspondiente a la expresión como ácido cítrico

(f = 0,07).

5.2.4.4 DETERMINACION DE LA VARIACIÓN DE PESO

Se determinó el peso de cada muestra antes y después de su correspondiente tratamiento osmótico, empleando una balanza analítica, Ohaus Explorer con sensibilidad de 0,0001 g.

5.2.4.5 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

La humedad se determinó de acuerdo al método 20.013 (AOAC, 1980) para frutas con contenido de azúcar. El método consiste en la determinación de la pérdida de peso cuando la muestra se coloca en una estufa a vacío a 60 °C hasta peso constante.

La fracción másica de agua (X_w), se calcula con la ecuación V.22:

$$X_w = \left(\frac{P_{cmh} + P_{cms}}{P_{cmh} - P_c} \right) \quad (V.22)$$

donde:

P_c = Peso del conjunto constituido por crisol, arena seca y muestra (Kg).

P_{cmh} = P_c + muestra húmeda (kg)

P_{cms} = P_c + la muestra seca (kg)

5.2.4.6 DETERMINACIÓN DE DENSIDAD APARENTE Y REAL

La densidad inicial de la muestra se determinó mediante el desplazamiento de volumen del líquido (agua destilada), con un picnómetro a 20 °C. Debido a que la muestra presenta aire ocluido en los poros se obtuvo un valor de densidad aparente (ρ_a). Los valores ρ_a (kg/m³) se obtuvieron aplicando la ecuación siguiente:

$$\rho_a = \frac{P_f}{P_l + P_f - P_{f+L}} \rho_L \quad (\text{V.23})$$

donde:

- ρ_L = Densidad del líquido de referencia (kg/m^3)
- P_l = peso del picnómetro aforado con el líquido de referencia (g).
- P_f = Peso del trozo de fruta (g)
- P_{f+L} = Peso del picnómetro más trozo de fruta enrasado con el líquido de referencia (g).

La determinación de la densidad real (ρ_r), se realizó de la misma forma pero aplicando una etapa de vacío en el picnómetro con el líquido de referencia y la muestra a fin de eliminar todo el aire ocluido en los poros.

Cálculo de la porosidad real

El cálculo de la porosidad real se obtuvo a partir de la densidad aparente y real según la siguiente relación matemática:

$$\varepsilon = \frac{\rho_r - \rho_a}{\rho_r} \quad (\text{V.24})$$

5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características de la guayaba pera, procedente del Tolima, fueron las siguientes: respecto a la humedad los valores oscilaron entre 81 al 85 %, sólidos solubles del 8.8 al 11%, acidez 0,51 % ($\pm 0,5$) como ácido cítrico; longitud variable, de 12 a 16 cm; diámetro de 6 a 10 cm; densidad aparente de 981 (± 3) g/dm^3 ; densidad real 1048 (± 7) g/dm^3 ; porosidad real 5,9 % (± 5)

5.3.1 ESTUDIO DE LA CINÉTICA DE DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA

El análisis de la cinética se realizó teniendo en cuenta dos puntos de vista:

- El primero se basó en la rentabilidad del proceso. Para ello se analizó la pérdida de peso y volumen asociada con la pérdida de agua y ganancia de solutos a través del modelo empírico en términos de la raíz cuadrada del tiempo (Fito y Chiralt, 1997; Barat *et al.*, 1997, 1997a).

- Desde otro punto de vista, se analizaron los cambios de composición ocurridos en la fracción líquida de la misma, utilizando para ello una aproximación difusional.

- Para los cálculos de variación de la masa (ΔM), agua (ΔM_w) y solutos (ΔM_s) se usaron las ecuaciones (V.25; V26, V27):

$$\Delta M = \frac{M^t - M^0}{M^0} \quad (\text{V.25})$$

$$\Delta M_w = \frac{(M^t * x_w^t) - (M^0 * x_w^0)}{M^0} \quad (\text{V.26})$$

$$\Delta M_s = \frac{(M^t * x_s^t) - (M^0 * x_s^0)}{M^0} \quad (\text{V.27})$$

donde:

M^0 = Masa inicial de la muestra (g).

M^t = Masa de la muestra en el tiempo t (g).

x_s^0 = Fracción másica de sólidos solubles de la muestra al tiempo 0 (°Brix).

x_s^t = Fracción másica de sólidos solubles de la muestra en el tiempo t (°Brix).

x_w^0 = Fracción másica de agua de la muestra en el tiempo 0 (kg/kg).

x_w^t = Fracción másica de agua de la muestra en el tiempo t (kg/kg).

Para todos los procedimientos se comprobaron los balances de masa mediante la siguiente relación:

$$\Delta M = \Delta M_w + \Delta M_s \quad (\text{V.28})$$

5.3.2 BALANCE DE MATERIA

Al tratar una matriz biológica, ocurren cambios en su textura debidos a la ganancia de solutos y eliminación de agua; con el fin de minimizar los posibles errores se ejecutaron los balances de materia de todos los tratamientos realizados.

Este balance se realizó calculando las pérdidas de agua y ganancia de solutos y se compararon con las pérdidas de masa total (ecuación V.28). Según esta ecuación la pérdida de peso (ΔM) equivale a la pérdida de agua (ΔM_w), más la ganancia de sólidos solubles (ΔM_s) calculados con las ecuaciones V.25, V.26 y V.27, respectivamente (Fito y Chiralt, 1997). Los valores obtenidos en los diferentes tiempos se detallan en la tabla de Anexos 1 a 6. Como puede observarse en la figura V.2, los puntos experimentales se alínean en la diagonal, lo que reitera la validez de los datos experimentales obtenidos.

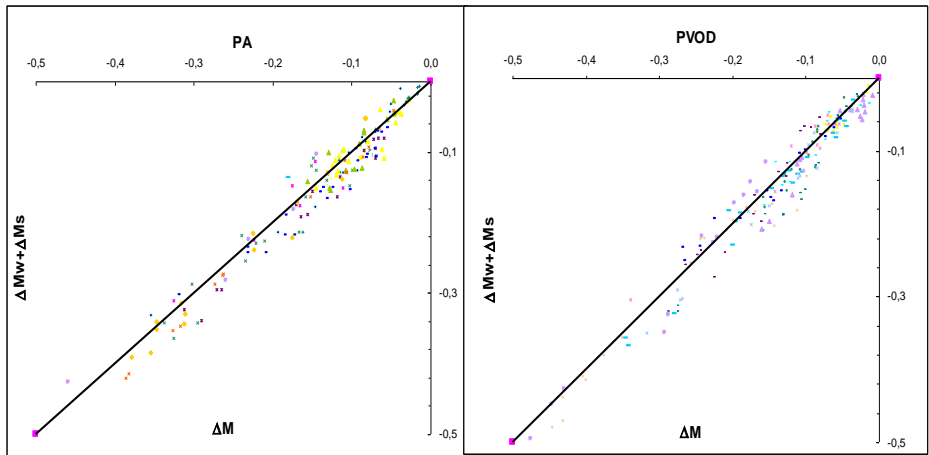


Figura V.2. Balance de materia del estudio cinético de la guayaba con y sin pulso de vacío

5.3.3 CINÉTICA DE PÉRDIDA DE AGUA Y GANANCIA DE SOLUTOS

La Figura V.3 a V.5 muestra la pérdida de agua (ΔM_w), la ganancia de solutos (ΔM_s) y el cambio de peso (ΔM), en función de la raíz cuadrada del tiempo para los distintos ensayos.

Para modelar los cambios anteriormente descritos en el proceso de deshidratación osmótica con y sin pulso de vacío, se emplearon las ecuaciones empíricas V.29 a V.31 en función de la raíz cuadrada del tiempo utilizado en el proceso (Barat *et al.*, 2001a; Cháfer *et al.*, 2001; Fito y Chiralt, 1997; citado por Giraldo *et al.*, 2003).

$$\Delta M_w = K_w t^{0.5} + K_w^0 \quad (\text{V.29})$$

donde:

K_w = Velocidad de transferencia de agua.

K_w^0 = Ganancia de agua a tiempo cero.

$$\Delta M_s = K_s t^{0.5} + K_s^0 \quad (\text{V.30})$$

donde:

K_s = Velocidad de transferencia de solutos.

K_s^0 = Ganancia de solutos a tiempo cero.

$$\Delta M = K_M t^{0.5} + K_M^0 \quad (\text{V. 31})$$

donde:

K_M = Velocidad de transferencia de masa.

K_M^0 = Ganancia de masa a tiempo cero.

Los valores de los coeficientes (K_i) representan matemáticamente la pendiente y están asociados con la velocidad de transferencia de solutos o agua ocurrida a través de

los mecanismos difusionales y osmóticos en los espacios intercelulares o transmembranales dependientes de gradientes de concentración. Las ordenadas en el origen (K^0) cuantifican la ganancia de solutos o masa o la pérdida de agua en tiempos muy cortos de proceso, debido a la acción de los mecanismos hidrodinámicos (HDM), dependientes de gradientes de presión y/o de temperatura que incluyen los efectos capilares que naturalmente dependen de la naturaleza de la estructura del material en estudio (Fito y Chiralt, 1997, citado por Giraldo *et al.*, 2003). Las ordenadas en el origen se consideraron despreciables en todos los casos, con lo que los ajustes, permitieron obtener los coeficientes K_i .

En la tabla V.1 se muestran los valores de los coeficientes cinéticos K_i obtenidos a 30, 40 y 50 °C a partir de las ecuaciones V.29, V.30 y V.31.

TABLA V.1 Parámetros cinéticos (variación de agua y solutos) para los diferentes tratamientos a 30, 40 y 50 °C con las diferentes disoluciones osmóticas ($Y_s = \text{°Brix}/100$)

	OD a 30 °C		PVOD a 30 °C		OD a 30 °C		PVOD a 30 °C	
Y_s	$K_w * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2	$K_w * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2	$K_s * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2	$K_s * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2
0,5	-2,8	0,999	-3	0,968	1	0,995	0,8	0,966
0,4	-2,6	0,999	-2,4	0,966	0,7	0,999	0,7	0,993
0,3	-2,5	0,994	-1,5	0,978	0,3	0,994	0,5	0,979
0,2	-1,5	0,991	-1,1	0,990	0,2	0,956	0,4	0,985
	OD a 40 °C		PVOD a 40 °C		OD a 40 °C		PVOD a 40 °C	
Y_s	$K_w * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2	$K_w * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2	$K_s * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2	$K_s * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2
0,5	-4,4	0,956	-4,1	0,986	0,5	0,987	1,3	0,989
0,4	-3,9	0,960	-2,8	0,984	0,4	0,993	1,2	0,981
0,3	-3,6	0,947	-2,1	0,986	0,4	0,987	0,7	0,947
0,2	-2,8	0,975	-1,3	0,988	0,3	0,958	0,5	0,976
	OD a 50 °C		PVOD a 50 °C		OD a 50 °C		PVOD a 50 °C	
Y_s	$K_w * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2	$K_w * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2	$K_s * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2	$K_s * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2
0,5	-4,9	0,986	-4,1	0,987	0,5	0,906	1,4	0,958
0,4	-3,3	0,973	-2,9	0,953	0,5	0,942	1,2	0,959
0,3	-2,6	0,977	-2,5	0,993	0,4	0,899	0,9	0,978
0,2	-1,9	0,959	-1,3	0,974	0,4	0,982	0,1	0,973

Y_s : °Brix de la disolución osmótica dividido por 100

Observando los valores a presión atmosférica el valor de la constante cinética para K_w aumenta al incrementar la concentración de la disolución, lo cual es lógico dada la mayor fuerza impulsora del proceso. El valor más alto para la transferencia de agua se obtiene para los tratamientos a 50 °Brix y 50 °C. El aumento de temperatura favoreció la velocidad de transferencia de agua al pasar de 30 a 40 y 50 °C. La aplicación de vacío en este caso supone una disminución de la velocidad de pérdida de agua lo que puede explicarse por la entrada de disolución osmótica en los poros, sobre todo en las disoluciones poco concentradas de menor viscosidad. (Barat *et al.*, 2001b, 2001c).

Al analizar el parámetro K_s , en los tratamientos a presión atmosférica se observa una tendencia a aumentar, cuando aumenta la concentración de la disolución, siendo un valor mayor a la temperatura más baja y sin diferencias notables entre 40 y 50 °C. Esto sugiere que la entrada de solutos ocurre por capilaridad en la zona externa de la fruta, cuyo tejido colapsa estructuralmente al aumentar la temperatura inhibiendo la entrada de la disolución osmótica.

Los valores de K_s en el proceso a vacío, como era de esperar, aumentan especialmente, cuando la deshidratación se realiza a 40 ó 50 °C respecto a los de 30 °C, probablemente debido a la disminución de la viscosidad de la disolución, lo que favorece los mecanismos hidrodinámicos.

Al analizar la velocidad de la pérdida de peso (Tabla V.2), se observa que la constante aumenta a medida que se incrementa la concentración de la solución, como era de esperar y de igual manera aumenta al incrementarse la temperatura. Esto es coherente con los mecanismos difusionales, se promuevan al aumentar por la concentración y la temperatura, fomentándose el flujo de agua hacia el exterior, perdiendo más peso y ganando solutos hacia el interior, aunque en menor proporción. En general la aplicación del vacío no aumenta la velocidad de pérdida de peso, debido a la promoción de la ganancia de solución osmótica.

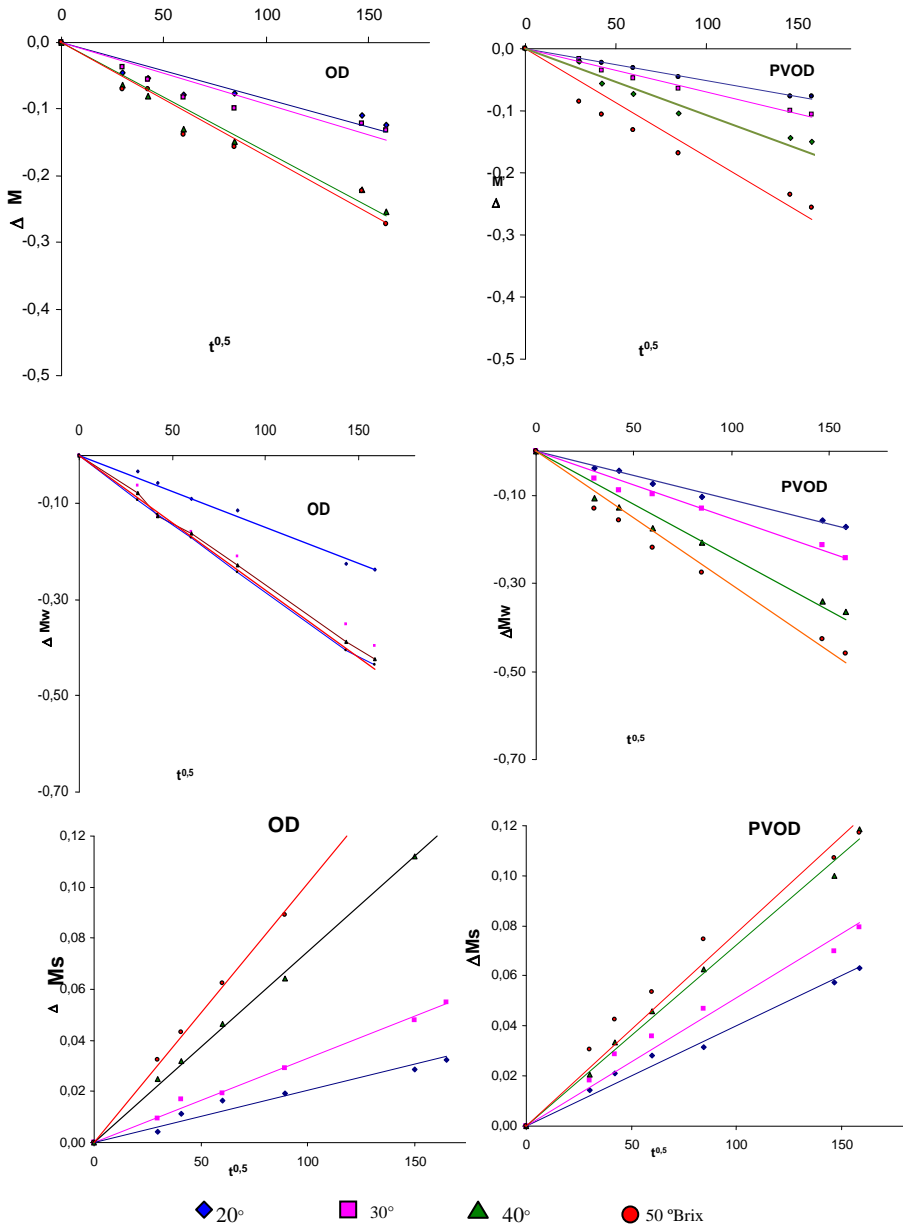


Figura V.3 Cambio en la masa (ΔM), pérdida de agua (ΔMw) y ganancia de soluto (ΔMs) (a), (b) y (c) en función de la raíz cuadrada del tiempo para ambos tratamientos OD y PVOD a 30 °C y diferentes concentraciones

