

Tesis Doctoral

# Interacciones agua-sólido en frutas liofilizadas y sus consecuencias sobre aspectos estructurales, atributos cromáticos y distribución espacial de la luz

Agudelo Laverde, Lina Marcela

2012-03-30

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Agudelo Laverde, Lina Marcela. (2012-03-30). Interacciones agua-sólido en frutas liofilizadas y sus consecuencias sobre aspectos estructurales, atributos cromáticos y distribución espacial de la luz. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Agudelo Laverde, Lina Marcela. "Interacciones agua-sólido en frutas liofilizadas y sus consecuencias sobre aspectos estructurales, atributos cromáticos y distribución espacial de la luz". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2012-03-30.

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires



Universidad de Buenos Aires  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
Departamento de Industrias

**Interacciones agua-sólido en frutas liofilizadas y sus consecuencias sobre aspectos estructurales, atributos cromáticos y distribución espacial de la luz.**

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área Química Industrial

**Lina Marcela Agudelo Laverde**

Directora de tesis: Dra. María del Pilar Buera

Director asistente: Dra. Carolina Claudia Schebor

Consejera de estudios: Dra. Ana María Renata Pilosof

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 2012

## **RESUMEN**

### **Interacciones agua-sólido en frutas liofilizadas y sus consecuencias sobre aspectos estructurales, atributos cromáticos y distribución espacial de la luz**

Los aspectos físicos, químicos y microbiológicos que definen la calidad de los alimentos están relacionados con la cantidad, la ubicación y el estado del agua en los mismos. El objetivo de este trabajo fue estudiar el impacto de las interacciones agua-sólido sobre las propiedades estructurales, atributos cromáticos y la distribución espacial de la luz en frutas liofilizadas, y su relación con su estado físico y la ocurrencia de reacciones químicas. Se analizaron las características de sorción de agua, las temperaturas de transición vítrea y la movilidad molecular. Se estudió el efecto del secado, la humidificación y el tratamiento térmico sobre los cambios estructurales y de color por degradación de pigmentos naturales y/o la generación de productos pardos. La técnica de análisis de imágenes permitió el estudio de las características estructurales y ópticas de materiales con distribución homogénea o heterogénea de color de forma sencilla.

El estudio integral de las propiedades de sorción de agua, temperaturas de transición vítrea en función de la fracción de agua y de la movilidad molecular permitió explicar el efecto del agua sobre el colapso estructural, la cinética de reacción de pardeamiento, la pérdida de pigmento y el desarrollo de transparencia en frutas liofilizadas.

Palabras claves: frutas, liofilización, interacciones agua-sólido, temperatura de transición vítrea, movilidad molecular, análisis de imágenes, colapso, Kubelka Munk.

## **ABSTRACT**

### **Water-solid interactions and their consequences on structural aspects, chromatic attributes and spatial distribution of light in freeze-dried fruits**

Physical, chemical and microbiological aspects that define food quality are related to the amount, location and state of water. The objective of the present work was to study the impact of the water-solids interactions on structural aspects, chromatic attributes and spatial distribution of light in freeze-dried fruits, and the relation with the physical state and the occurrence of chemical reactions. Water sorption properties, glass transition temperatures and molecular mobility were analyzed. The effect of drying, humidification and thermal treatment were studied in relation to structural changes and color changes due to natural pigments degradation and/or generation of brown products. The images analysis technique allowed analyzing structural and optical characteristics of materials bearing homogeneous or heterogeneous color distribution in a simple way.

The integral study of water sorption properties, glass transition temperatures as a function of water fraction, and of the molecular mobility explained the effect of water on structural collapse, the kinetics of browning reactions, the loss of pigments and the development of transparency in dehydrated fruits.

Keywords: fruits, freeze-drying, water-solids interactions, glass transition temperature, molecular mobility, image analysis, collapse, Kubelka Munk.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todos los que de una u otra manera han compartido conmigo este largo camino, los cuales han sido vitales en mi formación profesional y personal.

Al departamento de industrias de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires por permitirme la utilización de las instalaciones y a todo su personal no docente que me ayudaron para que esto fuera posible.

Al CONICET y la ANPCyT por las becas otorgadas

A la Dra. Pilar Buera por dirigir mi trabajo de tesis, por su apoyo y esfuerzo en el desarrollo de mi educación científica y personal, por su confianza y permitirme estar en su grupo de trabajo.

A la Dra. Carolina Schebor por su apoyo en la realización de este trabajo, quien dedicó tiempo y esfuerzo y que con su paciencia me dirigió para llegar hoy a este punto.

A Naty, Peggy, Sole, Marie, Analí, Vero, Mario, Cris, Abel, Flor, Pato, Lidia, Betty, Cristián, Gra, mis compañeros de laboratorio quienes me han acompañado tantos momentos.

A los chicos de los otros labos que me han apoyado en este proceso: Marce Reynoso, Victor, Juli, Caro Arzeni, Diego, Víctor García, Paula.

A los docentes y compañeros de Operaciones Unitarias I y Química Industrial, Marcela, Miryam, Stella, Eduardo, Rosa, Analía, María Ana, que me ayudaron y me aguantaron en todo este proceso.

A Viviana y Andrea quienes nunca dejaron de creer en mi y me brindaron apoyo y amistad a pesar de la distancia.

A mi hermanita por su apoyo y confianza.

A mis padres que con su esfuerzo y amor supieron guiarme y a quienes debo todos mis logros.

A Jaime que con su amor y paciencia ha recorrido conmigo un este duro pero satisfactorio camino.

Y sobre todo agradezco a Dios, por haberme puesto en el lugar donde estoy y rodearme de todos los que me han acompañado.

*A mis padres*

*y a Jaime*

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
	<b>I.1. RELEVANCIA NUTRICIONAL Y COMERCIAL DE LAS FRUTAS LIOFILIZADAS</b>	<b>3</b>
	<b>I.2. INTERACCIONES AGUA-SÓLIDO EN FRUTAS DESHIDRATADAS</b>	<b>8</b>
	I.2.1. El impacto del agua en la estabilidad de frutas deshidratadas	8
	I.2.2. Aspectos termodinámicos: sorción de agua y modelos de sorción	10
	I.2.3. Aspectos dinámicos: estado vítreo y temperatura de transición vítrea	15
	<i>I.2.3.1. Factores que afectan a la temperatura de transición vítrea</i>	17
	<i>I.2.3.2. Generación de vidrios por liofilización</i>	20
	<i>I.2.3.3. Determinación de la temperatura de transición vítrea</i>	21
	<i>I.2.3.4. Cambios físicos asociados a la temperatura de transición vítrea</i>	24
	I.2.4. Relajación magnética nuclear y aspectos dinámicos del agua en alimentos	27
	<i>I.2.4.1. Procesos de relajación</i>	29
	<b>I.3. PROPIEDADES DE APARIENCIA DE FRUTAS DESHIDRATADAS</b>	<b>32</b>
	I.3.1. Características cromáticas	33
	<i>I.3.1.1. Pigmentos naturales</i>	33
	<i>I.3.1.2. Formación de pigmentos pardos</i>	35
	I.3.2. Medición de las características cromáticas	41
	I.3.3. Distribución espacial de la luz	45
<b>II.</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>50</b>
	<b>II.1. OBJETIVO GENERAL</b>	<b>51</b>
	<b>II.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>52</b>
<b>III.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>53</b>
	<b>III.1. MATERIALES</b>	<b>54</b>
	<b>III.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS</b>	<b>54</b>
	III.2.1. Cortado	56
	III.2.2. Liofilización	57
	III.2.3. Humidificación	57
	III.2.4. Almacenamiento	58

<b>III.3. METODOLOGIA</b>	<b>60</b>
III.3.1. Isotermas de sorción de agua	60
III.3.2. Determinación del contenido de azúcares	62
III.3.3. Determinación del índice de refracción	63
III.3.4. Determinación del pH	64
III.3.5. Medición de transiciones térmicas	64
III.3.6. Determinación del contenido de antocianinas	67
III.3.7. Medición de los tiempos de relajación	68
III.3.8. Sistema de visión computarizada (SVC)	70
III.3.9. Calibración del SVC para la medición del grado de colapso	71
III.3.10. Medición del grado de colapso	72
III.3.11. Calibración del sistema de adquisición de imágenes para variables cromáticas	77
III.3.12. Medición de variables cromáticas	80
III.3.13. Medición de la translucidez	81
III.3.14. Evaluación de las constantes cinéticas de pardeamiento	83
III.3.15. Análisis estadístico	85
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>86</b>
<b>IV.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LAS FRUTAS</b>	<b>87</b>
IV.1.1. Determinación algunas características de composición	87
IV.1.2. Propiedades de sorción de agua	88
IV.1.3. Transiciones térmicas	100
IV.1.4. Movilidad molecular	106
IV.1.5. Concepto de movilidad de protones para establecer las distintas zonas de sorción de agua	110
<b>IV.2. EFECTO DE LA HUMEDAD RELATIVA SOBRE EL ENCOGIMIENTO DE FRUTAS LIOFILIZADAS</b>	<b>113</b>
IV.2.1. Efecto del secado y la humidificación sobre el encogimiento de frutas	113
IV.2.2. Efecto del tratamiento térmico sobre el encogimiento de frutas liofilizadas	118
<b>IV.3. ANÁLISIS DE LOS CAMBIOS DE COLOR Y TRANSLUCIDEZ EN LA LIOFILIZACIÓN, HUMIDIFICACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE FRUTAS</b>	<b>124</b>
IV.3.1. Efecto de la liofilización, compresión y humidificación sobre el color y la opacidad de frutas	124



IV.3.1.1. Cambios de color y opacidad como consecuencia del secado	125
IV.3.1.2. Cambios de color y opacidad producidos por la humidificación	128
IV.3.2. Efectos de los cambios físicos sobre las reacciones de pardeo en sistemas con distribución homogénea de color	148
IV.3.2.1. Oscurecimiento de discos de fruta en función del tiempo de almacenamiento a 45 °C	148
IV.3.2.2. Oscurecimiento de polvos de fruta en función del tiempo de almacenamiento a 45 °C	155
IV.3.3. Cambios de color en frutas con distribución cromática heterogénea: frutilla	163
IV.3.3.1. Segmentación de imágenes	163
IV.3.3.2. Cambios de color en las distintas secciones de frutilla como consecuencia del secado y la humidificación	165
IV.3.3.3. Cambios cromáticos de discos de frutilla durante el almacenamiento a 45 °C	169
IV.3.3.4. Retención de las antocianinas en frutillas en relación a los cambios de color	178
<b>V. INTEGRACIÓN DE RESULTADOS</b>	<b>183</b>
<b>V.1. DIAGRAMAS DE ESTADO SUPLEMENTADOS</b>	<b>184</b>
<b>V.2. RELACIÓN ENTRE LA <math>T_g</math> EL GRADO DE COLAPSO Y LA FRACCIÓN MÁSCICA DE AGUA</b>	<b>188</b>
<b>V.3. RELACIÓN ENTRE LA <math>T_g</math>, EL GRADO DE OPACIDAD Y LA FRACCIÓN MÁSCICA DE AGUA</b>	<b>190</b>
<b>V.4. LA MOVILIDAD DE PROTONES COMO INDICADOR DE PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE FRUTAS DESHIDRATADAS</b>	<b>191</b>
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	<b>195</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>199</b>
<b>ANEXO</b>	<b>217</b>

# I. INTRODUCCIÓN

La formulación, el procesamiento y almacenamiento exitosos de alimentos e ingredientes se basa en la optimización de las características específicas de calidad, tales como los perfiles de sabor, color, textura y nutricionales, la inactivación de microorganismos indeseables, enzimas o sustancias tóxicas y la extensión de la vida útil. La mayoría de los aspectos físicos, químicos y microbiológicos que definen la calidad de los alimentos están relacionados con la cantidad, la ubicación y el estado del agua en los mismos.

Por un lado, el agua muestra propiedades derivadas de la capacidad de formar enlaces puentes de hidrógeno entre moléculas de agua y con los sólidos presentes. La complejidad de los sólidos, por otro lado, se refleja en las varias interacciones que muestran a escalas moleculares y supramoleculares, que a su vez están reguladas por el agua. Las interacciones agua / sólidos gobiernan el estado de los componentes de los alimentos y su estabilidad. La descripción adecuada de un alimento requiere no sólo la comprensión de las propiedades del agua y sólidos, sino también aquellas derivadas de su combinación, que son en la mayoría de los casos diferentes de la regla de mezcla simple.

Los estudios sobre los cambios que ocurren en alimentos deshidratados durante el procesamiento, almacenamiento y distribución son importantes debido a que alteran las características físicas, químicas y/o biológicas que afectan en mayor o menor medida la calidad de los mismos. El cambio de estructura determina modificaciones de apariencia (involucrando aspectos que dependen tanto de la distribución espectral como espacial de la luz) y por lo tanto influyen sobre su aceptación por parte de los consumidores.

## **I.1. RELEVANCIA NUTRICIONAL Y COMERCIAL DE LAS FRUTAS LIOFILIZADAS**

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO), informa sobre la importancia de consumir frutas y hortalizas ya que algunos de los trastornos más comunes y debilitantes del mundo: defectos congénitos, retraso mental y del crecimiento, debilidad del sistema inmune, ceguera e incluso la muerte; se deben a una alimentación carente de vitaminas y minerales, comúnmente denominados micro nutrientes. El consumo insuficiente de frutas y hortalizas es uno de los principales factores de falta de estos nutrientes (Mataix-Verdú, 2002).

Aunque no existen estudios específicos sobre el consumo actual de frutas en Argentina, se estima que el consumo promedio diario es alrededor de 200 g, la mitad de la ingesta recomendada por la FAO/OMS (Piola y Mitidieri, 2008). A la vez, investigaciones realizadas por el Centro de estudios de nutrición infantil (CESNI), ubicado en el país, indican que el 20% de los niños en edad escolar tienen sobrepeso y el 5 % es obeso.

La incorporación de frutas en la alimentación constituye una de las bases de una dieta balanceada y saludable, permitiendo incorporar componentes nutraceuticos, altamente revalorizados en los últimos años. A la vez, incentivar la ingesta de las frutas ayuda a disminuir la obesidad infantil y el riesgo de contraer enfermedades asociadas al elevado consumo de grasas y carbohidratos que actualmente se presentan en la población.

Por otra parte, en el mercado mundial actual se vislumbra el crecimiento de tres grandes tendencias que van ocupando un lugar en la mente del consumidor y ejercen gran influencia a la hora de elegir un producto alimenticio (Clementz y Delmoro, 2011):

- Conveniencia (fácil de adquirir, preparar, consumir),
- Salud,
- Goce sensorial y placer.

Uno de los aspectos que restringe la utilización de frutas, como la de otros alimentos frescos, es su corta vida útil. Se recurre entonces a técnicas de preservación.

El principal objetivo de la preservación de alimentos es prevenir cambios en el estado físico y reacciones químicas. La mejor forma de realizarlo es reducir la movilidad de reactivos potenciales y, como justamente uno de los principales factores que influyen sobre la misma es el agua, entonces la reducción del contenido de agua hasta un nivel adecuado, disminuye la movilidad molecular.

Las frutas deshidratadas se encuadran perfectamente dentro de las tres “mega tendencias” nombradas anteriormente, ya que son consideradas como productos saludables que pueden consumirse en cualquier momento del día, no necesitan cocción y están a disposición durante todo el año.

Las frutas deshidratadas se utilizan para el consumo directo y como ingredientes en muchos alimentos incluyendo horneados, cereales para el desayuno, lácteos, productos de confitería y copetín. Se pueden utilizar directamente en el acabado de platos salados y dulces (ensaladas, helados,

postres, etc.), en la elaboración de bombones y galletas o rehidratarlos para conseguir la textura deseada en diferentes preparaciones.

El Código Alimentario Argentino (CAA) en su capítulo XI – Art 879 define a la fruta deshidratada como “aquella que se ha sometido principalmente a la acción del calor artificial por empleo de distintos procesos controlados, para privarla de la mayor parte del agua que contiene”.

La liofilización de los alimentos se menciona en el Capítulo IV – Art 169 del CAA. Algunos productos se muestran en la **Figura I-1**.



**Figura I-1.** Imágenes de diferentes productos liofilizados

Este proceso se basa en el desecado por medio de la sublimación del agua contenida en los alimentos. Se realiza congelando previamente el producto y el hielo se retira aplicando calor en condiciones de vacío, de esta forma el hielo sublima evitando el paso por la fase líquida (esto constituye lo que se conoce como secado primario). La última etapa del proceso de liofilización, o desecación secundaria del producto ocurre por medio de desorción. Esta

consiste en evaporar el agua no congelable, aquella que interactúa fuertemente con los sólidos y que no ha congelado, logrando que el porcentaje de humedad final sea menor al 2%. Como en este punto no existe agua libre, la temperatura de las bandejas puede subir sin riesgo de que se produzca fusión. Sin embargo, en esta etapa la presión disminuye al mínimo, por lo que se realiza a la máxima capacidad de vacío que pueda alcanzar el equipo. Es importante, finalmente, controlar el contenido final de agua del producto, de manera que se corresponda con el exigido para garantizar su estabilidad (Parzanese, 2011).

Al finalizar el proceso de liofilización, en general el alimento se convierte en una estructura rígida, de textura crujiente, que conserva la forma y el volumen pero con peso reducido, preservando sus características nutritivas y organolépticas. Al rehidratarlo se recuperarán la textura, el aroma y el sabor original.

Esta técnica presenta una serie de ventajas en relación a otros métodos de secado, tales como la obtención de un producto de alta calidad con excelentes condiciones de rehidratación, retención de aromas (entre 90-100%), pigmentos y vitaminas (80-90%). Las sustancias volátiles o termosensibles de los materiales no se ven afectadas por este proceso, ya que se trabaja a temperaturas y presiones reducidas. Además se obtiene un alimento con mayor porosidad y sin daño térmico ya que no se altera la estructura fisicoquímica del producto. Por medio de la liofilización se puede extraer más del 95% del agua contenida en un alimento, lo que se traduce en un gran beneficio con relación al costo del transporte, ya que permite cargar mayor cantidad de mercadería sin necesidad de cadena de frío debido a que se logra un producto más estable microbiológicamente (Márquez y Freire, 2005).

Es por estas razones que la liofilización constituye un efectivo sistema de preservación de material biológico como células, enzimas, vacunas, virus, levaduras, sueros, algas, frutas, vegetales y alimentos en general.

Hay una diferencia significativa en el tiempo que se mantienen los atributos de calidad adecuados en las frutas deshidratadas por métodos convencionales, en comparación con aquellas liofilizadas. En general, las frutas deshidratadas en forma tradicional presentan cambios de gusto y sabor, pudiendo conservarse durante un período menor de un año (Ratti, 2001). Por otro lado, las frutas liofilizadas se pueden almacenar fácilmente durante varios años, suponiendo que el fruto está almacenado en un recipiente que es hermético y libre de humedad. La **Figura I-2** muestra imágenes de zanahorias deshidratadas por liofilización y secado convectivo.



**Figura I-2.** Imágenes de zanahoria deshidratada por liofilización y secado convencional

La textura de la fruta también es a menudo diferente. La fruta que ha sido deshidratada en forma convencional tiene una textura más flexible, mientras que las que se seca por liofilización llegan a ser más crujientes (Ratti, 2001).



## **I.2. INTERACCIONES AGUA-SÓLIDO EN FRUTAS DESHIDRATADAS**

### **I.2.1. El impacto del agua en la estabilidad de frutas deshidratadas**

Para el desarrollo adecuado de productos de baja humedad es necesario contar con datos de los materiales a emplear y además de las transformaciones dinámicas a las que son sometidos durante el proceso de elaboración y/o almacenamiento.

La eliminación de agua en productos deshidratados induce a la sobresaturación de sus componentes, lo que lleva a un aumento en las fuerzas de cohesión entre las moléculas de solutos y del agua que interactúa fuertemente con ellos, generando restricciones en la movilidad molecular.

El conocimiento de la funcionalidad del agua en el procesamiento y almacenamiento de alimentos ha sido y aún es, uno de los campos de mayor interés en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Sin embargo, las propiedades del agua no han sido aun completamente interpretadas. Hay aspectos de los sistemas acuosos, aún de los más sencillos como soluciones de azúcar que no están totalmente explicados.

Desde 1955 hasta aproximadamente 1985 las propiedades termodinámicas, tales como sorción y actividad de agua recibieron la mayor atención por parte de científicos y tecnólogos. Las funciones termodinámicas de estado describen las propiedades de equilibrio de las soluciones. Estas funciones son relevantes principalmente para describir la disponibilidad de agua en soluciones diluidas. Para soluciones concentradas o de polímeros pueden ser necesarios largos periodos de tiempo para alcanzar el equilibrio.

El papel esencial de la movilidad de solutos y agua en la estabilidad de alimentos fue esbozado a partir de 1960 y es hoy ampliamente reconocido. Las implicaciones de la formación de vidrio y transiciones vítreas en tecnología de los alimentos han sido ampliamente analizadas a partir del trabajo pionero de Levine y Slade en la década de 1980 (Levine y Slade, 1986, 1988), basado en un enfoque de ciencia de los polímeros. La investigación fundamental se centró entonces en los aspectos dinámicos, relacionados con las propiedades de formación de vidrio de azúcares y biopolímeros, y en las interacciones moleculares que los compuestos polihidroxílicos son capaces de experimentar.

En las últimas décadas se planteó una discusión interesante sobre la elección del concepto más relevante para la predicción de la estabilidad de alimentos: actividad de agua ( $a_w$ ) o temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), descritos en las secciones I.2.2 y I.2.3, respectivamente. La primera de estas variables describe propiedades específicas del agua, mientras que la segunda depende del material sólido, pero ésta a su vez guarda estrecha relación con el contenido de agua (Van den Berg, 1981; Levine y Slade, 1992; Roos, 1995b).

Las propiedades físicas de los alimentos deshidratados son en la mayor parte de los casos dependientes del tiempo y sensibles a la historia del sistema. Más aún, pueden estabilizarse en estados metaestables separados del equilibrio por barreras de energía relativamente grandes. Es por ello que muchos componentes de los alimentos deshidratados no existen en un estado termodinámicamente estable. Por lo tanto, la conservación de sus propiedades deseables se rige por las limitaciones cinéticas, a menudo por su mantenimiento en un estado amorfo (Roos, 1995c).

### I.2.2. Aspectos termodinámicos: sorción de agua y modelos de sorción

La presencia de agua y sus interacciones con otros componentes son factores importantes a tener en cuenta en el control de proceso, estabilidad y calidad de alimentos.

En un mismo alimento hay moléculas de agua que presentan diferencias de intensidad con la que se asocian con los constituyentes no acuosos.

Las moléculas de agua presentes en los alimentos deshidratados se encuentran unidas fuertemente a la matriz y no están disponibles para que pueda darse el crecimiento de microorganismos o las reacciones químicas hidrolíticas.

El término actividad de agua ( $a_w$ ) se desarrolló para considerar la intensidad con la cual el agua se asocia con los distintos constituyentes no acuosos (Fennema, 1996) y se la define como:

$$a_w = \left( \frac{P}{P_0} \right)_T \quad \text{(Ecuación I-1)}$$

Donde,

$a_w$  es la actividad de agua

P es la presión de vapor de agua en el alimento a la temperatura T

$P_0$  es la presión de vapor del agua pura a la temperatura T

Esta igualdad se basa en asumir la existencia de equilibrio termodinámico. Si bien, dicho equilibrio no se logra estrictamente en muchos casos, la actividad

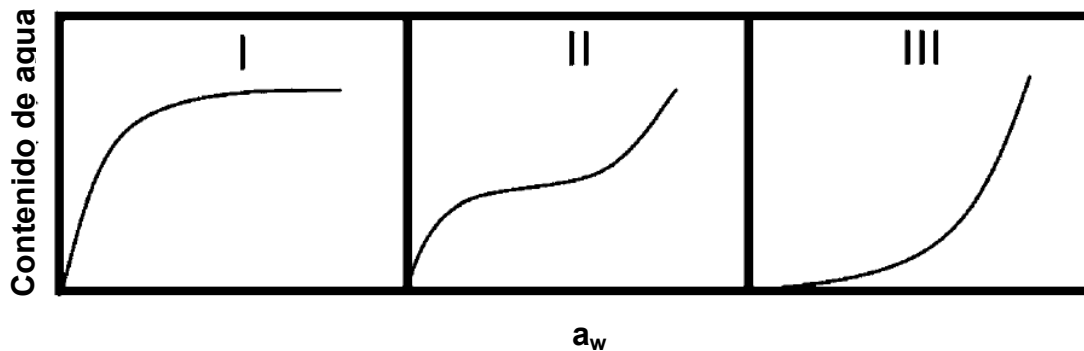
de agua permite establecer ciertos límites generalizados, y rangos donde cierto tipo de reacciones deteriorativas son dominantes (Labuza y Altunakar, 2007).

Por ejemplo, constituye un factor importante que afecta a la calidad química, microbiana, y la estabilidad de la textura de frutas secas (Kaya y col., 2002).

La actividad de agua está relacionada con la humedad relativa del ambiente en el que se encuentra el sistema, a través de la isoterma de sorción de agua. Las isotermas de sorción de agua son extremadamente importantes en el diseño del proceso de alimentos, formulación de nuevos alimentos, selección del material de embalaje adecuado, predicción de las condiciones óptimas de almacenamiento, y la determinación de la estabilidad del producto (Arévalo-Pinedo y col., 2004). La composición química de los alimentos y las temperaturas de procesamiento y almacenamiento tienen una influencia sustancial en las características de sorción de los productos de fruta deshidratada (Kaya y col., 2002; Gabas y col., 2007). El comportamiento en la sorción de agua de las ciruelas se ve afectado por el contenido de azúcar, la madurez, y condiciones de procesamiento y almacenamiento (Bolin, 1980). Los estudios con uvas pasas, higos, ciruelas, damascos y arándanos liofilizados también han confirmado los efectos de la composición del alimento y las condiciones de almacenamiento en el comportamiento característico de las isotermas de sorción de agua, (Ayranci y col., 1990; Tsami y col., 1990; Lim y col., 1995; Myhara y col., 1998).

En materiales alimenticios las isotermas de sorción de agua no son lineales, en general presentan una forma que está basada en su composición química y generalmente corresponde a una S invertida. En estudios previos, Brunauer y col., (1940) clasificaron las isotermas de sorción en 5 tipos basados en la

adsorción por las fuerzas de van der Waals de gases no polares adsorbidos en diversos substratos sólidos no porosos, siendo los tipos I, II y III (**Figura I-3**) los más observados en los productos alimenticios.



**Figura I-3.** Tres tipos de isothermas de sorción de agua mostrando el contenido de agua en función de la actividad de agua. Adaptado de Brunauer, S y col., 1940.

Las isothermas de sorción de agua brindan información sobre el grado de cristalinidad y la movilidad del agua (Fennema, 1996), siendo significativamente diferentes en sistemas cristalinos y amorfos. En el sistema amorfo, las moléculas se encuentran en un ordenamiento al azar, y están relativamente más libres para interactuar con el agua.

Entre los problemas estudiados en relación a las isothermas de sorción de agua en alimentos, uno de los más importantes es la descripción matemática de las mismas. Para este propósito se han propuesto diferentes modelos y ecuaciones. El modelado de las isothermas de sorción de agua es particularmente importante para predecir la vida media de alimentos con humedad baja e intermedia (Labuza, y col., 1970; Labuza, 1980; Simatos y Karel, 1988).

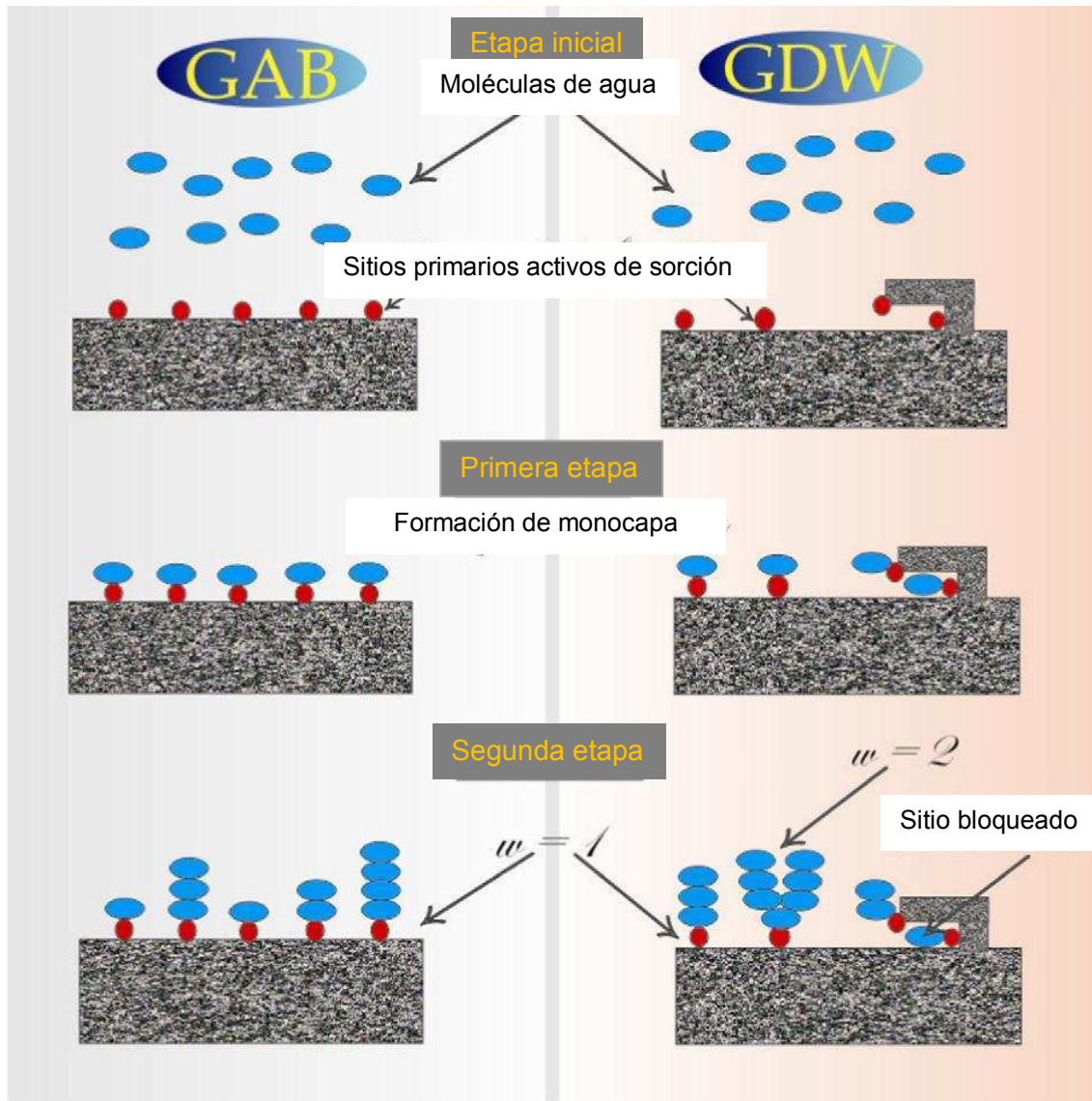
Las ecuaciones de Brunauer-Emmett-Teller (BET) (Brunauer y col., 1938) y Guggenheim-Anderson-de Boer (GAB) (Van Den Berg y Bruin, 1981) son modelos conocidos de isothermas de sorción que proveen el valor de humedad de monocapa. En el primer modelo se asume que luego de que se produce la adsorción de agua en una primera monocapa las moléculas de agua que se adsorben se ubican en sucesivas capas formando multicapas, y la energía de adsorción en todas las capas es similar. Por eso, la aplicabilidad del modelo BET se limita a valores de  $a_w$  en el rango de 0,1 a 0,5 (Labuza, 1968).

En el modelo GAB se considera de igual manera el concepto de adsorción en mono y multicapas, pero que la energía involucrada en el proceso presenta diferencias en cada capa. La ecuación de sorción de GAB (Guggenheim, Andersen y de Boer) (Van Den Berg y Bruin, 1981) ha tenido amplia aplicación en el campo de la Tecnología de Alimentos. La principal razón de su uso se debe a que el rango de actividad de agua que cubre es mayor ( $0,05 < a_w < 0,8 - 0,9$ ) que el rango cubierto por la ecuación de BET. Además fue recomendada por el proyecto europeo COST 90 (que trataba sobre recomendaciones para determinar propiedades físicas de alimentos), como la ecuación fundamental para la caracterización de sorción de agua de materiales alimenticios (Timmermann, 2003).

Sin embargo, ha surgido la necesidad de encontrar modelos más realistas que describan los procesos de sorción de agua en diferentes materiales. La ecuación generalizada de D'Arcy y Watt (GDW) (1970) es el modelo que se está empleado para describir la sorción de agua en carbono (Furmaniak y col., 2008, 2005) además se han publicado algunos trabajos acerca de las ventajas

de su aplicación en alimentos (Furmaniak y col., 2007 a, b, 2009). El modelo GDW tiene todas las consideraciones del modelo GAB pero además asume que sólo una proporción de las moléculas de agua unidas a centros primarios de adsorción se convierten en centros secundarios (Furmaniak y col., 2009). Por otro lado pueden existir algunos sustratos en los que a cada molécula en un centro primario se una más de una molécula de agua. Por lo tanto, si se ordena el estudio de los modelos de sorción de agua por jerarquía de organización, de lo más general a lo más simple se puede considerar: GDW> GAB> BET.

En la **Figura I-4** se esquematiza la diferencia entre los modelos propuestos para el mecanismo general de sorción de agua, según los modelos de GAB y D'Arcy-Watt. El tipo de mecanismo (GAB o GDW), depende de la disposición de los sitios primarios de adsorción de agua. En el caso del mecanismo de GAB, se da cuando no se producen restricciones geométricas (superficies lisas) para la creación de grupos de moléculas que respondan al esquema tipo BET en la superficie, donde cada una de las moléculas de agua adsorbida en un sitio primario se convierte en sitio de adsorción secundario. El mecanismo de adsorción de agua de tipo GDW se presenta en materiales de superficies rugosas o porosas, en donde existen restricciones geométricas para la creación de sitios secundarios, y/o cuando un sitio primario produce más que un sitio secundario (Furmaniak y col., 2007a, b, 2009).



**Figura I-4.** Esquema de los mecanismos de sorción según la ecuación de GAB y GDW. El parámetro  $w$  determina que parte de las moléculas de agua adsorbidas en los sitios primarios se convierten en sitios de adsorción secundarios. Adaptado de Furmaniak y col., 2009.

### I.2.3. Aspectos dinámicos: estado vítreo y temperatura de transición vítrea

Las transiciones de fase y estado durante el procesado y/o almacenamiento de alimentos tienen efectos significativos en las propiedades físicas del material. En termodinámica, las transiciones de fase y estado se clasifican de acuerdo con los cambios abruptos o discontinuidades que sufren ciertas funciones de



estado a la temperatura de transición. En las transiciones de primer orden, las funciones entalpía, entropía y volumen (relacionadas con la primera derivada de la energía libre con respecto a la temperatura) muestran un cambio abrupto a la temperatura de la transición. En las transiciones de segundo orden, las funciones termodinámicas entalpía, entropía y volumen tienen un valor constante al variar la temperatura, pero hay una discontinuidad en la capacidad calorífica, el coeficiente de expansión térmica y el coeficiente de compresibilidad a la temperatura de la transición, y constituyen cambios de estado sin cambios de fase.