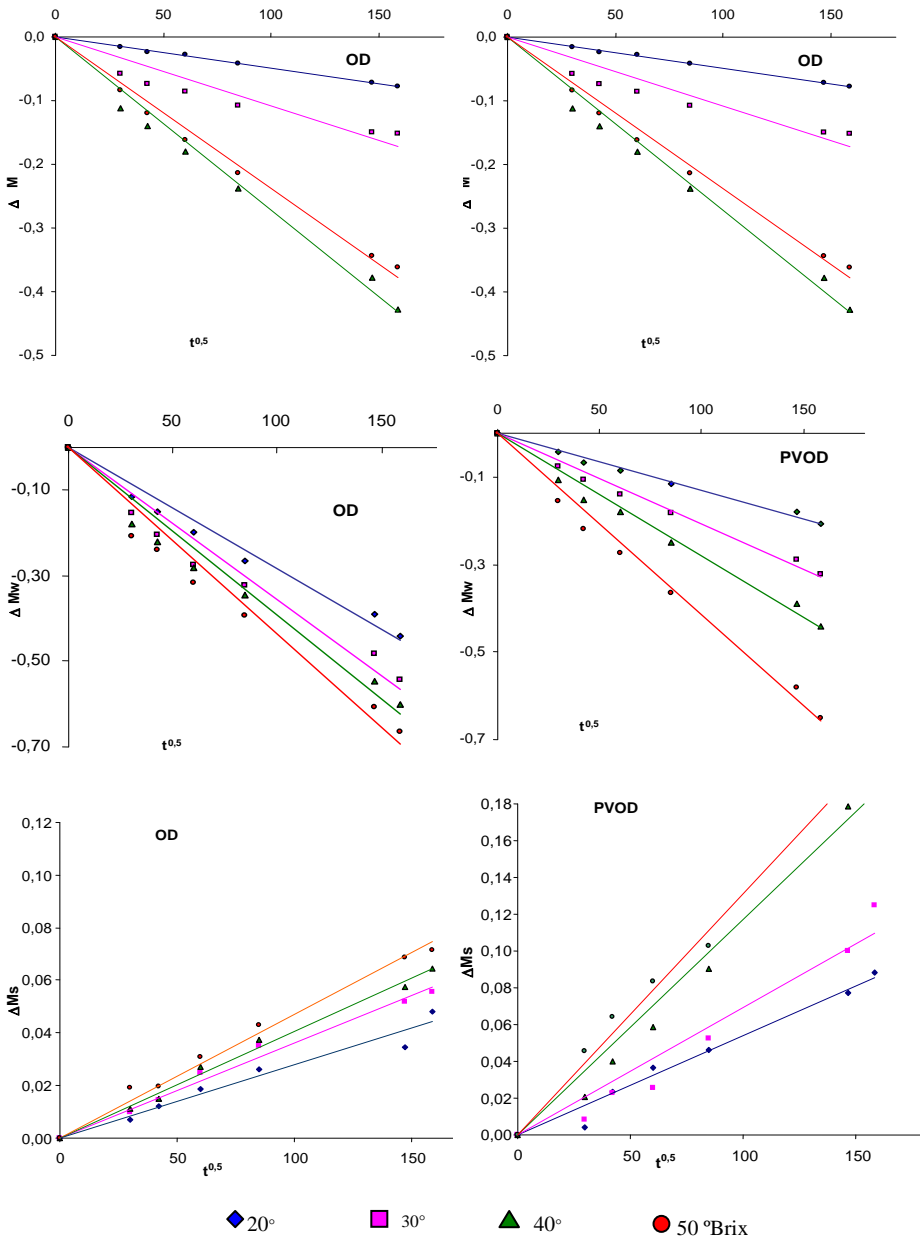


Figura V.4 Cambio en la masa (ΔM), pérdida de agua (ΔMw) y ganancia de soluto (ΔMs) en función de la raíz cuadrada del tiempo para ambos tratamientos, OD y PVOD, a 40 °C y diferentes concentraciones

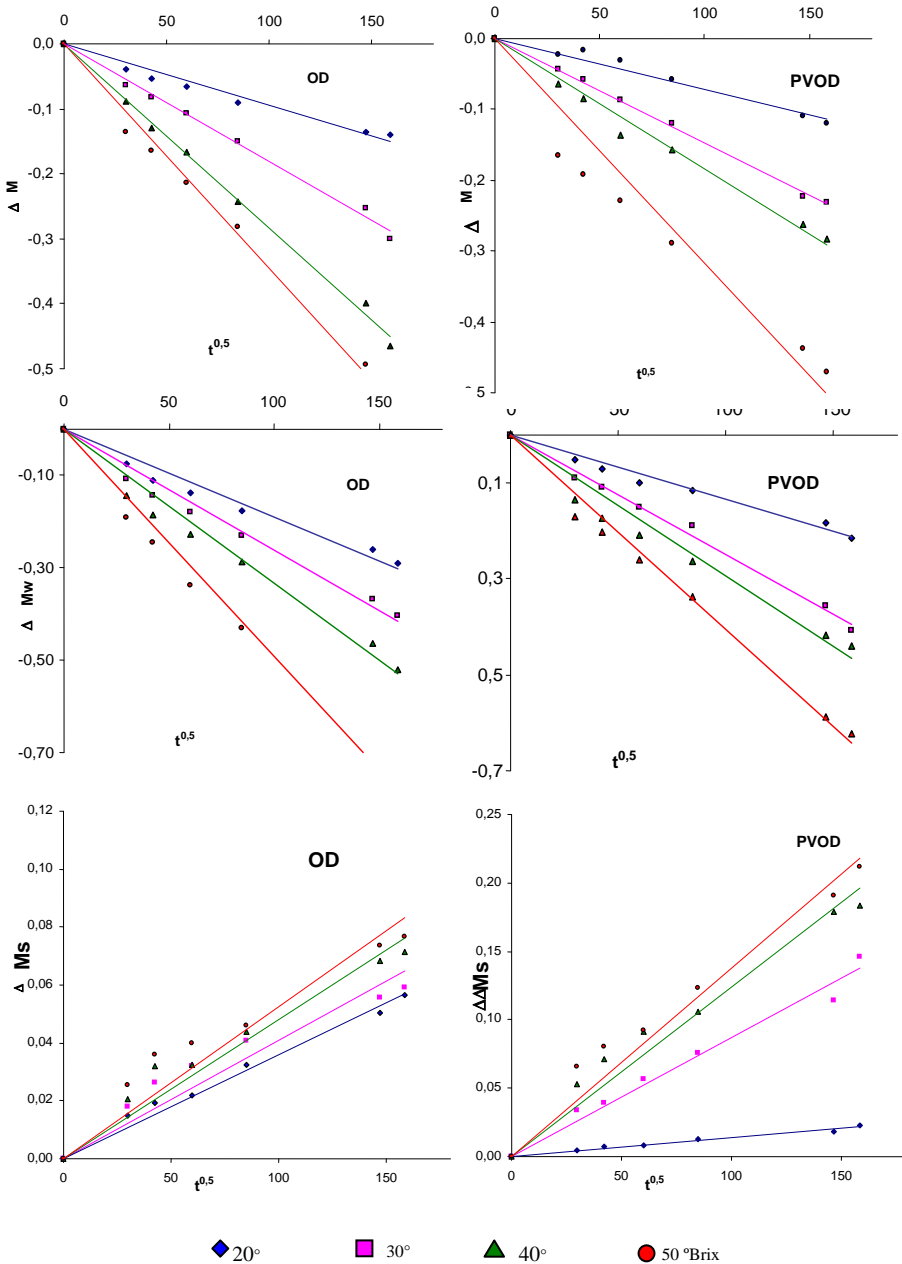


Figura V.5 Cambio en la masa (ΔM), pérdida de agua (ΔMw) y ganancia de soluto (ΔMs) en función de la raíz cuadrada del tiempo para ambos tratamientos, OD y PVOD a 50 °C y diferentes concentraciones

Tabla V.2 Constantes cinéticas para la pérdida de peso (ΔM)

y_s	OD a 30 °C		PVOD a 30°C	
	$K_M * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2	$K_M * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2
0,5	-1,7	0,953	-1,7	0,916
0,4	-1,6	0,960	-1,0	0,956
0,3	-0,9	0,841	-0,7	0,984
0,2	-0,8	0,815	-0,5	0,991
y_s	OD a 40 °C		PVOD a 40 °C	
	$K_M * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2	$K_M * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2
0,5	-2,7	0,983	-2,6	0,945
0,4	-2,4	0,988	-1,3	0,971
0,3	-1,1	0,849	-1,7	0,963
0,2	-0,5	0,998	-0,1	0,997
y_s	OD a 50 °C		PVOD a 50 °C	
	$K_M * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2	$K_M * 10^{-3}$ ($s^{-0.5}$)	R^2
0,5	-3,5	0,993	-3,2	0,924
0,4	-2,8	0,996	-1,8	0,986
0,3	-1,8	0,993	-1,5	0,998
0,2	-0,5	0,961	-0,7	0,9711

5.3.4 CAMBIOS COMPOSICIONALES EN LA FASE LÍQUIDA DE LA FRUTA

La fase líquida de la fruta puede considerarse como un sistema binario, compuesto por agua y solutos. Por eso, el valor de los coeficientes de difusión efectiva puede considerarse el mismo para ambos componentes (Fito y Chiralt, 1997; citado por Giraldo *et al.*, 2003).

La relación entre la fracción másica de solutos en fase líquida (FL) a diferentes tiempos de deshidratación, (Z_s^t) en función de la fracción másica de agua y sólidos solubles de la muestra, viene dada por la ecuación (V.32). Para el análisis cinético se ha considerado la fuerza impulsora reducida (Y) definida en la ecuación (V.33), en función de la fracción másica de agua o sólidos solubles de la fase líquida.

Se admite que las muestras se equilibraron con las respectivas soluciones osmóticas, cuando la concentración de la fase líquida de la muestra se iguala a la de la solución osmótica (Y_s), tal como se ha observado en otros productos (Barat, 1997a, 1998; Martínez-Monzó, 1998; Cháfer, 2001).

$$Z_s = \frac{X_s}{X_w + X_s} \quad (\text{V.32})$$

$$Y = \frac{(z_s^t - z_s^e)}{(z_s^0 - z_s^e)} = \frac{(z_w^t - z_w^e)}{(z_w^0 - z_w^e)} \quad (\text{V.33})$$

donde:

Z_s^t = Concentración de solutos en la FL de la fruta en el tiempo t .

Z_s^0 = Concentración de solutos en la FL de la fruta en el momento inicial

Z_s^e = Concentración de la FL de la fruta en el equilibrio con la disolución osmótica, considerada igual a la de la solución. ($Z_s^e = Y_s$)

Para obtener los coeficientes de difusión en la fase líquida de la fruta se emplea una ecuación Fickiana simplificada. Esta ecuación se obtiene a partir de la solución integrada de la segunda ley de Fick para una lámina infinita y tiempos cortos (ecuación V.34). La representación gráfica de $1-Y$ vs. $t^{0.5}$ permite obtener a partir de la pendiente, el coeficiente de difusión efectiva (D_e) siendo l el semiespesor de la lámina ($l = 0,0042$ m) y t el tiempo.

$$1 - Y = 2 \left(\frac{D_e t}{\pi * l^2} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (\text{V.34})$$

En la Tabla V.3 aparecen las difusividades efectivas para cada tratamiento y en la Figura V.6, se muestran las rectas ajustadas, a los datos de fuerza impulsora, reducida ($1-Y_s$), a presión atmosférica y con pulso de vacío, en función de la raíz cuadrada del tiempo.

Como se puede apreciar las D_e efectivas presentaron un valor entre 6,1 a $2,7 * 10^{-10}$ m²/s, valor del orden de los obtenidos en la mayoría de los alimentos (Martínez- Monzó

et al., 1998b). En general, se observa que tanto en los regímenes a presión atmosférica como con pulso de vacío, los coeficientes tienden a aumentar con el incremento de la temperatura.

La concentración de la disolución osmótica tuvo un efecto alternante. Mientras que a 40 °C los valores de D_e son bastante constantes con la concentración de la disolución, a 30 °C y 50 °C fluctúan sin una tendencia clara.

Tabla V.3 Coeficientes de difusión para ambos tipos de tratamiento OD y PVOD a diferentes temperaturas y concentraciones de la solución osmótica

Proceso	ys	30 °C		40 °C		50 °C	
		$D_e * 10^{-10}$ (m ² /s)	R ²	$D_e * 10^{-10}$ (m ² /s)	R ²	$D_e * 10^{-10}$ (m ² /s)	R ²
OD	0,5	3,4	0,983	4,9	0,945	5,7	0,962
PVOD	0,5	2,7	0,917	4,5	0,911	4,9	0,9911
OD	0,4	5,3	0,975	4,6	0,949	6,1	0,997
PVOD	0,4	2,9	0,989	4,5	0,981	5,2	0,993
OD	0,3	3,7	0,9879	4,8	0,985	5,2	0,987
PVOD	0,3	4,6	0,9389	4,7	0,968	5,3	0,994
OD	0,2	2,8	0,889	4,7	0,985	4,8	0,956
PVOD	0,2	5,1	0,943	4,3	0,954	3,9	0,972

En cuanto al efecto del pulso de vacío, no se observan diferencias respecto a los valores obtenidos a presión atmosférica a 40 °C pero tiene también un efecto positivo a concentraciones bajas de la disolución y negativo a concentraciones altas, a las temperaturas de 30 y 50 °C.

Estas fluctuaciones en D_e pueden asociarse a la diferente ganancia de disolución en las muestras por efectos estructurales que enmascaran la acción de los mecanismos difusionales. De hecho los ajustes de las rectas a los puntos experimentales no pasan por el origen como se prevé desde la ecuación (V. 34).

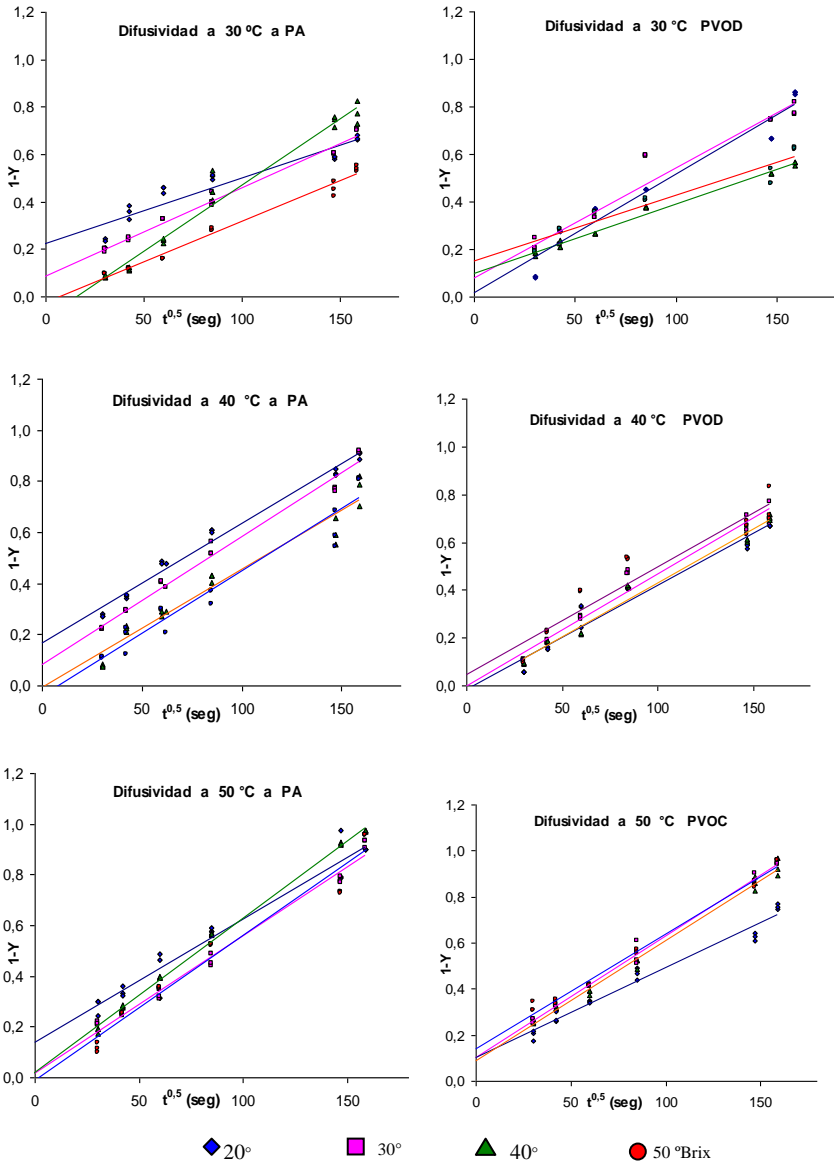


Figura V.6 Representación de 1-Y frente a la raíz cuadrada del tiempo

5.4 CONCLUSIONES

- 1- La guayaba pera muestra una densidad aparente de $881 (\pm 3) \text{ kg/m}^3$, densidad real $935 (\pm 4) \text{ kg/m}^3$ y la porosidad calculada es de $5,9 \% (\pm 5)$, un poco menor a otras guayabas (Panadés, 2006)
- 2- La pérdida de peso y de agua, durante la deshidratación osmótica de la guayaba pera aumenta cuando se usan disoluciones más concentradas, como es de esperar por el aumento en la fuerza impulsora del proceso. Las mayores pérdidas de agua, ocurren con los tratamientos a 50°C y con disoluciones osmóticas de 50 y 40°Brix .
- 3- La mayor transferencia de solutos ocurre a 40°C y 50°C con vacío pulsante, por la acción del mecanismo hidrodinámico. Del análisis anterior se deduce que desde el punto de vista de rendimiento, aspecto, color, textura apreciados, pérdida de masa y ganancia de solutos, el tratamiento efectuado a 40°C y 50°Brix , es mejor que el tratamiento a 50°C y 50°Brix .
- 4- Los coeficientes cinéticos obtenidos, permiten efectuar predicciones sobre la pérdida de agua, ganancia de solutos y por tanto en la variación de masa total en los productos obtenidos.
- 5- Las temperaturas escogidas (30 a 50°C), junto con los tiempos de proceso de media hora hasta 3 horas, fueron suficientes para obtener una información sobre el comportamiento de la pulpa desde el punto de vista de la cinética. Los estudios efectuados a 20 y 60°C , no se reportan debido a que la fruta a 20°C , en la mayoría de los casos tomó una coloración café, con incremento de volumen, dando aspecto de descomposición, especialmente a tiempo largos. Para los tratamientos a 60°C y con concentraciones muy altas, fueron descartados por presentar la fruta un aspecto demasiado duro, pérdida de color y por presentar una carencia total de aroma.
- 6- El empleo de vacío pulsante, produce un incremento en la velocidad de la salida de gas y agua de los poros capilares, pero con temperaturas muy altas la difusión se favorece en condiciones de presión atmosférica debido posiblemente a colapsamiento de la estructura por los cambios de presión.

- 7- El coeficiente de difusión efectiva D_e aumentó, al aumentar la concentración de 20 a 40 °Brix, y al aumentar la temperatura. No obstante, no se observa un efecto claro del pulso de vacío. A 40 °C no influyó de forma notable, mientras que a 30 °C y 50 °C, provocó un descenso de D_e para los tratamientos a 40 y 50 °Brix y un aumento para los tratamientos con baja concentración (20 y 30 °Brix).

**VI. CAMBIOS EN LA COMPOSICIÓN DE VOLÁTILES
DURANTE LA DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA**

6.1 INTRODUCCIÓN

La composición de volátiles de la guayaba ha sido estudiada, por varios autores como se mencionó en la introducción del capítulo, III y IV. Nuevamente se mencionan los estudios más extensos de composición de volátiles en esta fruta (Idstein y Schreier, 1985; Pino *et al.*, 1999; Quijano *et al.*, 1999; Soares, 2007; Pino y Quijano *et al.*, 2008) y en frutas de la misma familia (Pino *et al.*, 2001a, 2002a). Sobre la guayaba deshidratada procedente de Cuba, Panadés *et al.* (2006), estudiaron los componentes volátiles en fruta deshidratada a presión atmosférica, con pulso de vacío y a vacío continuo. El estudio demostró que con la aplicación de procesos de vacío en tiempos cortos seguidos por la operación a presión atmosférica (pulso de vacío y deshidratación osmótica), se obtiene un efecto beneficioso en los procesos cinéticos y la calidad de la fruta (Fito, 1993, 1994; Fito y Chiralt, 2000), afectando las propiedades físicas y de transporte en el tejido de las plantas.

La importancia de estos estudios para nuestro país es significativa, porque permite mejorar la comercialización de productos mínimamente procesados a nivel internacional, ante la dificultad de exportación de algunos vegetales fácilmente perecederos como es el caso de las frutas colombianas. Sobre la guayaba este es el segundo estudio sobre la composición de volátiles en fruta deshidratada a nivel latinoamericano y el primero en guayaba pera (Palmira ICA-1) a nivel colombiano.

Existen pocos estudios sobre la evolución de la composición de volátiles debidos a procesos como la deshidratación osmótica en frutas. Estos existen para fresa, (Talens *et al.*, 2000; Escriche *et al.*, 2000a), kiwi (Talens *et al.*, 2002) y mango (Torres *et al.*, 2007).

De la gran diversidad de compuestos encontrados en el aroma de las frutas tropicales, los ésteres juegan un papel importante, al igual que los aldehídos, los alcoholes y compuestos de tipo terpénico principalmente oxigenados (Pino *et al.*, 1997, 1999; Pino y Quijano, 2007, 2008, Quijano y Pino, 2007; Osorio *et al.*, 2006; 2011, 2011a; Parada *et al.*, 2000, 2002; Suárez y Duque, 1991; Suárez *et al.*, 1991; Duque *et al.*, 1993).

Como se ha descrito ampliamente en los Cap III y IV, el análisis de la composición de volátiles varía ampliamente con el tratamiento de la muestra, al igual que con los métodos de extracción y otras variables como el origen de la muestra, la madurez, la evolución de la composición durante el tratamiento industrial y la variedad de la fruta.

El presente estudio muestra la composición de volátiles en muestras tratadas osmóticamente a 30, 40 y 50 °C y 30, 40 y 50 ° Brix, a presión atmosférica y con pulso de vacío. Los tiempos de tratamiento osmótico para el análisis de aromas fueron de 1, 2 y 3 horas.

6.2 MATERIALES Y MÉTODOS

6.2.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La fruta escogida para este estudio reunió las mismas características y parámetros de madurez usados en el estudio efectuado de la composición de volátiles por diferentes métodos y en la composición de compuestos glicosídicamente enlazados, Cap III y IV (numeral 3.2.1 y 4.2.1 respectivamente).

6.2.2 EXTRACCIÓN DE CONSTITUYENTES VOLÁTILES

La extracción de constituyentes para el estudio de la evolución del aroma, la facilidad de procesar la muestra y las condiciones de procesamiento a las que se somete la pulpa durante la deshidratación, fueron los principales factores que influyeron en la decisión de usar el método de la destilación - extracción simultáneas con disolvente (SDE), (Flath y Forrey, 1977). De hecho, esta técnica de extracción ha sido utilizada para analizar los volátiles de frutas como la guayaba (Pino *et al.*, 1999), fresa (Zabetakis *et al.*, 2000), papaya (Alzamora *et al.*, 2004) y mango (Pino y Mesa, 2006; Torres *et al.*, 2007).

El equipo usado en este proceso fue de menor capacidad (balón de 500 mL para la muestra y de 25 mL para los disolventes), al descrito en el numeral del capítulo III, epígrafe 3.1.1. Se pesaron 100 g de muestra fresca en cada tratamiento de deshidratación y se homogenizó (Ultra-Turrax T-25), teniendo cuidado de mantener la

muestra en un baño de hielo para evitar su calentamiento durante la homogenización. Lentamente se agregaron 100 mL de agua destilada y como patrón interno se usó n-decanol (30 µg).

El balón con la muestra homogenizada se sometió a extracción a una temperatura de 85 °C. Se conectó un balón aperado que contenía 10 mL de la mezcla de disolventes (C₅: dietil éter 1:1 v/v) en un baño de agua a temperatura no superior a 40 °C. Después de media hora de extracción, el extracto rico en volátiles se enfrió rápidamente y se dejó por 12 horas en un recipiente hermético con sulfato de sodio a -25 °C. La fase orgánica fue separada y concentrada hasta 0,2 mL, en una columna Vigreux, provista de un condensador con un baño recirculante a 3 °C. El balón que contenía el extracto, se enfrió rápidamente en un baño de hielo y se guardó herméticamente en un vial de vidrio de 1 mL.

6.2.3 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

El análisis cromatográfico se efectuó por GC-FID en un equipo HP-6890 serie II como se describió en el numeral 3.4.1 del capítulo III y para GC-MS se usó el detector selectivo de masas acoplado a un HP 5973. Se usaron dos columnas cromatográficas, para corroborar la identificación de los compuestos. El programa de temperatura y las condiciones cromatográficas fueron idénticas a las usadas en el numeral antes descrito.

La cuantificación se efectuó relacionando el área del patrón interno, con el área correspondiente para cada compuesto (concentración relativa). Una mezcla de parafinas normales de C₆ a C₃₀ fue inyectada en GC-FID, con el fin de calcular para cada constituyente, los índices de retención relativos en cada columna. Los valores de los índices de Kováts fueron utilizados como ayuda en la identificación de compuestos, predominando el criterio espectral (Adams *et al.*, 2001; Jenning y Shibamoto, 1980, Base de datos del grupo de investigación CALIM).

De la totalidad de los volátiles analizados en el Capítulo III, se escogieron los compuestos con mejor definición en su composición. El análisis cuantitativo se efectuó sin tener en cuenta los factores de respuesta a partir de las áreas de los picos y del peso de

muestra extraída para calcular los mg/kg de cada compuesto volátil. Los resultados finales se presentaron como pérdida del compuesto volátil por la expresión:

$$\text{Pérdida del compuesto volátil (mg/kg de fruta fresca)} = (V_i P_i - V_f P_f) / P_i \quad (\text{VI. 5})$$

donde:

V_i y V_f son los contenidos (mg/kg de fruta), de compuestos volátiles al inicio y después de procesada la fruta, mientras que P_i y P_f son los pesos inicial y final de fruta, respectivamente.

6.2.4 DISEÑO ESTADÍSTICO

Las técnicas de superficie respuesta son una metodología estadística que permiten determinar, experimentalmente, el nivel de influencia de los factores en investigación en las variables de respuesta (variación de volátiles). Las técnicas de superficie respuesta son una combinación de análisis de regresión y diseño experimental para localizar un conjunto de condiciones experimentales, que proporcionan una respuesta máxima o mínima. Estas técnicas poseen un rasgo muy distintivo, a diferencia de otras técnicas estadísticas, y es su naturaleza secuencial, lo que las hace apropiadas para la mayoría de las investigaciones que son de tipo continuo. Por otro lado, cuando se aplican modelos cuadráticos, es posible estimar los efectos secundarios (de segundo orden), junto con los efectos primarios (de primer orden) y las interacciones entre los factores (Montgomery, 1991).

Los ensayos se efectuaron para tres temperaturas (T): 30, 40 y 50 °C; cada una para tres tiempos (t): 1, 2 y 3 h, así como para tres contenidos de sacarosa (S) de la disolución osmótica: 30, 40 y 50 °Brix a dos condiciones diferentes de presión: atmosférica y con vacío pulsante. En este último régimen de presión, se usó un pulso de vacío de 10 min a 50 mbar. Se realizaron cinco réplicas en el punto central del diseño experimental.

Para el análisis del diseño experimental, T , t y S fueron codificadas como X_1 , X_2 y X_3 , respectivamente, de forma tal que obtuvieran valores de -1, 0 y +1, usando las expresiones:

$$X_1 = (T-40) / 10 \quad (\text{VI.1})$$

$$X_2 = (t - 120) / 60; \quad t: \text{min} \quad (\text{VI.2})$$

$$X_3 = (S - 40) / 10 \quad (\text{VI.3})$$

Los datos experimentales se ajustaron a un polinomio de segundo orden:

$$Y = B_0 + \sum B_i X_j + \sum_{i \leq j} B_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad (\text{VI.4})$$

Donde Y es la pérdida total de volátiles, B_0 el intercepto, B_i el coeficiente de regresión lineal, B_{ij} el coeficiente de regresión cuadrático cuando $i = j$ o el coeficiente de regresión de primer orden cuando $i < j$, X_i y X_j son los niveles de los factores y ε es el error aleatorio. Para el procesamiento de los datos se utilizó el programa estadístico Design-Expert version 5 (STAT-EASE Inc., 1996).

6.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.3.1 COMPORTAMIENTO DE VOLÁTILES DURANTE LA DESHIDRATACIÓN

Como se mencionó en varias ocasiones los ésteres, aldehídos, alcoholes y terpenos, son compuestos con grandes cualidades sensoriales en los alimentos, principalmente en las frutas. De los constituyentes que conforman el aroma de los analizados en el Capítulo III, se escogieron los tres primeros grupos y de ellos los que presentaron mejor definición en su composición. Se observa, en general, una disminución en la concentración en la mayoría de los compuestos, como es lógico, respecto a la fruta fresca, siendo más notoria la pérdida a 50 °C y en disoluciones concentradas, en parte debido a la pérdida de los mismos, al tratamiento con pulso de vacío y a la manipulación de la muestra.

De los tres grupos funcionales principales, se observa que los ésteres presentan las mayores pérdidas durante el proceso mientras que los aldehídos y los alcoholes lo hacen en menor proporción, debido posiblemente a la polaridad y a la producción de volátiles generados por hidrólisis enzimática como es el caso de los alcoholes o de los ácidos.

Estos últimos no fueron incluidos por encontrarse a una baja concentración al pH ácido natural de la fruta (Capítulo III). De otro lado, los terpenos como el limoneno y linalol no mostraron cambios tan marcados durante los diferentes tratamientos, el linalol exhibe una pérdida de masa ligeramente superior.

En relación a los ésteres, el comportamiento individual fue diferente, el compuesto que más pérdida de masa sufrió, fue el hexanoato de etilo a 30 °C y 50 °C especialmente con disoluciones osmóticas a 50 ° Brix y con un tiempo de 3 horas. Otros compuestos con características similares fueron: el acetato de (*E*)-3-hexenilo y el acetato de (*Z*)-3-hexenilo, ambos insaturados lo que los hace más vulnerables a procesos como la oxidación o asociados potencialmente a procesos térmicos. Ésteres de cadena corta como el butanoato de metilo y etilo, sufrieron pérdidas apreciables, explicables por su bajo peso molecular y mayor volatilidad. Los ésteres de peso molecular superior, y los completamente saturados, mostraron una tendencia progresiva de incremento en la pérdida de masa a medida que se incrementa la temperatura del proceso, pero no superior a los ésteres insaturados. Con relación al régimen con pulso de vacío, el comportamiento fue similar, aunque la pérdida fue acrecentándose a medida que aumentó el tiempo del proceso, la concentración de la solución y la temperatura del proceso. Esto puede deberse, en parte, a la facilidad de volatilización de compuestos, directamente relacionada con la estructura de la fruta y la sensibilidad a procesos térmicos, que facilitan la pérdida de aroma. Un indicador de esto es el aroma residual que se percibe cuando se suspende el pulso de vacío. El octanoato de etilo presenta una pérdida similar a 30 y 40 °C con 3 horas de OD, siendo muy superior a 50 °C y con mayor tiempo de deshidratación.

Por su parte, los alcoholes, analizados como grupo de compuestos aunque se esperaba que tengan mayor pérdida por efecto de solubilidad en agua, su efecto no es tan notorio. Esto se puede explicar porque algunos de ellos pueden venir enlazados y son liberados por condiciones de hidrólisis enzimática o acidez de la fruta. En el caso particular del alcohol *E*-cinámico que, como se demostró en el capítulo IV, viene enlazado glicosídicamente, es uno de los que presenta pérdidas por efecto de la temperatura en OD, mientras que por PVOD, la pérdida de masa es ligeramente menor. Lo mismo ocurre con el hexanol. Los alcoholes insaturados manifiestan pérdidas de

masa tanto a presión atmosférica como con pulso de vacío, no siendo tan marcada como ocurrió con los dos anteriores.

Acerca de los aldehídos, se muestra nuevamente un fenómeno similar a los compuestos insaturados, el (*Z*)-2 hexenal y el (*E*)-cinamaldehído, presentan mayor pérdida por efecto del pulso de vacío, mientras que la pérdida del (*E*)-2-hexenal, se ve más afectada por efecto de la temperatura.

Es interesante señalar que, aunque el régimen de pulso de vacío, favorece la entrada de solutos que contribuyen en algún momento a disminuir el efecto de la pérdida de compuestos, este fenómeno puede estar ligado a la velocidad de procesos enzimáticos, liberación de compuestos producidos por acidez de la fruta, así como las transformaciones por oxidación y efecto de la temperatura durante la manipulación de la muestra.

Las mejores condiciones para obtener un producto deshidratado con características sensoriales buenas, se encuentra probablemente en los tratamientos efectuados con temperaturas entre 30 y 40 °C con un tiempo no superior a 2 horas. A continuación se presenta el estudio estadístico que contribuye a esclarecer el análisis de pérdida de volátiles.

Estudios de transformación o pérdida de masa de compuestos volátiles por efectos enzimáticos y térmicos, han sido reportados por otros autores en procesos como cocción de la fruta (Fallik *et al.*, 1997), obtención de los jugos (Varming *et al.*, 2006), por refrigeración (Talens *et al.*, 2003) durante el almacenaje (Leclercro *et al.*, 2007) o como consecuencia de la alta presión (Sumitani *et al.*, 1994), todos ellos factores importantes la evolución del aroma del producto.

6.3.2 RESULTADO ESTADÍSTICO

Las Tablas VI.1 y VI.2 resumen la distribución de los diferentes volátiles analizados para los tratamientos de OD y PVDO, los compuestos para el estudio de pérdida de volátiles fueron seleccionados a partir de picos cromatográficos con una señal bien resuelta y que fueran sensorialmente importantes en la guayaba (ver epígrafe 3.5.2): butanoato de metilo, butanoato de etilo, hexanal, (*Z*)-2-hexenal, (*E*)-2-hexenal, limoneno, hexanoato de

etilo, acetato de hexilo, acetato de (*E*)-3-hexenilo, acetato de (*Z*)-3-hexenilo, hexanol, (*E*)-3-hexenol, (*Z*)-3-hexenol, (*E*)-2-hexenol, octanoato de etilo, linalol, (*E*)-cinamaldehído, hexanoato de hexilo y alcohol (*E*)-cinámico.

La matriz de correlación de los componentes volátiles de la guayaba para cada régimen de presión arrojó, en general, la existencia de una buena correlación (significativa para $p < 0,05$) entre los cambios que ocurren por el proceso de secado y por tanto, es válido usar la pérdida de volátiles totales como un índice del cambio general (**Tablas VI.3 y VI.4**).