Las transiciones que ocurren entre los tres estados de agregación (sólido, líquido y gaseoso) son cambios de fase de primer orden (Roos, 1995b). Las transiciones de primer orden más comunes en alimentos incluyen la fusión y la cristalización de agua, azúcares o lípidos. La desnaturalización y agregación de proteínas, gelatinización y retrogradación del almidón son procesos fuera del equilibrio y por lo tanto no pueden describirse en términos de transiciones termodinámicas, pero guardan semejanza con los cambios de fase correspondientes a la fusión.

El cambio entre los estados vítreo y líquido sobre-enfriado se conoce como transición vítrea ( $T_g$ ) y corresponde a una temperatura a la cual los vidrios empiezan a ablandarse y fluir (Sperling, 1986). La transición vítrea tiene ciertas características de las transiciones de segundo orden. Sin embargo, se trata de un cambio de estado, y no de fase, entre estados de no equilibrio, que ocurre en un rango de temperatura el cual depende de la velocidad de calentamiento, de la historia térmica del producto, de la masa molar y del contenido de agua (Roos, 1998). Además existen fundamentos para afirmar que se trata de un

fenómeno de características cinéticas y no termodinámicas (Debenedetti, 1996).

Gran parte de la estabilidad de los sistemas deshidratados se debe a la creación de vidrios durante el secado, que le otorgan las características de ser crujiente y quebradizo. El estado físico de los vidrios es extremadamente sensible a la humedad, la temperatura y el tiempo de observación (Sperling, 1986).

Las propiedades físicas de los materiales vítreos cambian cuando la temperatura ambiente supera la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) cuyo valor depende del contenido acuoso. Los cambios más importantes son el aumento del volumen molecular libre y de la capacidad calorífica ( $C_p$ ). Por debajo de la  $T_g$ , el material se comporta como un sólido amorfo (vidrio), caracterizado por una altísima viscosidad (alrededor de  $10^{12}$  a  $10^{14}$  Pa.s) (Sperling, 1986). La movilidad molecular en los vidrios está restringida a vibraciones y movimientos rotacionales de rango corto (Sperling, 1986).

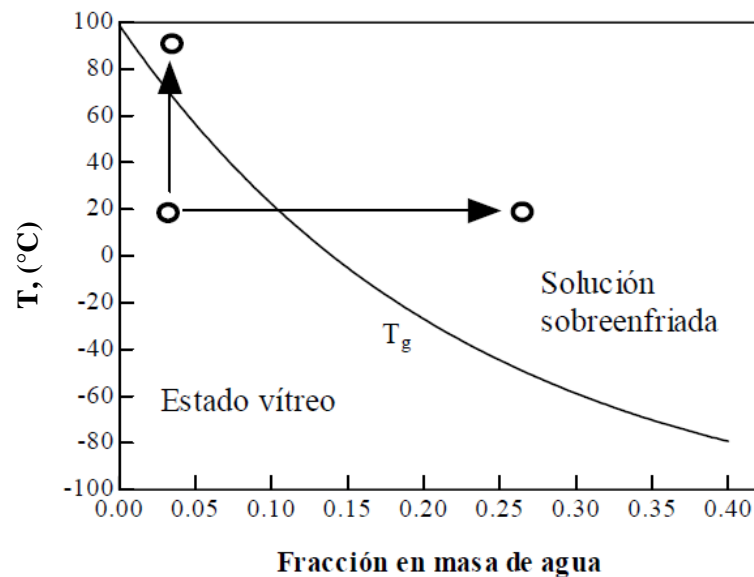
### ***1.2.3.1. Factores que afectan a la temperatura de transición vítrea***

Los factores más importantes que afectan la  $T_g$  son:

#### 1. Contenido de agua:

Existe una estrecha relación entre la  $T_g$  y el contenido acuoso. En los sistemas biológicos el agua se comporta como plastificante, aumentando su flexibilidad y extensibilidad y en general modificando sus propiedades

térmicas (modifica la  $T_g$  del sistema y la posibilidad de cristalización). En la **Figura I-5** se muestra, para una matriz de azúcar, la curva de  $T_g$  en función del contenido de agua. Se puede ver, que a medida que aumenta el contenido acuoso, disminuye la  $T_g$  (Roos, 1992).



**Figura I-5.** Curva de temperatura de transición vítrea en función del contenido de agua. Adaptado de Cardona y col. (1997). Un aumento de temperatura y/o del contenido de agua causa el cambio del estado vítreo al sobreenfriado.

## 2. La estructura química y la masa molar de los sólidos:

Roos (1993) analizó el comportamiento de distintos azúcares (pentosas, hexosas y disacáridos) con respecto a su  $T_g$ , y observó que las pentosas tienen menor  $T_g$  que las hexosas, que a su vez tienen menor  $T_g$  que los disacáridos. Además, se observó que la  $T_g$  es mayor para las formas cíclicas y que el tipo de enlace glicosídico afecta los valores de  $T_g$  al modificar la conformación espacial de la molécula (Slade y Levine, 1991).

En el caso de polímeros, Zeleznak y Hosney (1987) observaron que el grado de entrecruzamiento del polímero afecta la temperatura de transición

vítrea. Fox y Flory (1950), observaron que el valor de  $T_g$  del poliestireno de distintas masas moleculares, aumentaba rápidamente al aumentar la masa molecular. Al graficar  $T_g$  en función de la inversa de la masa molecular obtuvieron una relación lineal. La **Ecuación I-2** de Fox y Flory, ha sido aplicada para gran cantidad de polímeros sintéticos y biopolímeros, incluyendo maltodextrinas (Roos y Karel, 1991a).

$$T_g = T_{g(\infty)} - \frac{K}{M} \quad \text{(Ecuación I-2)}$$

Donde,

$T_g$  es la temperatura de transición vítrea

$T_{g(\infty)}$  es el valor límite de  $T_g$  a alta masa molecular

M es la masa molecular

K es una constante

La ecuación de Gordon y Taylor, **Ecuación I-3**, es otra relación útil para predecir la  $T_g$  de un sistema (Gordon y Taylor, 1952), siendo ésta una de las más difundidas. Esta ecuación relaciona la  $T_g$  de mezclas de polímeros con su fracción en peso. La ecuación de Gordon y Taylor se aplica a sistemas modelos formados por mezclas anhidras de dos componentes distintos y también a sistemas que contienen un componente sólido y agua. En general, la ecuación se emplea para calcular la  $T_g$  resultante de mezclas de polímeros con diluyentes.

$$T_{g \text{ mezcla}} = \frac{w_1 T_{g1} + K w_2 T_{g2}}{w_1 + K w_2} \quad \text{(Ecuación I-3)}$$

Donde,

$T_{g \text{ mezcla}}$  es el valor de  $T_g$  observado para una mezcla binaria

$w_1$  y  $w_2$  son las fracciones de concentración de los componentes puros

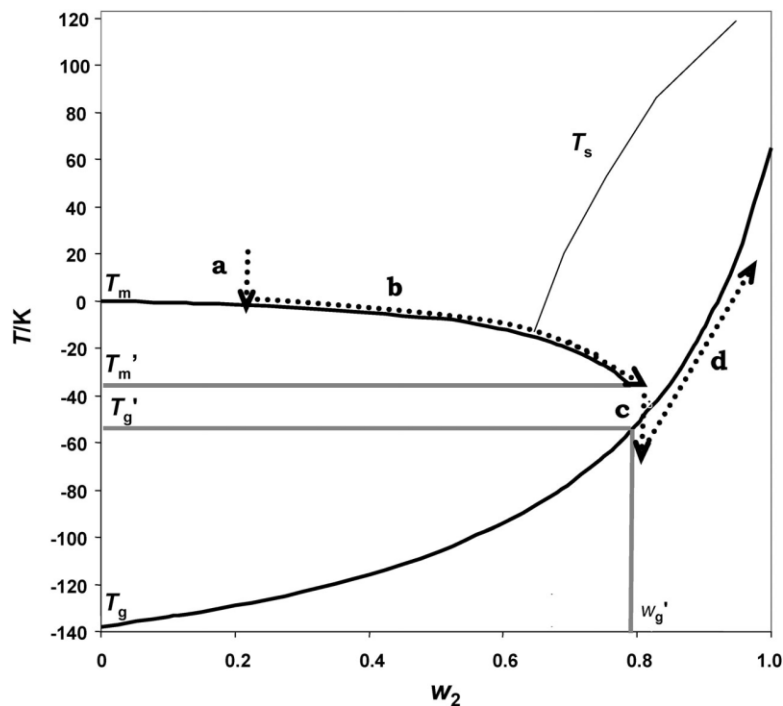
$T_{g1}$  y  $T_{g2}$  son los valores de  $T_g$  de los componentes puros

$K$  es una Constante.

### ***1.2.3.2. Generación de vidrios por liofilización***

En la **Figura I-6** se representa el diagrama de estado que muestra el camino para la formación de un vidrio por liofilización. En este tipo de diagramas se grafican las curvas correspondientes a las condiciones de equilibrio (fusión de hielo, y solubilidad) y la  $T_g$  en función de la fracción másica de soluto ( $w_2$ ), siendo la fracción másica de agua  $w_1 = (1 - w_2)$  en cada punto. Las curvas de esta figura delimitan regiones en las que se presentan las principales modificaciones dinámicas como consecuencia de los cambios de estado o de fase. Aplicando este tipo de diagrama se puede predecir si un sistema estará bajo control termodinámico o cinético para dadas condiciones de temperatura/composición, siempre que se conozca la historia térmica de las muestras (Buera y col., 2011). La solución inicialmente a temperatura ambiente, se congela según la línea **a**. Luego se produce la crio concentración siguiendo la curva **b** hasta que los impedimentos cinéticos al llegar cerca de  $T_g'$  hacen que cese la formación de hielo. El punto  $(T_g', w_g')$  corresponde a las condiciones ideales de máxima crio concentración. El hielo formado sublima y

al final de esta etapa se produce enfriamiento debido a que la última fracción toma el calor latente de la fase no congelada (línea **c**). Finalmente en el secado secundario se produce aumento ulterior de la concentración de sólidos y el material obtenido regresa a la temperatura ambiente (línea **d**), ubicándose debajo de la curva de  $T_g$  como corresponde a un material vítreo.



**Figura I-6.** Diagrama de estado que muestra el camino para la formación de un vidrio por liofilización.

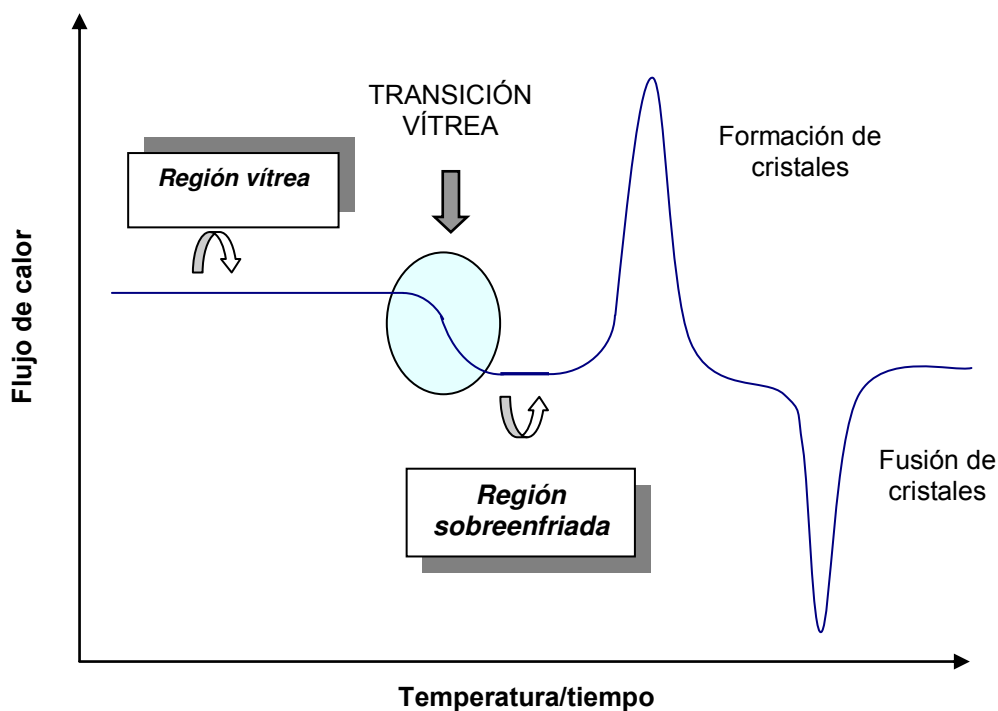
En los productos liofilizados, la congelación inicial define la característica del vidrio que se forma luego de la desorción después del secado primario.

### ***1.2.3.3. Determinación de la temperatura de transición vítrea***

La temperatura de transición vítrea puede determinarse por distintos métodos, que detectan cambios de propiedades que sufren discontinuidades cuando

ocurre dicha transición, por ejemplo, propiedades dieléctricas, mecánicas y térmicas (White y Cakebread, 1966; Wunderlich, 1981; Sperling, 1986).

La técnica más utilizada para determinar la temperatura de transición vítrea es la calorimetría diferencial de barrido (DSC), la cual detecta la transición vítrea en base al cambio en la capacidad calorífica ( $\Delta C_p$ ). La muestra se calienta a una velocidad constante en una cápsula sellada, y en general se utiliza una cápsula vacía como referencia. El instrumento registra las diferencias en el flujo de calor entregado por el equipo a la muestra y a la referencia en función de la temperatura y del tiempo. En la **Figura I-7** se muestra un termograma típico (obtenido por DSC) de un azúcar liofilizado que muestra sus transiciones de fase y cambios de estado (adaptado de Roos, 1992).



**Figura I-7.** Termograma típico de un azúcar liofilizado en estado amorfo. Adaptado de Roos, 1992.

El  $\Delta C_p$  en la transición vítrea de la muestra, se evidencia como un cambio en la línea de base del termograma. A temperaturas mayores que  $T_g$ , el sistema se transforma en un líquido sobre-enfriado. A medida que la temperatura aumenta, la movilidad molecular aumenta y la viscosidad disminuye, las moléculas pueden reorientarse hasta alcanzar un estado termodinámicamente más estable como lo es la estructura cristalina. En los sistemas sencillos de azúcares las cristalizaciones se observan fácilmente. Sin embargo, en sistemas heterogéneos (como los tejidos vegetales estudiados), la presencia de biopolímeros y de otros componentes retrasa la cristalización de solutos y gran parte del material permanece amorfo (White y Cakebread, 1966; Levine y Slade, 1992; Roos y Karel, 1991a). En estos sistemas es más difícil observar recristalizaciones en los tiempos de la realización de los termogramas.

Existen otras técnicas complementarias para determinar  $T_g$ , como por ejemplo análisis dinámicos mecánicos (DMA, también referidos como análisis dinámicos termomecánicos, DMTA) (Kalicevsky y col., 1992), análisis dieléctricos (DEA, también referidos como análisis termodieléctricos, DETA) (Chan y col., 1986; Kalichevsky y col., 1992; Noel y col., 1992; Goff, 1995) y técnicas espectroscópicas como la resonancia magnética nuclear (RMN) y resonancia de espín electrónico (ESR), pero no se profundizará aquí sobre ellas.



#### ***1.2.3.4. Cambios físicos asociados a la temperatura de transición vítrea***

Una interesante aplicación del estudio de la transición vítrea es el entendimiento y la explicación de los cambios que ocurren durante el procesado y almacenamiento de los alimentos (Nelson y Labuza, 1994).

La estabilidad de propiedades deseables en los alimentos liofilizados está cinéticamente gobernada en condiciones de no equilibrio dadas por el estado vítreo, y el objetivo de la obtención de productos estables durante el almacenamiento es impartir propiedades de metaestabilidad (Franks, 1994).

Los elementos estructurales de los tejidos de fruta pueden ser descritos como una dispersión en agua de especies de bajo peso molecular, como azúcares, sales y ácidos orgánicos (Mizrahi y Karel, 1978), los cuales pueden afectar tanto el contenido de agua como la temperatura de transición vítrea (Venir y col., 2007), cuyo estado físico es extremadamente sensible a la humedad, la temperatura y el tiempo de observación.

En los materiales sobre-enfriados pueden ocurrir cambios en sus propiedades mecánicas o en la difusión de moléculas en el medio (Roos y col., 1996). Las modificaciones en las propiedades mecánicas pueden producir el fenómeno de colapso, que es la resultante de la disminución de la viscosidad, y provoca cambios estructurales, pegajosidad, apelmazamiento y pérdida de porosidad (White y Cakebread, 1966; Bellows y King, 1973; Tsourouflis y col., 1976; To y Flink, 1978 a, b; Flink, 1983; Levine y Slade, 1988; Slade y Levine, 1991). El término “colapso” se utilizó para describir la pérdida de estructura, la reducción del tamaño de poros y el encogimiento volumétrico en materiales secos o semi

húmedos. Los materiales muy porosos, como los preparados por liofilización, son susceptibles de sufrir colapso post-secado cuando no se mantienen las condiciones óptimas de almacenamiento (Levi y Karel, 1995). En la literatura no hay una definición única de colapso (Bellows y King, 1973; Tsouroflis y col., 1976; To y Flink, 1978 a, b; Levine y Slade, 1986; Anglea y col., 1993; Levi y Karel, 1995), y las definiciones operacionales dependen del proceso y del procedimiento experimental usado para determinar el colapso específico de ese proceso (Levi y Karel, 1995).

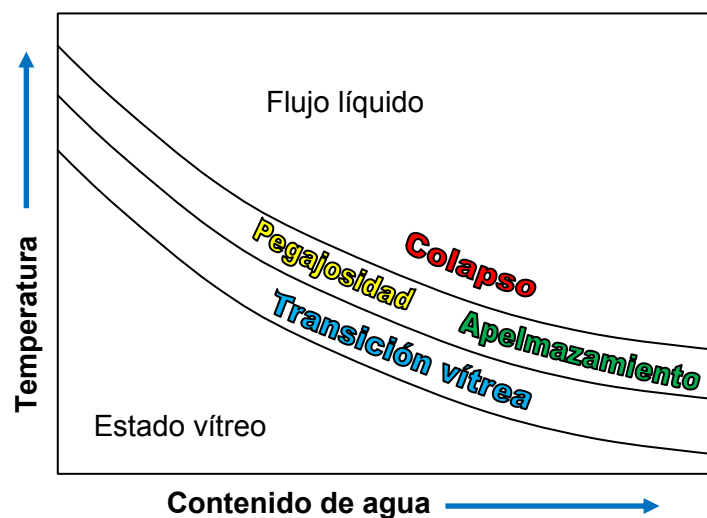
El colapso en las matrices liofilizadas puede afectar adversamente las propiedades del material liofilizado, y entre ellas se pueden citar:

- Pérdida de volátiles atrapados en la matriz liofilizada (Flink y Karel, 1972; Levi y Karel, 1995; Tsourouflis y col., 1976; To y Flink, 1978 a, b, Gerschenson y col., 1981).
- Pobres características de rehidratación de tejidos vegetales (Tsourouflis y col., 1976; Anglea y col., 1993).
- Disminución de las velocidades de solvatación (Pikal y Shah, 1990).
- Distribución inhomogénea de la humedad de la muestra (Tsourouflis y col., 1976).
- Apelmazamiento y pegajosidad en muestras colapsadas de hidrolizado de proteínas de pescado y almidón hidrolizado (Levine y Slade, 1989; Aguilera y col., 1993).
- Sellado de los capilares, durante la liofilización, que provoca una disminución en la deshidratación y pérdida de esponjosidad (Bellows y King, 1973; Flink, 1983).

- Alteración de la velocidad de desarrollo de color de acuerdo con el grado inicial de colapso en matrices de PVP (Buera y Karel, 1995).
- Incremento local en la velocidad de pardeamiento en sistemas vítreos atribuido a inhomogeneidades producidas por la plastificación del agua en la matriz por un cambio estructural como el colapso (Roos y Himberg, 1994).
- Promoción de la oxidación de lípidos (Gejl-Hansen y Flink, 1977).

Todas estas modificaciones afectan las características de apariencia, que son las que determinan la aceptación por parte de los consumidores.

Está claro que el colapso y la temperatura de transición vítrea son fenómenos relacionados, pero mientras la transición vítrea de un material polimérico es reversible, el colapso es irreversible. La **Figura I-8** muestra la relación entre la temperatura de transición vítrea y la aparición consecuente de fenómenos físicos de deterioro.



**Figura I-8.** Consecuencias de la transición vítrea sobre los fenómenos físicos.  
Adaptado de Roos 1995b.

Como se mencionó anteriormente uno de los cambios que experimentan los materiales al atravesar la  $T_g$  es el encogimiento estructural. Existen numerosos estudios de los cambios de volumen de alimentos deshidratados determinados tradicionalmente a través del cálculo de las longitudes (largo y alto) con calibre (Guohong Liu y col., 2012) o por técnicas de desplazamiento de fluidos como picnometría (Krokida y Maroulis, 2001; Guiné, 2006; Yan y col., 2008). En general con estas técnicas no es posible recuperar las muestras que se utilizan. En los últimos años con el objeto de realizar estas mediciones de una forma rápida, sencilla y de manera no destructiva, se ha comenzado a emplear el análisis de imagen para la determinación de colapso estructural en frutas (Yan y col., 2008; Kurozawa y col., 2012).

### **I.2.4. Relajación magnética nuclear y aspectos dinámicos del agua en alimentos**

Como se ha indicado previamente, la movilidad molecular de un sistema amorfo se afecta al atravesar la temperatura de transición vítrea, ya sea por aumento de la temperatura de almacenamiento o del contenido de agua.

La resonancia magnética nuclear resuelta en el tiempo, constituye una herramienta muy útil para el estudio de las modificaciones estructurales y la dinámica del agua en productos alimenticios (Thybo y col., 2003). En el caso de vegetales y frutas la relajación magnética se empleó con éxito para estudiar la Calidad en manzana, con el objeto de diferenciar muestras de papa. Además se analizaron parámetros óptimos de secado y congelación. La relajación de agua en sistemas biológicos puede tener diversos orígenes, incluyendo

intercambio químico entre los protones del agua y las membranas celulares y difusión molecular. Brownstein y colaboradores (1979) propusieron un método para analizar la movilidad molecular en las cercanías de la transición vítrea.

La movilidad molecular se puede estimar mediante los tiempos de relajación de la magnetización nuclear ( $^1\text{H}$  RMN). Cualquier núcleo con un número cuántico de espín distinto de cero ( $I \neq 0$ ), cuando se coloca en un campo magnético puede absorber y emitir energía a través de radiación electromagnética, lo que se detecta por espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN). El núcleo  $^1\text{H}$  (protón), es el más utilizado en la espectroscopía RMN, debido a la facilidad de observación, a su alta abundancia natural y al hecho de que se encuentra presente invariablemente en los sistemas biológicos y biomateriales. La espectroscopía de resonancia magnética nuclear se basa en la medida de la absorción de la radiación electromagnética en la región de las radiofrecuencias, aproximadamente de 4 a 900 MHz.

Un equipo de RMN tiene 3 factores esenciales: un campo magnético estático, un transmisor de radio frecuencia que provee las oscilaciones del campo magnético para perturbar los espines nucleares y un receptor que detecta los efectos de las perturbaciones.

El experimento de RMN consiste en inducir la transición entre niveles de energía correspondientes a la magnetización de núcleos atómicos. Luego de la excitación, los espines de los núcleos retornan al estado de equilibrio por procesos de transiciones no radiativas, llamados en conjunto procesos de relajación.

La señal obtenida de la recuperación o decaimiento es una característica de los procesos de relajación (Colquhoun y Goodfellow, 1994).

### ***1.2.4.1. Procesos de relajación***

Existen dos tipos importantes de procesos de relajación en espectroscopía de RMN

#### Relajación de espín – red

La relajación espín-red se realiza a través de interacciones de todo el conjunto de átomos de la muestra. Está caracterizada por un tiempo de relajación  $T_1$ . Este tiempo está fuertemente afectado por la movilidad de la red. Cuando dos núcleos vecinos se hallan en diferentes estados magnéticos de energía los campos magnéticos de los mismos pueden interactuar entre sí produciendo un intercambio de estados cuánticos. Como consecuencia de la interacción, el tiempo de vida promedio de un núcleo excitado se acorta.

#### Relajación de espín – espín

La relajación espín-espín se realiza a través de núcleos vecinos.

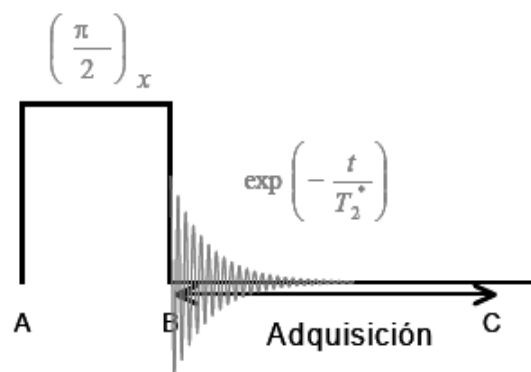
Esta relajación generalmente es un proceso de disminución exponencial de primer orden que se caracteriza con un tiempo de relajación  $T_2$ . Para sólidos cristalinos o líquidos muy viscosos el fenómeno de relajación espín espín es más eficiente y los tiempos son muy pequeños ( $10^{-4}$  s). Cuanto menor es la viscosidad de la muestra más largos son estos tiempos.

En las medidas de RMN pulsada, los núcleos que están en un intenso campo magnético, se someten periódicamente a pulsos muy cortos de una intensa radiación de radiofrecuencia (durante menos de  $10 \mu\text{s}$ ). Los núcleos excitados, al relajarse emiten una señal de radiofrecuencia en el dominio del tiempo,

(Figura I-9). El momento de espín nuclear de todos los protones de la muestra se representa por un único vector magnetización (M) que se puede descomponer en dos componentes, una paralela al eje z, ( $M_z$ ), y otra en el plano xy, ( $M_{x,y}$ ). En el campo magnético inicial el espín nuclear está orientado en la dirección del eje z siendo  $M_{xy}=0$  y  $M_z=M_0$ . La curva de decaimiento de la magnetización en el plano xy ( $M_{xy}$ ) que se produce luego de aplicar un pulso de radiofrecuencia de  $90^\circ$  es normalmente llamada decaimiento libre de la inducción (o FID por sus siglas en inglés) y puede ser descrita por la siguiente ecuación:

$$M_{xy} = M_0 e^{-\frac{t}{T_2}} \quad \text{(Ecuación I-4)}$$

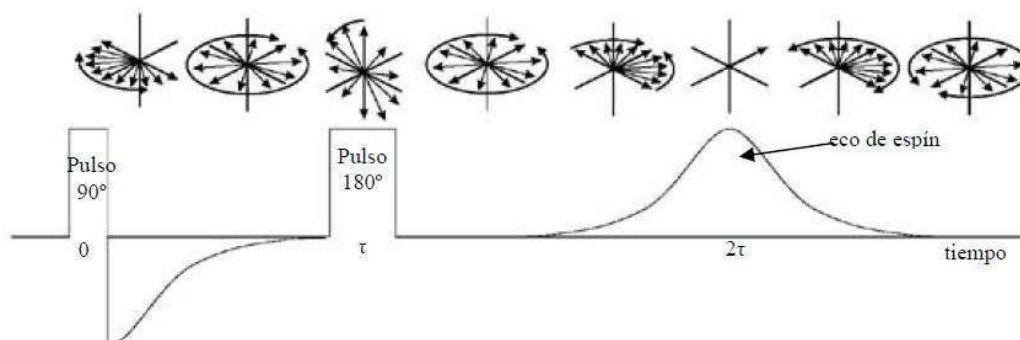
El parámetro  $1/T_2$  es entonces la constante de decaimiento de una magnetización causada por un pulso de radiofrecuencia que produce un cambio de  $90^\circ$  en la posición del vector magnetización.



**Figura I-9.** Esquema de la secuencia empleada para la detección de FID.

Si los tiempos de relajación son mayores que los microsegundos cuando se emplea un único pulso a  $90^\circ$  se obtienen resultados inesperados. Después de la aplicación del pulso, la magnetización neta decae más rápidamente que la predicha por la **Ecuación I-4**. Esto puede suceder debido a inhomogeneidad del campo, difusión, etc. Para evitar el efecto de inhomogeneidad del campo, se utilizan métodos de ecos de espín que consisten en la aplicación de varios pulsos sucesivos, como es el caso del método descrito por Hahn (Hahn, 1950), que consiste en dos pulsos, uno de  $90^\circ$  seguido por otro de  $180^\circ$ , que se aplica luego de un tiempo determinado ( $\tau$ ) en la secuencia  $90^\circ - \tau - 180^\circ$  (**Figura I-10**).

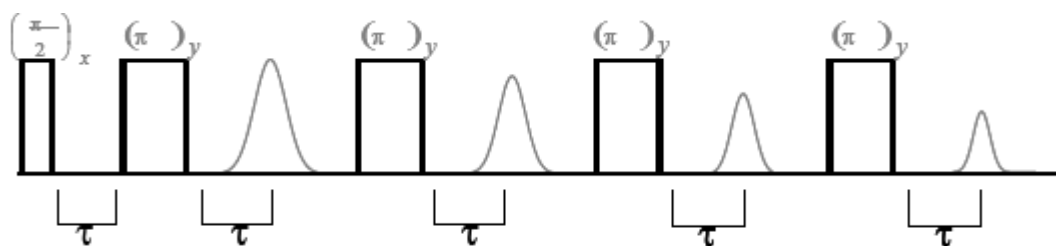
Esto re-enfoca la dispersión de la magnetización que se produce sobre el plano xy debida a los defectos del campo generando un pico en la señal, o eco, a tiempo  $2\tau$ . Si el pulso de  $180^\circ$  se aplica a tiempos  $\tau$  cada vez mayores se observará una disminución en la amplitud del eco que estará caracterizada en función del tiempo por la constante de decaimiento  $T_2$ . Esto permite medir correctamente tiempos de relajación más largos, correspondientes a protones más móviles, que la técnica de FID.



**Figura I-10.** El experimento eco de espín de Hahn ( $90^\circ - \tau - 180^\circ$ ) induce un pico en la amplitud de la señal o eco a tiempo  $2\tau$ . Adaptado de: <http://www.bruker-biospin.com/pulsetheory.html>.



Si además de experimentar la inhomogeneidad del campo, un núcleo sufre los efectos de la difusión y se mueve de una zona a otra en dicho campo inhomogéneo durante el tiempo del re-enfoque ( $2\tau$ ), la amplitud del eco disminuye y por lo tanto la secuencia de pulsos de Hahn está limitada por el efecto de la difusión molecular. Carr y Purcell (1954) propusieron una variación del método de ecos de espín de Hahn que luego fue modificada (Meiboom y Gill, 1958). La secuencia de pulsos llamada Carr-Purcell-Meiboom-Gill o CPMG es de utilidad en la determinación de tiempos de relajación del orden de los milisegundos. Este método involucra un pulso de  $90^\circ$  seguido por una serie de pulsos a  $180^\circ$  a tiempos:  $\tau$ ,  $3\tau$ ,  $5\tau$ , etc., los cuales reenfocan los espines individuales para formar ecos a tiempos  $2\tau$ ,  $4\tau$ ,  $6\tau$  etc. (**Figura I-11**). Siendo este método el más comúnmente utilizado para la determinación de  $T_2$  en sistemas de viscosidad media o baja.



**Figura I-11.** Secuencia de pulsos CPMG.

### I.3. PROPIEDADES DE APARIENCIA DE FRUTAS DESHIDRATADAS

El resultado de la compleja interacción de la luz incidente con la matriz alimentaria afecta a los atributos de apariencia, tales como transparencia, translucidez, brillo, luminosidad y las percepciones cromáticas.

### **I.3.1. Características cromáticas**

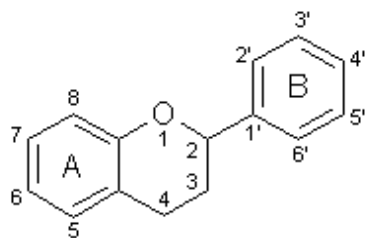
El color en los alimentos es generalmente la primera sensación que se percibe, y es una característica importante asociada a la calidad de los mismos que frecuentemente determina la aceptación o rechazo por parte del consumidor (León y col., 2006). Las frutas deshidratadas se consideran altamente estables, sin embargo, sufren importantes modificaciones en las características cromáticas durante el proceso de secado, la humidificación y el almacenamiento (Uddin y col., 2002). Los cambios de color en los alimentos afectan la calidad organoléptica y la apariencia, y pueden ser un indicador de la pérdida de propiedades nutricionales y funcionales.

#### ***I.3.1.1. Pigmentos naturales***

A pesar de su baja concentración, los pigmentos naturales constituyen componentes clave de los alimentos. Los factores responsables del color se pueden agrupar en 3 grandes grupos: presencia de los colorantes naturales, la generación de pigmentos por reacciones de pardeamiento y la adición de colorantes sintéticos (Hutchings, 1994). En esta tesis se estudió el color de frutas liofilizadas atribuido a los dos primeros grupos: se analizaron antocianinas de frutilla y los pigmentos generados por reacciones de pardeamiento en manzana, melón, pera y frutilla.

### ***Pigmentos de los frutos rojos***

Las antocianinas químicamente son glucósidos de antocianidinas, por lo que presentan una estructura de *flavillium* (**Figura I-12**). Son solubles en agua y altamente reactivos siendo reductores, son además responsables de una amplia gama de tonalidades rojas, azules y púrpuras de frutas, vegetales y flores. El color que proveen depende principalmente de la cantidad y orientación de los grupos oxhidrilos y metilos presentes en la estructura, por lo que se han identificado más de 540 tipos de antocianinas en la naturaleza (Wrolstad y col., 2005). El contenido de estos compuestos en los productos vegetales, depende entre otras cosas de la variedad y madurez del fruto, las condiciones de almacenamiento y de los demás componentes del material (Olsson y col., 2004). En los últimos años se ha intensificado el interés por el estudio de estos pigmentos, debido a su potente capacidad antioxidante que ha sido asociada a beneficios a la salud (Benvenuti y col., 2004; Hannum, 2004; Matchett y col., 2005). La estabilidad de las antocianinas se puede ver afectada por las condiciones de procesamiento, la temperatura de almacenamiento, el contenido de azúcares, el valor de pH, la presencia de ácido ascórbico y la disponibilidad de agua en la matriz que la contiene (Tsai y col., 2004; Wrolstad, 2004).



**Figura I-12.** Estructura de flavonoide

### ***1.3.1.2. Formación de pigmentos pardos***

Otra contribución importante al color de los alimentos la aportan las reacciones químicas que producen pigmentos, deseables o no, debidos a los procesos de elaboración y procesamiento. Las frutas contienen azúcares reductores, proteínas y una proporción importante de aminoácidos libres, por lo que son especialmente sensibles a las reacciones de pardeamiento. La coloración parda y la pérdida del valor nutricional son las causas principales de deterioro asociadas al pardeamiento. Esta reacción puede darse de dos maneras en matrices vegetales, como pardeamiento enzimático y no enzimático:

El pardeamiento enzimático ocurre cuando se produce la ruptura de células vegetales, cuando los tejidos son sujetos a cortes u otro tipo de daños. La principal enzima responsable del pardeamiento enzimático es la polifenoloxidasa, que cataliza reacciones diferentes de acuerdo con el sustrato, generando intermediarios inestables que posteriormente se oxidan en presencia de oxígeno molecular ( $O_2$ ), y se polimerizan para dar melaninas. Entre los sustratos de esta reacción se incluyen fenoles simples, derivados del ácido cinámico y flavonoides. Si bien en algunos casos específicos el pardeamiento enzimático es deseable (por ejemplo: en la fermentación de té y cacao), en otros resulta en una pérdida de valor nutricional y funcional y además en una alteración de las características organolépticas de los alimentos, como es el caso del desarrollo de color marrón en bananas, manzanas, papas y champiñones (Friedman, 1996; Ding y col., 2004). Los tejidos tienen distinta predisposición al pardeo enzimático, y estas variaciones

se deben al contenido de enzimas y al tipo y cantidad de sustratos fenólicos presentes.