Tabla VI.1 Distribución de la pérdida de volátiles en función de las variables de los tratamientos de OD a presión atmosférica

T	t	S	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₅	V ₆	V ₇	V ₈	V ₉	V ₁₀	V ₁₁	V ₁₂	V ₁₃	V ₁₄	V ₁₅	V ₁₆	V ₁₇	V ₁₈	V ₁₉	PVT
30	1	30	0,02	0,21	0,03	0,02	0,21	0,01	0,15	0,02	0,08	0,03	0,15	0,01	0,02	0,01	0,13	0,01	0,02	0,01	0,10	1,23
30	2	30	0,03	0,33	0,03	0,05	0,30	0,02	0,29	0,02	0,12	0,04	0,22	0,01	0,02	0,02	0,14	0,02	0,03	0,03	0,17	1,89
30	3	30	0,04	0,34	0,03	0,07	0,34	0,04	0,45	0,05	0,20	0,05	0,23	0,01	0,03	0,04	0,17	0,00	0,04	0,06	0,18	2,38
30	1	40	0,04	0,38	0,03	0,05	0,33	0,03	0,23	0,03	0,08	0,03	0,18	0,00	0,02	0,02	0,04	0,02	0,03	0,03	0,19	1,74
30	2	40	0,04	0,40	0,04	0,06	0,33	0,04	0,28	0,03	0,19	0,03	0,22	0,00	0,03	0,04	0,07	0,02	0,03	0,04	0,20	2,08
30	3	40	0,06	0,50	0,05	0,08	0,42	0,06	0,34	0,04	0,13	0,05	0,22	0,01	0,04	0,06	0,10	0,03	0,05	0,07	0,21	2,51
30	1	50	0,07	0,33	0,05	0,04	0,42	0,04	0,23	0,04	0,15	0,06	0,21	0,00	0,03	0,02	0,13	0,02	0,04	0,05	0,29	2,22
30	2	50	0,08	0,45	0,05	0,05	0,50	0,06	0,27	0,07	0,17	0,07	0,22	0,00	0,04	0,05	0,16	0,03	0,05	0,07	0,29	2,68
30	3	50	0,11	0,49	0,06	0,08	0,60	0,08	0,30	0,08	0,18	0,10	0,24	0,01	0,06	0,06	0,17	0,03	0,05	0,08	0,31	3,10
40	1	30	0,03	0,28	0,02	0,03	0,21	0,01	0,25	0,04	0,09	0,04	0,14	0,02	0,01	0,06	0,12	0,03	0,03	0,02	0,06	1,48
40	2	30	0,04	0,31	0,03	0,05	0,31	0,02	0,33	0,06	0,30	0,06	0,25	0,00	0,03	0,02	0,16	0,05	0,04	0,04	0,10	2,19
40	3	30	0,05	0,40	0,04	0,09	0,17	0,04	0,30	0,08	0,43	0,07	0,27	0,01	0,06	0,06	0,21	0,06	0,06	0,07	0,16	2,61
40	1	40	0,04	0,31	0,02	0,04	0,27	0,02	0,37	0,04	0,17	0,03	0,15	0,02	0,04	0,06	0,17	0,04	0,04	0,03	0,12	1,98
40	2	40	0,05	0,35	0,02	0,07	0,34	0,03	0,44	0,05	0,25	0,05	0,23	0,03	0,06	0,10	0,19	0,05	0,06	0,05	0,19	2,63
40	3	40	0,05	0,44	0,04	0,08	0,27	0,05	0,40	0,07	0,27	0,09	0,26	0,04	0,07	0,13	0,21	0,06	0,08	0,07	0,31	2,99
40	1	50	0,09	0,26	0,02	0,07	0,31	0,04	0,39	0,03	0,20	0,08	0,13	0,03	0,07	0,05	0,08	0,02	0,02	0,04	0,22	2,17
40	2	50	0,13	0,42	0,02	0,18	0,32	0,10	0,44	0,04	0,32	0,18	0,23	0,04	0,14	0,08	0,13	0,04	0,04	0,05	0,31	3,20
40	3	50	0,15	0,33	0,07	0,21	0,29	0,11	0,43	0,05	0,32	0,19	0,24	0,05	0,16	0,09	0,19	0,05	0,07	0,08	0,36	3,43
50	1	30	0,06	0,41	0,04	0,06	0,37	0,05	0,42	0,05	0,27	0,08	0,25	0,04	0,07	0,06	0,15	0,03	0,04	0,06	0,18	2,69
50	2	30	0,09	0,42	0,05	0,08	0,43	0,08	0,47	0,05	0,28	0,09	0,20	0,05	0,11	0,09	0,17	0,04	0,06	0,07	0,35	3,19
50	3	30	0,11	0,49	0,07	0,12	0,47	0,11	0,51	0,07	0,40	0,17	0,28	0,06	0,14	0,10	0,19	0,06	0,07	0,08	0,41	3,90
50	1	40	0,07	0,41	0,03	0,09	0,36	0,05	0,46	0,05	0,19	0,13	0,19	0,03	0,06	0,07	0,12	0,04	0,04	0,05	0,20	2,63
50	2	40	0,10	0,47	0,04	0,12	0,39	0,07	0,52	0,07	0,26	0,15	0,32	0,04	0,09	0,11	0,21	0,07	0,07	0,07	0,29	3,46
50	3	40	0,12	0,39	0,07	0,14	0,45	0,11	0,58	0,08	0,47	0,18	0,33	0,06	0,14	0,14	0,21	0,08	0,08	0,08	0,41	4,11
50	1	50	0,08	0,38	0,04	0,05	0,35	0,07	0,45	0,05	0,26	0,08	0,18	0,03	0,09	0,12	0,16	0,04	0,03	0,06	0,27	2,79
50	2	50	0,12	0,44	0,08	0,10	0,39	0,10	0,49	0,06	0,36	0,18	0,31	0,05	0,15	0,14	0,22	0,06	0,07	0,09	0,35	3,77
50	3	50	0,14	0,50	0,08	0,14	0,43	0,12	0,53	0,08	0,43	0,22	0,36	0,07	0,17	0,16	0,24	0,07	0,08	0,10	0,40	4,32

T: temperatura (°C), t: tiempo (h), S: sólidos solubles (°Brix) de la disolución osmótica, PVT: pérdida de volátiles total (mg/kg), (V₁) butanoato de metilo, (V₂) butanoato de etilo, (V₃) hexanal, (V₄) (Z)-2-hexenal, (V₅) (E)-2-hexenal, (V₆) limoneno, (V₇) hexanoato de etilo, (V₈) acetato de hexilo, (V₉) acetato de (E)-3-hexenilo, (V₁₀) acetato de (Z)-3-hexenilo, (V₁₁) hexanol, (V₁₂) (E)-3-hexenol, (V₁₃) Z)-3-hexenol, (V₁₄) (E)-2-hexenol, (V₁₅) octanoato de etilo, (V₁₆) linalol, (V₁₇) (E)-cinamaldehído, (V₁₈) hexanoato de hexilo y (V₁₉) alcohol (E)-cinámico.

Tabla VI.2 Distribución de la pérdida de volátiles en función de las variables de los tratamientos de OD a vacío pulsante

T	t	S	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₅	V ₆	V ₇	V ₈	V ₉	V ₁₀	V ₁₁	V ₁₂	V ₁₃	V ₁₄	V ₁₅	V ₁₆	V ₁₇	V ₁₈	V ₁₉	PVT
30	1	30	0,04	0,04	0,04	0,04	0,17	0,03	0,29	0,01	0,22	0,01	0,12	0,01	0,03	0,03	0,05	0,01	0,01	0,00	0,17	1,31
30	2	30	0,05	0,30	0,06	0,05	0,26	0,04	0,25	0,02	0,25	0,02	0,18	0,04	0,05	0,05	0,13	0,02	0,03	0,04	0,22	2,07
30	3	30	0,06	0,31	0,07	0,09	0,27	0,07	0,20	0,03	0,31	0,05	0,20	0,02	0,08	0,07	0,17	0,02	0,04	0,01	0,20	2,28
30	1	40	0,04	0,23	0,02	0,06	0,44	0,03	0,20	0,02	0,10	0,01	0,07	0,03	0,04	0,05	0,04	0,02	0,01	0,02	0,08	1,51
30	2	40	0,06	0,37	0,03	0,08	0,40	0,05	0,31	0,03	0,19	0,04	0,19	0,04	0,06	0,06	0,06	0,02	0,01	0,04	0,11	2,16
30	3	40	0,08	0,44	0,04	0,09	0,44	0,04	0,44	0,04	0,32	0,08	0,24	0,04	0,09	0,07	0,15	0,02	0,03	0,07	0,17	2,91
30	1	50	0,04	0,32	0,02	0,05	0,31	0,02	0,34	0,03	0,18	0,01	0,17	0,01	0,03	0,04	0,07	0,02	0,01	0,03	0,15	1,85
30	2	50	0,11	0,39	0,04	0,07	0,46	0,03	0,44	0,05	0,28	0,05	0,22	0,02	0,05	0,07	0,12	0,03	0,02	0,04	0,20	2,71
30	3	50	0,12	0,71	0,07	0,10	0,58	0,05	0,55	0,05	0,46	0,06	0,25	0,02	0,08	0,09	0,19	0,03	0,03	0,08	0,30	3,85
40	1	30	0,05	0,35	0,03	0,01	0,40	0,02	0,31	0,03	0,12	0,05	0,10	0,01	0,02	0,03	0,06	0,03	0,01	0,02	0,41	2,05
40	2	30	0,06	0,44	0,04	0,03	0,49	0,03	0,38	0,05	0,34	0,09	0,21	0,00	0,05	0,05	0,10	0,04	0,02	0,03	0,16	2,61
40	3	30	0,09	0,33	0,05	0,07	0,43	0,04	0,35	0,07	0,29	0,10	0,25	0,01	0,07	0,07	0,14	0,05	0,03	0,08	0,21	2,73
40	1	40	0,06	0,29	0,02	0,03	0,28	0,03	0,33	0,02	0,10	0,03	0,13	0,03	0,05	0,04	0,07	0,06	0,04	0,03	0,10	1,73
40	2	40	0,09	0,45	0,03	0,07	0,41	0,04	0,47	0,03	0,16	0,04	0,18	0,04	0,06	0,06	0,09	0,07	0,06	0,06	0,16	2,58
40	3	40	0,12	0,52	0,05	0,11	0,43	0,05	0,47	0,05	0,27	0,05	0,23	0,05	0,07	0,08	0,11	0,07	0,08	0,07	0,21	3,09
40	1	50	0,06	0,36	0,01	0,06	0,32	0,03	0,53	0,02	0,16	0,08	0,13	0,03	0,08	0,04	0,08	0,03	0,03	0,04	0,13	2,22
40	2	50	0,09	0,42	0,04	0,10	0,33	0,04	0,40	0,04	0,29	0,12	0,22	0,04	0,11	0,08	0,12	0,05	0,04	0,06	0,25	2,86
40	3	50	0,14	0,46	0,07	0,13	0,43	0,08	0,38	0,06	0,34	0,14	0,25	0,04	0,14	0,11	0,18	0,06	0,06	0,08	0,30	3,46
50	1	30	0,07	0,40	0,02	0,08	0,42	0,04	0,48	0,04	0,26	0,07	0,13	0,02	0,08	0,06	0,12	0,03	0,04	0,03	0,12	2,50
50	2	30	0,10	0,49	0,03	0,10	0,45	0,05	0,43	0,05	0,33	0,09	0,19	0,03	0,09	0,07	0,15	0,04	0,05	0,05	0,22	3,02
50	3	30	0,12	0,52	0,04	0,16	0,45	0,08	0,43	0,08	0,43	0,13	0,21	0,05	0,12	0,10	0,21	0,06	0,07	0,07	0,28	3,59
50	1	40	0,10	0,58	0,04	0,08	0,39	0,04	0,41	0,06	0,33	0,09	0,11	0,02	0,08	0,17	0,21	0,04	0,04	0,05	0,21	3,04
50	2	40	0,12	0,49	0,06	0,11	0,51	0,07	0,49	0,08	0,43	0,12	0,31	0,04	0,10	0,10	0,14	0,06	0,07	0,07	0,29	3,65
50	3	40	0,15	0,52	0,07	0,14	0,45	0,08	0,48	0,09	0,32	0,17	0,26	0,05	0,12	0,11	0,23	0,08	0,08	0,08	0,36	3,82
50	1	50	0,09	0,47	0,04	0,09	0,39	0,05	0,44	0,04	0,28	0,09	0,09	0,04	0,09	0,09	0,14	0,04	0,05	0,05	0,25	2,84
50	2	50	0,12	0,51	0,08	0,12	0,29	0,08	0,48	0,06	0,38	0,12	0,21	0,05	0,13	0,13	0,21	0,06	0,07	0,09	0,21	3,41
50	3	50	0,14	0,50	0,09	0,16	0,51	0,10	0,56	0,07	0,28	0,15	0,26	0,06	0,17	0,16	0,25	0,07	0,08	0,10	0,35	4,08

T: temperatura (°C), t: tiempo (h), S: sólidos solubles (°Brix) de la disolución osmótica, PVT: pérdida de volátiles total (mg/kg). (V₁) butanoato de metilo, (V₂) butanoato de etilo, (V₃) hexanal, (V₄) (Z)-2-hexenal, (V₅) (E)-2-hexenal, (V₆) limoneno, (V₇) hexanoato de etilo, (V₈) acetato de hexilo, (V₉) acetato de (E)-3-hexenilo, (V₁₀) acetato de (Z)-3-hexenilo, (V₁₁) hexanol, (V₁₂) (E)-3-hexenol, (V₁₃) (Z)-3-hexenol, (V₁₄) (E)-2-hexenol, (V₁₅) octanoato de etilo, (V₁₆) linalol, (V₁₇) (E)-cinamaldehído, (V₁₈) hexanoato de hexilo y (V₁₉) alcohol (E)-cinámico.

Tabla VI.3 Matriz de correlación de la pérdida de los componentes volátiles de la guayaba deshidratada osmóticamente a presión atmosférica

V ₂	V ₃	V ₄	V ₅	V ₆	V ₇	V ₈	V ₉	V ₁₀	V ₁₁	V ₁₂	V ₁₃	V ₁₄	V ₁₅	V ₁₆	V ₁₇	V ₁₈	V ₁₉	
0,43*	0,73*	0,83*	0,51*	0,94*	0,61*	0,49*	0,59*	0,91*	0,46*	0,69*	0,89*	0,63*	0,39*	0,54*	0,59*	0,73*	0,85*	V ₁
	0,56*	0,36	0,65*	0,60*	0,40*	0,60*	0,34	0,42*	0,62*	0,24	0,39*	0,48*	0,27	0,42*	0,54*	0,72*	0,59*	V ₂
		0,53*	0,61*	0,79*	0,39*	0,60*	0,54*	0,65*	0,65*	0,43*	0,65*	0,51*	0,47*	0,48*	0,68*	0,83*	0,82*	V ₃
			0,16	0,83*	0,63*	0,42*	0,65*	0,87*	0,55*	0,65*	0,85*	0,58*	0,40*	0,61*	0,65*	0,60*	0,67*	V ₄
				0,53*	0,28	0,44*	0,12	0,39*	0,39*	0,15	0,28	0,24	0,14	0,15	0,30	0,57*	0,63*	V ₅
					0,69*	0,55*	0,68*	0,91*	0,60*	0,74*	0,92*	0,74*	0,46*	0,61*	0,69*	0,82*	0,91*	V ₆
						0,50*	0,72*	0,72*	0,55*	0,82*	0,77*	0,81*	0,57*	0,69*	0,64*	0,67*	0,60*	V ₇
							0,68*	0,56*	0,72*	0,39*	0,47*	0,57*	0,76*	0,72*	0,72*	0,76*	0,52*	V ₈
								0,70*	0,72*	0,67*	0,77*	0,68*	0,69*	0,82*	0,70*	0,71*	0,58*	V ₉
									0,60*	0,78*	0,92*	0,71*	0,51*	0,69*	0,66*	0,68*	0,78*	V ₁₀
										0,39*	0,53*	0,54*	0,68*	0,67*	0,76*	0,75*	0,58*	V ₁₁
											0,88*	0,82*	0,49*	0,69*	0,61*	0,53*	0,65*	V ₁₂
												0,78*	0,55*	0,71*	0,70*	0,72*	0,81*	V ₁₃
													0,64*	0,79*	0,76*	0,71*	0,69*	V ₁₄
														0,71*	0,79*	0,67*	0,43*	V ₁₅
															0,79*	0,61*	0,55*	V ₁₆
																0,80*	0,72*	V ₁₇
																	0,80*	V ₁₈

Valores significativos para $p < 0,05$. (V₁) butanoato de metilo, (V₂) butanoato de etilo, (V₃) hexanal, (V₄) (Z)-2-hexenal, (V₅) (E)-2-hexenal, (V₆) limoneno, (V₇) hexanoato de etilo, (V₈) acetato de hexilo, (V₉) acetato de (E)-3-hexenilo, (V₁₀) acetato de (Z)-3-hexenilo, (V₁₁) hexanol, (V₁₂) (E)-3-hexenol, (V₁₃) (Z)-3-hexenol, (V₁₄) (E)-2-hexenol, (V₁₅) octanoato de etilo, (V₁₆) linalol, (V₁₇) (E)-cinamaldehído, (V₁₈) hexanoato de hexilo y (V₁₉) alcohol (E)-cinámico.

Tabla VI.4 Matriz de correlación de los componentes volátiles de la guayaba deshidratada osmóticamente con vacío pulsante

V ₂	V ₃	V ₄	V ₅	V ₆	V ₇	V ₈	V ₉	V ₁₀	V ₁₁	V ₁₂	V ₁₃	V ₁₄	V ₁₅	V ₁₆	V ₁₇	V ₁₈	V ₁₉	
0.76*	0.65*	0.84*	0.5*	0.77*	0.65*	0.84*	0.70*	0.81*	0.65*	0.62*	0.81*	0.77*	0.77*	0.77*	0.80*	0.84*	0.57*	V ₁
	0.43*	0.63*	0.7*	0.48*	0.72*	0.70*	0.66*	0.59*	0.47*	0.45*	0.56*	0.71*	0.70*	0.56*	0.61*	0.75*	0.45*	V ₂
		0.59*	0.1	0.75*	0.1	0.54*	0.73*	0.53*	0.64*	0.39	0.62*	0.62*	0.75*	0.39	0.55*	0.56*	0.55*	V ₃
			0.39	0.87*	0.47*	0.72*	0.70*	0.73*	0.57*	0.79*	0.87*	0.74*	0.77*	0.59*	0.73*	0.75*	0.39	V ₄
				0.2	0.49*	0.62*	0.44*	0.39	0.45*	0.1	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2	0.52*	0.3	V ₅
					0.2	0.66*	0.68*	0.74*	0.58*	0.68*	0.87*	0.66*	0.77*	0.54*	0.71*	0.60*	0.46*	V ₆
						0.53*	0.47*	0.50*	0.39	0.3	0.47*	0.42	0.4	0.54*	0.55*	0.67*	0.2	V ₇
							0.74*	0.83*	0.63*	0.39*	0.66*	0.75*	0.77*	0.63*	0.65*	0.73*	0.56*	V ₈
								0.67*	0.68*	0.3	0.67*	0.69*	0.82*	0.3	0.49*	0.61*	0.47*	V ₉
									0.54*	0.47*	0.88*	0.70*	0.75*	0.63*	0.64*	0.72*	0.57*	V ₁₀
										0.39	0.53*	0.3	0.50*	0.46*	0.48*	0.67*	0.39	V ₁₁
											0.70*	0.51*	0.48*	0.64*	0.76*	0.68*	0.2	V ₁₂
												0.73*	0.78*	0.61*	0.71*	0.74*	0.4	V ₁₃
													0.86*	0.52*	0.64*	0.65*	0.41*	V ₁₄
														0.48*	0.65*	0.67*	0.52*	V ₁₅
															0.92*	0.69*	0.3	V ₁₆
																0.69*	0.41*	V ₁₇
																	0.43*	V ₁₈

*Valores significativos para $p < 0.05$. (V₁) butanoato de metilo, (V₂) butanoato de etilo, (V₃) hexanal, (V₄) (Z)-2-hexenal, (V₅) (E)-2-hexenal, (V₆) limoneno, (V₇) hexanoato de etilo, (V₈) acetato de hexilo, (V₉) acetato de (E)-3-hexenilo, (V₁₀) acetato de (Z)-3-hexenilo, (V₁₁) hexanol, (V₁₂) (E)-3-hexenol, (V₁₃) (Z)-3-hexenol, (V₁₄) (E)-2-hexenol, (V₁₅) octanoato de etilo, (V₁₆) linalol, (V₁₇) (E)-cinamaldehído, (V₁₈) hexanoato de hexilo y (V₁₉) alcohol (E)-cinámico.