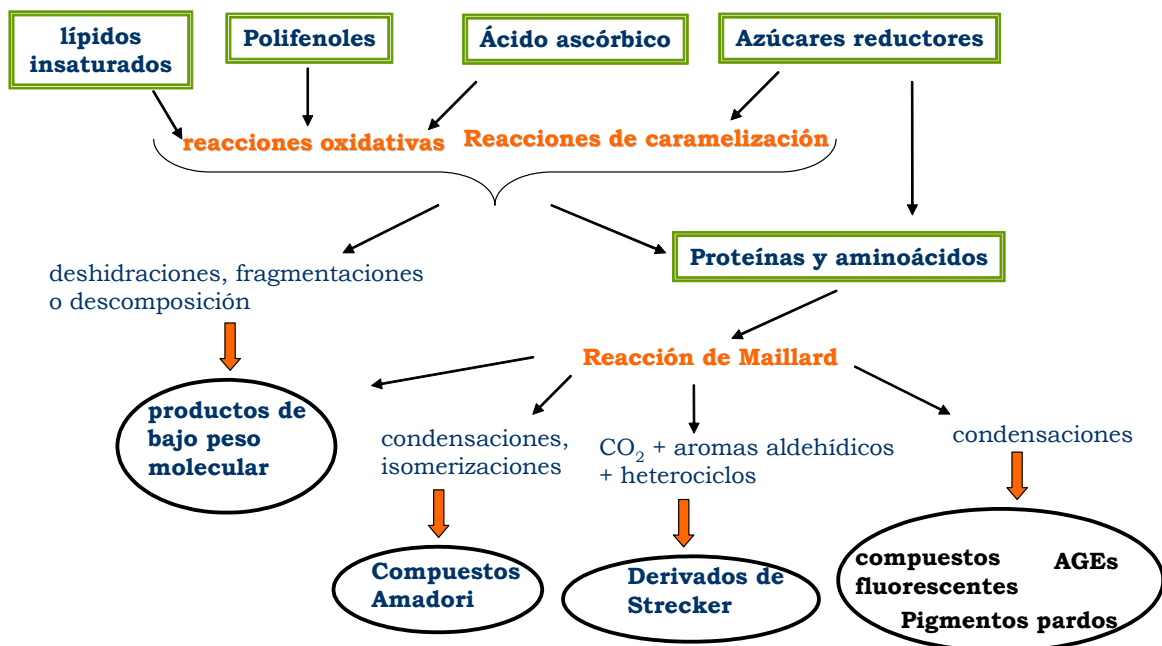
El pardeamiento no enzimático (PNE) es una de las principales reacciones de deterioro de alimentos; por lo tanto es importante el conocimiento de cuáles son los mecanismos involucrados y los factores determinantes del progreso de esta reacción. Las reacciones de PNE incluyen los fenómenos de caramelización, degradación de ácido ascórbico o de polifenoles oxidados y/o la interacción de proteínas o aminos con hidratos de carbono; esta última es denominada reacción de Maillard (Fennema, 1996). Lo que caracteriza a estas reacciones, es que en todas ellas intervienen grupos carbonilo llamados “activos” provenientes principalmente de azúcares reductores.

Los efectos del pardeamiento no enzimático sobre los alimentos son múltiples, en algunos casos deseables y en otros indeseables. Se producen modificaciones en la calidad y valor nutritivo a causa de:

- Producción de aromas y sabores.
- Cambios de color debidos a la producción de sustancias pardas y destrucción de pigmentos del alimento.
- Pérdida de solubilidad de proteínas, con los consiguientes cambios en la textura y alteración en el poder de reconstitución de los alimentos deshidratados.
- Pérdida del valor nutritivo al dañarse aminoácidos esenciales como la L-lisina, o vitaminas como el ácido ascórbico.

- Producción de metabolitos de acción potencialmente tóxica.
- Liberación de gas (CO<sub>2</sub>).
- Disminución del pH.

La cascada de reacciones que se produce implica una secuencia de pasos que no siguen una ruta lineal. La química de esta reacción comprende una serie compleja de reacciones que ocurren en forma simultánea y se relacionan unas con otras llevando a la formación de una gran variedad de compuestos. En la **Figura I-13** se muestra un esquema simplificado de los reactivos y productos de las potenciales reacciones químicas que ocurren en alimentos (Buera y col., 2010).



**Figura I-13.** Esquema simplificado de los principales reactivos y productos de las reacciones químicas que se producen en alimentos (Buera y col., 2010).

Los azúcares reductores, los lípidos insaturados, el ácido ascórbico y los compuestos fenólicos pueden considerarse como los reactivos primarios. Estos

compuestos pueden reaccionar directamente o después de su oxidación, con los grupos amino de las proteínas o los aminoácidos (Sikorski y col., 2007).

Son muchos los factores que afectan a las reacciones de pardeamiento no enzimático. Un aumento de la temperatura tiene un efecto acelerador sobre la formación de color. Esto se debe a que el calor favorece cada una de las etapas de la reacción. Un factor importante a tener en cuenta es que la temperatura además tiene efecto sobre otras reacciones paralelas a las de pardeamiento, en las que se pueden generar grupos reactivos que participan en las reacciones de formación de color. Por ejemplo, la oxidación de lípidos, la hidrólisis de azúcares no reductores y cualquier otra reacción en la que se generen carbonilos reactivos, son reacciones que afectan la velocidad de pardeamiento.

La presencia de azúcares en la matriz juega un rol importante en el desarrollo de la reacción de PNE, una regla general es que las pentosas son más reactivas que las hexosas y éstas son más reactivas que los disacáridos reductores (Shallenberger y Birch, 1975; Mauron, 1981). Los disacáridos no reductores primero deben hidrolizarse, y por lo tanto, se consideran menos reactivos. Los aminoácidos o péptidos actúan como fuente de grupos amino, que reaccionan con azúcares para formar glicosilaminas en una reacción reversible (Reynolds, 1963), y además son catalizadores, que favorecen un reordenamiento posterior (llamado de Amadori, si se trata de una aldosa, y de Heyns, si se trata de una cetosa) (Reynolds, 1970; Shallenberger y Birch, 1975). La reactividad de los distintos aminocompuestos es variable, y también depende entre otros factores, del azúcar presente.

El pH también tiene un efecto muy significativo en la reacción. Tanto el pH inicial del producto, como la capacidad amortiguadora o buffer del sistema influyen sobre la velocidad y la dirección de la reacción (Ellis, 1959; Nursten, 1980, Bell, 1997). El pH de las frutas es en general ácido, lo que no favorece la reacción directamente, pero sí indirectamente ya que acelera la hidrólisis de sacarosa.

En muchos estudios la velocidad de pardeamiento se relacionó con el contenido de agua y con la actividad de agua (Labuza y col., 1970). El agua es un factor importante en la reacción de Maillard, ya que ejerce su influencia controlando la viscosidad de la fase líquida y la disolución, concentración o dilución de los reactivos (Warmbier y col., 1976; Labuza y col., 1977). Se comporta además como un agente inhibidor, ya que es un producto de la reacción (Eichner y Karel, 1972; Labuza y Saltmarch, 1981; Labuza y col., 1977). Existe por lo tanto efectos contrapuestos, uno en relación a la aceleración que produce el agua al disminuir la viscosidad y el otro a la acción inhibitoria de la misma.

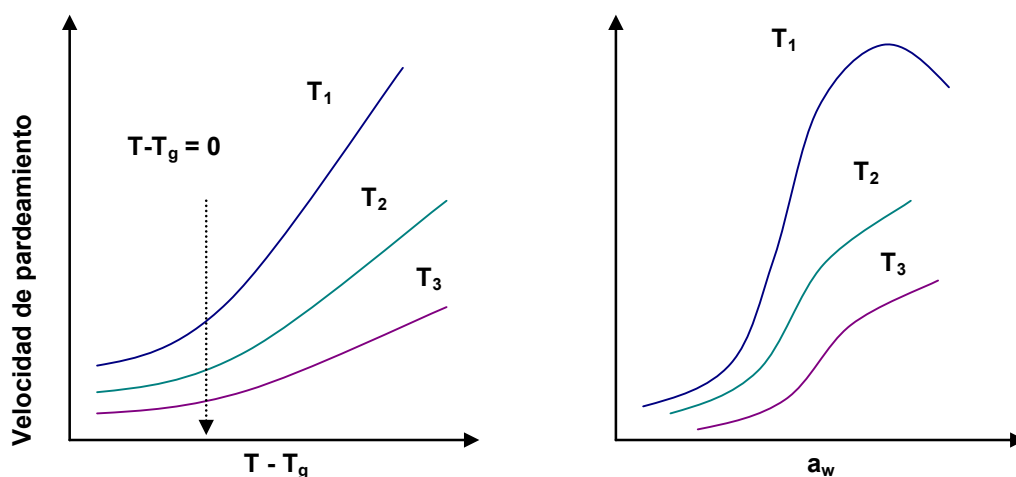
En sistemas líquidos se estudió el pardeamiento en un amplio rango de  $a_w$  variando las proporciones relativas de agua y humectante (Loncin y col., 1965; Eichner y Karel, 1972). En estos casos se observó una disminución gradual de la velocidad de reacción al aumentar la proporción de agua, debido a que el agua produce dilución de los reactivos.

La cinética de pardeamiento no enzimático es probablemente el ejemplo más estudiado en conexión con la transición vítrea, debido a que el mecanismo de



reacción contiene varias etapas de condensación que requiere la difusión y colisión de los reactivos (Namiki, 1988). Algunos autores introdujeron los principios utilizados en la ciencia de los polímeros sintéticos a la ciencia de los alimentos (Levine y Slade, 1986, 1988, 1990; Franks, 1994) y consideraron la transición vítrea como uno de los cambios más importantes en el estado físico de sistemas biológicos concentrados y materiales alimenticios amorfos (Slade y Levine, 1991). En consecuencia, al ocurrir la transición vítrea, los materiales son más susceptibles a cambios físicos o químicos.

En la **Figura I-14** se muestra una representación esquemática de las relaciones entre la velocidad de pardeamiento, la temperatura y el contenido de agua (Roos, 1995c). La velocidad de pardeamiento aumenta con el aumento de la diferencia entre la temperatura de almacenamiento ( $T$ ) y la  $T_g$  ( $T-T_g$ ), de  $a_w$  y también con el aumento de temperatura. Además se observa que el pardeamiento puede ocurrir (a bajas velocidades) a temperaturas menores que  $T_g$ .



**Figura I-14.** Representación esquemática del efecto de la temperatura ( $T$ ), la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), y la actividad de agua ( $a_w$ ), sobre la velocidad de pardeamiento no enzimático ( $T_1 > T_2 > T_3$ ) (Adaptado de Roos, 1995c).

### I.3.2. Medición de las características cromáticas

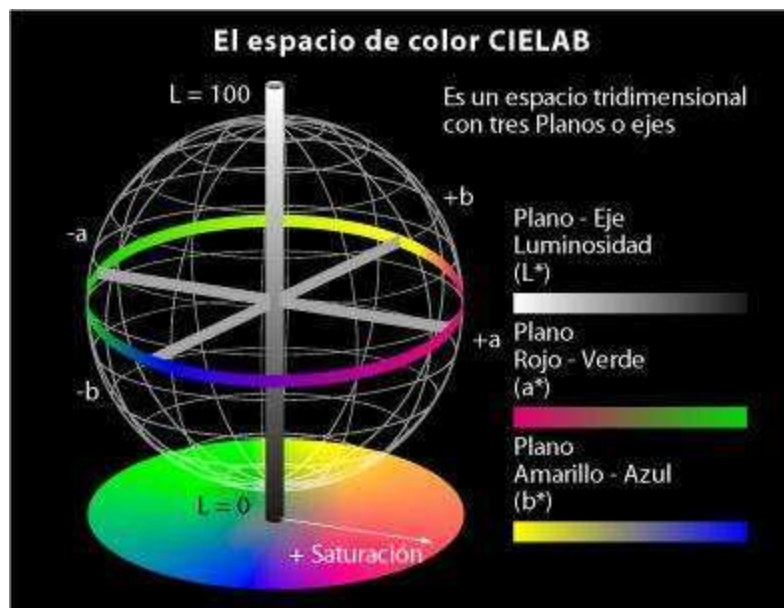
La percepción del color de un objeto no es un fenómeno simple e intervienen varios factores:

1. La distribución de la energía espectral del iluminante, es decir, la clase de luz que ilumina el objeto: solar, luz de lámpara de tungsteno o mercurio, etc.
2. Las condiciones bajo las cuales el color es visto, el ángulo de la visión, el color del contorno, la extensión de la zona coloreada y el nivel de iluminación.
3. La sensibilidad del observador.
4. Las características espectrales del objeto con respecto a la absorción, reflexión y transmisión de la luz, por los cuales se pueden clasificar a los objetos como opacos, transparentes o translúcidos.

La determinación del color se puede llevar a cabo por inspección visual humana, sin embargo, ésta es muy subjetiva y extremadamente variable de un observador a otro, por lo tanto, para realizar un análisis de color objetivo, se requiere el uso de estándares de color como material de referencia.

Para lograr una adecuada caracterización de los colores se desarrollaron sistemas de medida que emplean "espacios de color" y "coordenadas de color" y permiten la especificación completa en el espacio tridimensional. En el espacio de color CIELAB (**Figura I-15**) el parámetro  $L^*$  representa la luminosidad del material y su valor varía en un rango de 0 que corresponde al color negro y 100 al blanco,  $a^*$  (varía de verde a rojo) y  $b^*$  (varía de azul a amarillo) con valores entre -120 y 120 para ambos casos y que representan las coordenadas cromáticas de este espacio.

Usualmente el color de los alimentos se mide con las coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  del espacio de color CIELAB y con diversas funciones calculadas matemáticamente a partir de éste. El espacio  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  es perceptivamente uniforme, es decir, la distancia euclidiana entre dos colores diferentes corresponde aproximadamente a la diferencia de color percibida por el ojo humano (MacDougall, 2002).



**Figura I-15.** Espacio de color CIELAB

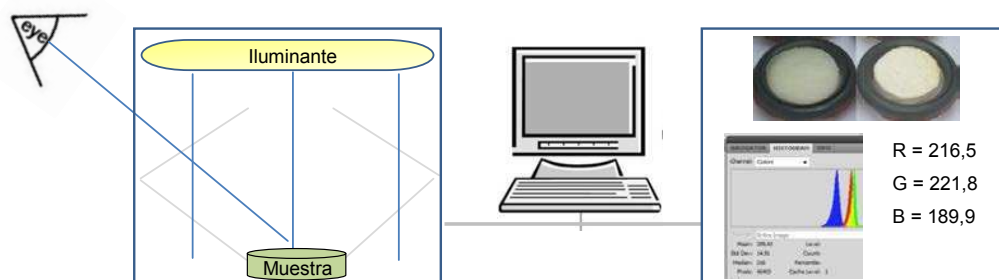
Existen diferentes métodos para la determinación del color, entre ellos está el fotocolorímetro triestímulo con esfera integradora que puede realizar mediciones sobre áreas muy pequeñas, que es la superficie que suele abarcar el sensor de un colorímetro, obteniendo datos en forma directa de las coordenadas de color (Lozano, 1978). El uso de esta herramienta resulta efectivo en materiales opacos y homogéneos, en los cuales puede realizarse la determinación de color a través de la medición de la reflexión de luz incidente de manera directa y expresarse como el promedio del color en la superficie del

material. Mientras la determinación del color promedio, es aceptable para muestras cuya superficie es uniformemente coloreada (Acevedo y col., 2008 a, b; Briones y Aguilera, 2005; Mendoza y col., 2006; Venir y col., 2007), cuando se dan cambios localizados de color en la superficie de las muestras o cuando éstas presentan una distribución no homogénea del color, las determinaciones suelen resultar incorrectas.

### ***Análisis de imágenes***

En el caso de materiales con distribución heterogénea del color, el uso de un sistema de visión computarizada permite eliminar algunas restricciones de otros métodos instrumentales (Balaban, 2008).

En los últimos años se ha puesto énfasis en nuevas técnicas basadas en sistemas de visión computarizada y análisis de imágenes para la evaluación del grado de pardeamiento y de otras propiedades relacionadas con la calidad del alimento (Aguilera y Stanley, 1999; Briones y Aguilera, 2005). Los sistemas de visión computarizada (**Figura I-16**) utilizan dispositivos para la adquisición de imágenes, computadoras y programas de procesamiento de las imágenes para simular el rol de los ojos y el cerebro.

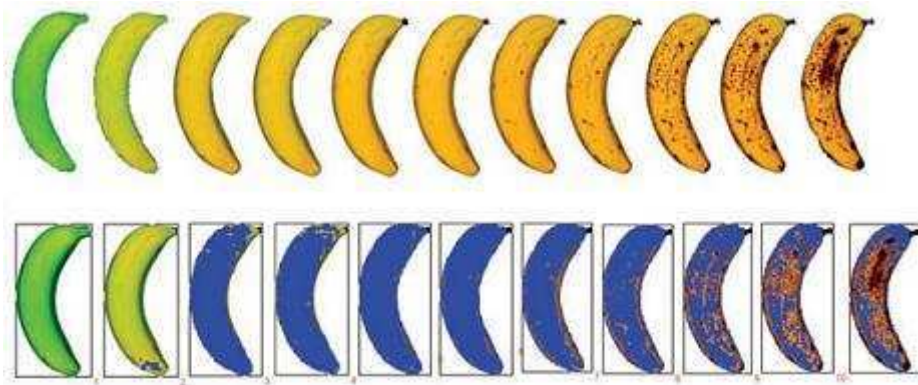


**Figura I-16.** Dispositivo para la adquisición y análisis de imágenes

La visión computarizada ofrece una gran resolución espacial ya que cubre todo el objeto de interés, lo cual no es posible con los colorímetros triestímulo. Las cámaras digitales capturan los colores mientras que las computadoras los almacenan usando el sistema RGB. En el sistema RGB cada color está representado por tres valores independientes: rojo (R), verde (G) y azul (B), ubicados a lo largo de los ejes de un sistema de coordenadas ortogonales, formando un cubo. La línea diagonal desde negro (0,0,0) hasta blanco (1,1,1), que une esquinas opuestas del cubo, representa el rango de valores de la escala de grises. Existen programas de computación que permiten determinar los valores promedio (y las desviaciones estándar) de R, G y B para el objeto de interés. El sistema RGB se puede transformar mediante fórmulas matemáticas en el sistema CIELAB (González y Woods, 1992) el cual se utiliza comúnmente para análisis de color superficial.

La toma de imágenes mediante una cámara fotográfica y su procesamiento por medio de programas adecuados aplicando el método de contornos y la segmentación de imágenes, se presenta como una alternativa interesante para sistemas heterogéneos, debido a que proporcionan gran cantidad de información en forma práctica (Jayas y col., 2000), permitiendo la cuantificación del color de una manera más apropiada y facilitando el estudio de áreas con diferentes características cromáticas en simultáneo. En la **Figura I-17** se muestra un ejemplo del uso de segmentación de Imágenes en bananas.

Balaban (2008) estudió el grado óptimo de madurez en el cual las bananas presentaron mayor coloración amarilla, previa a la aparición de puntos negros (Figura I-17).



**Figura I-17.** Ejemplo de una imagen segmentada. (Tomada de Balaban, 2008.)

Empleó la técnica de contorno, en la cual, mediante segmentación de imagen se pueden identificar todos los píxeles de una imagen con atributos de color según queden incluidos o no en un rango de valores determinado. Se emplea un color contrastante para identificar los segmentos de la imagen y así facilitar la medición de áreas (por ejemplo, se empleó azul en la **Figura I-17**). Una vez que las zonas se delimitan, se determinan los píxeles dentro de las mismas, y su porcentaje se relaciona al área total del objeto.

### I.3.3. Distribución espacial de la luz

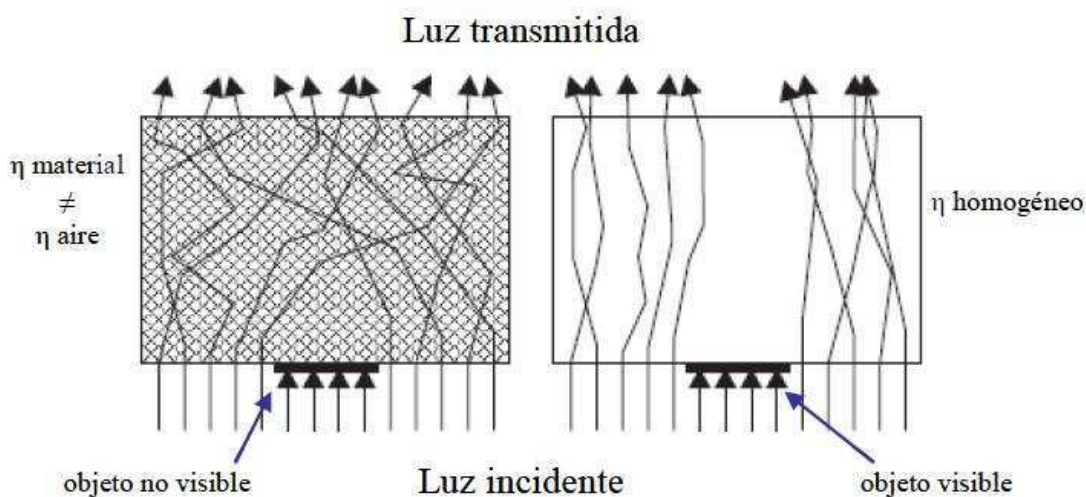
El color, como fue descrito hasta este punto, está relacionado con la distribución espectral de la luz. La apariencia percibida de los objetos está determinada además por otros fenómenos que responden a la distribución espacial de la luz (Hunter, 1975; Green-Armytage, 1992). Desde el punto de

vista físico, la luz puede ser absorbida por un material, y la fracción no absorbida puede reflejarse, o bien transmitirse a través del material. Tanto la reflexión como la transmisión pueden darse en forma regular (especular) o difusa, y puede darse también cualquier combinación intermedia. Esto da origen a las sensaciones visuales de cesía: transparencia, translucencia, brillo especular y apariencia mate, con distintos grados de luminosidad, y las formas combinadas o intermedias (Caivano, 1991). Se pueden definir cuatro propiedades: la absorbancia, la reflectancia, la transmitancia y la difusividad, que dependen de la longitud de onda. La suma de la reflectancia, la absorbancia y transmitancia es siempre igual a uno. Estas propiedades se refieren a la relación entre el flujo de luz incidente sobre el material y las propiedades de éste. La reflectancia, indica la cantidad de luz reflejada por el material, la transmitancia, la luz transmitida a través de éste, la absorbancia se refiere a la cantidad de luz absorbida y la difusividad indica la propiedad del material para modificar la dirección de la radiación luminosa que lo atraviesa.

Cuando un material transparente presenta poros o discontinuidades el índice de refracción ( $\eta$ ) del material que rellena los poros (comúnmente el aire) puede diferir del  $\eta$  del material original. De esta manera cuando la luz atraviesa el material ocurren muchos eventos de refracción haciendo que el camino óptico de los fotones individuales se vuelva caótico y la luz se disperse produciendo el fenómeno de difusión (Saarela y col., 2008). En la **Figura I-18** se muestra un esquema que explica este proceso, un elemento oscuro colocado debajo de un material transparente y altamente difusivo no es visible cuando se lo mira al

trasluz. En cambio si se reemplaza el aire de los poros con un material con el mismo índice de refracción ( $\eta$ ) de la matriz el objeto se vuelve visible.

En materiales que presentan características de translucidez la medición directa de reflectancia (realizada para alimentos opacos) no es satisfactoria debido a la gran cantidad de interacciones que ocurren entre este tipo de materiales y la luz (Little, 1964). La medición directa de una capa delgada de un material translúcido sobre un fondo blanco es suficiente para separar las muestras en el espacio de color y coincide con la apreciación visual.



**Figura I-18.** Esquema de la dispersión producida por la diferencia de índice de refracción en un material no homogéneo iluminado desde abajo. A la izquierda el objeto opaco no es visible, a la derecha se ha reemplazado el aire con un compuesto de  $\eta$  similar a la matriz y el objeto se vuelve visible. Adaptado de Saarela y col., 2008.

La teoría de Kubelka Munk (Kubelka y Munk, 1931) se aplica para comparar diferencias de color entre dos muestras. Se basa en las mediciones de reflectancia de capas delgadas del material con fondo blanco y negro, consecutivamente (Buera y Resnik, 1989).



Esta teoría se aplica en las industrias que utilizan colorantes y fundamentalmente en las fábricas que elaboran pulpa y papel. El primer postulado de la teoría de Kubelka Munk (KM) es que la iluminación sobre el medio difusor es a su vez totalmente difusa, de extensión “infinita” (esto es: no tiene bordes).

La practicidad de la teoría KM radica en que sólo utiliza dos variables para describir el fenómeno: el coeficiente de difusión o dispersión (S) y el de absorción o atenuación (K) (Lozano, 1978). En el caso de alimentos Mackinney y col. (1966) y Little y Brinner (1981) encontraron que a través de los coeficientes de atenuación (K) y de dispersión (S) de Kubelka Munk mejora la separación de muestras de salsa de manzana y té, y de soluciones de café.

Mientras el estímulo de color puede ser producido por fuentes primarias (objetos que emiten luz) o por fuentes secundarias (objetos que reflejan o transmiten la luz proveniente de otras fuentes), la variación de cesía ocurre únicamente en fuentes secundarias, es decir, en objetos que producen cambios en la distribución espacial de la luz que los incide. Otro aspecto de la apariencia lo constituye la textura visual que se refiere a la percepción de discontinuidades espaciales dadas por la rugosidad de la superficie, la cual produce pequeñas sombras. Estos cambios son debidos principalmente a las variaciones micro texturales en la superficie o volumen del objeto. Si estas variaciones en la textura son bastante pequeñas, no se perciben en el volumen, pero el efecto producido en la luz si lo es (Caivano y col., 2004).

Durante el procesado y almacenamiento de muchos productos alimenticios ocurren cambios estructurales, los cuales generan variaciones en el color, el brillo, la transparencia y la luminosidad.

## II. OBJETIVOS

### II.1. OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de este trabajo fue estudiar el impacto de las interacciones agua-sólido sobre las propiedades estructurales, atributos cromáticos y la distribución espacial de la luz en frutas liofilizadas, y su relación con el estado físico del material y la ocurrencia de reacciones químicas.

## II.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Implementar y aplicar métodos de captura y análisis de imágenes para determinar cambios cromáticos, de opacidad y de estructura que afectan la apariencia de frutas deshidratadas que presenten distribución homogénea o heterogénea de color.

Determinar la influencia combinada del estado físico del sistema, y las características estructurales y de sorción de agua sobre las propiedades de apariencia de frutas frescas, liofilizadas y re-humidificadas.

Determinar los cambios estructurales (encogimiento volumétrico) generados en frutas como consecuencia de la deshidratación, humidificación y tratamiento térmico.

Determinar los cambios en las características cromáticas de frutas liofilizadas debidos a la pérdida de pigmentos intrínsecos o a la generación de pigmentos debido al desarrollo de pardeamiento.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

### III.1. MATERIALES

Con el objetivo de caracterizar los cambios en la distribución espectral y espacial de la luz en diferentes materiales y su relación con sus propiedades físicas y químicas, se eligió trabajar con frutas de características específicas:

- Frutas con distribución de color homogénea como es el caso de manzana (var. Granny Smith), melón (var. Honeydew) y pera (var. Packam's Triumph).
- Frutas con distribución de color heterogénea como la frutilla (var. Camarosa) que presenta zonas con diversas tonalidades de blanco y rojo.

Las frutas empleadas en este trabajo fueron adquiridas en el mercado local en estado de madurez comercial.

### III.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

En la **Figura III-1** se presenta un esquema de las etapas de procesamiento de las muestras, tanto para frutas con distribución homogénea como heterogénea de color. Además se muestran las diferentes determinaciones realizadas en cada etapa.

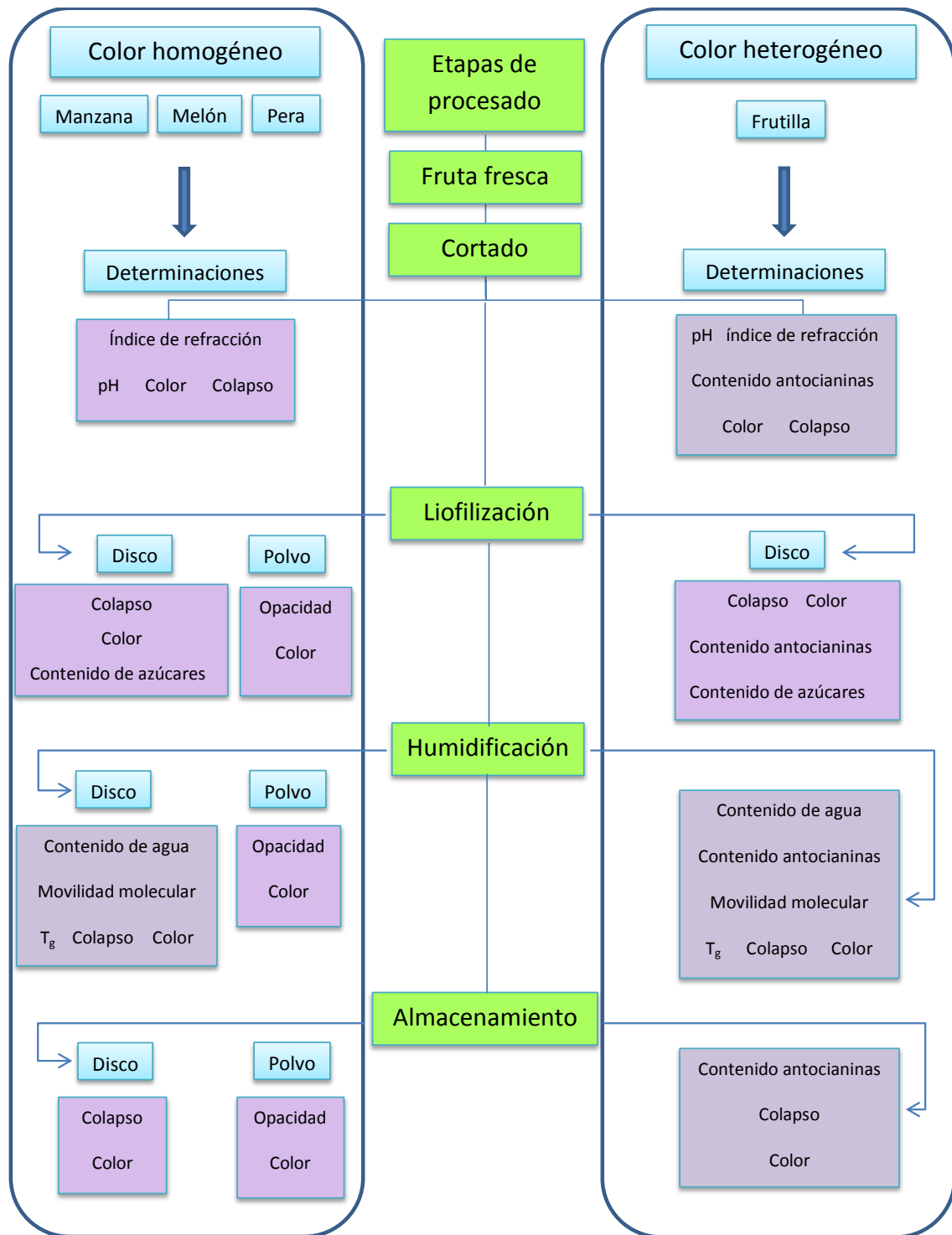


Figura III-1. Esquema de proceso y determinaciones realizadas.



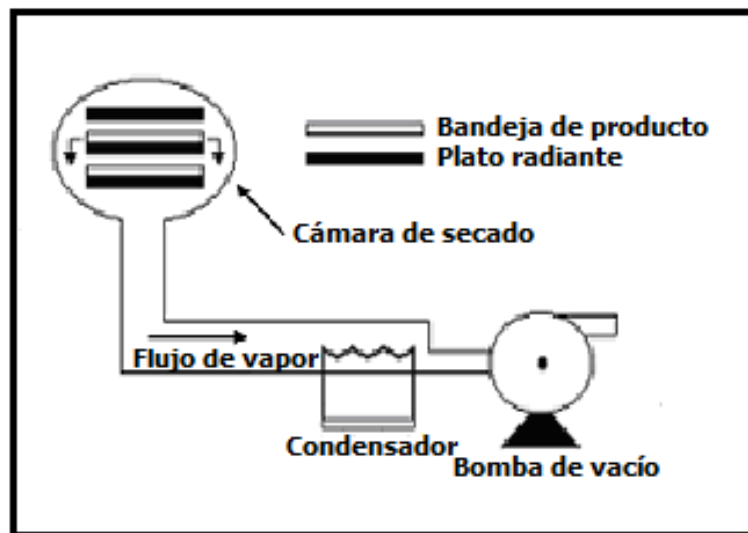
#### III.2.1. Cortado

Las frutas se lavaron y cortaron en fetas de diferentes espesores de acuerdo a cada caso con una feteadora de alimentos (Yelmo FS 5300). Luego empleando un sacabocado, se cortaron cilindros de diversos diámetros de acuerdo a la determinación. Parte de las muestras se conservaron frescas para realizar diversas determinaciones. El resto de los discos se congelaron rápidamente con nitrógeno líquido (-196 °C) y se almacenaron a -20 °C hasta el momento de su tratamiento.

- a. **Muestras para el análisis de color:** Las muestras empleadas para la determinación de las variaciones de color se cortaron en discos de 0,5 cm de espesor y 2,5 cm de diámetro.
- b. **Muestras para el análisis de encogimiento:** Para el análisis de encogimiento se cortaron discos de 0,7 cm de espesor y 1,5 cm de diámetro.
- c. **Muestras para el análisis de cambios en la opacidad con el índice de refracción:** Para determinar los cambios de opacidad con el índice de refracción se cortaron discos de melón fresco de 0,3 cm de espesor y de 2,5 cm de diámetro. Dichos cilindros se escaldaron en vapor de agua a 90 °C por 90 segundos con el objetivo de inactivar las enzimas que generan cambios de color. Luego del escaldado, algunos discos de melón se laminaron con un rodillo de manera de obtener láminas finas de fruta, que permitieran el estudio del efecto de diferentes estructuras sobre la opacidad, y otros se conservaron sin laminar.

### III.2.2. Liofilización

Las frutas se sometieron a un proceso de liofilización por un periodo de 48 horas, este procedimiento se realizó en un liofilizador ALPHA 1-4 LD2 (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GMBH Alemania), cuya placa condensadora opera a una temperatura de  $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$  y una presión de 4 Pa. En la **Figura III-2** se muestra el esquema básico del equipo liofilizador empleado.



**Figura III-2.** Esquema básico de un equipo liofilizador como el empleado en este trabajo.

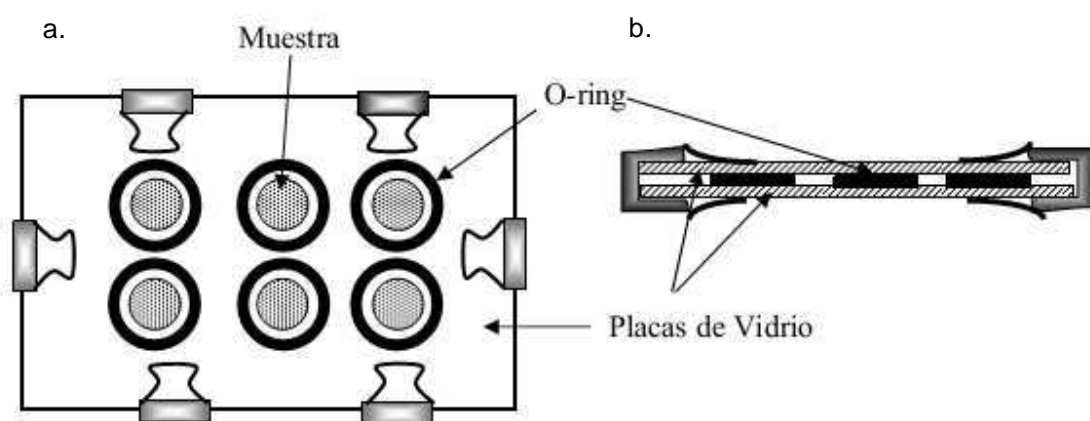
### III.2.3. Humidificación

Una vez concluida la liofilización, parte de las muestras se conservaron en forma de discos y parte fueron pulverizadas, de manera de estudiar el comportamiento de los materiales con diferentes características estructurales. La pulverización se realizó empleando un molinillo eléctrico para café marca Braun. Luego el polvo se distribuyó en recipientes plásticos.

Las frutas liofilizadas (tanto en discos como en polvo) se almacenaron en desecadores de vacío, a tres temperaturas 10, 25, y  $45 \pm 2$  °C por un período de 14 días a diversas humedades relativas (HR) empleando soluciones saturadas de las siguientes sales: cloruro de litio, acetato de potasio, cloruro de magnesio, carbonato de potasio, nitrato de magnesio, cloruro de sodio, y cloruro de potasio logrando HR del orden de 11%, 22%, 33%, 43%, 52%, 75% y 84% respectivamente (Greenspan, 1977).

### III.2.4. Almacenamiento

Los discos y polvos de frutas liofilizados y humidificados se distribuyeron dentro de aros de goma adheridos a una placa de vidrio, luego se colocó una segunda placa de manera de sellar herméticamente las muestras y evitar cambios en la humedad del material durante el tratamiento térmico (**Figura III-3**).



**Figura III-3.** Esquema de los dispositivos empleados para el tratamiento térmico de los sistemas, vista superior (a) y vista lateral (b).

En el caso de las muestras en polvo, las frutas pulverizadas se distribuyeron y compactaron en las placas de vidrio de manera que el espesor fuera similar al de las muestras en discos. Para lograr el mismo espesor, fue necesario utilizar mayor cantidad de material.

Se determinó el porcentaje de masa adicional de material en las muestras pulverizadas, para ello, se comparó el peso de cada disco y del polvo, mediante el empleo de la **Ecuación III-1**. Los valores reportados en este trabajo corresponden al promedio de 6 determinaciones.

$$\% \text{masa} = \frac{P_1}{P_2} \times 100 \quad \text{(Ecuación III-1)}$$

Donde,

$P_1$  es el peso de la muestra pulverizada

$P_2$  es el peso de la muestra en disco

Además, las placas conteniendo las frutas en polvo se re-humidificaron por un día más para contrarrestar los cambios ocurridos durante la manipulación de las mismas. Las placas conteniendo las frutas en discos y polvos se almacenaron en una estufa de corriente de aire a  $45 \pm 1$  °C. A determinados intervalos de tiempo las muestras se retiraron de la estufa para realizar las distintas determinaciones, y luego se almacenaron nuevamente para continuar con el tratamiento térmico.

### III.3. METODOLOGIA

#### III.3.1. Isotermas de sorción de agua

##### a. Determinación de los contenidos de agua

La determinación del contenido de agua se realizó sobre las muestras previamente equilibradas a las diferentes humedades relativas. Se determinó el contenido de agua por diferencia de peso, antes y después del secado en estufa de vacío a una temperatura de 70 °C durante un periodo de 48 horas y en presencia de desecante (perclorato de magnesio). Los contenidos de agua obtenidos se expresaron como porcentaje de agua en base seca, utilizando la siguiente ecuación:

$$\% H_2O = \frac{P_i - P_f}{P_f - P_r} \times 100 \quad \text{(Ecuación III-2)}$$

Donde,

$P_i$  es el peso de la muestra antes del tratamiento

$P_f$  es el peso de la muestra después del tratamiento

$P_r$  es el peso del vial de 5 mL correspondiente vacío.

##### b. Aplicación de modelos de ajuste

Se graficó la isoterma de sorción de agua a 10, 25 y 45 °C y se ajustó la ecuación de Guggenheim-Anderson-de Boer (GAB) (Ecuación III-3) y la ecuación generalizada de D'Arcy y Watt (GDW) (Ecuación III-4) a los valores

experimentales. Estas ecuaciones son ampliamente utilizadas en modelos de alimentos y se aplican en un amplio rango de HR como el empleado en este trabajo (Saravacos y col., 1986; Furmaniak y col., 2007a, b, 2009; Yanniotis y Blahovec, 2009).

$$m = \frac{m_0 C K a_w}{(1 - K a_w)(1 - K a_w + C K a_w)} \quad \text{(Ecuación III-3)}$$

Donde,

m es el contenido de agua en base seca

$m_0$  es el contenido de agua límite de hidratación cinética relacionada con la adsorción en la primera capa

$a_w$  es la actividad de agua expresada como HR/100

C es la constante Guggenheim y está relacionada con el calor de sorción del agua a la primera capa de sitios activos del sólido

K es un factor que corrige las propiedades de las moléculas de agua de la multicapa respecto del agua libre

$$M_e = \frac{m K a_w}{1 + K a_w} \times \frac{1 - k(1 - w) a_w}{1 - k a_w} \quad \text{(Ecuación III-4)}$$

Donde,

$M_e$  es el contenido de humedad en equilibrio

m es el máximo valor de adsorción en sitios primarios

$a_w$  es la actividad de agua expresada como HR/100

w es el coeficiente que determina la relación de moléculas de agua adsorbidas en sitios primarios convertidos en secundarios

K es la constante cinética relacionada con la adsorción en sitios primarios

k es la constante cinética relacionada con la adsorción en sitios secundarios

Cabe aclarar que la humedad de equilibrio  $M_e$  (GDW) es igual  $m$  (GAB) solamente cuando  $k_{GDW} = 1$ .

#### **III.3.2. Determinación del contenido de azúcares**

Se elaboraron extractos etanólicos de cada fruta para determinar el contenido de azúcares solubles. Para ello se partió de 1 g de fruta liofilizada y se llevó a 10 mL con etanol 80% (p/p), y se realizó el mezclado por agitación. Posteriormente los extractos se dejaron en reposo a 4 °C por un periodo de 24 horas, y se mantuvieron a dicha temperatura hasta su análisis.

El contenido de azúcares: glucosa, sacarosa y fructosa se determinó a través de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Para ello se empleó un cromatógrafo Kontron (Eching Alemania) con detector de índice de refracción. Se trabajó con una columna Thermo Hypersil Amino, 250 x 4,6 mm; diámetro de partícula 5  $\mu\text{m}$ . La corrida se realizó con flujo isocrático 1 mL/min utilizando como fase móvil acetonitrilo:agua (70:30) grado HPLC (J.T.Baker, Estados Unidos). Los análisis se realizaron por duplicado inyectando un volumen de muestra de 10  $\mu\text{l}$ .

### III.3.3. Determinación del índice de refracción

Se analizaron los cambios de opacidad debidos al índice de refracción en discos de fruta liofilizados. Para ello se determinaron los índices de refracción (IR) de los discos de melón liofilizados y laminados con rodillo, y de las diversas soluciones empleadas (agua destilada, aceite de maíz y polietilenglicol 400). Los IR se determinaron empleando un refractómetro digital Reichert AR 200 (Reichert opthalmic Instruments, Reichert Inc. USA).

En la **Tabla III-1** se muestran los valores de los índices de refracción de las sustancias empleadas en este trabajo.

**Tabla III-1.** Índice de refracción de diversas sustancias empleadas.

Sustancia	IR	°C
Agua	1,3330	20
Polietilenglicol 400	1,4615	20
Aceite de maíz	1,4727	20

Los discos de fruta liofilizados se embebieron en los fluidos con diversos índices de refracción. Este experimento se realizó a temperatura ambiente (20 °C), embebiendo las muestras por 7 horas y además con los fluidos calientes (80 °C). Las altas temperaturas generan degradación de las estructuras celulares por lo que en este caso la imbibición se realizó por 3 minutos.



Además de las mediciones de índice de refracción se tomaron imágenes durante 7 horas de imbibición en el caso de las muestras tratadas a 20 °C. Para los discos tratados a 80 °C, se tomaron las fotografías una vez que las muestras recobraran la temperatura ambiente.

#### **III.3.4. Determinación del pH**

Se elaboró jugo de fruta, por el licuado de fruta fresca con una multiprocesadora (Braun) y se determinó su pH usando un pHmetro (Mettler Delta 320, Suiza), con un electrodo de superficie (Mettler Toledo 427, Suiza), calibrado con soluciones tampón de pH 4 y 7. Las muestras se analizaron por duplicado y se informan los promedios de los datos.

#### **III.3.5. Medición de transiciones térmicas**

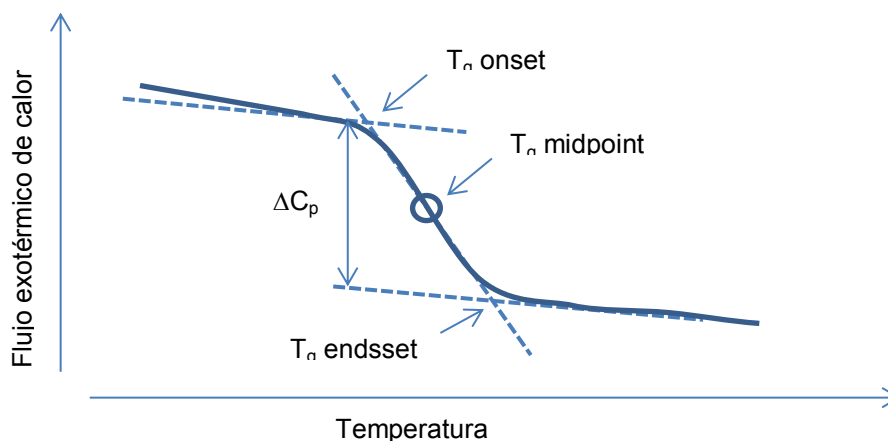
Las transiciones térmicas en las muestras de fruta equilibradas a distintas humedades relativas se determinaron utilizando un calorímetro diferencial de barrido (DSC) Metter Toledo 822<sup>e</sup> y se evaluaron empleando un software para análisis térmico Star<sup>e</sup> (**Figura III-4**). El instrumento se calibró con indio (punto de fusión 156,6 °C), plomo (punto de fusión 327,5 °C) y zinc (punto de fusión 419,6 °C). Las determinaciones se realizaron a una velocidad de calentamiento constante de 10 °C/min en un rango de temperatura comprendido entre -100 y 90 °C. Todas las mediciones se realizaron en cápsulas de aluminio de 40 µl selladas herméticamente y utilizando una cápsula vacía y perforada como

referencia. Se utilizó una corriente continua de nitrógeno gaseoso de 200 mL/min medida con un caudalímetro para evitar la condensación de agua sobre las cápsulas y sobre el sensor.



**Figura III-4.** Fotografía del equipo de calorimetría diferencial de barrido.

Las temperaturas de transición vítrea ( $T_g$ ) se determinaron en forma dinámica a partir de las discontinuidades detectadas en las curvas de flujo de calor en función de la temperatura. La  $T_g$  se consideró como la temperatura a la cual comienza el cambio en el calor específico (valor “onset”) que se detecta en el termograma como un corrimiento endotérmico en la línea de base (**Figura III-5**).



**Figura III-5.** Termograma obtenido por calorimetría diferencial de barrido donde se muestran la temperatura de transición vítrea.

A partir de los resultados obtenidos se graficaron las curvas de temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) en función de la fracción másica de cada muestra. A los valores experimentales se les realizó un ajuste no lineal con la ecuación de Gordon y Taylor (1952), mediante el uso de la siguiente ecuación:

$$T_g = \frac{(1 - w_1)T_{g(as)} + kw_1T_{g(w)}}{(1 - w_1) + kw_1} \quad \text{(Ecuación III-5)}$$

Donde,

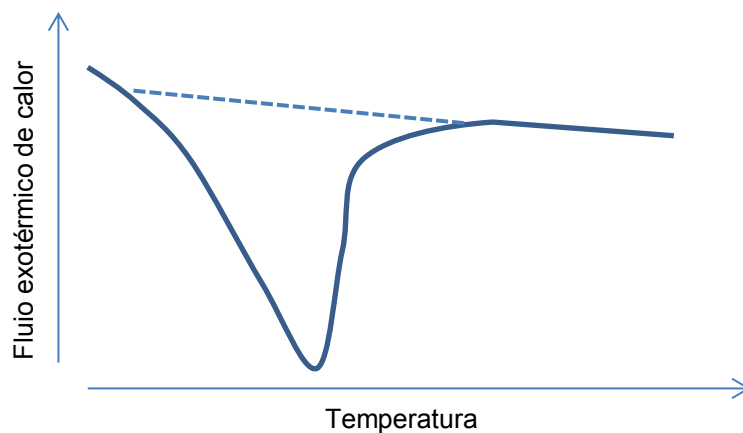
$w_1$  es la fracción másica de agua (g agua/g fruta)

$T_{g(as)}$  es la temperatura de transición vítrea del sólido anhidro

$T_{g(w)}$  es la temperatura de transición vítrea del agua pura:  $-135\text{ }^\circ\text{C}$  (Roos, 1995a)

$k$  es la constante de Gordon y Taylor.

Además se detectaron los picos de fusión correspondientes al agua congelada durante el enfriamiento en muestras de alta humedad relativa (**Figura III-6**).



**Figura III-6.** Termograma obtenido por calorimetría diferencial de barrido donde se muestra el pico de fusión de agua congelable.

### III.3.6. Determinación del contenido de antocianinas

Las antocianinas se extrajeron siguiendo la metodología reportada por Guisti y Wrolstad (2001) con algunas modificaciones. 1 gramo de frutilla fresca o 0,3 gramos de frutilla deshidratada se mezclaron con 25 mL de etanol al 95% acidificado con ácido clorhídrico 1,5N (85:15). La mezcla se mantuvo a temperatura de refrigeración (4 °C) toda la noche y luego se filtró. El residuo sólido se lavó exhaustivamente con el solvente de extracción y se llevó a un volumen final de 50 mL.

Se determinó el contenido total de antocianinas monoméricas usando el método de pH diferencial, de acuerdo al método descrito por Guisti y Wrolstad, (2001). Se midió la absorbancia a 516 y 700 nm usando un espectrofotómetro UV-visible Jasco v-630 (Jasco corp. Tokio Japón). El mayor componente fenólico identificado en los extractos de frutilla es la pelargonidina-3-glucósido y en menor proporción la cianidina-3-glucósido (Proteggente y col., 2002). Por lo tanto, el contenido total de antocianinas en este trabajo se calculó de acuerdo a la **Ecuación III-6** y se expresó como mg de pelargonidina-3-glucósido por 100 gramos. Los valores reportados en este trabajo corresponden al promedio de 3 determinaciones.

$$\text{Concentración de Antocianinas (mg/100g)} = \frac{A \times PM \times FD \times 1000}{\epsilon \times l} \quad \text{(Ecuación III-6)}$$

Donde,

$$A = (A_{\text{max}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}1.0} - (A_{\text{max}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}4.5}$$

$A_{\max}$  es la absorbancia máxima (516 nm)

$A_{700\text{nm}}$  es la absorbancia a 700 nm

PM es el peso molecular de la pelargonidina 3-glucósido (433,2 g/mol)

FD es el factor de dilución

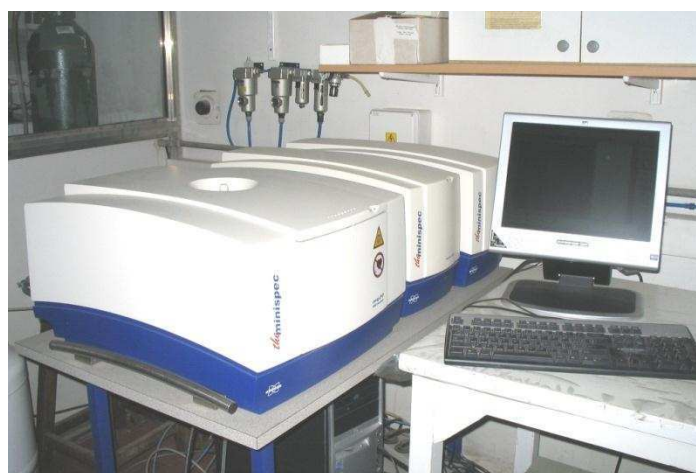
l es el paso óptico en centímetros

$\epsilon$  es el coeficiente de extinción molar de la pelargonidina (31.600).

#### III.3.7. Medición de los tiempos de relajación

En este trabajo se utilizó la técnica de resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H}$  RMN) resuelta en el tiempo, con el objetivo de estimar la movilidad molecular de los sólidos y el agua de las muestras. Se midieron los tiempos de relajación espín-espín ( $T_2$ ). Se empleó un equipo Bruker Minispec mq20 (20 MHz) (Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, Alemania) (**Figura III-7**).

Las muestras se colocaron en tubos específicos para el equipo empleado, de 10 mm de diámetro y 20 cm de altura, con la ayuda de un sacabocado, hasta una altura de 3 cm aproximadamente.



**Figura III-7.** Fotografía del equipo de resonancia magnética nuclear.

El tiempo de relajación  $T_2$  se estimó mediante tres métodos: el método FID (Free Induction Decay) que consiste en la aplicación de un pulso de  $90^\circ$  y la medición del decaimiento exponencial de la señal. Los tiempos de relajación más largos (tales como los correspondientes a los protones con mayor movilidad) se midieron utilizando la secuencia de pulsos de eco de espín de Hahn ( $90^\circ$ - $\tau$ - $180^\circ$ ) (Hahn, 1950) con un rango de tiempos interpulso de 0,001 a 4 ms. Este rango se seleccionó para poder registrar el decaimiento completo de la señal. El método CPMG (Carr, Purcell, Meiboon y Gill) (Meiboon y Gill, 1958) usado en muestras humidificadas a HR iguales o superiores a 52% consiste en la aplicación de una secuencia de pulsos ( $90^\circ$  -  $\tau$  -  $180^\circ$  -  $\tau$  -  $180^\circ$  - ...) y la medición del decaimiento exponencial.

Para determinar las constantes de decaimiento y los tiempos de relajación se aplicaron ecuaciones de decaimiento mono o bi-exponenciales empleando el programa Origin 7,0.

Antes de realizar la medición, las muestras se equilibraron durante 15 minutos a diferentes temperaturas 25 y 45 °C en un baño termostático (Haake Phoenix II C35P). El RMN se calibró para las determinaciones de  $T_2$  para el método FID con patrones provistos por Bruker. Para el método Hahn y CPMG el equipo se calibró empleando una muestra de polivinilpirrolidona a humedad relativa de 52%, que se comprobó que es adecuada para representar el tipo de muestras analizadas en este trabajo.

### III.3.8. Sistema de visión computarizada (SVC)

Las variaciones en las características estructurales, cromáticas y de apariencia de las frutas se estudiaron mediante el uso de un sistema de visión computarizada (SVC) como el que se describe a continuación:

La toma de imágenes se realizó usando un sistema de visión computarizada (**Figura III-8**) que consta de una caja color gris estándar (N7 escala Munsell) de dimensiones internas de 48 cm de ancho, 62 cm de largo y 48 cm de alto. El interior de la caja cuenta con un sistema patrón de iluminación (iluminante D65) ubicado en la parte superior de la misma, una cámara digital (EOS 40D, Canon, Inc., Tokio, Japón) de alta resolución (10,1 mega-píxeles), la cual cuenta con un lente macro EF-S 60 mm f 2,8 (Canon Inc., Japón) ubicada de manera de formar un ángulo de 45° con el plano de la muestra a una distancia de lente de 40 o 60 cm, de acuerdo al tamaño de la muestra. Se fijaron los siguientes parámetros: velocidad de obturación 1/6,3 segundos (sin *zoom*, ni *flash*), modo macro enfocado, apertura de f=8 y sensibilidad ISO 100. Las imágenes se obtuvieron con una resolución de 3888 x 2592 píxeles, y se guardaron en formato JPEG. El sistema de adquisición de imágenes se encuentra conectado a una computadora (Pentium 4, CPU 1.80GHz, 1,09 GHz de RAM), empleando un programa de captura remota de Canon Utility (Canon Inc., Tokio, Japón) conectados a través de un puerto USB.



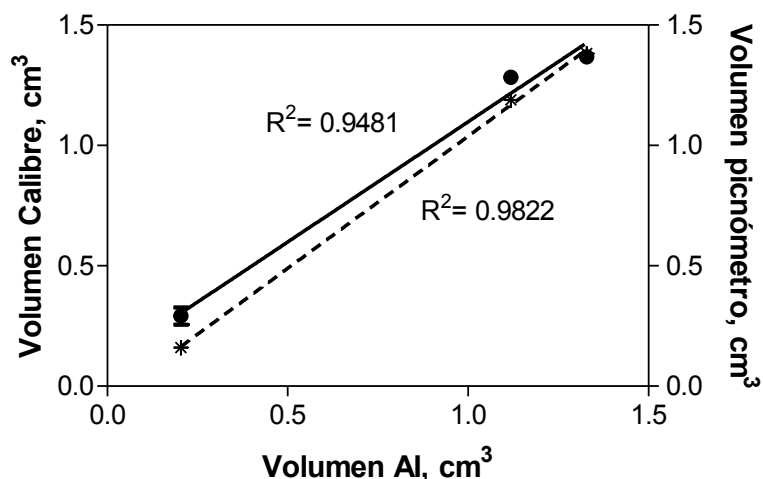
**Figura III-8.** Sistema de visión computarizada para la adquisición de imágenes.

### III.3.9. Calibración del SVC para la medición del grado de colapso

Las fotografías se tomaron en la cabina de iluminación estandarizada utilizando un iluminante D65 a una distancia de 24 cm de manera de lograr una proporción en tamaño 1:1.

En la **Figura III-9** se muestran los valores de volúmenes obtenidos por la técnica tradicional de medición de dimensiones con un calibre ( $\pi D^2/4 * H$ ); un picnómetro cilíndrico para muestras sólidas empleando agua destilada como solvente y por análisis de imagen de discos de melón fresco, elegido como material representativo de todas las frutas estudiadas. Para la calibración se usaron veinte (20) discos de fruta fresca con 3 diámetros diferentes (0,6, 1,3 y 1,5 cm) y se compararon sus valores.





**Figura III-9.** Correlación entre los volúmenes medidos con un calibre (estrellas y línea punteada), un picnómetro (círculo y línea llena) y análisis de imagen (AI).

Se verificó una correlación lineal entre los tres métodos empleados para la determinación de volumen, cuyos coeficientes de determinación fueron de 0,9822 y 0,9481 para medición tradicional de dimensiones y picnometría respectivamente. Debido a la buena correlación que se obtuvo entre los métodos empleados, los datos que se presentan en este trabajo son los obtenidos a través del análisis de imagen sin correcciones posteriores.

### III.3.10. Medición del grado de colapso

Los cambios en el volumen superficial de los discos se analizaron a partir de las imágenes obtenidas con el sistema de visión computarizada descrito en la sección III.3.8. El grado de colapso se determinó a través del cálculo del volumen de los discos antes ( $V_0$ ) y al finalizar el tiempo de humidificación y tratamiento térmico a 45 °C ( $V_t$ ) y expresado en porcentaje de acuerdo a la siguiente ecuación:

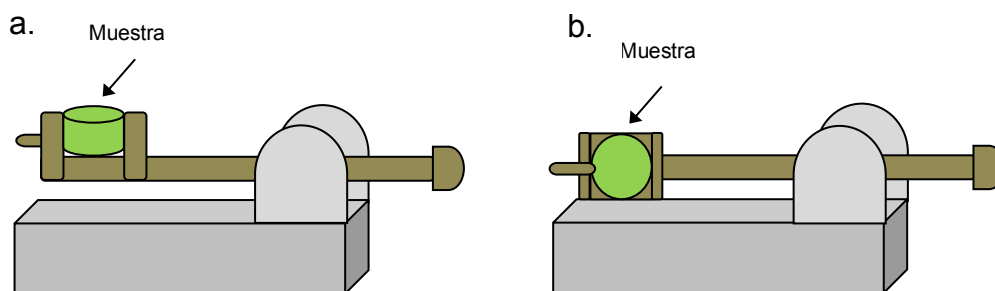
$$D_c(\%) = 100 - \left(\frac{V_t}{V_0}\right) \cdot 100 \quad \text{(Ecuación III-7)}$$

Donde,

$V_0$  es el volumen de la muestra antes de la humidificación

$V_t$  es el volumen de la muestra al finalizar la humidificación o el tratamiento térmico.

Los valores reportados en este trabajo corresponden al promedio de 6 determinaciones. Se tomaron imágenes de la parte frontal y lateral de los discos de fruta empleando para ello un dispositivo (**Figura III-10**).

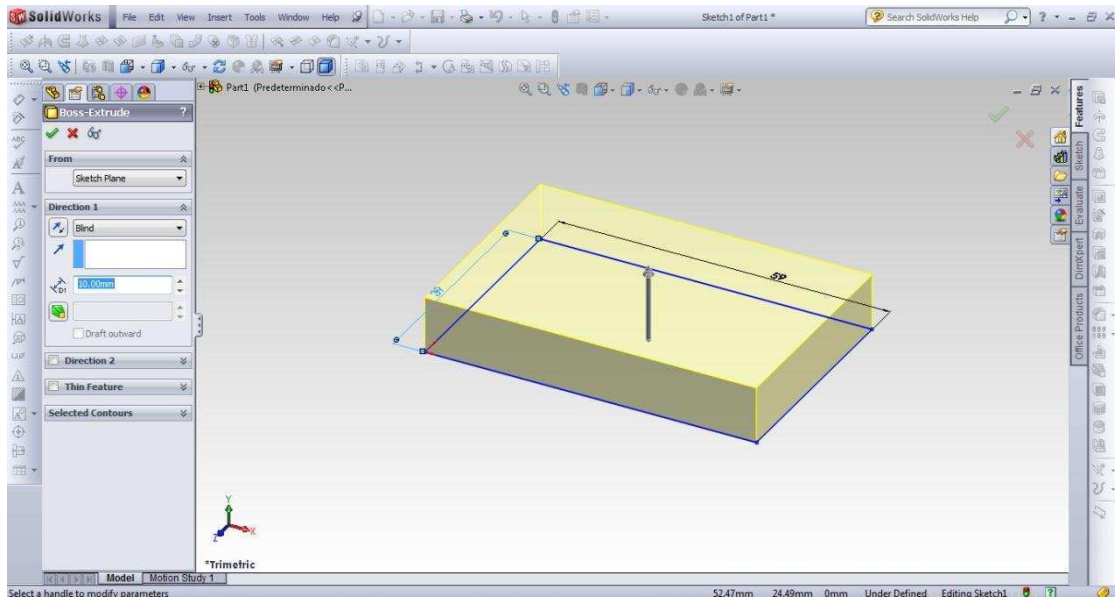


**Figura III-10.** Esquema del dispositivo para la toma de las imágenes, vista lateral (a) y vista frontal (b).

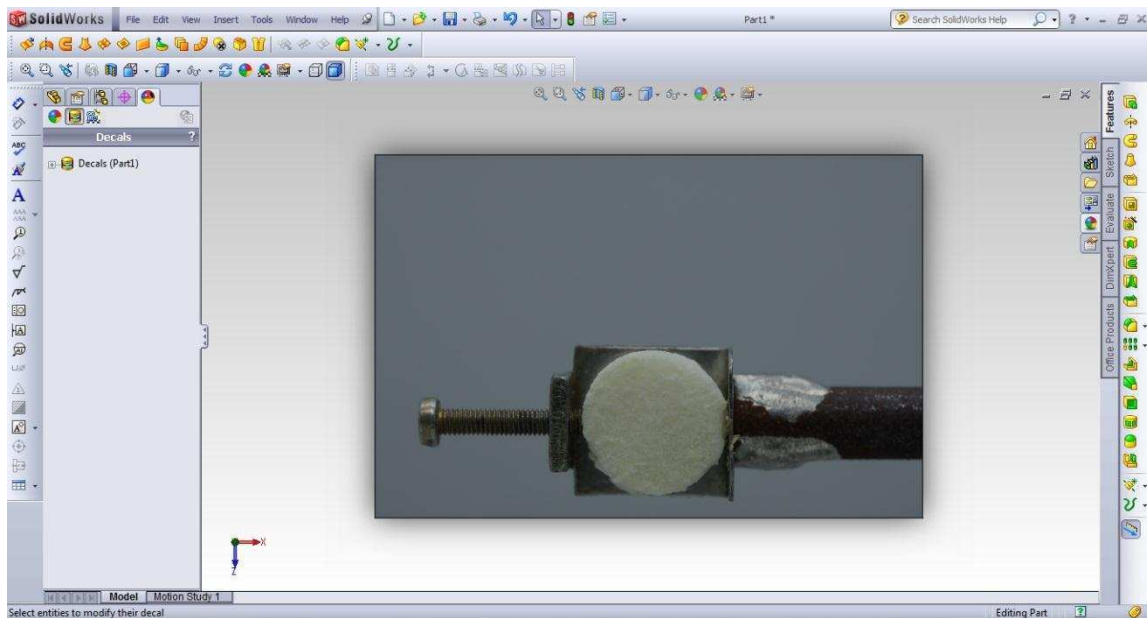
Las imágenes se procesaron a través del software de modelación mecánica SolidWorks 2011 (SolidWorks corp.) con la siguiente secuencia de pasos:

1. Se extruye un rectángulo con las dimensiones reales de las fotografías (Comando menú Croquis, selección rectángulo, aplicación de cotas 5,9 cm de largo y 3,9 cm de ancho y seleccionar extruir).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

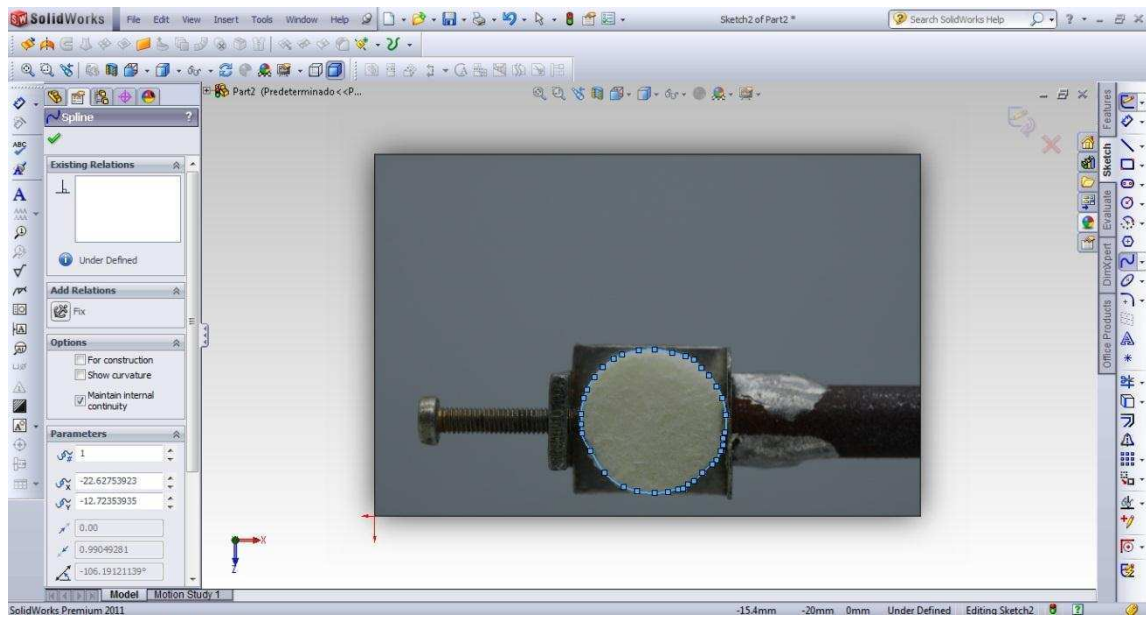


2. Se pega sobre el rectángulo la fotografía frontal del disco (comando menú apariencias, calcomanía).

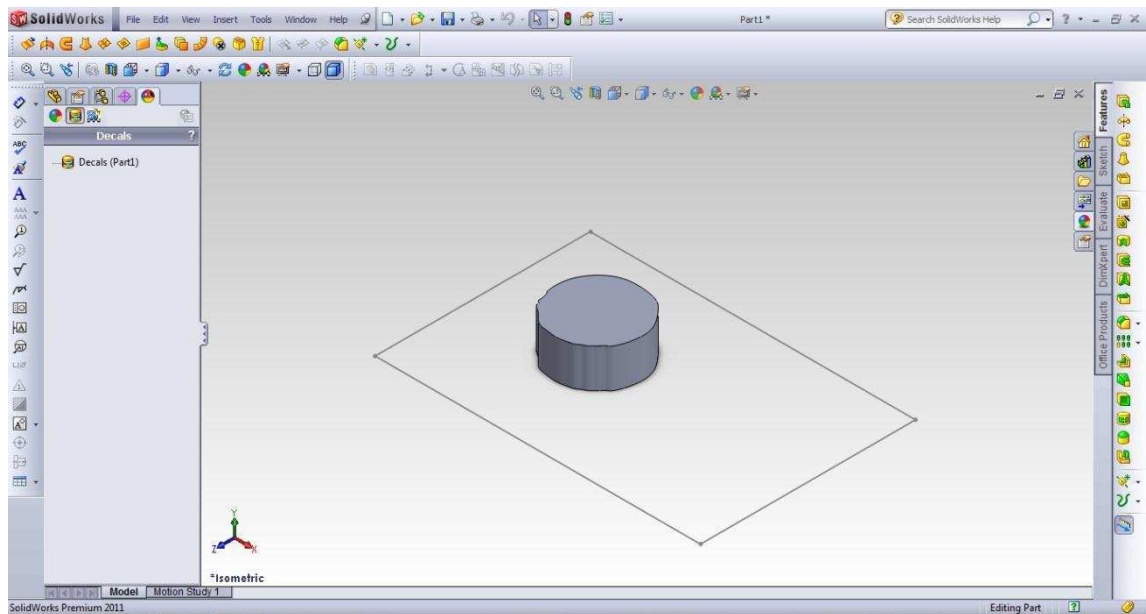


3. Se dibuja el contorno de la rodaja (comando menú *spline*).

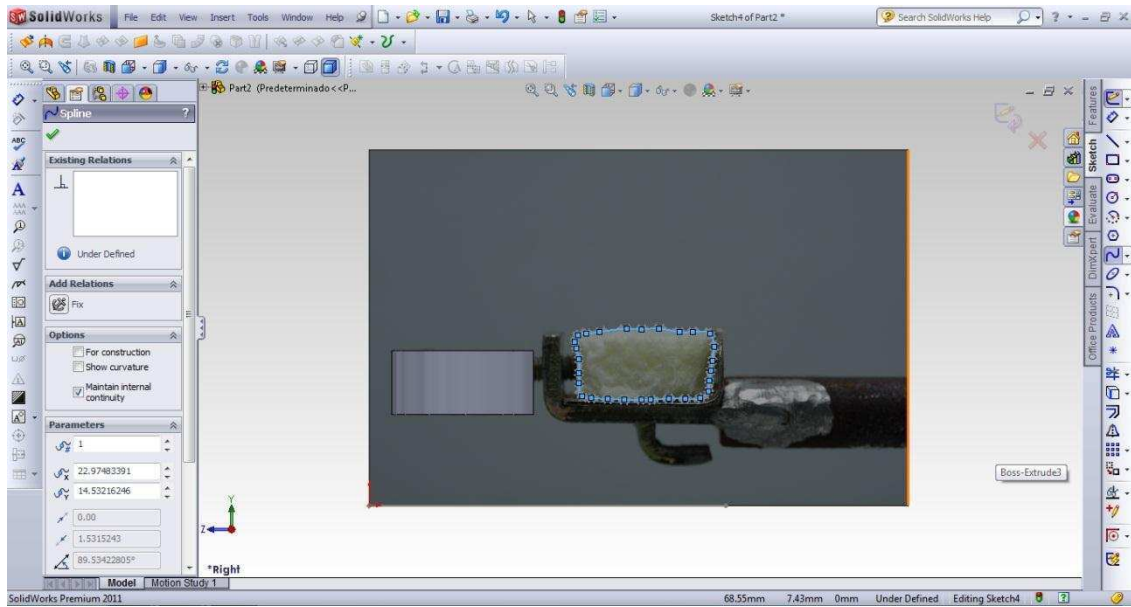
### III. MATERIALES Y MÉTODOS



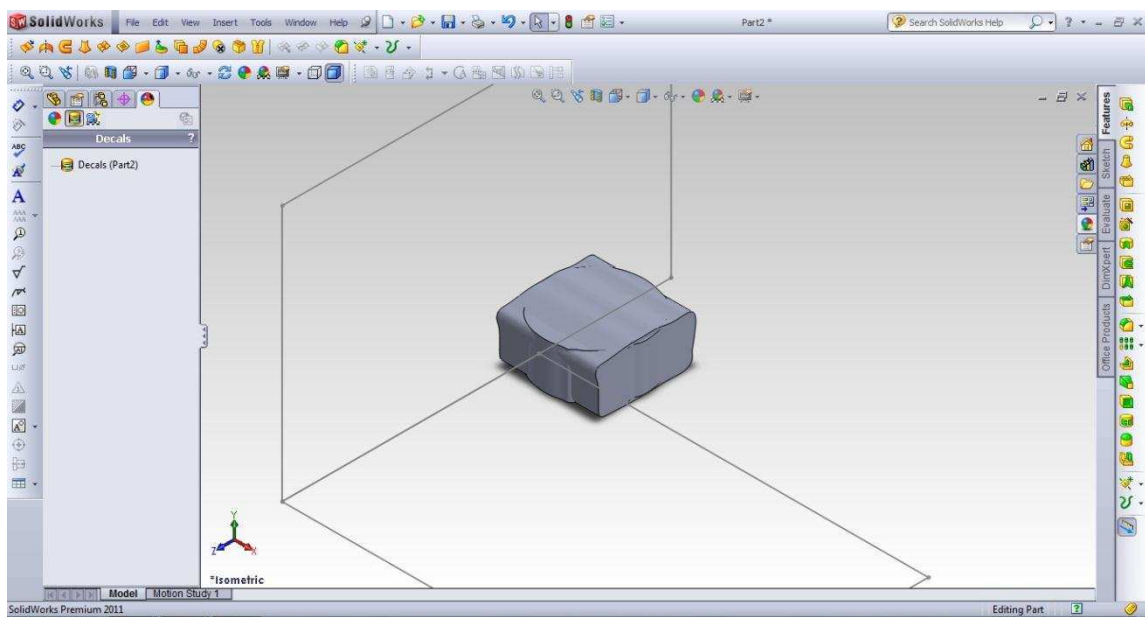
4. Se realiza una extrusión (comando menú extruir) de 0,7 cm correspondiente a la altura de los discos y se elimina el rectángulo formado en el primer paso.