La pérdida de volátiles totales tuvo una tendencia a incrementarse con la temperatura y tiempo de secado, así como con el empleo de la solución osmótica más concentrada. Este comportamiento coincidió para ambos regímenes de presión.

A partir de los coeficientes de regresión significativos del modelo de regresión múltiple codificado desarrollado (para $p \leq 0,05$) (Tabla VI.5), para los regímenes con OD y PVOD, se obtuvieron las siguientes ecuaciones polinómicas para la pérdida de volátiles totales (PV).

Para la DO a presión atmosférica:

$$PV = 2,583 + 0,613 X_1 + 0,579 X_2 + 0,340 X_3 + 0,284 X_1^2 - 0,118 X_2^2 + 0,118 X_1X_2 - 0,117 X_1X_3 \quad (R^2 = 0,982) \quad (VI.6)$$

Para la DO con vacío pulsante:

$$PV = 2,684 + 0,520 X_1 + 0,618 X_2 + 0,242 X_3 + 0,237 X_1^2 - 0,146 X_1X_3 \quad (R^2 = 0,922) \quad (VI.7)$$

Tabla VI.5 Modelos de regresión múltiple para la pérdida de volátiles totales en la OD de guayaba

Factor	Coefficiente	Error estándar	Significación
Régimen a presión atmosférica			
Intercepto	2,58	0,03	
X ₁ – Temperatura	0,61	0,02	< 0,0001
X ₂ – Tiempo	0,58	0,02	< 0,0001
X ₃ – Sólidos solubles	0,34	0,02	< 0,0001
X ₁ ²	0,28	0,04	< 0,0001
X ₂ ²	-0,12	0,04	0,0127
X ₁ X ₂	0,12	0,03	0,0019
X ₁ X ₃	0,12	0,03	0,0022
Régimen a vacío pulsante			
Intercepto	2,68	0,07	
X ₁ – Temperatura	0,52	0,05	< 0,0001
X ₂ – Tiempo	0,62	0,05	< 0,0001
X ₃ – Sólidos solubles	0,24	0,05	0,0002
X ₁ ²	0,24	0,08	0,0113
X ₁ X ₃	-0,15	0,06	0,0382

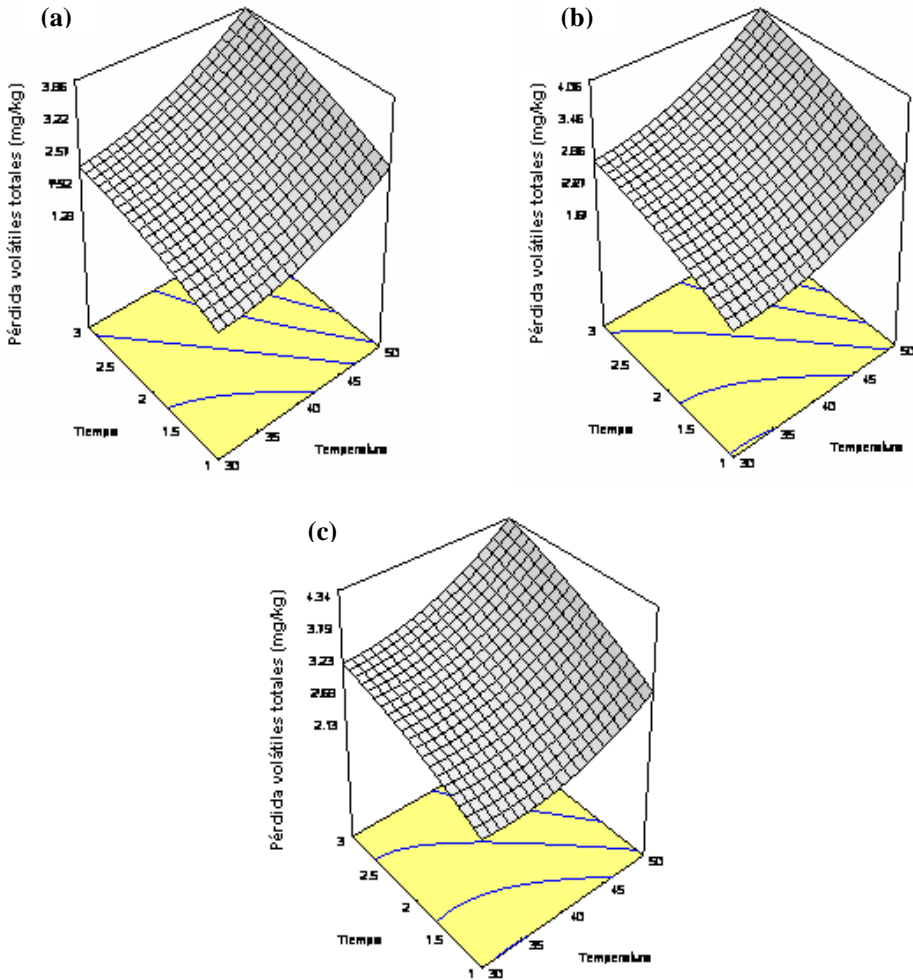


FIGURA VI.1 Superficie de respuesta para la pérdida de volátiles totales de la guayaba deshidratada osmóticamente a presión atmosférica a: (a) 30 °Brix, (b) 40 °Brix y (c) 50 °Brix. Temperatura expresada en °C y tiempo en horas.

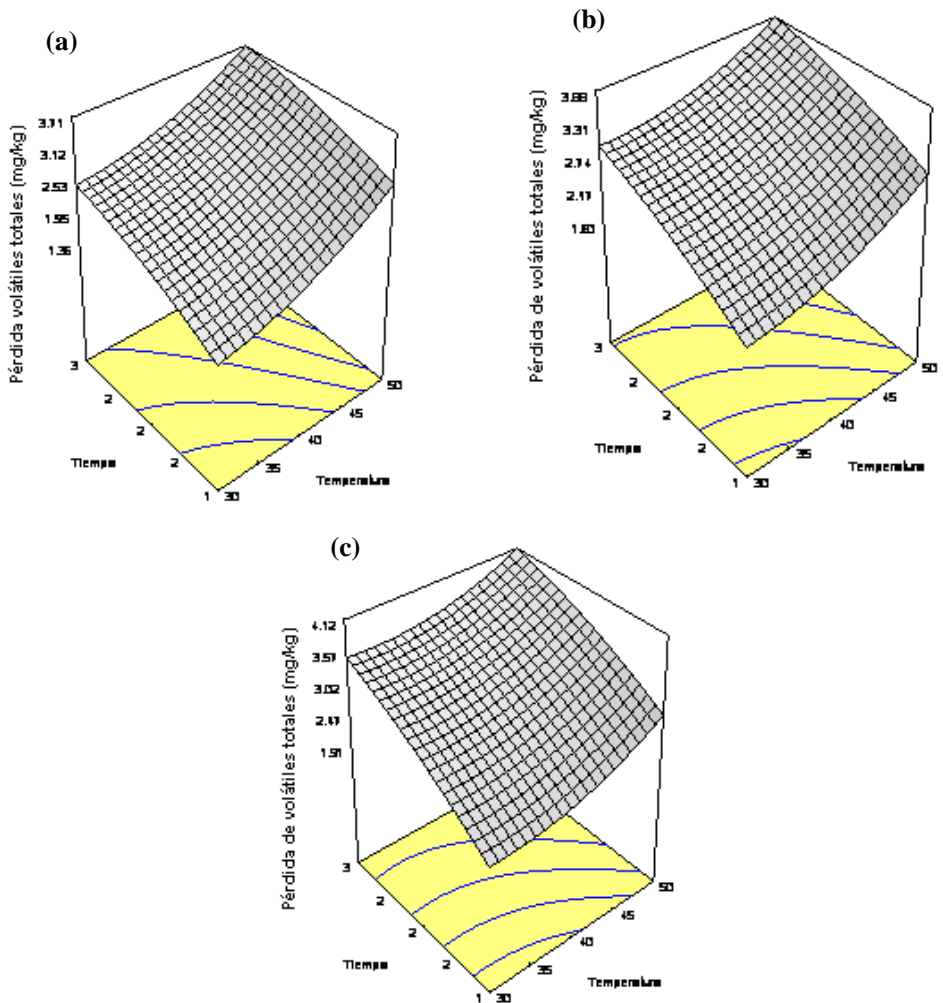


FIGURA VI.2 Superficie de respuesta para la pérdida de volátiles totales de la guayaba deshidratada osmóticamente con vacío pulsante a: (a) 30 °Brix, (b) 40 °Brix y (c) 50 °Brix. Temperatura expresada en °C y tiempo en horas.

De acuerdo a los modelos obtenidos, la temperatura de la solución (T), el tiempo de tratamiento (t) y la concentración de la solución osmótica (S), codificados como X_1 , X_2 y X_3 , respectivamente, ejercen una influencia significativa en la pérdida de volátiles totales en la OD de la guayaba, tanto a presión atmosférica como en régimen de vacío pulsante. Las Fig. VI.1 y VI.2 muestran las superficies de respuesta obtenidas para cada concentración de sacarosa y régimen de presión.

A medida que la temperatura se incrementa, la pérdida de volátiles totales aumenta (Fig. VI.1 y VI.2); este efecto es intensificado por el efecto cuadrático positivo. Lo mismo sucede para el factor tiempo: un incremento de éste conduce a una mayor pérdida de volátiles, pero en este factor solo hay un efecto cuadrático negativo para el régimen a presión atmosférica, no así para cuando se operó a vacío pulsante. Esto último significa que el factor tiempo no tuvo un efecto tan grande a presión atmosférica como cuando se operó a vacío pulsante. El comportamiento para el factor sólidos solubles de la solución osmótica fue similar para cada régimen de presión: a mayor contenido de sólidos solubles ocurrió una mayor pérdida de volátiles. Cuando se operó a presión atmosférica, la interacción temperatura-tiempo (X_1X_2) fue significativa y positiva por lo que el incremento de ambos factores favoreció la pérdida de volátiles. La interacción temperatura-sólidos solubles (X_1X_3) siempre tuvo un efecto negativo sobre la pérdida de volátiles por lo que están inversamente relacionados ambos factores. Los coeficientes estimados para cada factor y las interacciones fueron del mismo orden, lo que indica que los efectos de cada uno sobre el proceso de OD fueron similares.

Los resultados del efecto de la temperatura y el tiempo sobre la pérdida de volátiles en la guayaba son lógicos y coinciden con lo reportado para esta fruta por otros autores (Panadés *et al.*, 2006), que señalan que un incremento de la temperatura con el consiguiente decrecimiento de la viscosidad del medio osmótico, causa una disminución de la resistencia externa al transporte de masa en la superficie del producto, lo que es favorecido con la extensión del tiempo de contacto fruta-medio osmótico.

Un análisis de las dos ecuaciones polinómicas, obtenidas indica que en la deshidratación osmótica a presión atmosférica ocurren pérdidas ligeramente mayores que en el régimen de vacío pulsante. Así, para valores máximos de X_1 , X_2 y X_3 (+1) se

obtuvieron pérdidas de volátiles totales de 4,282 y 4,155 mg/kg, para el proceso a presión atmosférica y vacío pulsante, respectivamente; mientras que para valores mínimos de los factores (-1) ocurrió lo contrario, pues se obtuvieron pérdidas de volátiles totales de 1,218 y 1,395 mg/kg para el proceso a presión atmosférica y vacío pulsante, respectivamente.

En general a 30 y 40 °C, la aplicación de vacío supuso la esperada mayor volatilización de los compuestos, lo que implicó mayor pérdida de componentes para unas condiciones dadas de temperatura, tiempo y concentración de la disolución osmótica. Sin embargo a 50 °C se observa en general mayores pérdidas a presión atmosférica, por tanto a bajos tiempos y temperaturas, primó el efecto del vacío en la pérdida de volátiles y por ello se obtuvieron menores pérdidas al operar a presión atmosférica. En ambos regímenes de presión, las menores pérdidas de volátiles ocurrieron a 30 y 40 °C (Fig. VI.1 y VI.2). Resultados parecidos fueron reportados en otros estudios similares (Pino *et al.*, 1995, 1999; Torres *et al.*, 2007).

6.4 CONCLUSIONES

- 1- Los resultados muestran que la temperatura de la solución (30 a 50 °C), el tiempo del proceso (1 a 3 h) y el contenido de sólidos solubles de la solución osmótica (30 a 50 °Brix) poseen un efecto significativo sobre la pérdida de volátiles de la guayaba osmóticamente procesada, tanto a presión atmosférica como a régimen de vacío pulsante. En general, las mayores pérdidas de volátiles ocurrieron a 50 °C, mientras que las menores pérdidas fueron a 30 y 40 °C hasta 2 h con disolución osmótica a 30 y 40 °Brix, tanto a presión atmosférica como a vacío pulsante. La aplicación de vacío implicó para igualdad de otros factores, mayor pérdida de volátiles que los tratamientos a presión atmosférica, en coherencia con la promoción de volatilización al disminuir la presión en el sistema.
- 2- Los ésteres, son los compuestos que presentan mayores pérdidas durante el proceso de deshidratación osmótica a presión atmosférica y con pulso de vacío, en menor proporción ocurre con los aldehídos y los alcoholes.

- 3- Los compuestos con mayores cambios de pérdida de masa a presión atmosférica fueron en orden descendente: el hexanoato de etilo, butanoato de etilo, *E*-2-hexenal, *E*-cinamaldehído, alcohol *E*-cinamílico y hexanol.

VII BIBLIOGRAFÍA

- ACOSTA, E. (1996). Deshidratación osmótica a vacío de papaya: desarrollo de un producto mínimamente procesado. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. España.
- ADAMS, R.P. (2001). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. 4th. Allured Publishing Co., Carol Stream, 803 p.
- ALZAMORA, S.M.; GERSCHENSON, L.N.; VIDALES, S.; NIETO, A. (1997). Structural changes in the minimal processing of fruits: some effects of blanching and sugar impregnation. En: Food Engineering 2000. (Eds). P. Fito, E. Ortega-Rodríguez and G. V. Barbosa-Cánovas. New York: Chapman & Hall. International Thomson Publishing. May: 117-140.
- ALZAMORA, K.; PINO, J.A.; HERNÁNDEZ, M.; DUARTE, C; GONZÁLEZ, J.; RONCAL, L. E. (2004). Evaluation of volátiles from ripening papaya (*Carica papaya* L, var. Maradol roja). *Food Chemistry*. 86: 127-130.
- ANDRÉS, A. (1995). Impregnación a vacío en alimentos porosos. Aplicación al salado de quesos. Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Valencia. España.
- ANDRÉS, A.; RODRÍGUEZ-BARONA, S.; BARAT, J.M.; FITO, P. (2001a). Application of vacuum impregnation technology to salting and desalting cod (*Gadus morhua*). En: Osmotic Dehydration and Vacuum Impregnation. Food Preserv. Tech. Series. P. Fito A. Chiralt, J. Barat, W.E.L. Spiess and D. Beshnilian (Eds.). Technomic Publishing Co. Lancaster, Pennsylvania. Pp: 185-191.
- ANDRÉS, A.; SALVATORI, A.; ALBORS, A.; CHIRALT, A.; FITO, P. (2001b). Vacuum impregnation viability of some fruits and vegetables. En: Osmotic Dehydration and Vacuum Impregnation. Food Preserv. Tech. Series. P. Fito; A. Chiralt; J.M. Barat; W.E.L. Spiess and D. Beshnilian (Eds.). Technomic Publishing Co., Lancaster, Pennsylvania. Pp: 53-59.
- A.O.A.C. (1984). Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis. Washington, D.C. 14th ed. Pp: 420-423.
- ARCTANDER, S. (1969). Perfume and Flavor Chemicals. Steffen Arctander: Montclair, New Jersey.
- ASKAR, A.; EL-NEMR, S.; BASSIOUNY, S. S. (1986). Aroma constituents in white and pink guava fruits. *Alimentaria*. 25: 162-167.
- AUBERT, C.; AMBID, C.; BAUMES, R.; Günata, Z. (2003). Investigation of Bound Aroma constituents of yellow fleshed Nectarines (*Prunus persica* L. Cv Sringbright). Changes in bound aroma profile during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 6280-6286.

- AYALA, A. (2001). Aplicación de la deshidratación osmótica e impregnación a vacío en la crioprotección del mango. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, España.
- BAIRD, J. y NOMA, E. (1978). *Fundamentals of Scaling and Psychophysics*. McCorquodale, K. (Ed.). Wiley: New York.
- BANGERTH, F.; DILLEY, D.R.; DEWEY, D.H. (1972). Effect of postharvest calcium treatments on internal breakdown and respiration of apple fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 97: 679-683.
- BARAT, J.M.; ALVARRUIZ, A.; CHIRALT, A.; FITO, P. (1997). A mass transfer modelling in osmotic dehydration. Ed(r). R. Jowitt. Sheffield. En: *Engineering and Food at ICEF 7*. Academic Press. Pp: 81-84.
- BARAT, J.M.; CHIRALT, A.; FITO, P. (1997a). Equilibrium in cellular food osmotic solution systems: the role of the structure. En: *IFT Annual Meeting Abstracts*. Orlando, Florida. Pp: 75-82.
- BARAT, J.M. (1998). Desarrollo de un modelo de la deshidratación osmótica como operación básica. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, España.
- BARAT, J.M.; CHIRALT, A.; FITO, P. (1998). Equilibrium in cellular food osmotic solution systems as related to structure. *Journal of Food Science*. 63: 836-840.
- BARAT, J.M.; FITO, P.; CHIRALT, A. (2001a). Modelling of simultaneous mass transfer and structural changes in fruit tissues. *Journal of Food Engineering*. 49: 77-85.
- BARAT, J.M., CHIRALT, A.; FITO, P. (2001b). Effect of osmotic solution concentration, temperature and vacuum impregnation pre-treatment on osmotic dehydration kinetics of apple slices. *Food Science and Technology International*, 7: 451-456.
- BARAT, J.M.; GRAU, R.; MONTERO, A.; CHIRALT, A.; FITO, P. (2001c). Salting time reduction of Spanish hams by brine immersion. En: *Osmotic Dehydration and Vacuum Impregnation*. P. Fito; A. Chiralt; J.M. Barat; W.E.L. Spiess and D. Behnilian. (Eds.). *Food Preservation Technology Series*. Pp: 155-167.
- BARRERA-CORTÉS, J.P.; ASTRUC, R.; TUFEU, M.; MARTÍNEZ, A.M. (2001). Knowledge based specification to automate the Fluid Critical Point of Fluids. *Applied Artificial Intelligence*. An International Journal. Vol. 15. Pp: 453-470.
- BASSOLS, F.; DEMOLE, E. P. (1994). The occurrence of pentane-2-thiol in guava fruit. *Journal of Essential Oil Research*. 6: 481-483.