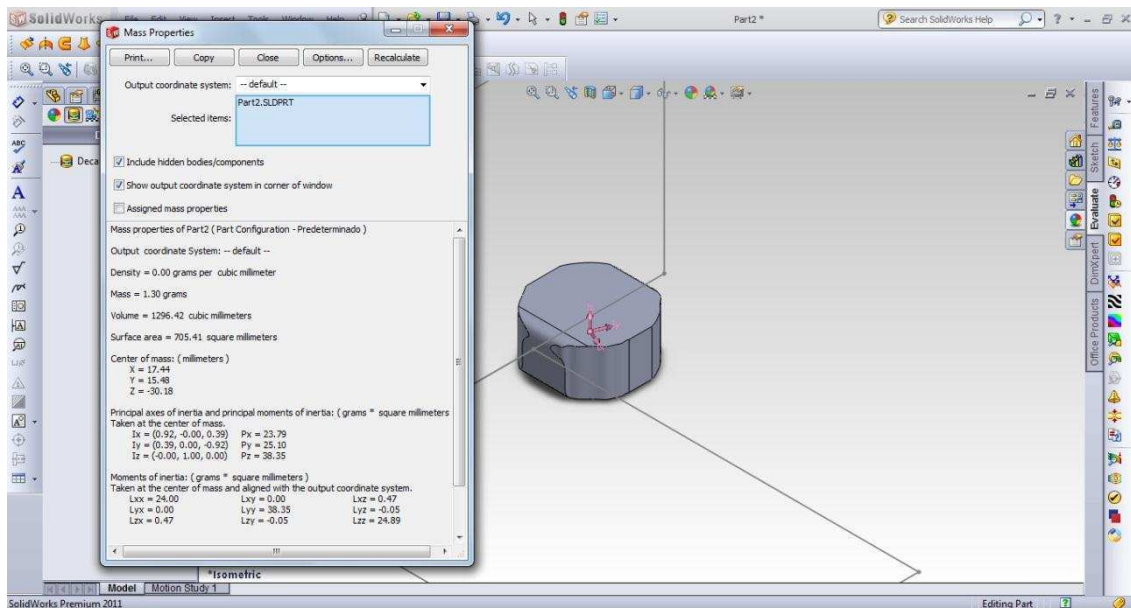
5. Se repiten los procedimientos anteriores y se pega sobre el rectángulo la fotografía de la cara lateral de los discos.



6. Teniendo los dos sólidos formados, se realiza la unión y combinación de ambos formando un sólido tridimensional (comando menú herramientas, operaciones, mover y combinar).



## 7. Se calcula el volumen del sólido resultante (comando menú calcular)



## III.3.11. Calibración del sistema de adquisición de imágenes para variables cromáticas

El sistema de visión computarizada se calibró utilizando como referencia un espectrocolorímetro Minolta CM-508d (Minolta Co. Ltd., Japón). Se utilizaron cincuenta tarjetas de cartón de diferentes colores, opacas, Las cuales no presentaron fluorescencia detectable bajo luz ultravioleta con el sistema de visión computarizada utilizado. El rango de color de los patrones se eligió de manera que sus valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  incluyeran a los obtenidos a partir de las muestras.

Dichas tarjetas se midieron con el espectrocolorímetro utilizando las siguientes condiciones: ángulo de observador:  $2^\circ$ , iluminante: D65, componente especular excluída. Se utilizó un espesor suficiente para que la medición no fuera afectada por el fondo. Además se fotografiaron las tarjetas en la cabina de

iluminación estandarizada utilizando un iluminante D65. Para ajustar el balance de grises se utilizó una tarjeta gris estándar marca Kodak con 18% de reflectancia que equivale a un valor del  $L^* = 50$  como fuera descrito por Briones y Aguilera (2005). Se determinó el color por análisis de imágenes como se describió en la sección III.3.8 y luego se corroboró que los valores de los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  obtenidos por análisis de imagen coincidieran con los del fotocolorímetro mediante una regresión lineal. Todas las mediciones se realizaron por triplicado y los resultados se promediaron.

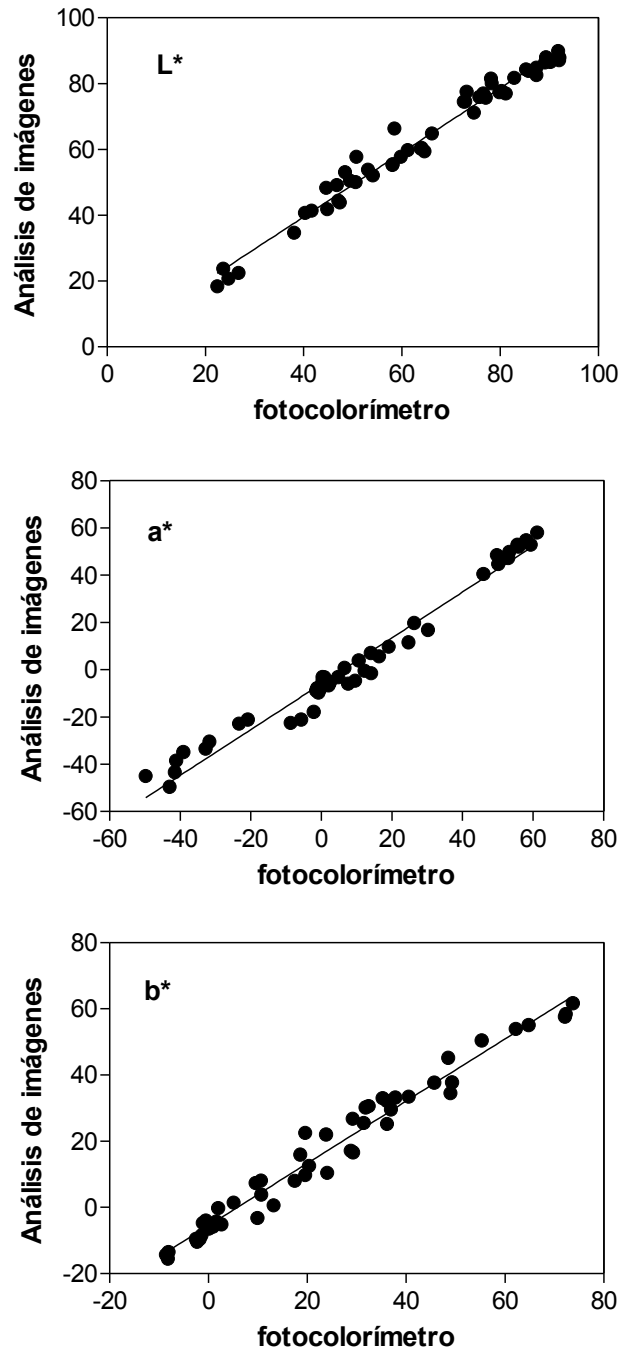
En la **Figura III-11** se muestran las gráficas de los valores de cada uno de los tres parámetros de color en el sistema CIELAB, obtenidos por análisis de imagen en función de los valores medidos con el fotocolorímetro. En todos los casos se utilizaron las herramientas de programa de análisis Photoshop CS4 (Adobe Systems Inc., San Jose, CA) que permitieron seleccionar solamente el área de la muestra de interés, excluyendo el fondo y zonas sombreadas.

En el rango de valores de trabajo se verificó una correlación lineal entre ambos métodos, y los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) fueron los siguientes:  $L^* = 0,9771$ ,  $a^* = 0,9739$  y  $b^* = 0,9711$ , las correlaciones fueron significativas ( $p < 0,001$ ) para los tres parámetros. Por lo tanto, los valores obtenidos a partir del análisis de imágenes se corrigieron aplicando las siguientes ecuaciones:

$$L^*_{\text{corregido}} = \frac{L^*_{\text{imagen}} - 0,4151}{0,977} \quad \text{(Ecuación III-8)}$$

$$a^*_{\text{corregido}} = \frac{a^*_{\text{imagen}} + 5,974}{0,97} \quad \text{(Ecuación III-9)}$$

$$b^*_{\text{corregido}} = \frac{b^*_{\text{imagen}} + 5,5162}{0,9405} \quad (\text{Ecuación III-10})$$



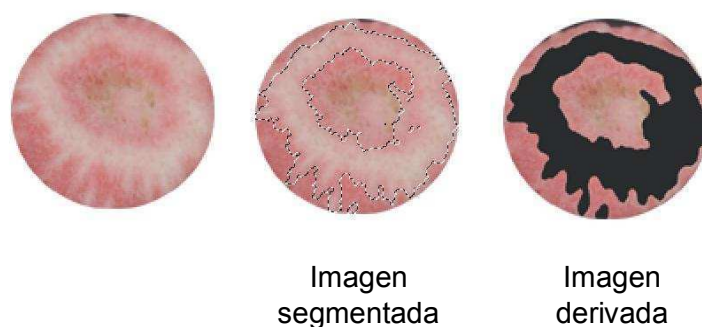
**Figura III-11.** Correlación entre los valores medidos con el fotocolorímetro y por análisis de imágenes para los parámetros L\*, a\* y b\*.



### III.3.12. Medición de variables cromáticas

Se tomaron imágenes de las muestras opacas sobre un fondo blanco y las fotografías de las muestras translúcidas se obtuvieron sobre fondo blanco y negro. Las fotografías se analizaron en el espacio de color Lab usando el programa Adobe Photoshop CS4 (Adobe Systems Inc., San Jose, CA) y los datos obtenidos se convirtieron al espacio CIELAB (1974) ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) a través de fórmulas matemáticas descritas por Papadakis y colaboradores (2000).

En el caso de las muestras con distribución heterogénea de color (frutillas), para estudiar los cambios de color se aplicó el método de segmentación de las imágenes (Balaban, 2008) (**Figura III-12**). Este método permitió identificar todos los píxeles en una imagen que tiene atributos de color ( $L$ ,  $a$  y  $b$ ) para umbrales diferentes. Una vez que se identifican y se cuentan los píxeles, entonces se puede calcular su porcentaje en el área total estudiada. Siguiendo esta técnica, las imágenes de frutillas se segmentaron en 2 zonas diferentes de acuerdo a sus valores de  $a^*$ . Los intervalos elegidos fueron: desde -0,5 hasta 17 (que representa la zona más clara o blanca del material), y desde 17 hasta 28 (representando la zona roja). El número de píxeles de cada zona de los discos de frutilla se cuantificó y se calculó su porcentaje. Los valores reportados en este trabajo corresponden al promedio de 12 determinaciones.



**Figura III-12.** Ejemplo de segmentación de imágenes en discos de frutilla liofilizada.

### III.3.13. Medición de la translucidez

El grado de opacidad de las muestras (discos y polvos) se calculó como la relación entre el valor de luminosidad ( $L^*$ ) obtenido con fondo negro y con fondo blanco mediante la siguiente ecuación:

$$Opacidad = \frac{L^*_{fondo\ negro}}{L^*_{fondo\ blanco}} \quad (\text{Ecuación III-11})$$

El valor de opacidad igual a 1 corresponde a muestras opacas, valores menores corresponden a diferentes grados de translucidez.

Para estudiar el grado de translucidez se calculó el valor de  $L^*$  para cada fondo y se calcularon los parámetros K (coeficiente de absorción) y S (coeficiente de dispersión) de la teoría de Kubelka-Munk (Kubelka y Munk, 1931) definidos por las **Ecuaciones III-12 a III-19**.

$$\frac{K}{S} = k \times C \quad \text{(Ecuación III-12)}$$

Donde,

K es el coeficiente de atenuación o de absorción

S es el coeficiente de dispersión

C es la concentración de pigmento

k es una constante

Las ecuaciones usadas para calcular la relación K/S son las siguientes:

$$a = \frac{1}{2} \left[ R + \left( \frac{R_0 - R + R_g}{R_0 \times R_g} \right) \right] \quad \text{(Ecuación III-13)}$$

$$b = (a^2 - 1)^{1/2} \quad \text{(Ecuación III-14)}$$

$$R_\infty = a - b \quad \text{(Ecuación III-15)}$$

$$K/S = \frac{(1 - R_\infty)^2}{2 \times R_\infty} \quad \text{(Ecuación III-16)}$$

$$S = \frac{1}{b} \operatorname{arctgh} \left[ \frac{(1 - a \times R_0)}{b \times R_0} \right] \quad \text{(Ecuación III-17)}$$

$$K = S(a - 1) \quad \text{(Ecuación III-18)}$$

$$T_i = e^{-K} \quad \text{(Ecuación III-19)}$$

Donde,

S es el coeficiente de dispersión

K es el coeficiente de atenuación

R es la reflectancia de la muestra con fondo blanco

$R_0$  es la reflectancia de la muestra con fondo negro

$R_g$  es la reflectancia de la placa blanca

$R_\infty$  es la reflectividad a un espesor infinito

$T_i$  es la transmitancia interna de la muestra

R puede estar representada por cualquiera de los valores triestímulo, X, Y, Z o bien por  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ .

a y b son constantes de ajuste

En este trabajo se determinó  $L^*$ .

### III.3.14. Evaluación de las constantes cinéticas de pardeamiento

Se calcularon las velocidades de pardeo considerando el desarrollo de oscurecimiento ocurrido en el almacenamiento a 45 °C. En el caso de los discos de melón y pera las constantes se calcularon a través de la correlación no lineal de los datos de la curva de  $\Delta E_{00}$  que corresponde a las diferencia de color observadas entre las muestras, para ello se usó la siguiente ecuación:

$$(\Delta E_{00}) = A * (1 - \ell^{(-k*t)}) \quad \text{(Ecuación III-20)}$$

Donde,

A es el valor de  $\Delta E_{00}$  a tiempos largos (en el *plateau*)

k constante cinética

t tiempo de almacenamiento

En el caso de las frutas pulverizadas las constantes cinéticas se calcularon como la pendiente de la región lineal de la curva de pardeamiento en función del tiempo de almacenamiento. El pardeo en muestras con características de translucidez se estudió a través de la relación K/S parámetros de la teoría de Kubelka Munk.

$$(K/S - K_0/S_0) = k \times t \quad \text{(Ecuación III-21)}$$

Donde,

k es una constante

t es el tiempo de almacenamiento

En las frutas con distribución heterogénea del color se determinaron las constantes cinéticas como la pendiente de la zona lineal de las curvas de las variables cromáticas ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) en función del tiempo de almacenamiento en cada una de las secciones estudiadas.

Se empleó la siguiente ecuación para describir los cambios con el tiempo:

$$(Y^*) = k \times t \quad \text{(Ecuación III-22)}$$

Donde,

$Y^*$  son las variables del espacio CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ )

$k$  es una constante cinética,

$t$  tiempo de almacenamiento a 45 °C.

El modelado de los datos experimentales y las regresiones presentadas en este trabajo se realizaron mediante el empleo del programa GraphPad Prism V 5,03.

#### **III.3.15. Análisis estadístico**

Las diferencias significativas se determinaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y la aplicación del test de LSD Fisher. Se utilizó un nivel de significación alfa de 0,05 ( $p < 0,05$ ). Para estos procedimientos se trabajó con el programa estadístico Statgraphics Centurion v15.0 (StatPoint®, inc., USA).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### IV.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LAS FRUTAS

En este capítulo se analiza la caracterización de algunas propiedades físicas y/o químicas de las frutas empleadas en este trabajo, con la finalidad de buscar una posible relación con sus propiedades estructurales y cromáticas. Manzana, melón y pera se eligieron debido a que son materiales con ausencia de pigmentos antocianicos, lo que permite estudiar el desarrollo de productos pardos y cómo su formación afecta la apariencia de dichos alimentos. Por otra parte, se usaron frutillas para estudiar las variaciones en muestras que contenían antocianinas de forma natural y su contribución al cambio global de color.

#### IV.1.1. Determinación de algunas características de composición

La **Tabla IV-1** muestra los valores experimentales de contenido de azúcares y pH obtenidos, que guardan similitud con los típicamente encontrados en bibliografía (Stepansky y col., 1999; Xue keqing, 2004; Tóth-Markus y col., 2011; Cohen y col., 2012; Crecente-Campo y col., 2012; Flores y col., 2012; Mosquera y col., 2012; Raffo y col., 2012).

Es remarcable el alto contenido de fructosa en pera, seguido por manzana y frutilla, mientras que el melón presenta el más bajo contenido de este azúcar. Las muestras de pera presentan a su vez el menor contenido de sacarosa.



**Tabla IV-1.** Composición de azúcares de frutas (g/100g sólidos).

Fruta	Glucosa	Fructosa	Sacarosa	pH
Manzana	17,07 ± 0,6	33,33 ± 0,9	25,76 ± 1,0	3,8 ± 0,2
Melón	36,46 ± 1,2	19,09 ± 0,7	23,43 ± 0,7	5,7 ± 0,1
Pera	18,28 ± 0,5	57,47 ± 1,7	10,91 ± 0,3	4,4 ± 0,1
Frutilla	32,83 ± 0,9	28,08 ± 0,8	29,37 ± 0,8	3,7 ± 0,2

Por otro lado, a diferencia del resto de las frutas, el melón presenta valores de pH más cercanos a la neutralidad. En su punto de madurez óptimo para el consumo el melón posee valores de pH inusuales, cercanos o superiores a 6 por lo que se considera una fruta exclusiva en este aspecto, siendo el resto de las frutas mucho más ácidas en su punto de madurez (Stepansky y col., 1999; Cohen y col., 2012). Cohen y colaboradores (2012) atribuyen esta característica a la presencia de uridina en el melón maduro.

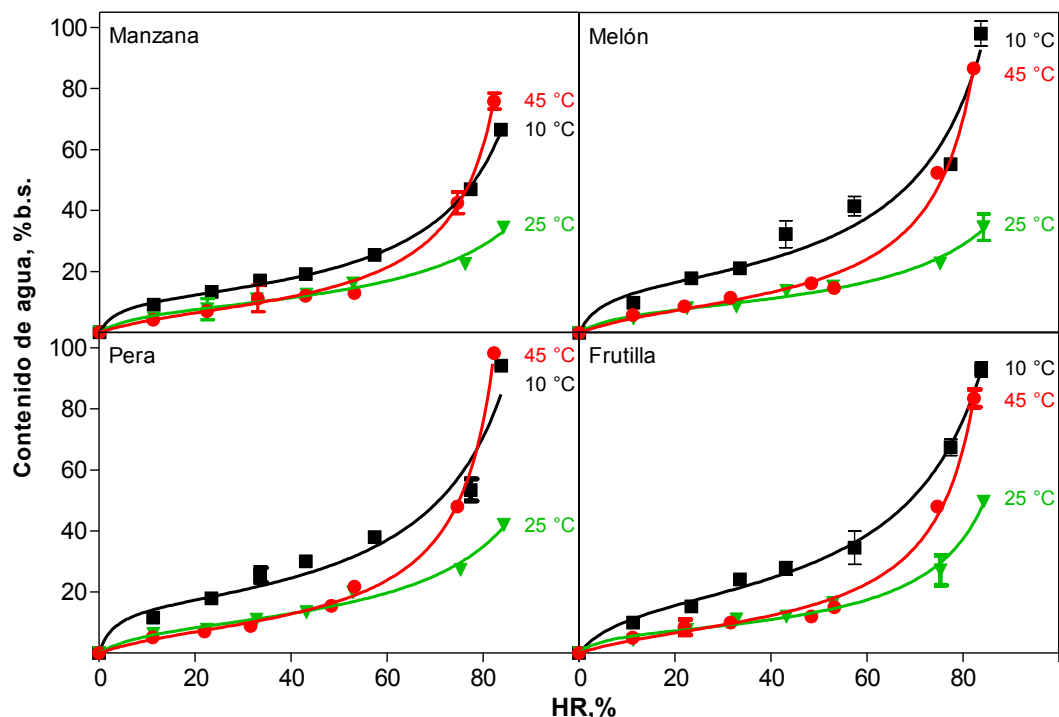
#### IV.1.2. Propiedades de sorción de agua

Las isothermas de sorción de agua son indispensables para el estudio de la estabilidad química y microbiológica de los productos alimenticios, además de serlo para el desarrollo y optimización de procesos, ingeniería de alimentos y control de calidad industrial (Sun, 1998, 1999; Kaymak y Sultanoglu, 2001; Delgado y Sun, 2002).

En este trabajo se emplearon frutas deshidratadas por liofilización. Durante el proceso de congelamiento rápido previo a la liofilización, como el empleado en este trabajo, se generan un gran número de cristales de hielo pequeños en los

espacios extra e intracelulares (Delgado y Rubiolo, 2005). Durante el secado primario de la liofilización ocurre la sublimación de los cristales de hielo formados, y los espacios son reemplazados por aire. Como consecuencia, luego de la liofilización se obtienen matrices con distintas características, de acuerdo a la velocidad y la temperatura de congelación empleadas, que determinan la capacidad del material deshidratado para adsorber agua. En el caso mencionado de congelación rápida se genera un material con una relación superficie/volumen elevada, lo cual conduce a una alta capacidad de adsorción de agua.

La **Figura IV-1** muestra las isothermas de sorción de agua a 10, 25, y 45 °C de discos liofilizados de manzana, melón, pera y frutilla.



**Figura IV-1.** Isothermas de sorción de agua a 10, 25 y 45 °C de manzana, melón, pera y frutilla liofilizadas. Los símbolos representan el promedio de los valores experimentales y las líneas corresponden al ajuste según la ecuación de GAB.

Las curvas de sorción de agua de los sistemas de manzana, pera, melón y frutilla presentaron una forma sigmoidea a todas las temperaturas estudiadas, que es característica para la mayoría de los productos biológicos y componentes alimentarios, y corresponde a una curva tipo II de acuerdo a la clasificación de Brunauer, Deming y Teller (Brunauer y col, 1940). Se observó que los tejidos vegetales no presentaron discontinuidades en la curva de sorción de agua, como ocurre cuando cristalizan solutos. Se obtuvieron curvas típicas de productos con alto contenido de azúcar que adsorben cantidades relativamente pequeñas de agua a bajas humedades relativas y a altas HR muestran un incremento en la cantidad de agua adsorbida (Telis y Sobral, 2001).

La ecuación GAB ha sido ampliamente utilizada para describir las propiedades de sorción de agua de los alimentos, debido a que el rango de humedades relativas en el cual este modelo es válido es muy amplio (Timmermann, 2003), en comparación con BET, según lo discutido en la sección 1.2.2. La **Figura IV-1** muestra también el ajuste correspondiente en cada caso según la ecuación GAB (Van den Berg y Bruin, 1981).

En la **Tabla IV-2** se detallan los valores de ajuste para los parámetros de la ecuación de GAB para las isotermas a 25 °C. Los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) variaron entre 0,986 y 0,996.

**Tabla IV-2.** Parámetros de ajuste de la ecuación de GAB para las isotermas de sorción de agua a 25 °C. Se informa el promedio y el desvío estándar (n=2).

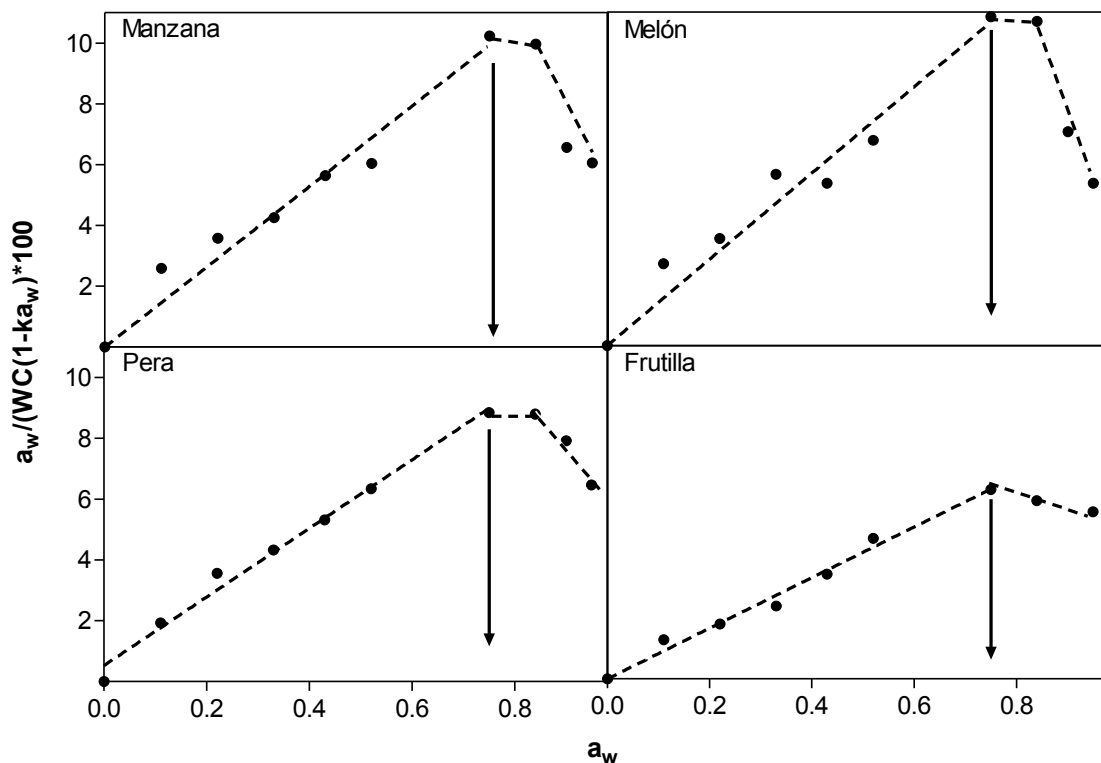
Fruta	$m_0$ (gH <sub>2</sub> O/100gsól)	$k_{GAB}$	C	R <sup>2</sup>
Manzana	8,3 ± 0,6	0,89 ± 0,02	13 ± 6	0,9868
Melón	8 ± 1	0,91 ± 0,04	15 ± 9	0,9864
Pera	9,4 ± 0,4	0,92 ± 0,01	11 ± 9	0,9851
Frutilla	9 ± 1	0,98 ± 0,02	7 ± 4	0,9976

El valor de contenido de agua límite de hidratación ( $m_0$ ), que corresponde a la primera etapa de sorción descrita por la ecuación de GAB fue levemente más alto para la pera (9,43% bs) que para las muestras de manzana, melón y frutilla. Los valores obtenidos para la constante  $k_{GAB}$ , fueron cercanos a la unidad, pero menores que 1, como ocurre en muchos alimentos (Timmermann, 2003). Esta constante representa la diferencia entre el potencial químico estándar de las moléculas en la zona de movilidad intermedia (“multicapa”, también llamada segunda etapa de sorción) y la del agua pura. Los resultados obtenidos concuerdan con los reportados en otros trabajos realizados para manzana (Moraga, y col., 2011; Martínez-Monzó y col., 1998; del Valle y col., 1998; Sá y col.; 1999; Acevedo y col., 2008; Kaya y col., 2007; Venir y col., 2007), pera (Guiné y Castro, 2002; Nguyen y col., 2004) y frutilla (Mosquera, y col., 2011; Moraga y col., 2004), cuyas isotermas están determinadas para tejidos en trozos.

La localización de la tercera etapa de sorción es de interés debido a que a elevadas humedades relativas el agua presenta propiedades de agua líquida y ocurren cambios de curvatura en la isoterma de sorción. Una forma de

identificar el punto de inflexión de la isoterma (I) es aplicar la ecuación linealizada de GAB propuesta por Timmermann y Chirife (1991). De acuerdo con esta linealización, en las primeras etapas de sorción se observa una relación lineal entre las variables graficadas, mientras que al comenzar la tercera etapa se produce un desvío importante en la curva.

Se aplicó esta linealización a los datos experimentales de la isoterma de sorción de agua de manzana, melón, pera y frutilla a 25° C (**Figura IV-2**). En todos los casos se puede observar una tendencia lineal hasta cierto valor de actividad de agua ( $a_w$ ) cercano a 0,75. Después de dicha  $a_w$  los puntos pierden su comportamiento lineal y se desvían hacia abajo, indicando un cambio en el estado físico del agua adsorbida.



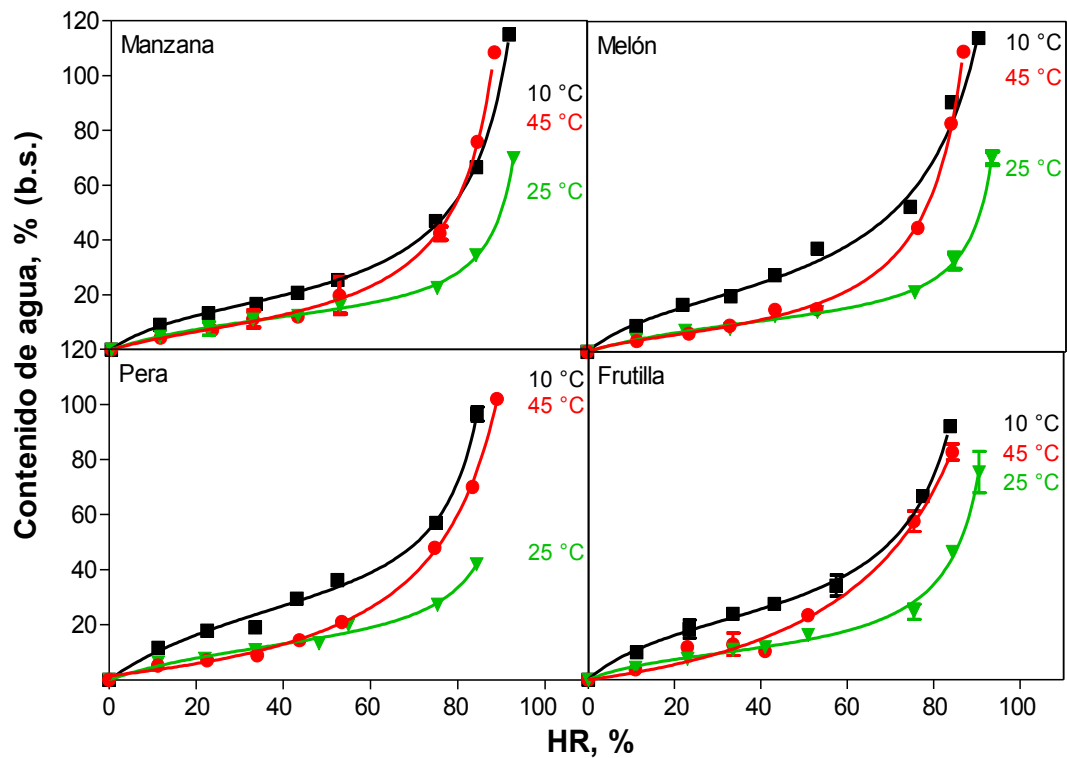
**Figura IV-2.** Ecuación de GAB linealizada en función de la actividad de agua. Las flechas señalan el punto en que se pierde la linealidad y corresponde al valor de I.

Este cambio de comportamiento, en el punto I, indica el inicio de la etapa en que el agua presente en la muestra se comporta como solvente. Las moléculas de agua en esta etapa estarían más relacionadas con el comportamiento líquido que en las capas anteriores, Adamson (1963) asoció el fuerte incremento de adsorción de agua ocurrido a alta HR, a la condensación capilar.

Se empleó además el modelo generalizado de D'Arcy y Watt (D'Arcy y Watt, 1970). Este modelo se empleó para describir isotermas de sorción de diversos productos alimenticios como orégano, eneldo, ajo, sémola, leche en polvo y café (Furmaniak y col., 2007a, 2009). El empleo de la ecuación GDW en frutas, solo ha sido reportado para ananá (Furmaniak y col., 2007b). Según lo detallado en la sección I.2.2, dicho modelo asume la existencia de sitios de adsorción primarios en la superficie del sólido, que ocurre por el mecanismo de Langmuir. Las moléculas de agua unidas a estos centros pueden convertirse entonces en sitios de adsorción secundarios para próximas moléculas de agua (**Figura I-4**). En el caso en el que cada molécula de agua adsorbida a un sitio primario se transforme en un sitio secundario, el mecanismo de adsorción de GDW se reduce al mecanismo del modelo de GAB.

La **Figura IV-3** muestra el ajuste de los datos experimentales de las curvas de contenido de agua en función de la humedad relativa a 10, 25, 45 °C con el modelo GDW para manzana, melón, pera y frutilla.

Se puede observar un adecuado ajuste de los datos experimentales para todas las muestras estudiadas.



**Figura IV-3.** Isothermas de sorción de agua a 10, 25 y 45 °C de manzana, melón, pera y frutilla liofilizadas. Los símbolos representan el promedio de los valores experimentales obtenidos y las líneas corresponden al ajuste según la ecuación de GDW.

En la **Tabla IV-3** se encuentran registrados los valores de ajuste para los parámetros de la ecuación de GDW obtenidos para las isothermas a 25 °C.

**Tabla IV-3.** Parámetros de ajuste de la ecuación de GDW para las isothermas de sorción de agua a 25 °C. Se informa el promedio y el desvío estándar (n=2).

Fruta	$M_e$	$K_{GDW}$	$k_{GDW}$	w	$R^2$
Manzana	$19 \pm 1$	$2,8 \pm 0,5$	$1,0 \pm 0,2$	$0,26 \pm 0,09$	0,9954
Melón	$18 \pm 1$	$2,7 \pm 0,4$	$1,0 \pm 0,3$	$0,3 \pm 0,1$	0,9947
Pera	$21 \pm 1$	$2,7 \pm 0,6$	$1,0 \pm 0,6$	$0,28 \pm 0,08$	0,9879
Frutilla	$21 \pm 1$	$2,4 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,4$	$0,3 \pm 0,1$	0,9972

Los coeficientes de correlación ( $R^2$ ) variaron entre 0,9879 y 0,9972. Los valores de contenido de humedad de equilibrio ( $M_e$ ), fueron muy similares para las distintas frutas y mayores (en todos los casos) que los valores de  $m_0$  obtenidos con la ecuación de GAB.

El ajuste con la ecuación generalizada de D'Arcy y Watt permite obtener una idea de la estructura de los materiales analizados.

Los valores de las constantes cinéticas de adsorción  $K_{GDW}$  (en sitios primarios) y  $k_{GDW}$  (en sitios secundarios) fueron muy similares para todos los sistemas estudiados, lo que indica que el mecanismo de adsorción de agua es semejante en las frutas analizadas. La variable asociada a la constante cinética de sorción a los sitios primarios,  $K_{GDW}$ , presentó valores mayores que la unidad, como corresponde a las isothermas tipo II. Mientras que para las isothermas de tipo III,  $K$  es  $< 1$ .

Los valores de  $w$  obtenidos fueron inferiores a la unidad en todas las frutas estudiadas, lo que indica que sólo una pequeña cantidad (25 - 35%) de moléculas de agua adsorbidas en sitios primarios se convierten en centros secundarios de sorción. Esto está probablemente relacionado con la congelación rápida de las muestras, previa a la liofilización, lo que genera estructura de poros pequeños y alta tortuosidad e implica un impedimento para la creación de sitios secundarios.

Furmaniak y colaboradores (2011) informaron que para isothermas del tipo I los valores de  $w$  son iguales o cercanos a cero y en las de tipo II y III dicho parámetro es mayor que cero.

La humedad de equilibrio y el valor de  $w$  obtenidos en este trabajo fueron cercanos a los encontrados para ananá (Furmaniak y col., 2007b).



Con la disminución de la temperatura se obtuvieron mayores valores de contenido de agua de monocapa calculada por GAB. Este comportamiento es usualmente observado para la mayoría de los materiales biológicos y los resultados coinciden con datos publicados en trabajos previos (Hossain y col., 2001; Saravacos y col., 1986, Labuza, 1968 y Rahman y Labuza, 1999).

Los valores de la constante cinética del ajuste con la ecuación de GAB,  $k$ , presenta valores cercanos a la unidad a todas las temperaturas estudiadas, y aumenta levemente al aumentar la temperatura. El parámetro  $C$ , relacionado con el calor de sorción de la primera capa en los sitios primarios determinado por GAB mostró una marcada disminución con el aumento de la temperatura. Este comportamiento puede deberse a que un incremento en la temperatura activa las moléculas de agua, generando una pérdida de su estabilidad y provocando el rompimiento de los puentes de unión de agua en el sólido, lo que conlleva a la disminución de contenido de agua de monocapa.

En el caso del ajuste de las isotermas con el modelo generalizado de D'Arcy y Watt, se observó el mismo comportamiento en las humedades de equilibrio que con el modelado por GAB: los valores disminuyen con el incremento de la temperatura. La constante de sorción en los sitios primarios conservó leves disminuciones a mayores temperaturas. Por otro lado, las constantes de sorción de los sitios secundarios se mantuvieron en valores cercanos a la unidad independientemente de la temperatura analizada. En el caso de la constante  $w$  se observó un aumento en su valor con el aumento de la temperatura, incluso mayores que la unidad, esto indicaría que una molécula unida a un sitio primario de sorción crea más que un sitio secundario. Este cambio de comportamiento podría deberse a que el aumento de temperatura

posibilita que mayor número de moléculas de agua en un sitio primario de sorción pueda unir más moléculas en el sitio secundario. El número de sitios primarios que se convierten en sitios secundarios aumenta desde 30 ó 50% a 10 ó 25°C a 80 o 100% a 45°C.

Dado que la ecuación de GDW permitió un mejor ajuste de los datos de las isothermas de sorción, se empleó dicho ajuste para calcular los calores de sorción implicados en el proceso. Para ello, se empleó la siguiente ecuación derivada de la ecuación de Clausius–Clapeyron (Iglesias y Chirife, 1978; Hossain y col., 2001):

$$q_{st} = -R \frac{\partial \ln a_w}{\partial (1/T)} \quad \text{(Ecuación IV-1)}$$

Donde,

$q_{st}$  es el calor isostérico neto de sorción

$a_w$  es la actividad de agua

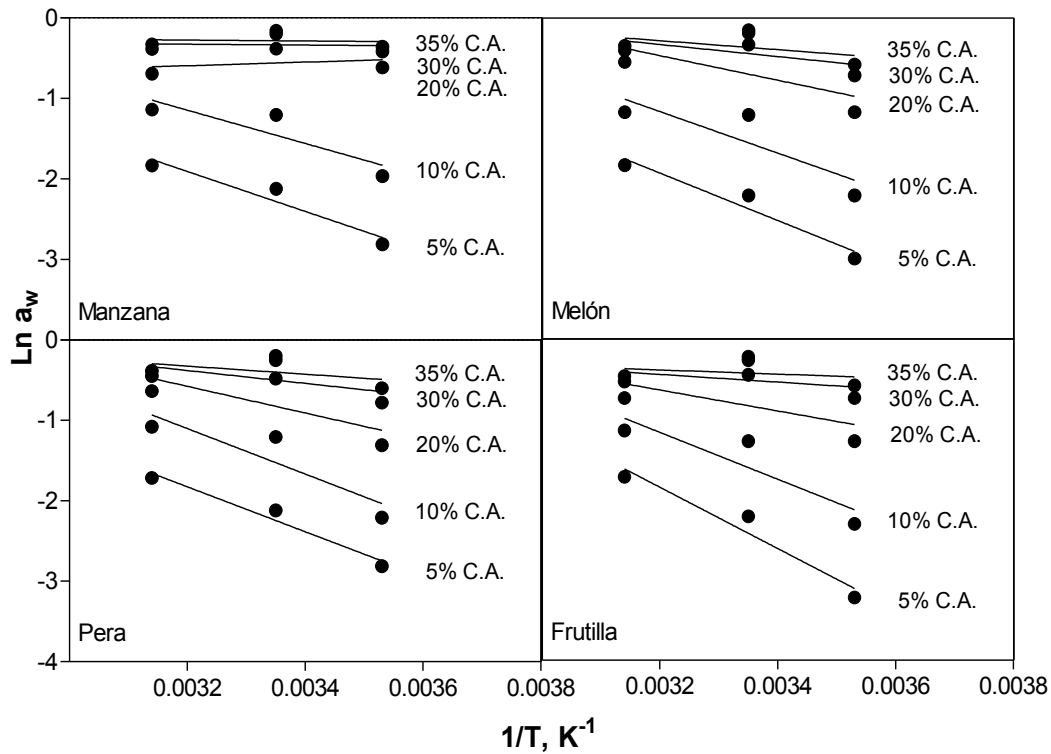
T es la temperatura (K)

R constante real de los gases ( $8,314 \cdot 10^{-3}$  KJ/mol K)

El calor isostérico neto de sorción se calculó mediante la **Ecuación IV-1** graficando el  $\ln a_w$  en función de  $1/T$  para cada contenido de agua (C.A.), cuya pendiente equivale a  $-q_{st} / R$  (Kaymak-Ertekin y Gedik, 2004). Los gráficos para manzana, melón, pera y frutilla se muestran en la **Figura IV-4**.

Se puede observar que en todos los casos se obtuvo una correlación lineal entre el logaritmo de la actividad de agua y la inversa de la temperatura.

Además es interesante notar que la pendiente de la linealización disminuye con el aumento del contenido de agua.

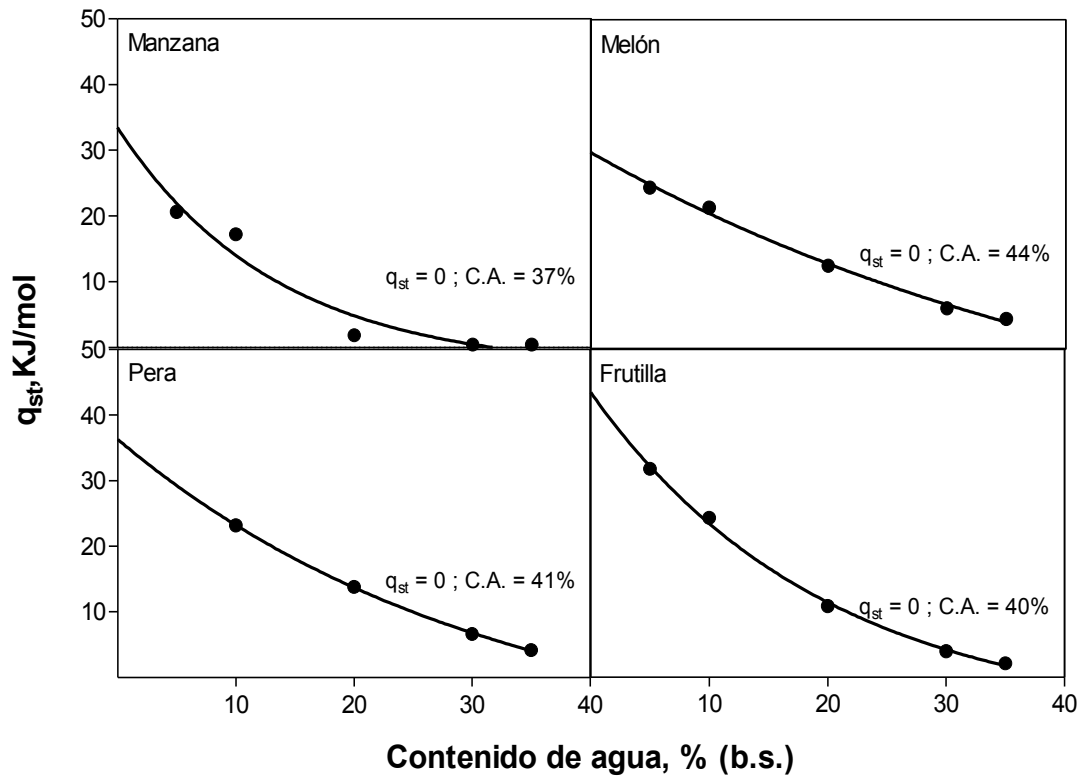


**Figura IV-4.** Ln de  $a_w$  en función de la inversa de la temperatura para manzana, melón, pera y frutilla liofilizadas. Los símbolos representan el promedio de los valores experimentales obtenidos y las líneas corresponden al ajuste de correlación lineal.

En la **Figura IV-5** se muestra la variación del calor de sorción calculado en función del contenido de agua.

A medida que aumenta el contenido de agua disminuyen los calores de adsorción, estos datos coinciden con los reportados previamente en bibliografía para diferentes frutas (Tsami y col., 1990; Kaymak-Ertekin y Gedik, 2004). La frutilla presentó mayor calor de sorción que las demás frutas. Por otra parte,

melón y pera mostraron los valores más bajos, mientras que manzana presentó un calor de sorción intermedio.



**Figura IV-5.** Variación del calor de sorción de manzana, melón, pera y frutilla liofilizadas en función del contenido de agua.

Los calores isostéricos netos pueden ser positivos o negativos dependiendo de si corresponden a fenómenos de adsorción o desorción respectivamente (Kaymak-Ertekin y Gedik, 2004). En todos los casos estudiados, los valores de  $q_{st}$  fueron positivos (como corresponde a un fenómeno exotérmico) y se aproximaron a cero a un contenido de agua entre 30 y 35%.

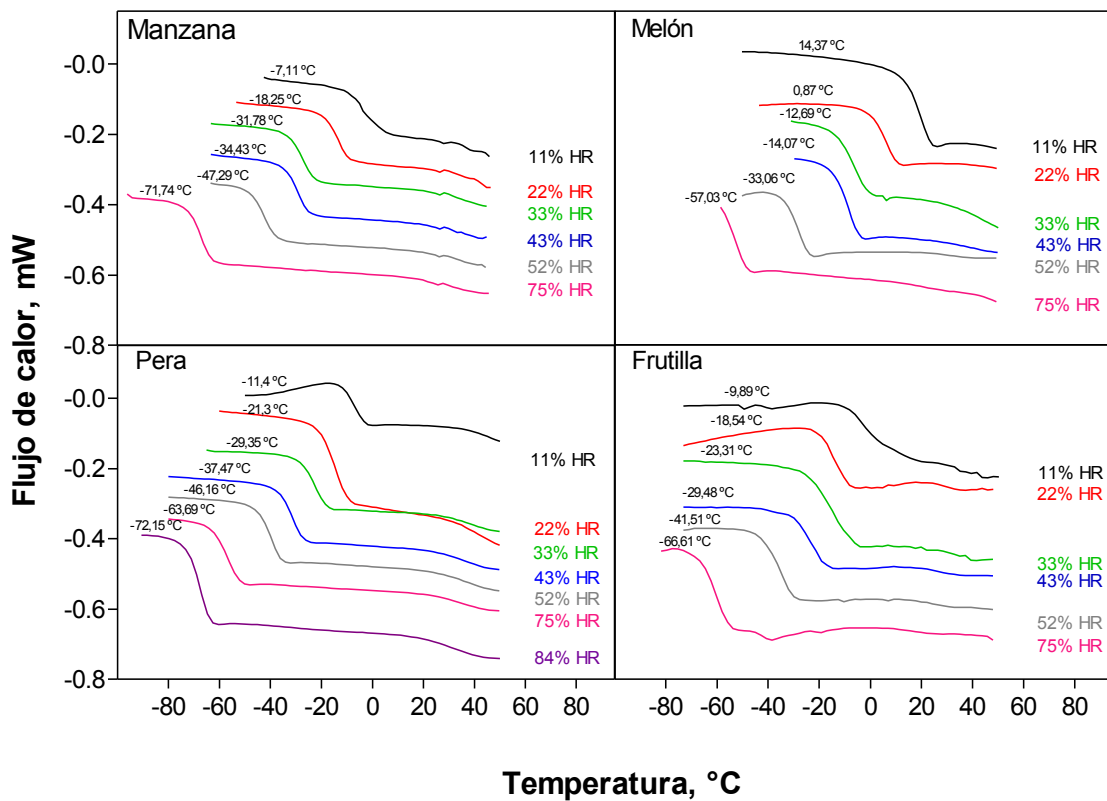
Los materiales ricos en azúcares, como las frutas analizadas, pueden presentar calores de sorción negativos debido a la solubilización de los azúcares que contienen. Dicha solubilidad es afectada por los cambios en la temperatura, lo que genera un incremento en el contenido de agua. En general en las frutas el

calor de sorción comienza a ser endotérmico cuando el contenido de agua supera el 40% dependiendo de los biopolímeros presentes (datos insertos en la **Figura IV-5**). Por ejemplo, en el caso particular de manzana, que contiene elevado contenido de pectinas, el calor de sorción se mantiene positivo, hasta humedades mayores que 37 g de H<sub>2</sub>O/100g sólidos (Kaymak-Ertekin y Gedik, 2004). Cabe destacar que el melón tiene más alto contenido de glucosa, que es el más insoluble de los azúcares presentes en las frutas estudiadas. En consecuencia, requiere mayor contenido de agua (44%) para alcanzar el punto a partir del cual el calor de sorción es negativo. Justamente este punto coincide con el quiebre en la forma linealizada de la isoterma de GAB (**Figura IV-2**).

#### **IV.1.3. Transiciones térmicas**

El agua y los sólidos solubles conformados principalmente por azúcares, constituyen el componente principal de las frutas, y son los que determinan sus transiciones térmicas. Sin embargo, otros componentes como los ácidos orgánicos podrían afectar su temperatura de transición vítrea (Telis y Martínez-Navarrete, 2010).

La técnica de calorimetría diferencial de barrido (DSC) se empleó para evaluar las transiciones térmicas en las diferentes frutas analizadas en función de la humedad relativa. En la **Figura IV-6** se muestran los termogramas obtenidos para las muestras de manzana, pera, melón y frutilla liofilizadas y humidificadas en un amplio rango de HR.



**Figura IV-6.** Termogramas obtenidos por DSC para manzana, melón, pera y frutilla liofilizadas y humidificadas a diferentes humedades relativas. El valor “onset” de  $T_g$  está indicado sobre cada curva.

Se observaron transiciones vítreas muy definidas y con un claro descenso de la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) con el aumento de la humedad relativa (Figura IV-6).

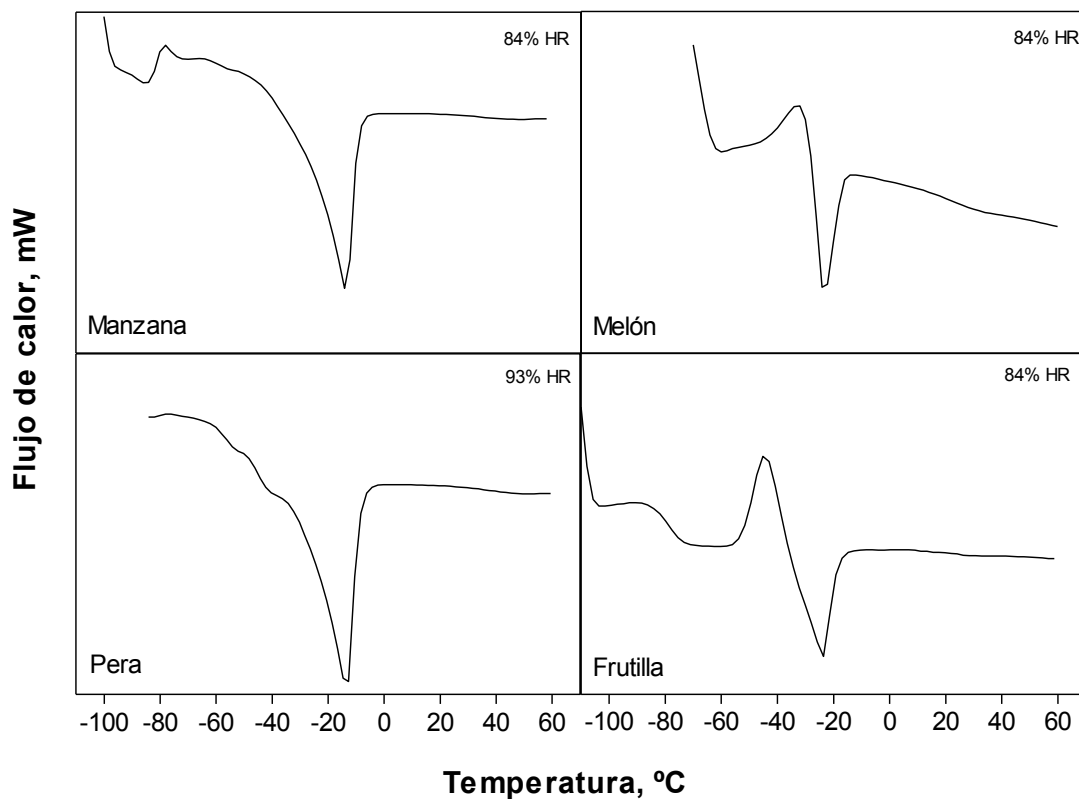
Los valores de  $T_g$  para manzana liofilizada fueron similares a los informados por Welti Chanes y colaboradores (1998). En otros trabajos publicados se observó que a bajas humedades relativas hubo diferencias con los valores obtenidos en este trabajo, pero a HR mayores los resultados fueron similares (Karmas y col., 1992; Aguilera y col., 1998; del Valle y col., 1998; Sá y col., 1999; Bai y col., 2001; Acevedo y col., 2006; Venir y col., 2007).

Las diferencias observadas podrían deberse a las distintas variedades de manzana empleadas. En el caso de pera, se obtuvieron valores similares a los informados para discos de pera secados en corriente de aire (Ling y col., 2004) y se observaron diferencias con los datos presentados por Xue keqing (2004) para pera liofilizada. Estudios previos han indicado valores de temperatura de transición vítrea levemente mayores para frutilla (Sá y Sereno, 1994; Moraga y col., 2004).

La pera presentó menores valores de  $T_g$  que el resto de las muestras analizadas, mientras que la frutilla fue la fruta con valores de  $T_g$  más altos. Se puede observar que las cuatro frutas presentaron valores de  $T_g$  relativamente bajos y aún los de humedades muy bajas se encontraban en estado sobre-enfriado a temperatura ambiente (**Figura IV-6**). Los bajos valores de  $T_g$  observados para pera podrían estar relacionados con su composición de azúcares (**Tabla IV-1**), que presenta altos niveles de fructosa, la cual posee menores valores de  $T_g$  comparado con las temperaturas de transición vítrea de la glucosa y de la sacarosa (Roos, 1993).

En las muestras humidificadas a altas humedades relativas ( $\geq 84\%$ ) se observó la presencia de un pico endotérmico (**Figura IV-7**), correspondiente a la fusión de agua previamente congelada.

En el caso de manzana, melón y frutilla este pico se hizo visible a partir de una humedad relativa de 84%, mientras que en la pera fue a partir de 93%.

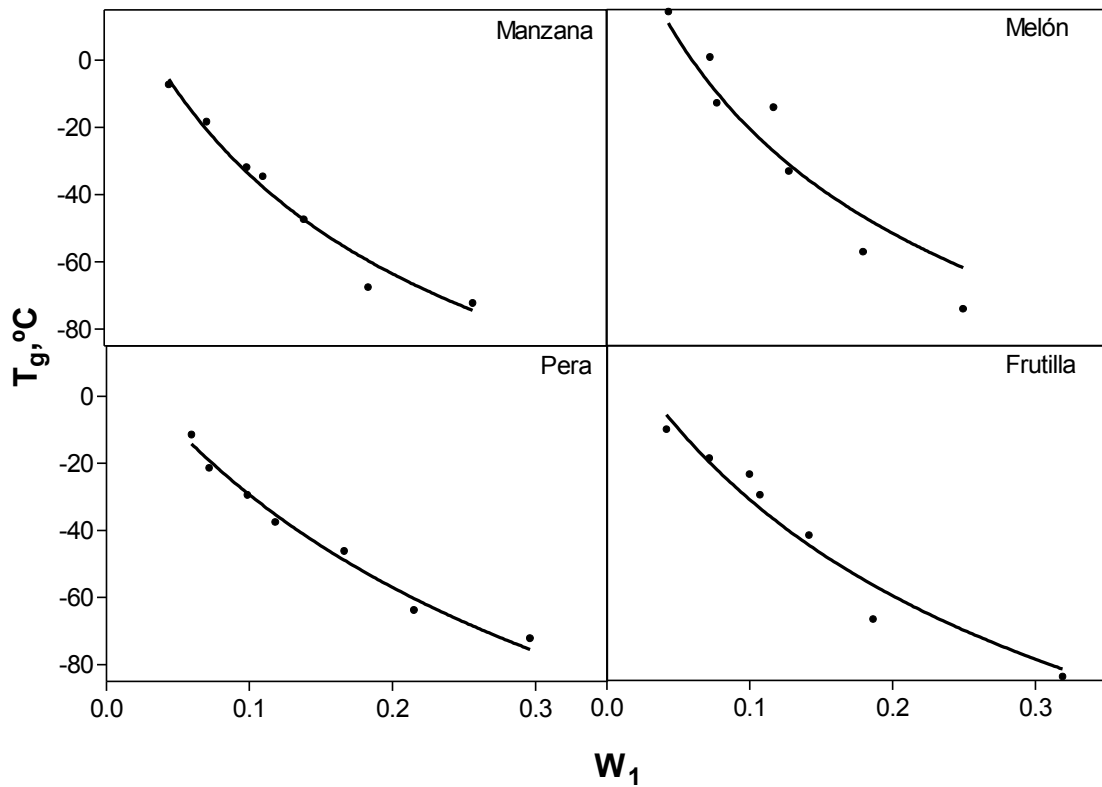


**Figura IV-7.** Picos de fusión de agua obtenidos por DSC para sistemas de manzana, melón, pera y frutilla liofilizadas y humidificadas a altas humedades relativas.

Con el objeto de describir el efecto del agua en las temperaturas de transición vítrea de manzana, melón, pera y frutilla, se realizó el ajuste no lineal con la ecuación de Gordon y Taylor como se describió en la sección III.3.5.

La **Figura IV-8** muestra las temperaturas de transición vítrea para las frutas humidificadas a las distintas HR a 25 °C en función de la fracción en peso de agua. En ella se puede observar que en todos los casos la temperatura de transición vítrea desciende a medida que aumenta el contenido de agua del material (Sá y Sereno, 1994; Moraga y col., 2004, 2006; Jaya y Das, 2009).





**Figura IV-8.** Temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) en función de la fracción en peso de agua para manzana, melón, pera y frutilla. Los símbolos representan los datos experimentales y las líneas el ajuste de Gordon y Taylor.

La **Tabla IV-4** muestra los valores de los parámetros de la ecuación del Gordon y Taylor: la constante empírica y la temperatura de transición vítrea del sólido anhidro  $T_{g(as)}$  para cada ajuste.

**Tabla IV-4.** Parámetros de ajuste del modelado con la ecuación de Gordon y Taylor

Muestra	$T_{g(as)}$	$k_{GT}$	$R^2$
Manzana	31,6	7,6	0,9770
Melón	52,37	9,0	0,9144
Pera	14,96	4,2	0,9836
Frutilla	19,65	5,1	0,9522

Los resultados obtenidos en este trabajo para manzana y pera fueron similares a los reportados por Khalloufi y Ratti (2003). Los resultados obtenidos por estos investigadores para frutilla se apartan más de los aquí presentados, lo que puede deberse a las distintas variedades de la fruta empleada. Por el contrario, los datos de Mosquera y colaboradores (2012) sí son coincidentes.

Habitualmente, los valores de  $T_g$  para los sistemas anhidros, obtenidos al aplicar la ecuación de Gordon y Taylor, se pueden relacionar con las temperaturas de transición vítrea de sus componentes mayoritarios formadores de la fase amorfa. En las frutas uno de los factores más importantes que definen el valor de  $T_g$ , es la proporción de los azúcares. Los valores de  $T_g$  para los fructosa, glucosa y sacarosa en estado amorfo son 5, 31 y 62 °C respectivamente (Roos, 1993; Roos y Karel, 1991a; Bhandari y Howes, 1999). Las constantes de Gordon y Taylor ( $k_{GT}$ ) para fructosa, glucosa y sacarosa son 3, 4,3 y 4,7 respectivamente. Estos valores resultan similares a los obtenidos para pera y frutilla. Mientras que manzana y melón mostraron valores mayores. El valor de  $k_{GT}$  está relacionado con la curvatura del gráfico de  $T_g$  en función del contenido de agua. Ya que uno de los componentes es fijo (agua), en general, cuando los valores de  $T_g$  de los sistemas anhidros son altos, los valores de  $k_{GT}$  son mayores. Si se compara el valor de  $T_g$  de los sistemas anhidros con la composición de azúcares en cada fruta (**Tabla IV-1**), se puede entender por qué el melón, cuyos componentes mayoritarios son glucosa y sacarosa presentó un valor de  $T_g$  más elevado que las demás frutas. Mientras que pera, que contiene un alto porcentaje de fructosa presentó una baja temperatura de transición vítrea. Se puede decir entonces, que los resultados obtenidos se encuentran en concordancia con la composición de las frutas.

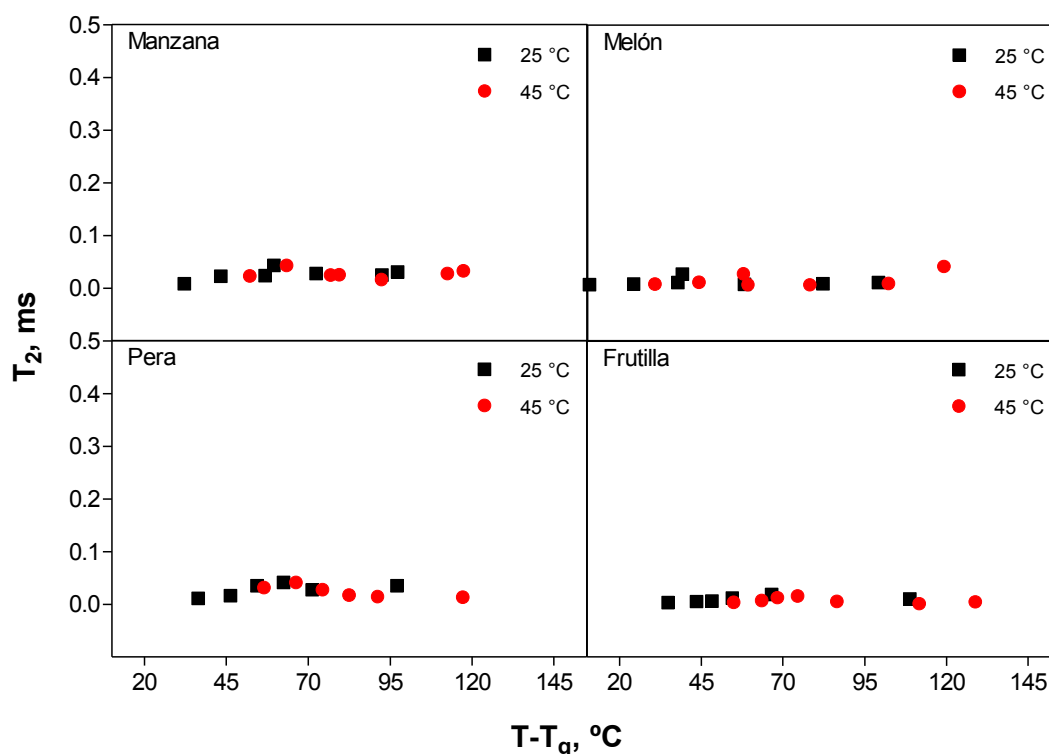
#### IV.1.4. Movilidad molecular

Con la finalidad de estimar la movilidad molecular de los sólidos y del agua presentes en las muestras de manzana, melón, pera y frutilla a diversas humedades relativas, se determinó el tiempo de relajación transversal (espín – espín)  $T_2$  a través de la técnica de resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H}$  RMN) resuelta en el tiempo.

El estudio de los tiempos de relajación se realizó con particular interés a 45 °C debido a que los estudios de pardeamiento y de colapso estructural se realizaron a dicha temperatura.

El parámetro  $(T-T_g)$  constituye un criterio de estabilidad comúnmente estudiado en alimentos, donde  $T$  es la temperatura de almacenamiento y  $T_g$  es la temperatura de transición vítrea. La **Figura IV-9** muestra los tiempos de relajación ( $T_2$ ) medidos por el método de decaimiento libre de la inducción (FID) en función de  $T-T_g$ , considerando la temperatura de humidificación (25 °C) y del almacenamiento (45 °C).

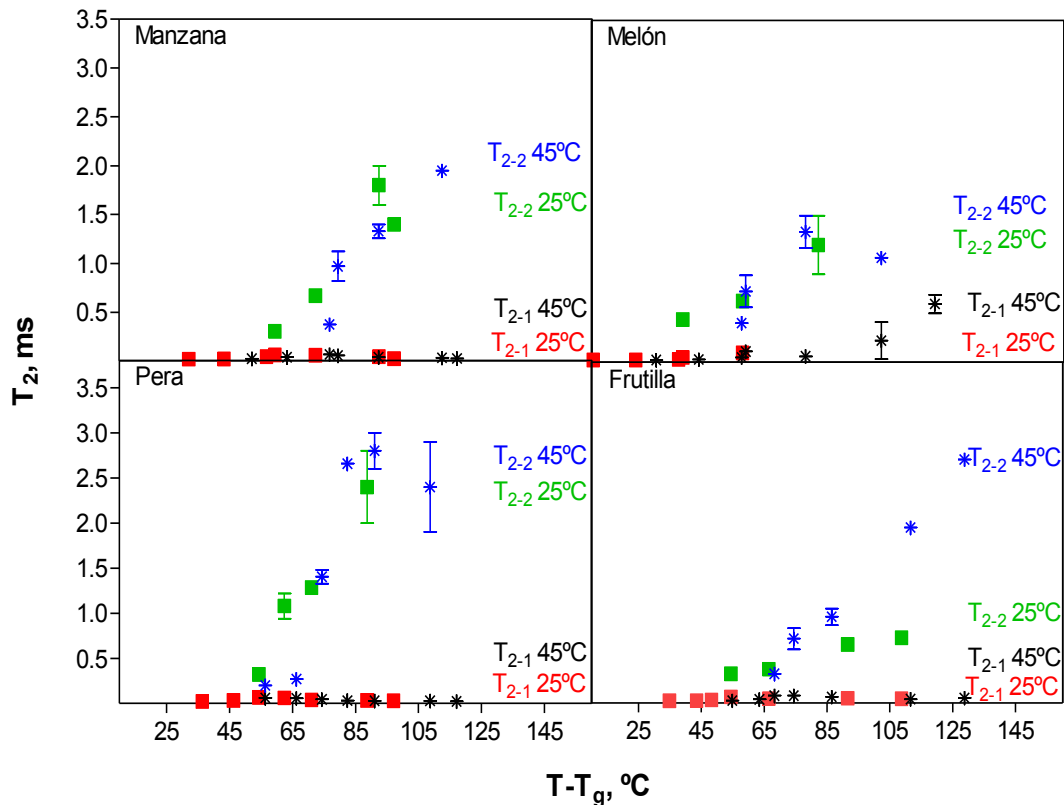
Los valores de  $T_2$  fueron menores que 0,05 ms en todos los sistemas y no se observaron cambios importantes con el aumento de la temperatura. Además los valores de  $T_2$  fueron similares para las cuatro frutas analizadas, siendo levemente más altos para la manzana y la pera a las dos temperaturas estudiadas. La dependencia de los tiempos de relajación  $T_2$  con la temperatura presenta un quiebre a valores próximos a la  $T_g$ . En el caso de los materiales analizados esto no se observó debido a que los valores de  $T_g$  para todos los sistemas fueron menores a los valores de temperatura analizados.



**Figura IV-9.** Tiempos de relajación  $T_2$  obtenidos por  $^1\text{H}$  RMN medido por el método FID en función de  $T - T_g$  para manzana, melón, pera y frutilla.