- BISWAL, R.N.; BOZORGMEHR, K. (1992). Mass transfer in mixed solute osmotic dehydration of apples rings. *Trans. ASAE*. 35(1): 257-265.
- BOIDO, E.; LLORENT, A.; MEDINA, K.; CARRAU, F.; DELLACASA, E. (2002). Effect of β -Glycosidase Activity of *Oenococcus oeni* on the Glycosylated Flavor Precursors of Tannat Wine during Malolactic Fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 2344-2349.
- BUTTERY, R.G.; TERANISHI, R.; LING, L.C.; TURNBAUGH, J.G. (1990). Quantitative and sensory studies on tomato paste volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38: 336-340.
- BRODELIUS, P. (1994). Phenylpropanoid metabolism in *Vanilla planifolia* Andr. (V) high performance liquid chromatographic analysis of phenolic glycosides and aglicones in developing fruits. *Phytochemical Analytical*. 5: 27-31.
- CALDERÓN, G. (1995). El cultivo de la guayaba. Fruticultura tropical. Federación de cafeteros. Bogotá. Pp: 300-306.
- CAMARA DE COMERCIO, 2007. Datos obtenidos en los libros de la Cámara de Comercio. Bogotá.
- CAMACHO, O. (2004). Procesamiento y conservación de frutas [en línea]. Boletín N° 43 de Precios internacionales [ref. Noviembre 30 de 2004]. Disponible en web: <http://www.cci.org.co/publicación/precios20%internacionales/precios%2043.pdf>
- CHARENTREAU, A. (2001). Simultaneous distillation-extraction: from birth to maturity-review. *Flavour and Fragrance Journal*. 16: 136-148.
- CHÁFER, M.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; ORTOLÁ, M.D.; CHIRALT, A.; FITO, P. (2001). Kinetics of osmotic dehydration in orange and mandarin peels. *Journal of Food Process Engineering*. 24: 273-289.
- CHASSAGNE, D.; CROUZET, J. BAYONOVE, C. L. BAUMES, R. L. (1998). Identification of Passion Fruit Glycosides by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 4352-4357.
- CHESTER, T.L.; PINKSTON, J.D.; RAYNIE, D.E. (1994). Supercritical fluid chromatography and extraction. *Analytical Chemistry*. 66: 106 -130.
- CHESTER, T.L.; PINKSTON, J.D. (2000). Supercritical Fluid and Unified Chromatography. *Analytical Chemistry*. (Review). 72:129-136.

- CHIRALT, A.; FITO, P. (1997). Salting of Manchego type cheese by vacuum impregnation. En: Fito, P.; Ortega-Rodriguez, E. Barbosa-canovas, G.(Eds). *Journal of Food Engineering*. Chapman and Hall, New York. Pp: 214.
- CHIRALT, A.; FITO, P.; ANDRÉS, A.; BARAT, J.M.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; MARTINEZ-NAVARRETE, N. (1999). Vacuum impregnation: a tool in minimally processing of foods. En: Process of foods: Quality optimization and process assessment. Eds: F.A.R. Oliveira y J.C. Oliveira. CRC Press, Boca Raton. Pp: 341-356
- CHYAU, C.-C.; WU, C.-M. (1989). Differences in volatile constituents between inner and other flesh-peel of guava (*Psidium guajava*, Linn.) fruit. *Lebensm.-Wiss. u.–Technol.* 22: 104-106.
- CHYAU, C.C.; CHEN, S.Y.; WU, C.M. (1992). Differences of volatile and nonvolatile constituents between mature and ripe guava (*Psidium guajava* Linn.) fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40: 846-849.
- CONWAY, J.; SAMS, C.E. (1983). Calcium infiltration of Golden Delicious apples and its effect on decay. *Phytopathology*. 73: 1068-1973.
- CORTÉS, M.; GUARDIOLA, L.F. (2007). Aplicación de la Ingeniería de Matrices en la fortificación del mango (var. *Tomy Atkins*) con calcio. *Revista Dyna*. Colombia. N° 153. Pp: 19-26.
- DIAZ-MAROTO, M. C.; DIAZ-MAROTO, H.; SANCHEZ-PALOMO, E.; PEREZ-COELLO, M. S. (2005). Volatile Components and Key Odorants of Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) and Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Oil Extracts Obtained by Simultaneous Distillation-Extraction and Supercritical Fluid Extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 5385-5389.
- DIXON, G.M.; JEN, J.J. (1977). Changes of sugars and acids of osmovac-dried apple slices. *Journal of Food Science*. 42: 1126-1127.
- DRAKE, S.R.; SPAYD, S.E. (1983). Influence of calcium treatment on Golden Delicious apple quality. *Journal of Food Science*. 48: 403-407.
- DRAWERT, F.; RAPP, A. (1968). Gas Chromatographische. Untersuchung Pflanzlicher Aromen. I. Anreicherung, Trennung und identifizierung von Flüchtigen Aromastoffen in Traubenmost und Wien. *Chromatographia*. 1: 446-457.
- DUQUE, C.; WINTOCH, H. SUAREZ, M.; SCHREIER, P. (1993). Linalool glycosides as aroma precursors in lulo (*Solanum vestissimum* D). fruits peelings. *Progress in Flavour Precursors Studies*. Pp: 227-272.

- EKUNDAYO, O.; AJANI, F.; SEPPÄNEN, T.; LAAKSO, I. (2006). Volatile constituents of *Psidium guajava* L. (guava) fruits. *Flavour and Fragrances Journal*. 6: 233-236.
- ESCRICHE, I; CHIRALT, A.; MORENO, J.; SERRA, J.A. (2000a). Influence of blanching osmotic dehydration treatments on volatiles fraction of strawberry. *Journal of Food Sciences*. 65: 1107-1111.
- ESCRICHE, I.; GARCIA-PINCHI, R.; ANDRÉS, A.; FITO, P. (2000b). Osmotic Dehydration of kiwifruit (*Actinidia chinensis*): Fluxes and mass transfer kinetics. *Journal of Food Process Engineering*. 23: 191-205.
- FALLIK, E.; ARCHBOLD, D.D.; HAMILTON-KEMP, T.R.; LOUGHRIN, J.H.; COLLINS, R.W. (1997). Heat Treatment temporarily inhibits aroma volatile compound emission from Golden Delicious Apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45: 4038-4041.
- FERNADEZ, X.; DUÑACH, E.; FELLOUS, R.; LIZZANI-CUVELIER, L.; LOISEAU, L.; DOMPE, V.; GEORGE, G.G.; ROCHARD, S.; SCHIPPA, C. (2001). Identification of thiazolidines in guava: stereochemical studies. *Flavour and Fragrance Journal*. 16: 274-280.
- FISHER, C.; SCOTT, T.R. (2000). *Flavores de los Alimentos; Biología y Química*. Acribia. Zaragoza.
- FLATH, R.A.; FORREY, R. (1977). Volatile components of papaya (*Carica papaya* L., Solo Variety). *Journal of Agricultural of Food Chemistry*. 25: 103-109.
- FITO, P.; CHIRALT, A.; SERRA, J.; MATA, M.; PASTOR, R.; ANDRÉS, A.; QUAN, S. (1993). Procedimiento de flujo alternado para favorecer los intercambios líquidos en productos alimenticios y equipo para realizarlo. Patente: Titular, Universidad Politécnica, N°. registro: P9300805 (España).
- FITO, P. (1994). Modelling of vacuum osmotic dehydration of food. *Journal of Food Engineering*. 22: 313-328.
- FITO, P.; PASTOR, R. (1994). On some non-diffusional mechanism occurring during vacuum osmotic dehydration. *Journal of Food Engineering*. 21: 513-519.
- FITO, P.; ANDRÉS, A.; PASTOR, R.; CHIRALT, A. (1994a). Vacuum osmotic dehydration of fruits. En: *Minimal Processing of Foods and Process Optimization*. R.P. Singh and F.A.R. Oliveira (Eds.). An Interface CRC Press. Boca Raton. Pp: 107-122.
- FITO, P.; CHIRALT, A. (1995). An update on vacuum osmotic dehydration. En: *Food Preservation by Moisture Control: Fundamentals and Applications*. G.V. Barbosa-

Canovas and M. Weltichaves (Eds.). Technomic Publishing Company, Inc. Lancaster. Pp: 351-372.

FITO, P.; ANDRÉS, A.; CHIRALT, A.; PARDO, P. (1996). Coupling of hydrodynamic mechanism and deformation-relaxation phenomena during vacuum treatments in solid porous food-liquid systems. *Journal of Food Engineering*. 27: 229-240.

FITO, P.; CHIRALT, A. (1997). Osmotic Dehydration. An approach of the modelling of solid food-liquid operations. En: Food Engineering. P. Fito; E. Ortega-Rodríguez and G.V. Barbosa-Cánovas (Eds.). Chapman and Hall. New York. Pp: 231-252.

FITO, P.; CHIRALT, A.; BARAT, J.M.; MARTINEZ-MONZÓ, J. (1999). Vacuum impregnation in fruit processing. En: Trends in Food Engineering. J. E. Lozano; M.C. Añón; E. Parada-Arias and G.V. Barbosa-Canovas (Eds.). Technomic Publishing Company, Inc. Lancaster.

FITO, P.; CHIRALT, A. (2000). Vacuum impregnation of plant tissues. En: Minimally Processed Fruits and Vegetables. S.M. Alzamora; M.S. Tapia and A. López-Malo (Eds.). Aspen Publishers, Inc. Maryland. Pp: 189-205.

FITO, P.; CHIRALT, A.; BARAT, J.M.; MARTINEZ-MONZÓ, J. (2000). Vacuum impregnation in fruit processing. En: Trends in Food Engineering. J.E. Lozano; M.C. Añón; E. Parada-Arias y G.V. Barbosa-Cánovas (Eds.). Technomic Publishing Co. Inc. Lancaster. Pp: 149-163.

FITO, P.; BETORET, N.; GRAS, M.L.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; CHIRALT, A. (2001a). Viability of vegetables matrices as support of physiological active components. Proceedings of ICEF 8. Technomic Publishing Co., Inc. Lancaster. Pp: 1366-1371.

FITO, P.; MARTÍN, M.E.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; CHIRALT, A.; CATALÁ, J.M.; DE LOS REYES, E. (2001b). Effect of vacuum impregnation on combined air-microwave drying of apple. En: Osmotic Dehydration and Vacuum Impregnation. P. Fito, A. Chiralt, J.M. Barat, W.E.L. Spiess and D. Beshnilian. (Eds.). *Food Preservation Technology Series*. Chapter 20. Pp: 225-241.

FITO, P.; CHIRALT, A.; BARAT, J.M.; ANDRÉS, A.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. (2001c). Vacuum impregnation for development of new dehydrated products. *Journal of Food Engineering*. 49, 297-302.

FITO, P.; CHIRALT, A.; BARAT, J.M.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J. (2002). Mass transport and deformation relaxation phenomena in plant tissues. J. Welti-Chanes, G. Barbosa-Cánovas, J.M. Aguilera (Eds.). Engineering and Food for the 21st Century. CRC Pres. Boca Ratón. Pp: 235-254.

- FORNI, E.; TORREGIANI, D.; BATISTON, P.; POLESELLO, A. (1986). Research in to changes of pectin substances in apricots and peaches processed by osmotic dehydration. *Carbohydrate Polimers*. 6: 376-393.
- GARCIA, M.; QUIJANO, CE.; PINO, J.A. (2009). Free and glycosidically bound volatiles in guava leaves (*Psidium guajava* L. var. Palmira ICA-I). *Journal Essential Oil Research*. 21: 131-134.
- GARROTE, R.L.; BERTONE, R.A. (1989). Osmotic concentration at low temperature of frozen strawberry halves. Effect of glycerol, glucose and sucrose solutions on exudate loss during thawing. *Lebensmitell.-Wiss. U.–Technologic*. 22: 264-267.
- GIANGIACOMO, R.; TORREGGIANI, D.; ABBO, E. (1987). Osmotic dehydration on fruits. Part I. Sugars exchange between fruit and extracting syrups. *Journal of Food Processing and Preservation*. 11: 183-195.
- GILBERT, S.; GONTARD, N.Y RAOULT-WACK, A.L. (1995). Superficial edible films and osmotic dehydration: Application of hurdle technology without affecting the food integrity. En: Food preservation by moisture control. Fundamental and applications. Ed(res): Gustavo V. Barbosa-Canovas y Jorge Weltri-Chanes. *Isopow Practicum II*. Technomic. Publishing Company, Inc. Pp: 305-323.
- GIRALDO, G.; TALENS, P.; FITO, P.; CHIRALT, A. (2003). Influence of sucrose solution concentration on kinetics and yield during osmotic dehydration of mango osmotic dehydration. *Journal of Food Engineering*. 58: 33-43.
- GONZÁLEZ; C.; FUENTES, C.; ANDRÉS, A.; CHIRALT, A.; FITO, P. (1999) Effectiveness of vacuum impregnation brining of Manchego-type curd. *International Dairy Journal*. 9: 143-148.
- GRAS, M.L.; FITO, P.; VIDAL, D.; ALBORS, A.; CHIRALT, A.; ANDRÉS, A. (2001). The effect of vacuum impregnation upon some properties of vegetables. Proceedings of ICEF 8. Technomic Publishing Co. Inc. Lancaster. Volumen II. Pp: 1361-1365.
- GRAS, M.L.; VIDAL, D.; BETORET, N.; CHIRALT, A.; FITO, P. (2002). The response of some vegetables to vacuum impregnation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3: 263-269.
- GUENNENGUES, P. (1986). Etude thermodynamiqué des transferts de masse en deshydratation osmotique. D.E.A., E.N.S.I.A., Massy, France.
- HATANAGA, A.; KAJIWARA, T.; SEKIYA, J. (1986). Fatty acid hidroperoxide liase in plants tissues: volatile aldehyde formation from linoleic and linoleic acid. In T: H. Parliament and R. Croteau (Eds.), *Biogeneration of aromas*. A.C.S. Symposium series. Washington. D.C. American Chemical Society. 317. Pp: 167-175.

- HENDERICK, M.; NEUBERT, C.; WINTELHALTER, P.; SCHREIER, P. (1992). Identification of C₁₃-norisoprenoids flavours precursors in the starfruit (*Averroa carambola* L.). *Flavour and Fragrance Journal*. 7: 179-185.
- HEWLETT- PACKARD. (2005/2006). Biblioteca NBS- Rev. del sistema de manejo de datos del HP-6890 acoplado a HP 5973. Libraries, G1033A.
- HOSTETTMANN, K.; MARSTON, A.; HOSTETTMANN, M. (1998). Preparative Chromatography Techniques Application in natural Products Isolation. Springer Verlag. second edition. New York- Berlin. Cap.V-VII. Pp: 50-159.
- IDSTEIN, H.; SCHREIER, P. (1985). Volatile constituents from guava (*Psidium guajava* L.) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 33: 138-143.
- IDSTEIN, H.; BAUER, C.; SCHREIER, P. (1985). (*Psidium guajava* L.). *Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. 180: 394-397.
- IBAÑEZ, E.R.; LÓPEZ, S.; RAMOS, E.; TABERNA, J.; REGLERO, G. (1998). Analysis of volatile fruits components by headspace solid-phase microextraction. *Food Chemistry*. 63, 281-286.
- ILKER, R.; Y SZCZESNIAK A.S. (1990). Estructural and chemical bases for texture of plants foodstuffs. *Journal of Texture Studies*. 21:1-36.
- ISLAM, M.N.; FLINK, J.N. (1982). Dehydration of potato. II. Osmotic concentration and its effect on air drying behaviour. *International Journal of Food Science and Technology*. 17: 387-403.
- JENNINGS, W.; SHIBAMOTO, T. (1980). Quantitative análisis of flavor and fragans volatiles by glass capillary gas Chromatography. Academic Press. N. Y. 1980.
- JORDAN, M.J.; MARGARÍA, C.A.; SHAW, P.E.; GOODNER, K. (2003). Volatile components and aroma active compounds in aqueous essence and fresh pink guava fruit puree (*Psidium guajava* L.) by GC-MS and multidimensional GC/GC-O. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 1421-1426.
- KAREL, M. (1975). Osmotic drying. En: Principles of Food Science. Part II. O. Fennema (Ed.). Marcel Dekker, New York. Pp: 348-357.
- KÖNIG, T.; RUFF, C.; KLEINSCHNITZ, M.; SCHREIER, P.; FISCHER, N., NEUGEBAUER, W. (1998). Enantiomeric distribution of 2-pentanethiol in Guava Fruit (*Psidium guajava* L.) by Multidimensional Gas Chromatography with Sulfur Chemiluminescence Detection. *Journal of High Resolution Chromatography*. 21: 371-372.