Cuando las muestras presentan tiempos de relajación mayores a los 0,5 ms, la medición puede estar afectada por la influencia de inhomogeneidades del campo magnético. Por lo tanto, se necesita utilizar una técnica de re-enfoque que permita determinar las poblaciones de protones correspondientes a tiempos de relajación mayores adecuadamente. La aplicación de secuencias de pulsos, como las empleadas en el método de Hahn permite re-enfocar la señal (eco) y hacer que el decaimiento de la misma sólo dependa de la relajación y no de inhomogeneidades en el campo magnético. Aplicando la secuencia de pulsos de eco de espín de Hahn (1950) se pueden obtener dos valores de tiempos de relajación los cuales están relacionados a los protones de los sólidos y del agua con diferente grado de interacción con el sólido. En la **Figura IV-10** se encuentran graficados los tiempos de relajación  $T_{2 \text{ Hahn}}$  en

función de  $T-T_g$  para las diferentes frutas liofilizadas y humidificadas entre 11 y 84% de HR.

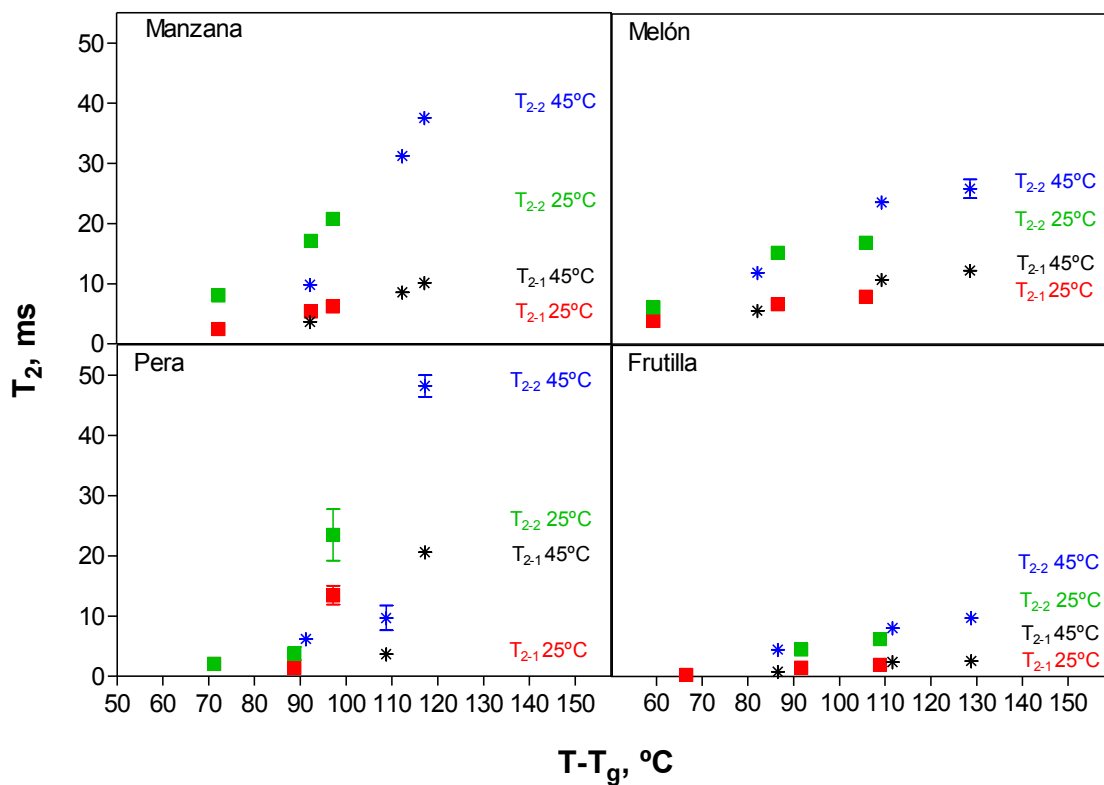


**Figura IV-10.** Tiempos de relajación  $T_2$  obtenidos por  $^1\text{H}$  RMN medido por el método Hahn en función de  $T-T_g$  para manzana, melón, pera y frutilla.

Se puede observar la existencia de dos poblaciones de protones:  $T_{2-1}$  (0,019-0,031ms) y  $T_{2-2}$  (0,3-1,4 ms) que corresponden a las poblaciones de menor y mayor movilidad molecular respectivamente. Los tiempos de relajación obtenidos para 25 y 45 °C mostraron un comportamiento similar, siendo levemente mayor los valores de  $T_2$  con el aumento de la temperatura, en particular para frutilla en los tiempos  $T_{2-2}$ . En el caso de manzana y melón se obtuvieron valores de  $T_{2-2}$  levemente menores que para la pera y frutilla.

La secuencia de pulsos de Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) es capaz de detectar poblaciones de agua con mayor movilidad que la técnica de eco de espín con la secuencia de Hahn. Debido a que a través de la secuencia CPMG solo se pueden determinar tiempos de relajación con valores mayores al primer tiempo de interpulso ( $\tau$ ) los protones de las moléculas de agua con fuerte interacción con los sólidos no son detectables por esta técnica (Ruan y col., 1998). Por lo tanto, se empleó la secuencia CPMG para el análisis de muestras de fruta humidificadas entre 52 y 84% HR.

El método CPMG permitió diferenciar dos poblaciones bien definidas con distinto nivel de movilidad dado por dos tiempos de relajación  $T_{2-1}$  y  $T_{2-2}$  (Figura IV-11).



**Figura IV-11.** Tiempos de relajación  $T_2$  obtenidos por  $^1\text{H}$  RMN medido por el método CPMG en función de  $T-T_g$  para manzana, melón, pera y frutilla.

En todos los casos se observó un incremento de  $T_2$  al aumentar la temperatura. Como se mencionó anteriormente, este método sólo se utilizó para la medición de sistemas con altas HR., donde el agua presenta mayor movilidad (lo que se conoce tradicionalmente como agua en multicapas y libre). Los tiempos de relajación presentaron valores para  $T_{2-1}$  en el rango entre 2 y 15 ms. La frutilla fue la fruta que presentó los valores más bajos, mientras los valores de  $T_{2-1}$  obtenidos para pera fueron los más altos, manzana y melón presentaron valores intermedios. En el caso de los tiempos de relajación  $T_{2-2}$  se observó la misma tendencia que para los  $T_{2-1}$  con valores entre 10 y 50 ms.

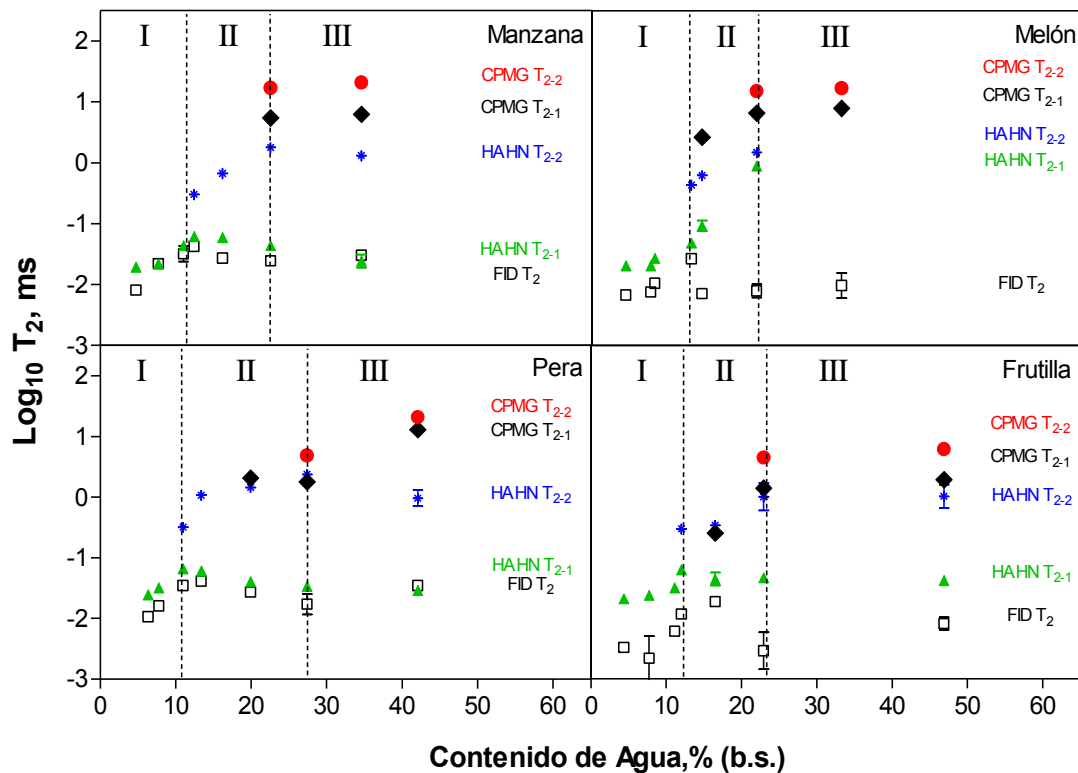
Se observó la influencia de la temperatura sobre los tiempos de relajación medidos por CPMG, los cuales muestran un marcado aumento con el incremento de la temperatura, el cual fue más importante para las poblaciones con mayor movilidad representadas por  $T_{2-2}$ .

### **IV.1.5. Concepto de movilidad de protones para establecer las distintas zonas de sorción de agua**

Habitualmente se utilizan las distintas zonas de las isothermas de sorción de agua (contenido de agua vs. humedad relativa) para relacionarlas con las reacciones de deterioro. De acuerdo con alguna ecuación (GAB, GDW entre otras) se determina la humedad de monocapa, y se delimitan las zonas I y II. La determinación del punto III, en el que el agua comienza a manifestar propiedades coligativas, se comporta como solvente y congela, es aún más difícil de determinar a partir del gráfico de la isoterma. Sin embargo, los conceptos de humedad de monocapa, de “agua ligada”, en multicapas y agua

“libre” están muy cuestionados en la actualidad. Una aproximación más adecuada se basa en la determinación de las distintas zonas de acuerdo con la movilidad de protones. Es por esta razón que en el presente trabajo se muestran los resultados de los tiempos de relajación en función del contenido de agua, como se discutirá en la sección de integración de resultados.

En la **Figura IV-12** se pueden observar los tiempos de relajación obtenidos en cada uno de los métodos empleados en función del contenido de agua a 25 °C para manzana, melón, pera y frutilla. Para ello se utilizó una escala de tiempo logarítmica que permitió mostrar todos los valores y se delimitaron 3 zonas de la isoterma.



**Figura IV-12.** Poblaciones de protones detectadas por  $^1\text{H}$  RMN a 25 °C para manzana, melón, pera y frutilla en función del contenido de agua.



La primera corresponde al agua límite de hidratación (I), la segunda hace referencia al agua de movilidad intermedia (II) y la tercera al agua de mayor movilidad (III).

El tiempo de relajación medido por el método FID muestra pequeñas variaciones con el aumento del contenido de agua. En general la movilidad de agua determinada por este método da idea del agua fuertemente asociada al sólido de la muestra estudiada, la cual corresponde a la zona I delimitada por el valor de monocapa determinado por la ecuación de GAB, cuyo límite superior corresponde al valor de humedad de equilibrio en la ecuación de GDW. En esta zona de la isoterma sólo fue posible identificar una única población de protones caracterizada por un tiempo de relajación máximo de 0,5 ms para todas las muestras estudiadas.

Únicamente las frutas que tienen contenidos de agua que las ubica en la segunda y tercera etapa de la isoterma de sorción de agua (Fennema, 1996) presentan señales luego de la aplicación de la secuencia de pulsos de los métodos Hahn y CPMG. A través de estos métodos pueden observarse dos poblaciones de agua con movilidades bien diferenciadas, las cuales pueden ubicarse en las zonas II y III de la isoterma. Con el método de Hahn las poblaciones hacen referencia a una zona de movilidad media. En el caso de la zona II o zona de “sorción polimolecular” (Furmaniak y col., 2009), la cual está delimitada entre contenidos de agua que en su valor inferior están cercanos al valor de  $M_e$  de GDW y en su valor superior a la zona de aparición de agua congelada luego de enfriar a  $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$  (determinada por DSC, a un contenido de agua de aproximadamente 30% b.s.). En el caso de los valores de  $T_2$  obtenidos

por CPMG se puede notar que al igual que por el método de Hahn se pueden identificar dos poblaciones con diferente movilidad, pero con tiempos de relajación mayores. Este método fue usado principalmente en la definición de la zona III o zona de “agua congelable o condensación capilar”, en la cual se hacen importantes los fenómenos de difusión a partir de 25% b.s. de agua.

## **IV.2. EFECTO DE LA HUMEDAD RELATIVA SOBRE EL ENCOGIMIENTO DE FRUTAS LIOFILIZADAS**

### **IV.2.1. Efecto del secado y la humidificación sobre el encogimiento de frutas**

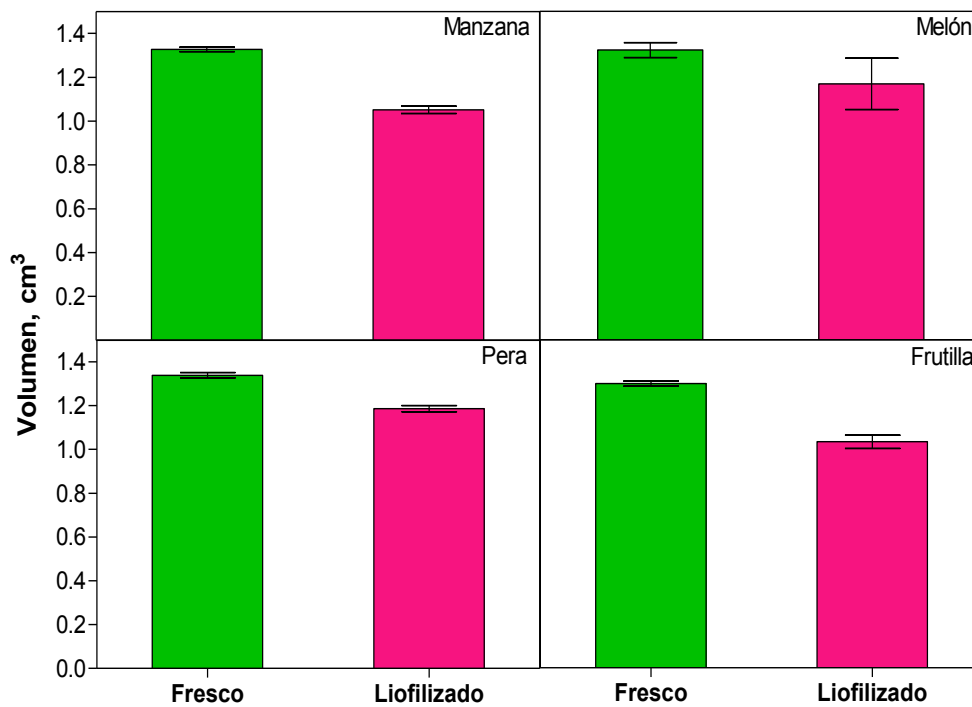
En esta sección se estudió el colapso estructural de frutas liofilizadas a través del análisis de imágenes. El término “colapso” se refiere a la pérdida de estructura, la reducción del tamaño de poros y un encogimiento volumétrico en materiales secos o semi húmedos. El colapso ocurre como consecuencia de un cambio en la viscosidad, que tiene lugar a temperaturas mayores que la temperatura de transición vítrea (Roos, 1995b).

El objetivo de esta sección fue estudiar el efecto de la humedad relativa (HR) sobre el encogimiento en discos de manzana, melón, pera y frutilla liofilizados, y relacionarlo con las propiedades físicas de los tejidos vegetales. El volumen de las muestras fue determinado al cabo de la liofilización y durante el tiempo de humidificación en un rango entre 11 y 84% HR a 25 °C.

El sistema de visión computarizada es una técnica que ofrece una resolución espacial permitiendo el análisis de encogimiento considerando todo el volumen de interés. El sistema de modelación mecánica (SolidWorks) empleado para la cuantificación del colapso estructural de las muestras, permitió generar, a partir de las fotografías laterales y frontales de discos de fruta, la formación de un sólido tridimensional representativo de la muestra original y la cuantificación del volumen de manera no destructiva (sección III.3.10). Como se mencionó anteriormente, son muchos los estudios que se han publicado sobre el colapso de diversas frutas durante el secado (Karathanos, 1993; del Valle y col., 1998; Bhandari y Howes, 1999; Ratti, 2001; Mayor y Sereno, 2004; Kurozawa y col., 2012). Sin embargo, en la mayoría se determina el encogimiento en función del cambio radial del material. Una ventaja que presenta la metodología usada en este trabajo la constituye el hecho de poder analizar el volumen completo y seguir su variación durante el tiempo y/o tratamiento sin verse afectado por el cambio irregular de la forma (Venir y col., 2007; Krokida y col., 2011; Vega-Gálvez y col., 2012).

En la **Figura IV-13** se muestra el volumen de manzana, melón, pera y frutilla antes y después del secado por liofilización.

Se puede observar que durante el proceso mencionado ocurrieron cambios inferiores al 8% en el volumen de los discos de fruta analizados. Shishegharha y colaboradores (2002) informaron que el encogimiento de frutillas debido a la liofilización se encontraba en un rango entre 2 y 8%.

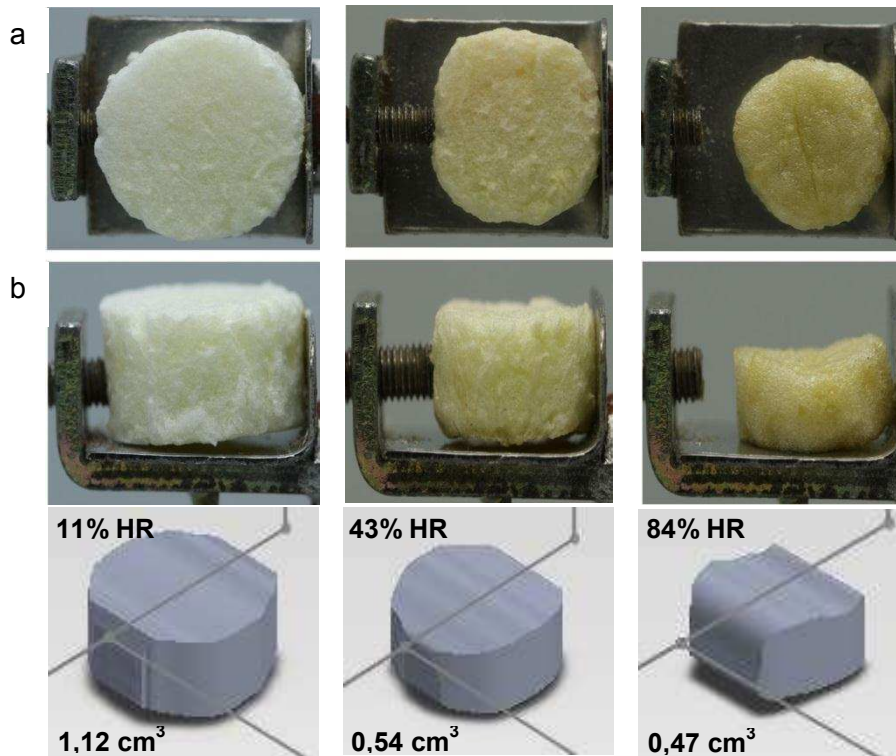


**Figura IV-13.** Volúmenes de discos de manzana, melón, pera y frutilla frescos (barra verde) y liofilizados (barra rosa). Se informa el promedio y el desvío estándar.

Sin embargo, durante la rehidratación de materiales liofilizados, se pueden presentar cambios estructurales (Krokida y Maroulis, 2001; Levi y Karel, 1995).

La **Figura IV-14** muestra las fotografías frontales y laterales de discos de melón adquiridas para el análisis de encogimiento, además de un ejemplo del sólido formado a través del programa de modelación mecánica logrado a partir del tratamiento de las imágenes.

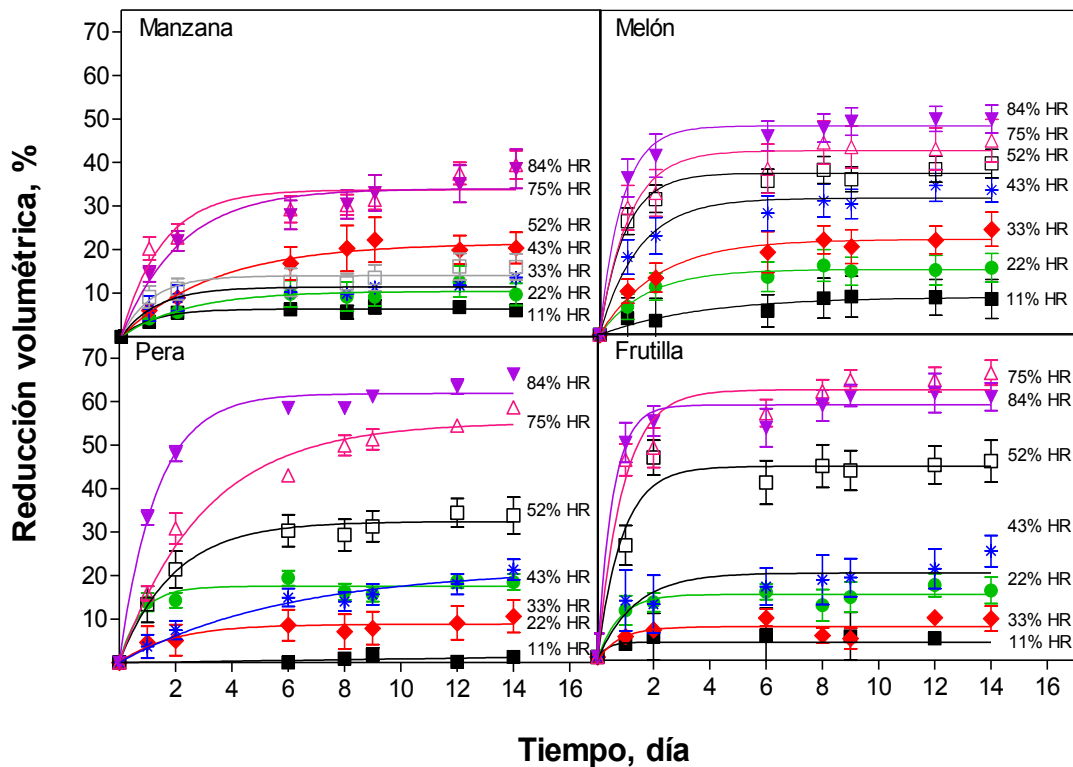
Se puede observar el cambio de volumen de discos de melón por efecto de la humidificación a 11, 43 y 84% de humedad relativa a cabo de 14 días de almacenamiento a 25 °C.



**Figura IV-14.** Imágenes de fotografías frontales (a), laterales (b) y sólidos tridimensionales obtenidos a través del programa de modelación mecánica de melón humidificado a 11, 43 y 84% HR a 25°C durante 14 días. En las imágenes se muestran los volúmenes de los discos.

A bajas HR no se evidenciaron modificaciones en los discos de fruta respecto del volumen del disco liofilizado. Al finalizar el almacenamiento a 43% HR se da una importante reducción en el volumen del disco (aproximadamente 40%). Además puede notarse el encogimiento irregular del disco de melón humidificado a 84% HR, que a su vez alcanzó el valor máximo de encogimiento para este material (50%).

La **Figura IV-15** muestra el porcentaje de encogimiento de los discos de manzana, melón, pera y frutilla liofilizados durante el tiempo de humidificación a 25 °C. Se observa que a medida que aumenta la HR, aumenta el grado de encogimiento en todas las frutas analizadas.



**Figura IV-15.** Encogimiento en discos de manzana, melón, pera y frutilla liofilizados y humidificados a 25 °C entre 11 y 84% HR en función del tiempo de humidificación.

A HR bajas (11%) no se registraron cambios significativos de volumen. A humedades relativas intermedias la máxima disminución de volumen fue cercana al 30%. El máximo encogimiento se produjo a altas HR (75 y 84%).

Las muestras de manzana registraron el menor grado de colapso (con un valor máximo de 40%), mientras que el resto de las muestras presentaron valores superiores al 50% de reducción de volumen. Puede notarse que el máximo valor de colapso se produjo en el período inicial de la humidificación (1 día), luego del cual la velocidad de encogimiento disminuyó notoriamente, hasta llegar a un valor casi constante (*plateau*). Debido al rápido desarrollo de colapso en las muestras durante el tiempo de almacenamiento a 25 °C, no fue

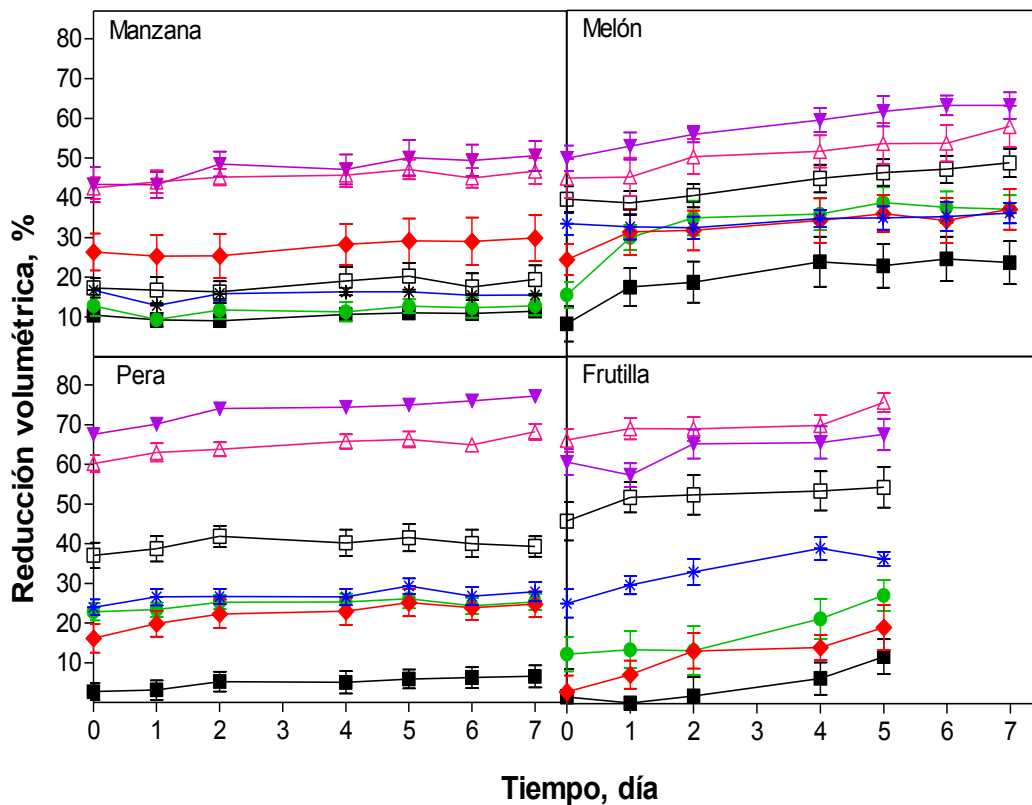
posible determinar la cinética de encogimiento. Por lo tanto, se consideró como valor de interés la máxima reducción de volumen alcanzada en cada fruta.

#### **IV.2.2. Efecto del tratamiento térmico sobre el encogimiento de frutas liofilizadas**

Con el objeto de estudiar el efecto del tratamiento térmico en el colapso estructural, las muestras de frutas humidificadas a diversas HR se almacenaron a 45 °C y se determinó la contribución de esta etapa en la reducción volumétrica de los discos. Se calculó el porcentaje de encogimiento de las muestras, considerando como muestra control las frutas al cabo de la humidificación y se graficó en función del tiempo de almacenamiento (**Figura IV-16**).

Se puede observar que el mayor cambio de volumen se produjo durante la humidificación de las muestras a 25 °C, y el volumen se redujo en menor grado por el efecto de aumentar 20 °C la temperatura.

De acuerdo a la tendencia observada a 25 °C, las muestras de pera y frutilla presentaron mayor grado de encogimiento durante el tratamiento térmico. Por el contrario, la manzana fue la fruta que mostró menor reducción volumétrica.

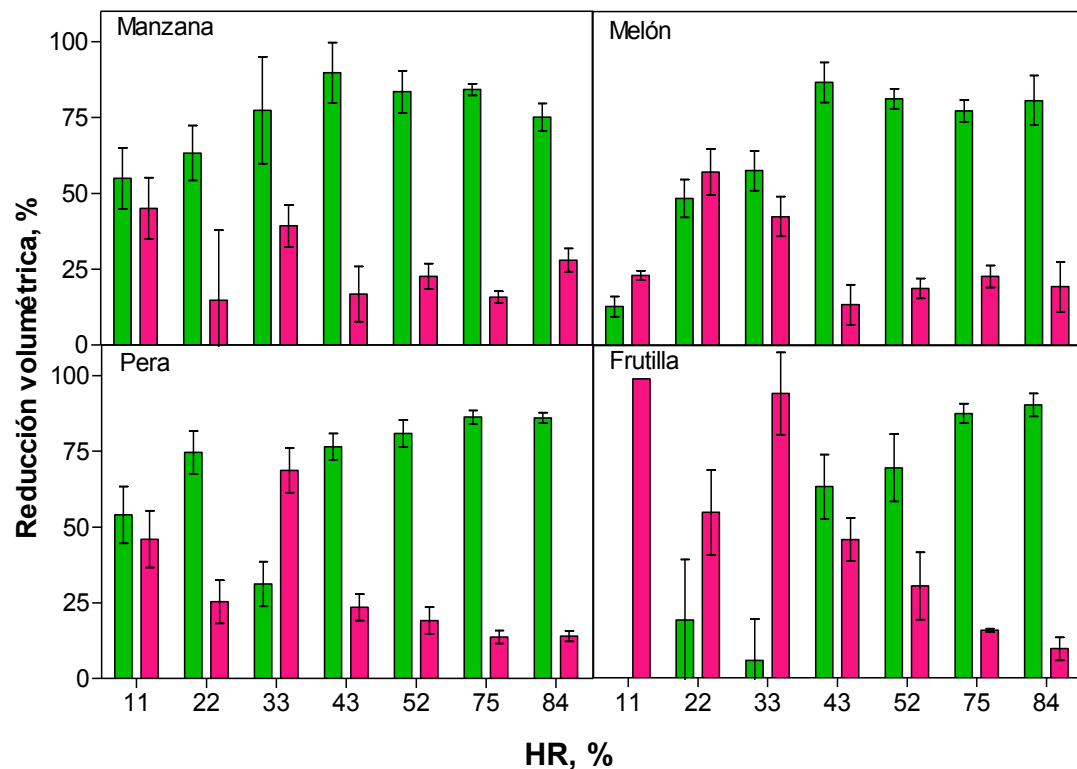


**Figura IV-16.** Encogimiento de discos de manzana, melón, pera y frutilla humidificados a 11 (■), 22 (●), 33 (◆), 43 (\*), 52 (□), 75 (△) y 84 (▼) % HR en función del tiempo de almacenamiento a 45 °C.

Para determinar la contribución de la humidificación y del tratamiento térmico sobre el colapso estructural de cada material (**Figura IV-17**) se comparó el porcentaje de encogimiento ocurrido en cada proceso, considerando como el máximo porcentaje de encogimiento (100%) a la reducción volumétrica obtenida en los discos de fruta al cabo del tratamiento térmico.

En la mayor parte de los casos la contribución más importante al colapso ocurrió en la humidificación, en particular a partir de 43% HR. La contribución del aumento de temperatura al encogimiento fue importante principalmente en las muestras que habían colapsado poco en la humidificación, es decir 11, 22 y 33% HR.

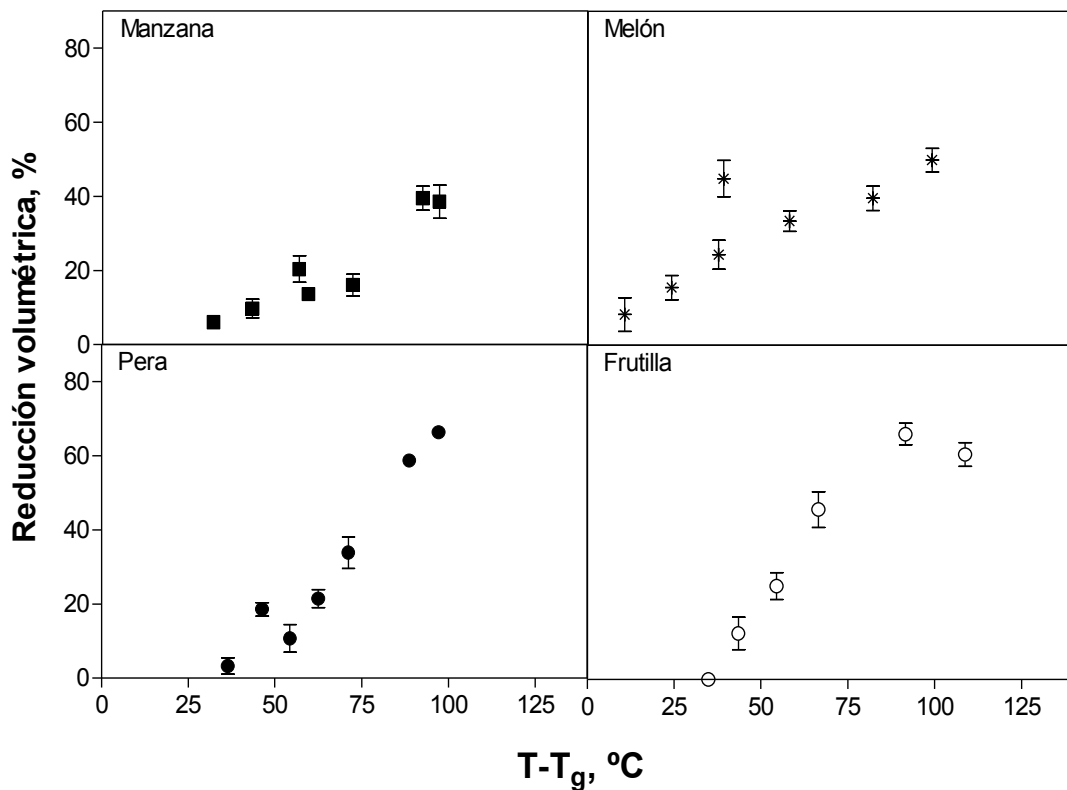




**Figura IV-17.** Contribución del tiempo de humidificación a 25 °C (barras verdes) y del tiempo de almacenamiento a 45 °C (barras rosas) al colapso en discos de manzana, melón, pera y frutilla en función de la HR.

Dado que en trabajos previos se ha demostrado que el colapso en un material amorfo depende del valor de  $(T-T_g)$  y del tiempo (Levi y Karel, 1995; Bonelli y col., 1997). Se analizó el porcentaje máximo de encogimiento obtenido, considerando el valor alcanzado al cabo de la humidificación en función de la variable  $T-T_g$ , siendo  $T$  la temperatura de almacenamiento y  $T_g$  la temperatura de transición vítrea.

En la **Figura IV-18** se muestra el porcentaje de encogimiento producido en los discos de frutas liofilizadas en función de  $(T-T_g)$ .