- KRISTEN, J.; HANSEN B.; CRAVENS, E.; SIEVERS, R.E. (1995). Supercritical Fluid Extraction-gas-Chromatography Analysis of organic compounds in atmospheric aerosols. *Analytical Chemistry*. 67: 3541-3549.
- LAZARIDES, H.N.; MAVROUDIS, N. (1996). Kinetics of osmotic dehydration of a highly shrinking vegetable tissue in a Salt-free medium. *Journal of Food Engineering*. 30: 61-74.
- LAZARIDES, H.N. (1998). Mass transfer phenomena during osmotic processing of fruits and vegetables. En: Proceedings of the Triad Main Meeting of the Copernicus Project in Process Optimization and Minimal Processing of Foods Drying. Vol. 3. J.C. Oliveira and F.A.R. Oliveira (Eds.). Leuven, October 23-25. Pp: 43-45.
- LAZARIDES, H.N.; FITO, P.; CHIRALT, A.; GEKAS, V.; LENART, A. (1999). Advances in osmotic dehydration. En: Minimal Processing of Foods and Process Optimization. R.P. Singh y F.A.R. Oliveira (Eds.). CRC Press, Boca Raton. Pp:175-200.
- LAZARIDES, H.N. (2001). Reasons and possibilities to control solids uptake during osmotic treatment of fruits and vegetables. En: Osmotic Dehydration and Vacuum Impregnation. P. Fito, A. Chiralt, J.M. Barat W.E.L. Spiess and D. Beshnilian (Eds.). *Food Preservation Technology Series*. Pp: 33-42.
- LECLERCQ, S.; REINECCIUS, G. A.; MILO, C. (2007). Model Studies on the Influence of Matrix Type and Storage Environment on the Stability of a Model Aroma Mixture during Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 421-425.
- LENART, A.; FLINK, J.M. (1984a). Osmotic concentration of potatoes I. Criteria for the end point of the osmotic process. *International Journal of Food Technology*. 19: 45-63.
- LENART, A.; FLINK, J.M. (1984b). Osmotic concentration of potatoes II. Spatial distribution of the osmotic effect. *International Journal of Food Technology*. 19: 65-89.
- LERICI, C.R.; PINNAVAIA, G.; DALLA ROSA, M.; BARTOLUCHI, L. (1985). Osmotic dehydration of fruit: influence of osmotic agents on drying behaviour and product quality. *Journal of Food Science*. 50: 1217-1219, 1226.
- LIKENS, S.T.; NICKERSON, G.B. (1964). Detection of certain hop oil constituents in brewing products. *Proceedings of the American Society of Brewing Chemists*. Pp: 5-13.
- LUQUE, M.; VALCARCEL, M. (1993). Extracción con fluidos supercríticos en el proceso analítico. Editorial Reverté, Barcelona. Pp: 463.

- McLEOD, A. J.; GONZALEZ DE TROCONIS, N. (1982). Volatile flavour components of guava. *Phytochemistry*. 21: 1339-1342.
- MARLTINI, E.; TORREGGIANI, D.; PIZZOCARO, F.; BETOLO, G. (1991). Effectiveness of antioxidant treatments in the preparations of sulfur free dehydrated apple cubes. En: 8th World Congress Food Science Technology. Toronto. Canada. Pp: 087.
- MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; BROWER, G.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; CHIRALT, A.; FITO, P. (1997). Effect of vacuum osmotic dehydration on physicochemical properties and texture of apple. En: Engineering and Food at ICEF 7. R. Jowitt (Ed.). Academic Press, Sheffield. Pp: 17-20.
- MARTÍNEZ-MONZÓ, J. (1998). Cambios físico-químicos en manzana Granny Smith asociados a la impregnación a vacío. Aplicaciones en congelación. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, España.
- MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; CHIRALT, A.; FITO, P. (1998a). Osmotic dehydration of apple as affected by vacuum impregnation with HM pectin. C.B. Akritidis; D. Marinos-Kouris and G.D. Saravacos (Eds.). Drying '98. Ziti Editions, Thessloniki. Pp: 836-843.
- MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; CHIRALT, A.; FITO, P. (1998b). Mechanical and structural changes in apple (var. Granny Smith) due to vacuum impregnation with crioprotectants. *Journal of Food Science*. 63: 499-503.
- MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; CHIRALT, A.; FITO, P. (2001). Combined vacuum impregnation-osmotic dehydration in fruit cryoprotection. En: Osmotic Dehydration & Vacuum Impregnation: Application in Food Industries. P. Fito; A. Chiralt; J.M. Barat; W.E.L. Spiess and D. Beshnilian (Ed.). Technomic Lancaster, Pennsylvania. Pp. 61-76.
- MATA, M. (1993). Aportación al desarrollo de un proceso de deshidratación osmótica al vacío para alimentos. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, España.
- MAVROUDIS, N.E.; GEKAS, V.; SJÖHOLM, I. (1998). Osmotic dehydration of apples. Shrinkage phenomena and the significance of initial structure on mass transfer rates. *Journal of Food Engineering*. 38: 101-123.
- MERCADO, E. (1990). Deshidratación osmótica de manzana Granny Smith: Estudio y modelización del transporte de materia y de la evolución de algunas propiedades físicas y químicas. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. España.
- MONTGOMERY, D.C. (1991). Design and analysis of experiments. John Wiley and Sons, Inc., New York.

- MORENO, J.; CHIRALT, A.; ESCRICHE, I.; SERRA, J.A. (2000). Effect of blanching/osmotic dehydration combined methods on quality and stability of minimally processed strawberries. *Food Research International* 33: 609-616.
- MORENO, J.; BUGUEÑO, G.; VELASCO, V.; PETZOLD, G. (2003). Efectos de los tratamientos osmóticos en las propiedades físicas de las papayas mínimamente procesadas. *Revista de Tecnología e Higiene de los Alimentos*. 341: 102-106.
- MOY, J.H.; LAU, N.B.H.; DOLLAR, A.M. (1978). Effects of sucrose and acids on osmotic-dehydration of tropical fruits. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2: 131-135.
- MUGURAMA, M.; KATAYAMA, K.; NAKARUMA, M.; YAMAGUCHI, M. (1987). Low temperature osmotic dehydration improves the quality of intermediate moisture *Meats Sciences*.21: 99-109
- NISHIMURA, O.; YAMAGUCHI, K.; MIHARA, S.; SHIBAMOTO, T. (1989). Volatile constituents of guava fruits (*Psidium guajava* L.) and canned puree. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 37: 139-14.
- OLLÉ, D.; BAUMES, R.L.; BAYONOVE, C.J.; LOZANO, Y.F.; SZNAPER, C.; BRILLOUET, J.M. (1998). Comparison of free and glycosidally linked volatile components from polyembryonic and monoembryonic mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 1094-1110.
- ORTEGA, A.; PINO, J.; CHANG, L.; MARBOT, R.; ROSADO, A. y GONZÁLEZ, G. (1998). Estudio de los componentes volátiles y perfil sensorial de cuatro cultivares de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Alimentaria* (298), 81-85.
- ORTÍZ-SERRANO, P.; GIL, J.V. (2007). Quantitation of Free and Glycosidically Bound Volatiles in and Effect of Glycosidase Addition on Three Tomato Varieties (*Solanum lycopersicum*.L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55; 9170-9176.
- OSORIO, C.; ALARCON, M.; MORENO, C.; BONILLA, A.; BARRIOS, J.; GARZON, C.; Duque, C. (2006). Characterisation of odor-active volatiles in Champa (*Campomanesia lineatifolia* R et P.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 509-516.
- OSORIO, C.; CARRIAZO, J.G.; BARBOSA, H. (2011). Thermal and Structural study of guava (*Psidium guajava* L.) powders obtained by two dehydration methods. *Química Nova*. 43. (4) 636-640.
- OSORIO, C.; FORERO D.P.; CARRIAZO J.G. (2011a). Characterisation and performance assessment of guava (*Psidium guajava* L.) microencapsulates obtained by spray-drying. *Food Research International*. 44, 1174-1181

- PABST, A.; BARRON, D.; SEMON, E.; SCHREIER, P.; (1992). Two Diastereomeric. 3-oxo- α -ionol- β -D-glucosides from raspberry fruit. *Phytochemistry*. 31; 1649-1652.
- PANADÉS, G.; FITO, P.; AGUIAR, Y.; NUÑEZ DE VILLAVICENCIO, M.; ACOSTA V. (2003). Influence of operating conditions on sensory quality of minimally processed osmotically dehydrated guava. *Journal Food Quality*. 26: 91-103.
- PANADÉS, G.; FITO, P.; NUÑEZ DE VILLAVICENCIO, M.; ACOSTA, V. (2006). Osmotic dehydration of guava: Influence of operating parameters on process kinetics. *Journal of Food Engineering*. 72: 383-389.
- PANIANDY, J.C.; CHANE-MING, J.; PIERIBATTESTI, J.C. (2000). Chemical composition of the essential oil and headspace solid-phase microextraction of the guava fruit (*Psidium guajava* L.). *Journal Essential Oil Research*. 12: 153-158.
- PARADA, F.; DUQUE, C.; FUJIMOTO. (2000). Free and bound volatile composition and characterization of some glucoconjugates as aroma precursors in melón de olor fruit pulp (*Sicana odorifera*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 6200 - 6204.
- PARADA, F.; BAUTISTA, E.; MORALES, A. L.; DUQUE, C. (2002). Extractores líquido-líquido para compuestos orgánicos presentes en matrices acuosas. Patente otorgada por la Superintendencia de industria y Comercio (SIC), Resolución 26812 de Bogotá. Colombia.
- PASTOR, R. (1994). Modelización de los fenómenos de transporte de la Deshidratación Osmótica a vacío de manzana (Granny Smith). Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, España.
- PAWLISZYN, J.; ARTHUR, C. L. (1990). Solid-phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*. 62: 2145-2146.
- PAWLISZYN, J. (1997). Solid-phase Microextraction. Theory and Practice. Wiley-VCH, New York.
- PAWLISZYN, J. (1999a). Application of Solid Phase Microextraction Ontario: Royal Society of chemistry. Cornwall. Pp: 3-21
- PAWLISZYN, J. (1999b). Quantitative aspects of SPME. En: Application of Solid-Phase Microextraction. J. Pawliszyn (Ed.). Royal Society of Chemistry, Cornwall. Pp: 3-21.
- PENSABEN, J.M. (1994). Deshidratación Osmótica a vacío de piña y mango. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, España.

- PERALTA, A.F. (2010). Despigmentación y Desodorización de pulpa de guayaba. Tesis de Maestría en Química. Universidad Nacional de Colombia.
- PÉREZ, A.G.; OLÍAS, R.; SANZ, C.; OLÍAS, J.M. (1996). Furanones in strawberries: Evolution during ripening and postharvest shelf life. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44: 3620-3624.
- PÉREZ, A.G.; OLÍAS, R.; OLÍAS, J.M.; SANZ, C. (1999). Biosynthesis of 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone and derivatives in Vitro grown strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47: 655-658.
- PICKENHAGEN, W.; VELLUZ, A.; PASSERAT, J.P.; OHLOFF, G. (1981). Estimation of 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone (furanol) in cultivated and wild strawberries, pineapples and mangoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 32: 1132-1134.
- PINO, J.A.; GUTIERREZ, S.; ROSADO, A. (1990). Volatile constituents from a guava (*Psidium guajava* L.) natural flavor concentrate. *Food/Nahrung* 34: 279-282.
- PINO, J.A.; CASTRO, D.; RONCAL, E.; ROSADO, A. (1995) Componentes volátiles de la piña. Método para su análisis en relación con cambios debidos a la deshidratación osmótica. *Alimentaria*. 268: 61-63.
- PINO, J. A. (1997). Los constituyentes volátiles de las frutas tropicales. *Alimentaria* (97): 47-50.
- PINO, J.A.; CASTRO, D.; FITO, P.; BARAT, J.M.; LÓPEZ, F. (1999). Multivariate statistical analysis of volatile compounds as a criterion for selecting technological parameters in the osmotic dehydration of pineapple. *Journal of Food Quality*. 22: 653-661.
- PINO, J.A.; ORTEGA, A.; ROSADO, A. (1999). Volatile constituents of guava (*Psidium guajava* L.) fruits from Cuba. *Journal Essential Oil Research*. 11: 623-628.
- PINO, J.A.; MARBOT, R.; VAZQUEZ, C. (2001a). Characterization of volatiles in strawberry guava (*Psidium cattleianum* Sabine) fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 5883-5887.
- PINO, J.A.; AGUERO, J.; MARBOT R.; V. FUENTES (2001b). Leaf oil of *Psidium guajava* L. from Cuba. *Journal Essential oil Research*. 13istry: 61-62.
- PINO, J.A.; MARBOT, R.; BELLO, A. (2002a). Volatile compounds of *Psidium salutare* (H.B.K.) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 5146-5148

- PINO, J.A.; MARBOT, R.; VAZQUEZ, C. (2002b). Characterization of volatiles in Costa Rican guava [*Psidium friedrichsthalianum* (Berg) Niedenzu] fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 6023-6026.
- PINO, J.A. y MESA, J. (2006). Contribution of volatile compounds to mango (*Mangifera indica* L.) aroma. *Flavour and Fragrance Journal*. 21: 207-213.
- PINO, J.A.; QUIJANO, C. (2007). Characterization of volatile compounds in guava (*Psidium guajava* L.) varieties from Colombia. *Revista de Ciencias Químicas*. CENIC, Cuba. 38: 367-370.
- PINO, J.A.; QUIJANO, C. (2008). Análisis de los componentes volátiles de frutas colombianas mediante HS-SPME. conferencia Internacional sobre Ciencia y Tecnología de los Alimentos, La Habana, 20-24 de Octubre 2006.
- PINO, P.; PANADES, G.; FITO, P.; CHIRALT, A. (2008). Influence of osmotic dehydration on the volatile profiles of guava. *Journal of Food Quality*. 31: 281-294.
- POINTING, V.; WATTERS, G.G.; FORREY, R.R.; JACSON, R.; STANLEY, W.L. (1966). Osmotic dehydration of fruits. *Food Technology*. 20: 125-128.
- POINTING, J.D. (1973). Osmotic dehydration on fruits. Recent modifications and applications. *Process Biochemistry*. 8: 18-20.
- POOVAIAH, B.; MOULTON, G.A. (1982). Vacuum Pressure Infiltration Process for Fresh Product. U.S. Patent, 4: 331-69.
- PRASSAD, N.B.L.; AZEEMODDIN, G. (1994). Characteristics and composition of guava (*Psidium guajava* L.) Seed and oil *Journal of the American Oil chemist'society*. 71: 457-458.
- QI, H.; LEMAGUER, M.; SHARMA, S.K. (1998). Design and selection of processing conditions of a pilot scale contactor for continuous osmotic dehydration of carrots. *Journal of Food Process Engineering*. 21: 75-88.
- QUIJANO, C. E.; SUÁREZ, M.; DUQUE, C. (1999). Constituyentes volátiles de dos variedades de guayaba (*Psidium guajava* L.): Palmira ICA-1 y Glum Sali. *Rev. Colomb. Quím.* 28: 55-70.
- QUIJANO, C.E. (2004). Una visión acerca del aroma. Facultad de Ciencias. *Química en Uniandes*. 1: 8-21.
- QUIJANO, C. E. (2004). Constituyentes volátiles en flores de dos variedades de guayaba (*Psidium guajava* L.): Palmira ICA-1 y Glum Sali. Informe Banco de la República. Pp: 2 -20.

- QUIJANO, C. E.; PINO, J.A. (2007). Volatile compounds of copoazú (*Theobroma grandiflorum* Schumann) fruit. *Food Chemistry*. 104: 1123-1126.
- RAYNIE, D. E. (2006). Modern Extraction Techniques. *Analytical Chemistry*. 78: 3997-4003.
- ROOS, Y.Y.; KAREL, M. (1991). Plasticizing effect of water on thermal behaviour and crystallization of amorphous food models. *Journal of Food Science*. 56: 38-43.
- ROTHER, M.; THOMAS, B. (1963). Aroma of bread. Evaluation of chemical taste analyses with the aid of threshold value. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung A*. 119: 302-310.
- SAKHO, M.; CHASSAGNE, D.; CROUZET, J. (2000). African mango glycosidally bound volatile compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45: 883-888.
- SAGRERO-NIEVES, I.; BARTLEY, J. P. PROVIS-SCHWEDE, A. (2006). Supercritical fluid extraction of the volatile components from the leaves of *Psidium guajava* L. (guava). *Flavour and Fragrance Journal*. 9: 135-137.
- SALINAS, M.; ZALACAIN, A.; PARDO, F.; ALONSO, G. L. (2004). Stir bar sorptive extraction applied of volatiles constituents evolution during *Vitis vinifera* ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 4821-4827.
- SALVATORI, D.; ANDRÉS, A.; CHIRALT, A.; FITO, P. (1998). The response of some properties of fruits to vacuum impregnation. *Journal of Food Process Engineering*. 21: 59-73.
- SANCHEZ, P.E.; DIAZ-MAROTO, M.C.; GONZALEZ, M.A.; GONZALEZ, M.A.; PÉREZ-COELLO, M.C. (2005). Aroma enhancement in wines from different grape varieties using exogenous glycosidases. *Food Chemistry*. 92: 627-635.
- SCHWAB, W.; MAHR, C.; SCHREIER, P. (1989). Studies on the enzymatic hydrolysis of bound aroma components from *Carica papaya* fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 37: 1009-1012.
- SCHREIER, P. (1980). Quantitative composition of volatile constituents in cultivated strawberries *Fragaria x ananassa* cv. Senga Sengana, Senga Litessa and Senga Gourmella. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 31: 487-494.
- SEFTON, M.A.; FRANCIS, I. L.; WILLIAMS, P.J. (1993). The volatile composition of Chardonnay juices: a study by flavour precursor analysis. *American Journal of Enology and Viticulture*. 44: 359-370.

- SINUCO, D.C.; MORALES, A. L.; DUQUE, C. (2004). Compuestos volátiles libres glicosídicamente enlazados del aroma de la Piña (*Ananas comosus* L.) var. Perolera. *Revista Colombiana de Química*. 33: 47-56.
- SINUCO, D.; STEINHAUS, M.; SCHIEBERLE, P.; OSORIO, C.; (2009). Changes in odour-actived compounds of two varieties of Colombian guava (*Psidium guajava* L.) during ripening. *Eur. Food Res. Technol.* 230: 859-864.
- SNYDER, J.M.; KING, J.W.; JACSONS, M.A. (1996). Fat content for nutritional labeling by supercritical fluid extraction and an on-line lipase catalyzed reaction *Journal of Chromatography A*. 750: 201-207
- SOARES, F.D.; PEREIRA, T.; MARQUES, M.O.; MONTEIRO, A.R. (2007). Volatile and non-volatile chemical composition of the white guava fruit (*Psidium guajava* L) at different stages of maturity. *Food Chemistry*. 100: 15-21
- SONG, J.; FAN, L.; BEAUDRY, R. M. (1998). Application of solid-phase microextraction and gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry for rapid analysis of flavor volatiles in tomato and strawberry fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46, 3721-3726
- SOUSA, R.; SALVATORI, D.; ANDRÉS, A.; FITO, P. (1998). Vacuum impregnation of banana (*Musa acuminata* cv. Giant Cavendish). *Food Science and Technology International*. 4: 127-131.
- STAHL, E.; INTERT, F.; HOLTHUIJZEN, J. STENGELE, M.; SCHUTZ, G. (1993). Glycosidally Bound volatiles. A review 1986-1991. In: *Flavours and Fragrance Journal*. S: 61-80.
- STAT-EASE Inc., 1996. Design-Expert ver. 5. Minneapolis. EE.UU.
- STEINHAUS, M.; SINUCO, D.; POLSTER, J.; OSORIO, C.; SCHIEBERLE, P. (2008). Characterization of the Aroma-Active Compounds in Pink Guava (*Psidium guajava*, L.) by Application of the Aroma Extract Dilution Analysis. *Journal Agricultural of Food Chemistry*. 56: 4120–4127.
- STEINHAUS, M.; SINUCO, D.; POLSTER, J.; OSORIO, C.; SCHIEBERLE, P. (2009). Characterization of the Key Aroma Compounds in Pink Guava (*Psidium guajava* L.) by Means of Aroma Re-engineering Experiments and Omission Tests. *Journal Agricultural of Food Chemistry*. 57: 2882–2888.
- STEPHAN, A.; BÜCKING, M.; STEINHART, H. (2000). Novel analytical tools for food flavours. *Food Research International* 33: 199-209.
- STEVENS, K.L.; BREKKE, L.; STERN, D.J. (1970). Volatile constituents in guava. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 18: 598-599.

- SUAREZ, M.; DUQUE, C. (1991). Volatile constituents of lulo (*Solanum vestissimum* D.) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 39: 1498-1500.
- SUAREZ, M.; DUQUE, C.; WINTOCH, H.; SCHREIER, P. (1991a). Glycosidally bound aroma compounds from the pulp and the peelings of lulo fruit (*Solanum vestissimum* D.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 39: 1643-1645.
- SUMITAMI, H.; SUEKANE, S.; NAKATAMI, A.; TATSUKA, K. (1994). Changes in composition of volatile compounds in high pressure treated peach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42: 785-790.
- SUPELCO (2007). Solid Phase Microextraction (SPME). Catálogo de productos para análisis y purificación por Cromatografía.
- TALENS, P.; HARTONG, S.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; CHIRALT, A.; FITO, P. (2000). Kinetics and equilibrium status in osmotic dehydration of strawberry. Proceedings of the 12th International Drying Symposium. IDS 2000. (ISBN 0 444 50422 2). P.J.A.M. Kerkhof, W.J. Coumans and G.D. Moolweer (Eds.). Elsevier Science, Amsterdam. Paper N^o. 101.
- TALENS, P.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; CHIRALT, A.; FITO, P. (2001). Influence of the osmotic solution concentration in strawberry osmotic dehydration. En: Proceedings of the Eighth international Congress on Engineering and Food-ICEF 8-. J. Welty-Chanes, G.V. Barbosa-Cánovas and J.M. Aguilera (Eds.). Technomic Publishing Co., Inc. Lancaster. Pp: 151-156.
- TALENS, P.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; FITO, P.; CHIRALT, A. (2002). Changes in optical and mechanical properties during osmodehydrofreezing of kiwi fruit. *Innovative Food Science and Engineering Technologies*. 3: 191-199.
- TALENS, P.; ESCRICHE, I.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; CHIRALT, A. (2003). Influence of osmotic dehydration and freezing on the volatile profile of kiwi fruit. *Food Research International*. 36: 635-642.
- TAMURA, H.; FUKUDA, Y.; PADRAYUTTAWAT, A. (1995). Characterization of citrus aroma quality by odor threshold values. En: Biotechnology for Improved Foods and Flavors. Takeoka, G. R., Teranishi, R.; Williams, P. J. y Kobayashi, A. (Eds.), ACS Symposium Ser. 637, American Chemical Society: Washington D.C.
- TORREGGIANI, D. (1993). Osmotic dehydration in fruit and vegetables processing. *Food Research International*. 26: 59-68.
- TORREGGIANI, D. (1995). Technological aspects of osmotic dehydration in foods. En: Food preservation by moisture control. Fundamentals and applications. G.V.

- Barbosa and J. Welti-Chanes (Eds.). Technomic Publishing Company, Lancaster, Pennsylvania. Pp: 281-304.
- TORREGGIANI, D.; BERTOLO, G. (2001). High-quality fruit and vegetable products using combined processes. En: Osmotic Dehydration and Vacuum Impregnation: Food Preservation Technology Series. P. Fito, A. Chiralt, J.M. Barat, W.E.L. Spiess and D. Behnsilian (Eds.) Technomic Publishing Co. Pp: 3-10.
- TORRES, J. D.; TALENS, P.; CAROT, J. M., CHIRALT, A.; ESCRICHE, I. (2007). Volatile profile of mango (*Manguifera indica* L.), as affected by osmotic dehydration. *Food Chemistry*. 101: 219-228.
- TOULEMONDE, B.; BEAUERT, D. (1985). Headspace Analysis: Trap Desorption by Microwave Energy. Application to the Volatile Components of fruits. En: Progress in Flavour Research. J. Adda (Ed.). Elsevier Science Publishing B. V., Amsterdam.
- TORRES, J.D.; TALENS, P.; CAROT, J.M.; CHIRALT, A.; ESCRICHE, I. (2007). Volatiles profile of mango (*Manguifera indica* L.) as affected by osmotic dehydration. *Food Chemistry*. 101: 219-228.
- TREGUNNO, N.B.; GOFF, H.D. (1996). Osmodehydrofreezing of apples structural and textural effects. *Food Research International*. 29: 471-479.
- VAN GEMERT, L. J. y NETTENBREIJER, A. H. (1977). Compilation of Odour Threshold Values in Air and Water, Central Institute for Nutrition and Food Research TNO: Zeist.
- VARMING, C.; ANDERSEN, M. L.; POLL, L. (2006). Volatile Monoterpenes in Black Currant (*Ribes nigrum* L.) Juice: Effects of Heating and Enzymatic Treatment by β -Glucosidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 2298-2302.
- VERNIN, G.; VERNIN, E.; VERNIN, C.; METZGER, J. (1991). Extraction and GC-MS-SPECMA data bank analysis of the aroma of *Psidium guajava* L. fruit from Egypt. *Flavour and Fragrance Journal*. 6: 143-148.
- WILLIAMS, P. J.; SEFTON, M.A.; MARINOS, V. A. (1993). Hydrolitic flavor release from non volatile precursors in fruit, wines and some other plants derived food. In Proceedings of the 3rd International Hearman and Reiner Symposium; Hoppak, M.R., Ed.; VCH: Weinheim, Germany, Pp: 283-290.
- WILLIAMS, M.L.; LANDLE, R.F.; FERRY, J.D. (1995). Temperature dependence of relaxation mechanisms in amorphous polymers and other glass-forming liquids. *Journal of the American Chemical Society*. 77: 3701-3707.
- WILSON, C. W.; SHAW, P. E. (1978). Terpene hydrocarbons from *Psidium guajava* L.. *Phytochemistry*. 17: 1435-1436.

- WILSON, C. W.; SHAW, P. E.; Campbell. C. W. (1982). Determination of Organic Acids and Sugars in Guava (*Psidium guajava* L.) Cultivars by High-performance Liquid Chromatography. *Journal of Food and Agriculture*. 33: 777 - 780.
- WINTERHALTER, P. (1990). Bound terpenoids in the juice of the purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38; 452-455.
- YEN, G.-C.; LIN, H.T.; YANG, P.AT. (1992). Changes in volatile flavor components of guava puree during processing and frozen storage. *Journal of Food Science*. 57: 679-681.
- YUSOF, S.; MOHAMED. S. (1987). Physico-chemical changes in guava (*Psidium guajava* L.) during development and maturation. *Journal of Food and Agriculture*. 38: 31-39.
- ZABETAKIS, I.; KOULENTIANONS, A.; ORRUÑO, E.; BOYES, I. (2000). The effect of high hydrostatic pressure on strawberry flavour compounds. *Food Chemistry*. 71: 51-55.

VIII. ANEXOS

Tabla 1. Valores de pérdida de peso, agua y ganancia de sólidos para el tratamiento a 30 °C a presión atmosférica.

ΔM vs $t^{0,5}$	30 °C			OD
	$t^{0,5}$ (s ^{0,5})	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	-0,046	-0,038	-0,063	-0,070
42,4	-0,054	-0,056	-0,081	-0,071
60,0	-0,079	-0,082	-0,131	-0,138
84,9	-0,077	-0,100	-0,149	-0,157
147,0	-0,110	-0,121	-0,221	-0,223
158,7	-0,123	-0,131	-0,255	-0,273

ΔMw vs $t^{0,5}$	30 °C			OD
	$t^{0,5}$ (s ^{0,5})	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	-0,03400	-0,06400	-0,07845	-0,09200
42,4	-0,05652	-0,12652	-0,12600	-0,12400
60,0	-0,09000	-0,15800	-0,16300	-0,17100
84,9	-0,11510	-0,21000	-0,22724	-0,24200
147,0	-0,22400	-0,35227	-0,38900	-0,40500
158,7	-0,23753	-0,39753	-0,42295	-0,43635

ΔMs vs $t^{0,5}$	30 °C			OD
	$t^{0,5}$ (s ^{0,5})	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	0,00400	0,00948	0,03231	0,02503
42,4	0,01137	0,01680	0,04320	0,03177
60,0	0,01657	0,01926	0,06220	0,04640
84,9	0,01944	0,02892	0,08890	0,06400
147,0	0,02880	0,04800	0,15910	0,11180
158,7	0,03258	0,05484	0,16040	0,12320

Tabla 2. Valores de pérdida de peso, agua y ganacia de sólidos para el tratamiento a 40 °C a presión atmosférica.

ΔM vs $t^{0,5}$	40 °C			OD
	$t^{0,5}$ (s ^{0,5})	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	-0,016	-0,058	-0,111	-0,083
42,4	-0,023	-0,074	-0,139	-0,119
60,0	-0,028	-0,086	-0,181	-0,162
84,9	-0,042	-0,107	-0,239	-0,214
147,0	-0,072	-0,151	-0,379	-0,345
158,7	-0,077	-0,152	-0,428	-0,363

ΔMw vs $t^{0,5}$	40 °C			OD
	$t^{0,5}$ (s ^{0,5})	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	-0,11470	-0,15313	-0,17778	-0,20707
42,4	-0,14926	-0,20380	-0,22131	-0,24018
60,0	-0,19818	-0,27456	-0,28286	-0,31599
84,9	-0,26558	-0,32396	-0,34385	-0,39453
147,0	-0,39118	-0,48195	-0,54618	-0,60624
158,7	-0,44116	-0,54488	-0,60003	-0,66534

ΔMs vs $t^{0,5}$	40 °C			OD
	$t^{0,5}$ (s ^{0,5})	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	0,00702	0,00986	0,01124	0,01937
42,4	0,01215	0,01469	0,01507	0,01949
60,0	0,01845	0,02469	0,02695	0,03087
84,9	0,02626	0,03499	0,03714	0,04305
147,0	0,03444	0,05162	0,05748	0,06860
158,7	0,04824	0,05563	0,06440	0,07147

Tabla 3. Valores de pérdida de peso, agua y ganacia de sólidos para el tratamiento a 50 °C a presión atmosférica.

ΔM vs $t^{0,5}$	50 °C			OD
	$t^{0,5}$ (s ⁰⁵)	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	-0,040	-0,064	-0,090	-0,136
42,4	-0,054	-0,083	-0,130	-0,165
60,0	-0,065	-0,107	-0,167	-0,214
84,9	-0,090	-0,149	-0,242	-0,282
147,0	-0,136	-0,253	-0,399	-0,494
158,7	-0,140	-0,300	-0,465	-0,558

ΔM_w vs $t^{0,5}$	50 °C			OD
	$t^{0,5}$ (s ⁰⁵)	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	-0,07334	-0,10832	-0,14423	-0,19073
42,4	-0,11109	-0,14237	-0,18585	-0,24419
60,0	-0,13908	-0,17916	-0,22641	-0,33809
84,9	-0,17516	-0,22918	-0,28784	-0,43106
147,0	-0,25958	-0,36725	-0,46388	-0,70326
158,7	-0,28947	-0,40436	-0,52185	-0,75492

ΔM_s vs $t^{0,5}$	50 °C			OD
	$t^{0,5}$ (s ⁰⁵)	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	0,01479	0,01810	0,02048	0,02519
42,4	0,01930	0,02638	0,03212	0,03606
60,0	0,02197	0,03190	0,03242	0,03964
84,9	0,03260	0,04078	0,04381	0,04581
147,0	0,05031	0,05562	0,06841	0,07379
158,7	0,05642	0,05896	0,07123	0,07649

Tabla 4. Valores de pérdida de peso, agua y ganacia de sólidos para el tratamiento a 30 °C con pulso de vacío.

ΔM vs $t^{0,5}$	30 °C			PVOD
	$t^{0,5}$ (s ⁰⁵)	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	-0,021	-0,017	-0,020	-0,086
42,4	-0,022	-0,036	-0,055	-0,105
60,0	-0,032	-0,048	-0,072	-0,131
84,9	-0,045	-0,065	-0,105	-0,168
147,0	-0,078	-0,100	-0,143	-0,236
158,7	-0,078	-0,107	-0,150	-0,257

ΔM_w vs $t^{0,5}$	30 °C			PVOD
	$t^{0,5}$ (s ⁰⁵)	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	-0,03833	-0,06111	-0,10774	-0,13114
42,4	-0,04520	-0,08841	-0,12882	-0,15865
60,0	-0,07358	-0,09722	-0,17490	-0,21963
84,9	-0,10418	-0,13098	-0,20811	-0,27586
147,0	-0,15640	-0,21294	-0,34131	-0,42574
158,7	-0,17235	-0,24261	-0,36455	-0,46089

ΔM_s vs $t^{0,5}$	30 °C			PVDO
	$t^{0,5}$ (s ⁰⁵)	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	0,01434	0,01832	0,02054	0,03081
42,4	0,02085	0,02845	0,03334	0,04257
60,0	0,02836	0,03582	0,04601	0,05338
84,9	0,03156	0,04706	0,06276	0,07437
147,0	0,05725	0,06998	0,09986	0,10699
158,7	0,06311	0,07946	0,11839	0,11713

Tabla 5. Valores de pérdida de peso, agua y ganancia de sólidos para el tratamiento a 40 °C con pulso de vacío.

ΔM vs $t^{0,5}$	40 °C			PVOD
	$t^{0,5}$ (s ⁰⁵)	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	-0,035	-0,063	-0,043	-0,121
42,4	-0,046	-0,094	-0,070	-0,143
60,0	-0,077	-0,124	-0,097	-0,196
84,9	-0,097	-0,150	-0,132	-0,243
147,0	-0,141	-0,231	-0,192	-0,360
158,7	-0,159	-0,250	-0,200	-0,386

ΔM_w vs $t^{0,5}$	40 °C			PVOD
	$t^{0,5}$ (s ⁰⁵)	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	-0,04170	-0,07562	-0,10728	-0,15592
42,4	-0,06744	-0,10728	-0,15137	-0,21860
60,0	-0,08454	-0,14031	-0,17881	-0,27397
84,9	-0,11668	-0,18284	-0,24863	-0,36492
147,0	-0,17857	-0,28912	-0,39040	-0,58268
158,7	-0,20797	-0,32335	-0,44221	-0,65019

ΔM_s vs $t^{0,5}$	40 °C			PVDO
	$t^{0,5}$ (s ⁰⁵)	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	0,00435	0,00841	0,02042	0,04523
42,4	0,02343	0,02280	0,03981	0,06427
60,0	0,03661	0,02556	0,05836	0,08343
84,9	0,04646	0,05224	0,09024	0,10244
147,0	0,07747	0,09975	0,17872	0,18199
158,7	0,08796	0,12461	0,19433	0,21552

Tabla 6. Valores de pérdida de peso, agua y ganacia de sólidos para el tratamiento a 50 °C con pulso de vacío.

ΔM vs $t^{0,5}$	50 °C			PVOD
	$t^{0,5}$ (s ⁰⁵)	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	-0,022	-0,043	-0,065	-0,165
42,4	-0,017	-0,057	-0,084	-0,193
60,0	-0,032	-0,087	-0,136	-0,230
84,9	-0,057	-0,120	-0,157	-0,290
147,0	-0,109	-0,223	-0,262	-0,438
158,7	-0,120	-0,232	-0,284	-0,471

ΔM_w vs $t^{0,5}$	50 °C			PVOD
	$t^{0,5}$ (s ⁰⁵)	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	-0,05197	-0,09091	-0,13561	-0,17024
42,4	-0,06907	-0,11062	-0,17408	-0,20346
60,0	-0,09817	-0,15048	-0,20856	-0,25918
84,9	-0,11549	-0,19010	-0,26306	-0,33664
147,0	-0,18175	-0,35752	-0,41676	-0,58900
158,7	-0,21517	-0,40624	-0,43902	-0,62315

ΔM_s vs $t^{0,5}$	50 °C			PVDO
	$t^{0,5}$ (s ⁰⁵)	20 °Brix	30 °Brix	40 °Brix
30,0	0,00465	0,03341	0,05266	0,06546
42,4	0,00746	0,03941	0,07151	0,08031
60,0	0,00806	0,05619	0,09133	0,09171
84,9	0,01271	0,07560	0,10613	0,12294
147,0	0,01807	0,11430	0,17928	0,19090
158,7	0,02316	0,14607	0,18349	0,21132