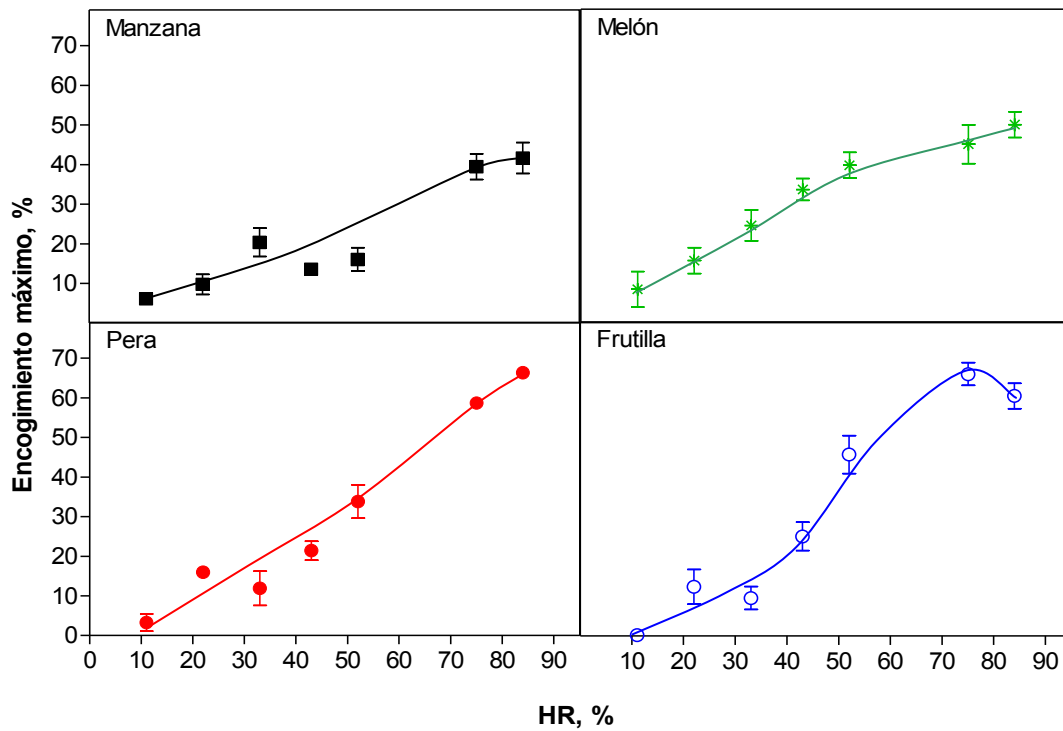
**Figura IV-18.** Reducción volumétrica de discos de manzana, melón, pera y frutilla liofilizados en función de  $T-T_g$ , siendo  $T$  la temperatura de almacenamiento a 25 °C y  $T_g$  la temperatura de transición vítrea.

Si bien todas las muestras se encontraban en estado sobre-enfriado a 25 °C, el encogimiento sólo se presentó a partir de valores de  $(T-T_g)$  superiores a 50 °C, que corresponden a muestras humidificadas a HR 33%. Por lo tanto estos valores reflejan las condiciones a partir de las cuales se producen cambios físicos en el tiempo de observación (14 días). Estas propiedades han sido estudiadas principalmente en matrices de azúcar (Roos y Karel, 1991b; Levi y Karel., 1995; Bonelli, y col., 1997), en donde la ausencia de biopolímeros estructurales permite grados de colapso mucho más elevados que los observados en las matrices más complejas analizadas. En dichos sistemas el colapso es observable a partir de valores de  $(T-T_g)$  superiores a 20°C.

Los cambios estructurales son fuertemente afectados por variables como el contenido de agua, las temperaturas de almacenamiento y las temperaturas de transición vítrea. Además, se suma la presencia de biopolímeros (dependientes de la composición de la fruta) que afectan la estructura. En las frutas estudiadas, a humedades relativas por debajo de 22% se obtiene un material más estable, el valor de  $(T-T_g)$  no supera los 25 °C y el encogimiento se encuentra dificultado por la presencia de biopolímeros.

En diversos trabajos se informó que el colapso de matrices en función de  $T-T_g$  presenta una correlación exponencial o tipo Williams, Landel y Ferry (WLF) (William y col., 1955) cerca de la  $T_g$  en donde las matrices colapsan indefinidamente. En este trabajo se pudo observar que los materiales estudiados se alejan de este comportamiento, ya que se obtuvo un máximo de colapso y posteriormente un volumen cuasi constante.

Como se observó anteriormente, el tratamiento término no generó cambios importantes en el colapso estructural de las muestras analizadas. Por lo que el estudio de la influencia de las propiedades físicas en el encogimiento, se analizó teniendo en cuenta los valores máximos de grado de colapso alcanzado en los discos de frutas humidificados a diferentes humedades relativas a 25 °C (**Figura IV-19**), correspondientes a los valores del *plateau* de la **Figura IV-15**. En la **Figura IV-19** se puede observar el incremento del porcentaje máximo de colapso con el aumento de la humedad relativa.



**Figura IV-19.** Encogimiento máximo en discos de manzana, melón, pera y frutilla liofilizados en función de HR.

En las muestras de frutilla el encogimiento presentó un pico máximo a 75% de HR. En este material es posible que se produzca hinchamiento en exceso de agua, enmascarando el colapso. Por otra parte, en el resto de las muestras el máximo valor de encogimiento se observó en el material humidificado a 84% HR.

Estas observaciones indican la existencia de biopolímeros con distinto comportamiento en cada fruta: tanto en la capacidad de mantener la estructura (como en el caso de manzana), como de hincharse por exceso de agua (como en el caso de frutilla).

### **IV.3. ANÁLISIS DE LOS CAMBIOS DE COLOR Y TRANSLUCIDEZ EN LA LIOFILIZACIÓN, HUMIDIFICACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE FRUTAS**

Los alimentos liofilizados son en general materiales vítreos o sistemas acuosos sobre-enfriados y su comportamiento macroscópico determina la dinámica de cambios a nivel molecular. Particularmente, afecta la cinética de reacciones químicas que en ellos se desarrollan, modificando su dependencia con la temperatura y el contenido de agua.

En esta sección se evaluó el desarrollo y la cinética de una de las reacciones químicas más relevantes para la estabilidad de frutas deshidratadas: la reacción de pardeamiento. Se verificó que las transiciones térmicas, cambios de fase y las características estructurales afectan la cinética de esta reacción. Otro aspecto incluido en este trabajo es la influencia de las interacciones agua-soluto sobre la velocidad de pardeamiento.

Se estudió el color y la opacidad de muestras de fruta a través del sistema de visión computarizada (SVC) y el posterior análisis de las imágenes adquiridas.

#### **IV.3.1. Efecto de la liofilización, compresión y humidificación sobre el color y la opacidad de frutas**

En esta sección nos referimos tanto a la compactación manual en el caso de los polvos, como a la compactación debida a la laminación de los discos.

### IV.3.1.1. Cambios de color y opacidad como consecuencia del secado

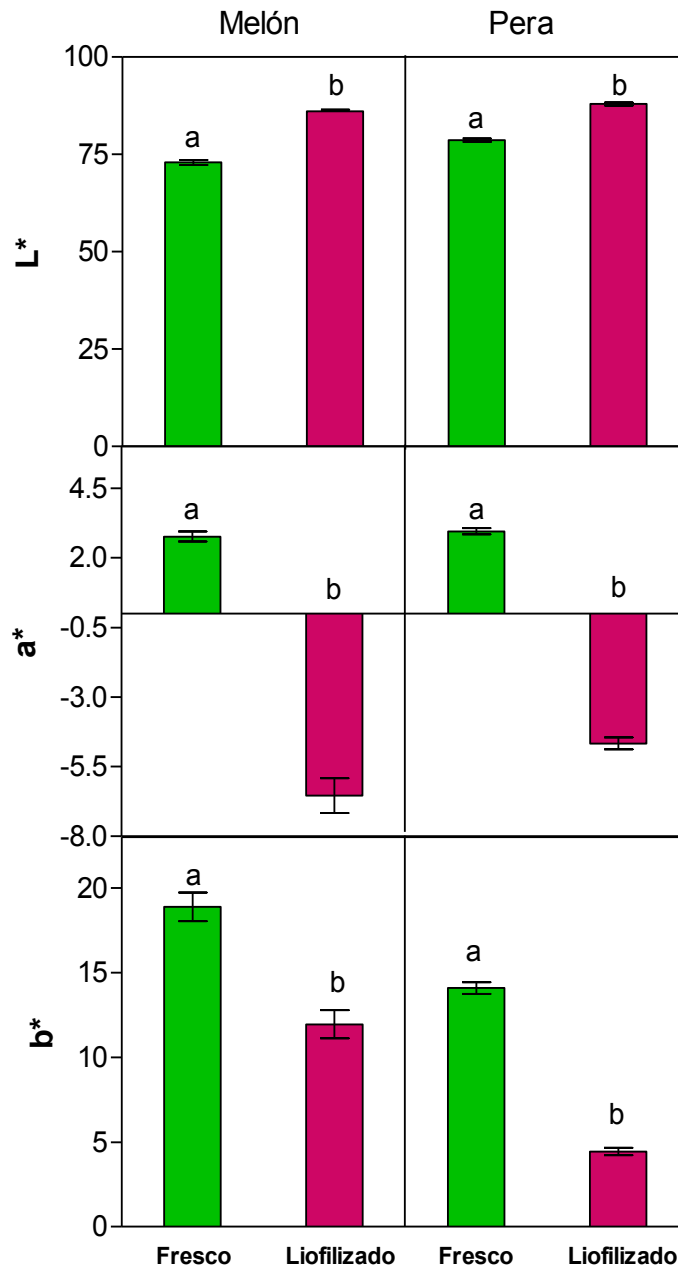
Se compararon las características ópticas de discos de melón y pera frescos y luego de la liofilización (**Figura IV-20**).



**Figura IV-20.** Imágenes de discos de melón y pera frescos (izquierda) y liofilizados (derecha) fotografiados con sobre fondo blanco y su valor de  $\Delta E_{00}$ .

Las características cromáticas de los materiales deshidratados presentaron importantes variaciones que se observaron de manera directa (**Figura IV-20**). La variación de los parámetros cromáticos se manifiesta en el cambio global de color,  $\Delta E_{00}$ , el cual se calculó considerando las muestras frescas como referencia.

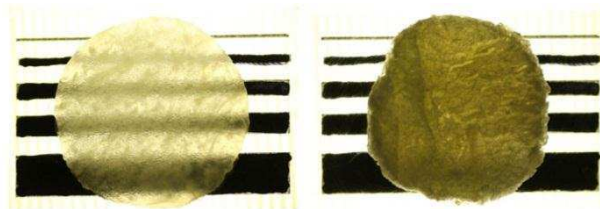
Además, se analizaron las variables de color ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) de discos de melón y pera frescos y luego de la liofilización. Se observaron diferencias importantes entre el color de las muestras frescas y de las liofilizadas, (**Figura IV-21**). Luego del secado, la luminosidad del material presentó un leve aumento, mientras que los valores de las variables cromáticas  $a^*$  y  $b^*$  disminuyeron abruptamente. Estos resultados son similares a los publicados por Khalloufi y Ratti (2003) para muestras de pera.



**Figura IV-21.** Comparación de las variables de color de discos de melón y pera frescos (barras verdes) y liofilizados (barras rosas). Se informa el promedio y el desvío estándar. Los promedios con diferente letra corresponden a diferencias significativas ( $p \geq 0,05$ ).

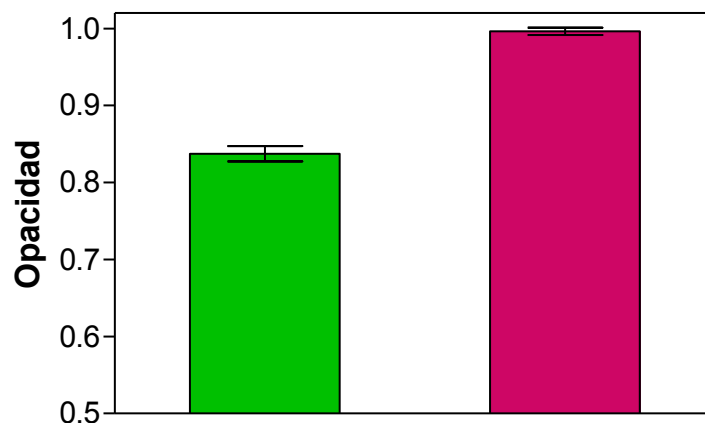
Además, luego de la liofilización se produjeron cambios en la opacidad de los discos fruta. A diferencia de las características cromáticas, las diferencias de translucidez se aprecian únicamente en relación al fondo sobre el que se observa la muestra. Según se muestra en la **Figura IV-22**, los discos de melón

frescos permiten la observación bastante nítida del fondo (que consiste en líneas de diferente grosor) mientras que en las muestras liofilizadas únicamente se aprecia la línea más gruesa.



**Figura IV-22.** Imágenes de discos de melón fresco (izquierda) y liofilizado (derecha) fotografiados con retroiluminación sobre una escala de líneas horizontales.

Los valores de luminosidad de los materiales liofilizados, medidos por reflectancia sobre fondos blanco y negro no fueron afectados por el fondo, y se trata, por lo tanto, de materiales opacos por lo que presentaron valores de opacidad cercanos a 1 (**Figura IV-23**). Por otro lado, los discos de fruta frescos mostraron valores de opacidad de aproximadamente 0,8.



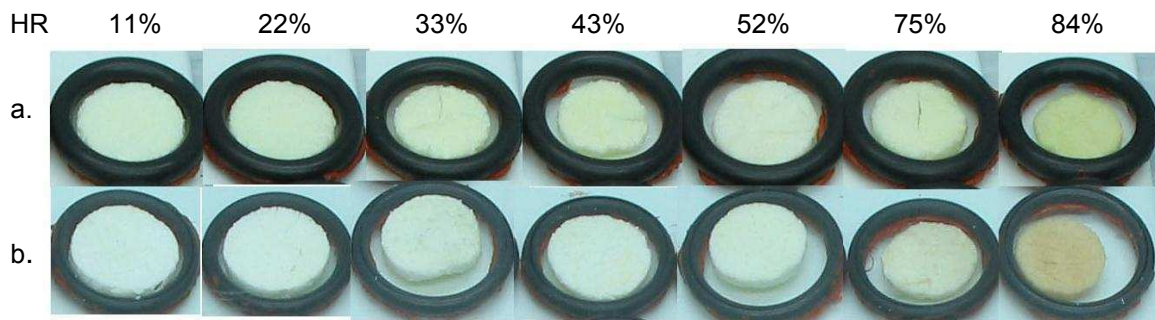
**Figura IV-23.** Opacidad de discos de melón frescos (barra verde) y liofilizados (barra rosa). Se informa el promedio y el desvío estándar.



El aumento de opacidad en las muestras liofilizadas, fue causado por la generación de poros producidos por el reemplazo de los cristales de hielo por aire durante la sublimación en el proceso de liofilización. La presencia de dichos poros produjo efectos de difusión de la luz, como se discutirá más adelante en la sección IV.3.1.2.

#### ***IV.3.1.2. Cambios de color y opacidad producidos por la humidificación***

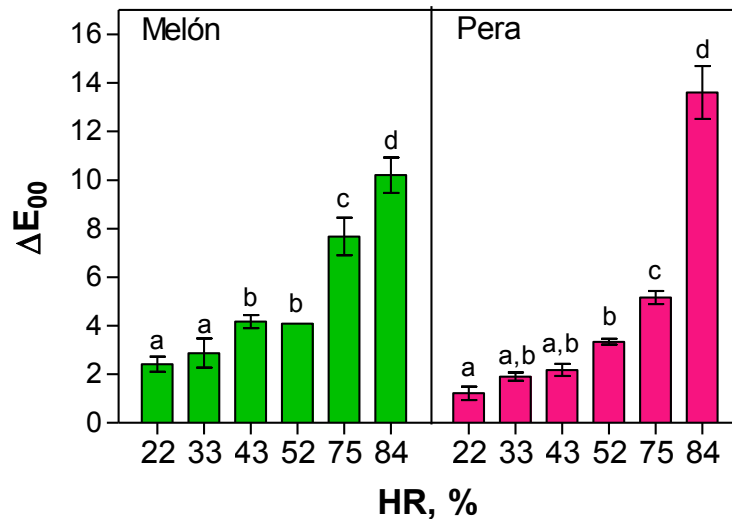
Durante la humidificación de las frutas liofilizadas a diferentes humedades relativas, también se observaron cambios de color y opacidad. La **Figura IV-24** muestra los cambios de color perceptibles a simple vista para discos de melón y pera al cabo de la humidificación a las diferentes humedades relativas.



**Figura IV-24.** Imágenes de discos de melón (a) y pera (b) luego de la humidificación durante 14 días en función de la humedad relativa.

Los cambios de color, expresados a través del análisis de  $\Delta E_{00}$  tomando como referencia las muestras equilibradas a 11% HR y  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  se muestran en las **Figuras IV-25 y 26.**

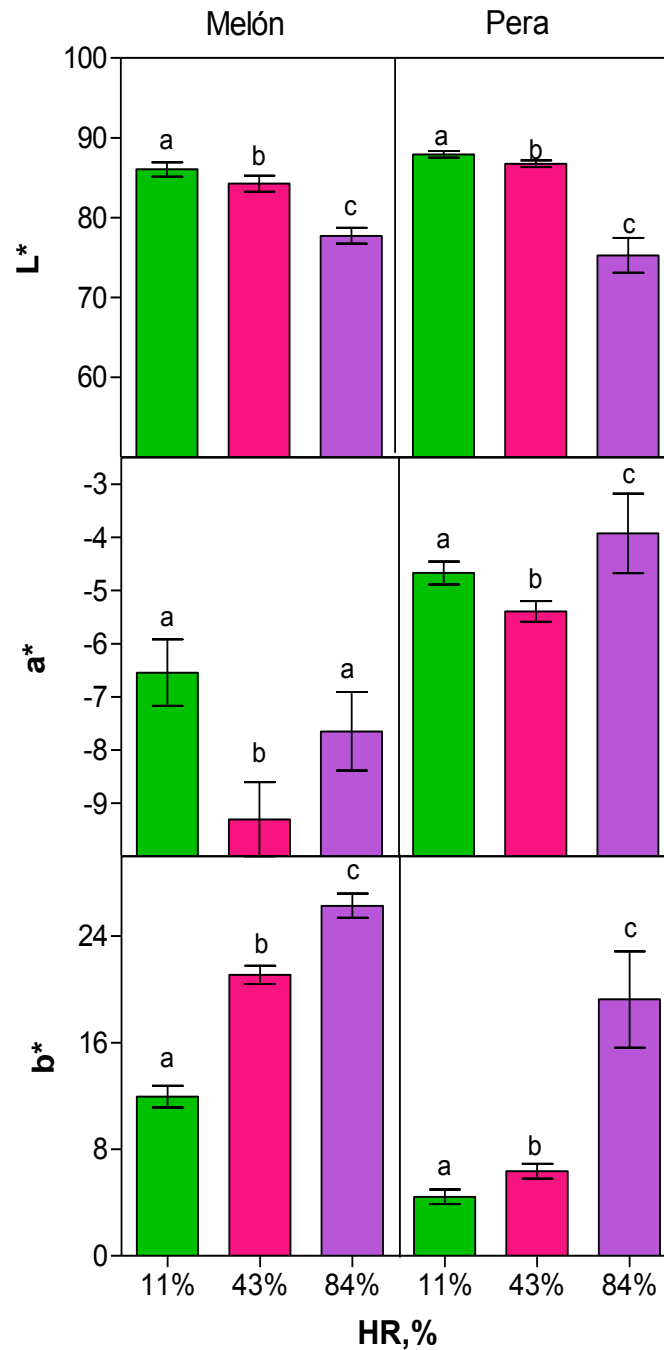
Las diferencias globales de color (**Figura IV-25**) fueron más importantes a medida que aumentó la humedad relativa.



**Figura IV-25.** Cambio de color global ( $\Delta E_{00}$ ) en discos de melón (izquierda) y pera (derecha) humidificados a 22, 33, 43, 52, 75 y 84% HR. Se informa el promedio y el desvío estándar. Los promedios con diferente letra corresponden a diferencias significativas ( $p \geq 0,05$ ).

Es importante notar que al cabo de la humidificación a 25 °C durante 14 días, tanto las muestras de pera como de melón presentaron desarrollo de pardeamiento, principalmente a humedades relativas iguales o mayores a 43%, atribuible en parte a reacciones enzimáticas que tienen lugar a partir de dicha humedad relativa, según se observa en la **Figura IV-26**. El pardeamiento de una muestra estudiada a través de los cambios de las variables de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , está representado principalmente por la pérdida de luminosidad, el desplazamiento de los valores de la coordenada cromática  $a^*$  desde el verde hacia el rojo por la producción de pigmentos pardos, además de un aumento en la tonalidad amarilla del material, representada por los incrementos en los valores de la variable  $b^*$ . Las variaciones ocurridas en las variables del espacio

CIELAB (Figura IV-26), están influenciadas de diversas maneras por efecto de la humedad.



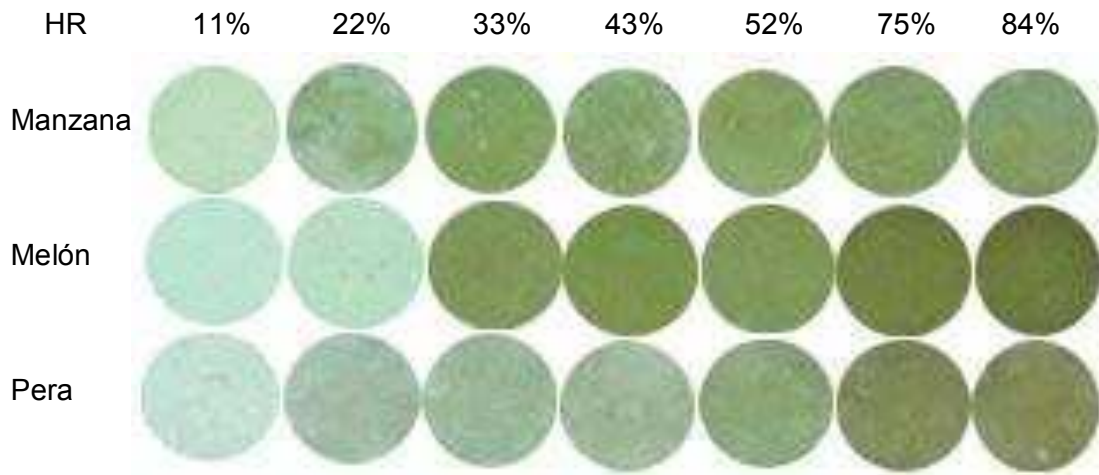
**Figura IV-26.** Coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  para discos de melón (izquierda) y pera (derecha) humidificados a 11 (barras verdes), 43 (barras rosas) y 84% (barras violetas) HR. Se informa el promedio y el desvío estándar. Los promedios con diferente letra corresponden a diferencias significativas ( $p \geq 0,05$ ).

Se observó que a humedades relativas inferiores a 43% no hubo variaciones importantes en la luminosidad de las frutas, a partir de esta HR esta variable presentó una disminución debido al oscurecimiento del material. En el caso de la coordenada  $a^*$  ambas frutas mostraron la misma tendencia, con una disminución de los valores a 43% HR y un aumento a altas humedades relativas. Las variable cromática  $b^*$  presentó los cambios más importantes con el aumento de la humedad relativa, lo que indica un aumento del grado de amarillo. Estos cambios fueron provocados principalmente por las variaciones en las coordenadas cromáticas  $a^*$  y  $b^*$ , siendo mayores para las muestras de pera.

Como se mencionó en la sección IV.3.1.1 la presencia de aire en el interior de las muestras produce importantes cambios en su percepción visual. Para estudiar en detalle el efecto de los cambios de color y opacidad causados por la humidificación evitando estas interferencias, se prepararon polvos a partir de las frutas liofilizadas.

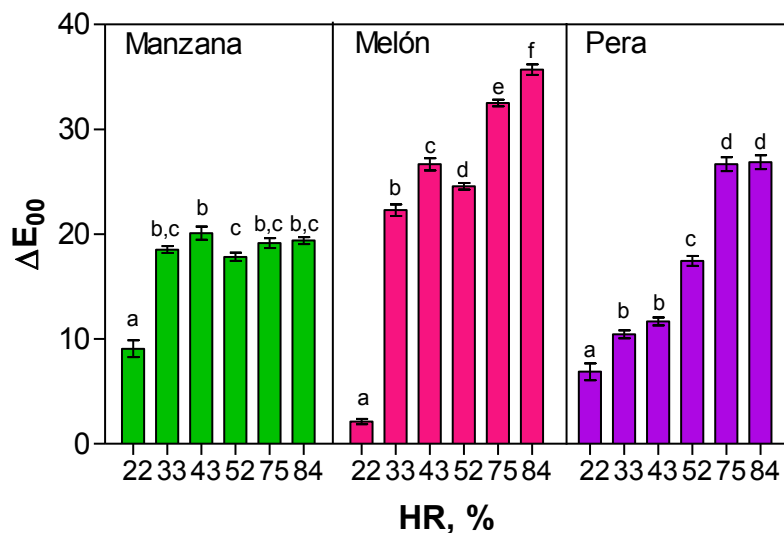
En la **Figura IV-27** se muestra el aspecto visual de las frutas pulverizadas al cabo de 14 días de humidificación a humedades relativas en un rango entre 11 y 84%. Se incorporaron además muestras de manzana en polvo como referencia, ya que ha sido un material mucho más estudiado.

Es interesante considerar que debido al aumento de la humedad relativa, se produjo un notorio cambio en el color de las muestras perceptible a simple vista.



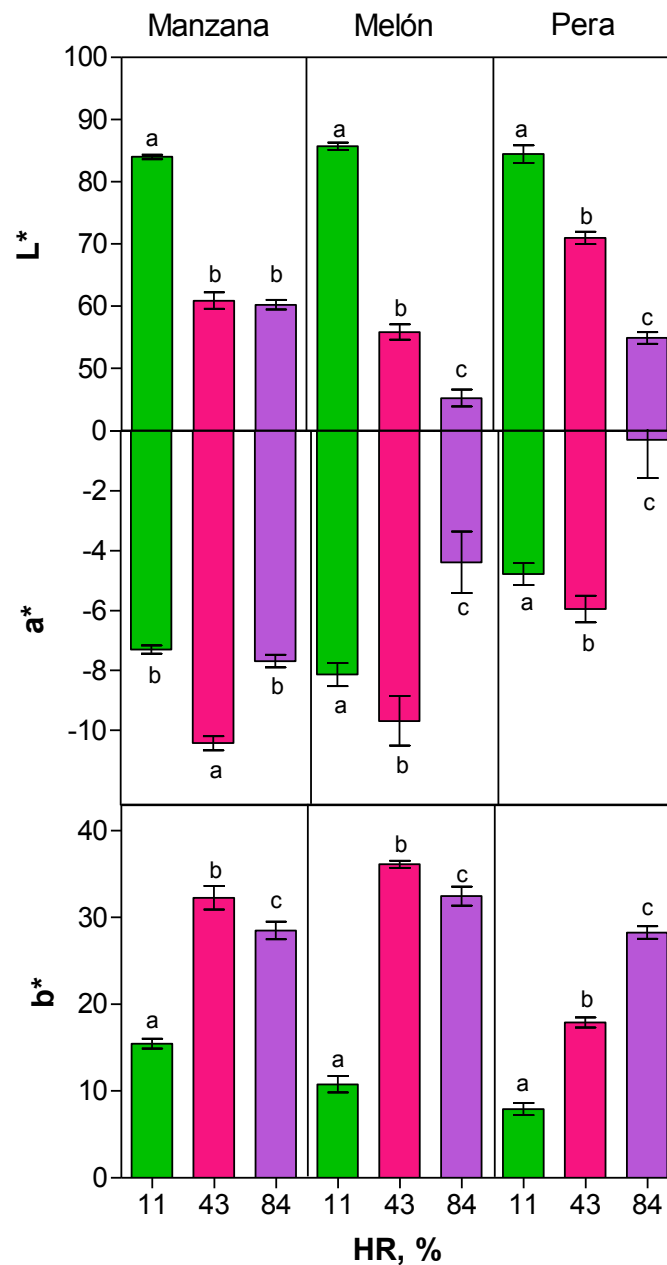
**Figura IV-27.** Imágenes de manzana, melón y pera en polvo al cabo de la humidificación a diferentes humedades relativas

Las diferencias globales de color ( $\Delta E_{00}$ ) en los polvos de fruta (**Figura IV-28**) se calcularon tomando como referencia las muestras humidificadas a 11% HR. Los valores de  $\Delta E_{00}$  indican cambios importantes a partir de humedades relativas bajas, siendo mayores en los polvos de melón en todo el rango de HR estudiadas.



**Figura IV-28.** Cambio de color global ( $\Delta E_{00}$ ) en polvo de manzana (izquierda), melón (centro) y pera (derecha) humidificados a 22, 33, 43, 52, 75 y 84% HR. Se informa el promedio y el desvío estándar. Los promedios con diferente letra corresponden a diferencias significativas ( $p \geq 0,05$ ).

En la **Figura IV-29** se muestran los valores de las variables cromáticas para manzana, melón y pera en polvo humidificados a 11, 43 y 84% HR. Los cambios observados en las muestras pulverizadas, particularmente las coordenadas  $L^*$  y  $b^*$  fueron mucho más marcados que en los discos de fruta.



**Figura IV-29.** Coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  para polvos de manzana (izquierda), melón (centro) y pera (derecha) humidificados a 11, 43 y 84% HR. Se informa el promedio y el desvío estándar. Los promedios con diferente letra corresponden a diferencias significativas ( $p \geq 0,05$ ).

La disminución de la luminosidad con el aumento de la humedad relativa fue más marcada en las muestras de melón. La coordenada cromática  $a^*$  presentó la misma tendencia descrita para los discos de melón y pera, con una disminución de los valores a humedades intermedias y un aumento a 84% HR. En el caso de la variable  $b^*$  los polvos de manzana y melón mostraron un aumento y posteriormente una leve disminución de sus valores con el incremento de la HR. Por el contrario, las muestras de pera pulverizada mantuvieron la tendencia observada en los discos, es decir, que aumentaron los valores de  $b^*$  con el incremento de la humedad relativa.

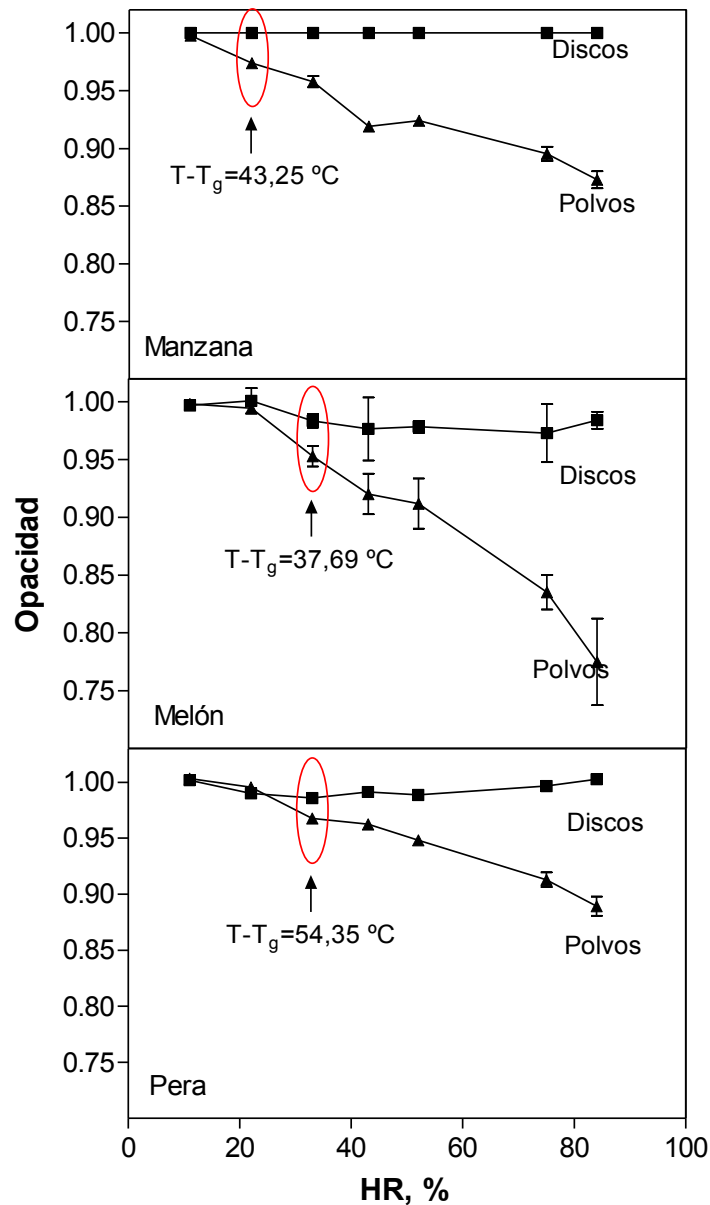
Las diferencias observadas en las muestras en discos y en polvo podrían deberse a la ruptura de la estructura celular en los polvos lo que lleva a una distribución de componentes diferente (azúcares, proteínas, agua). Además, al trabajar a igual espesor fue necesario utilizar 120% más cantidad de material en las muestras pulverizadas (**Tabla IV-5**). Como consecuencia de ambos factores la concentración de pigmentos y las características de sorción difieren en el material en polvo de las de rodajas (Acevedo y col., 2006).

**Tabla IV-5.** Masa promedio en gramos de frutas liofilizadas en disco y polvo.

Discos	Polvo
0,19 ± 0,03	0,38 ± 0,07

Se estudió el efecto de la HR sobre el grado de opacidad tanto en los discos de fruta como en los sistemas pulverizados y compactados manualmente (**Figura**

IV-30). Los materiales tanto discos como en polvo, se presentaron como materiales opacos luego de la liofilización.



**Figura IV-30.** Grado de opacidad para manzana, melón y pera en discos y en polvo con respecto a la humedad relativa, luego de humidificar las muestras durante 14 días a 25 °C. Se informa el promedio y el desvío estándar. Se informa el valor de  $T-T_g$  °C que corresponde al comienzo de los cambios de opacidad en polvo donde T es 25 °C y  $T_g$  es la temperatura de transición vítrea a 25 °C.

Los discos mantuvieron un grado de opacidad cercano a 1 a las diferentes HR estudiadas. Los polvos compactados, en cambio, presentaron una disminución



del grado de opacidad con el aumento de la humedad relativa a partir de 22 para manzana y 33%, para melón y pera indicando mayor translucidez en las muestras.

Durante la humidificación de las frutas a bajas HR el agua ingresa a la matriz e hidrata las muestras, pero recién a altas HR (> 75%) comienza a saturar los poros (Lana y col., 2006 y Talens y col., 2002) y hay condensación en capilares. En el caso de los tejidos íntegros (discos) la presencia de la estructura celular conserva aire y contribuye a mantener la porosidad de las muestras y, por ende, la opacidad del material. Por el contrario, en los polvos, en los que la estructura compacta no conserva el aire, a partir de un cierto contenido de agua, disminuye la opacidad. En las muestras en polvo la translucidez comienza a HR mucho más bajas que la que corresponde al llenado de capilares, esto se podría explicar a través de la pegajosidad y encogimiento provenientes del almacenamiento a temperaturas superiores a la  $T_g$ , según lo analizado en la sección IV.1.3.

En la **Figura IV-30**, se indican los valores de  $T-T_g$ , dicho valor corresponde a la HR en donde las muestras en polvo comenzaron a perder la opacidad generada en la liofilización.

Los resultados discutidos en las secciones IV.3.1.1 y IV.3.1.2 indican que la estructura en los materiales afecta tanto los aspectos cromáticos (representados por las variables  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) como la translucidez.

En el material vegetal seco la luz se dispersa debido a las diferencias entre los índices de refracción de los sólidos (celulosa, sólidos solubles, pectinas) y el aire (que es 1), en una proporción que es función del tamaño de la interfase aire-sólido (**Tabla IV-6**). De esta manera, cuando la luz atraviesa el material ocurren muchos eventos de refracción de la luz, haciendo que ésta se disperse produciendo el fenómeno de difusión (Saarela y col., 2008). Por lo tanto, los vegetales deshidratados son medios multi-dispersivos. Impregnando una muestra con un fluido cuyo índice de refracción sea mayor que el del aire, puede lograrse el aumento de translucidez, y la transparentización si se iguala al de la matriz (Saarela y col., 2008).

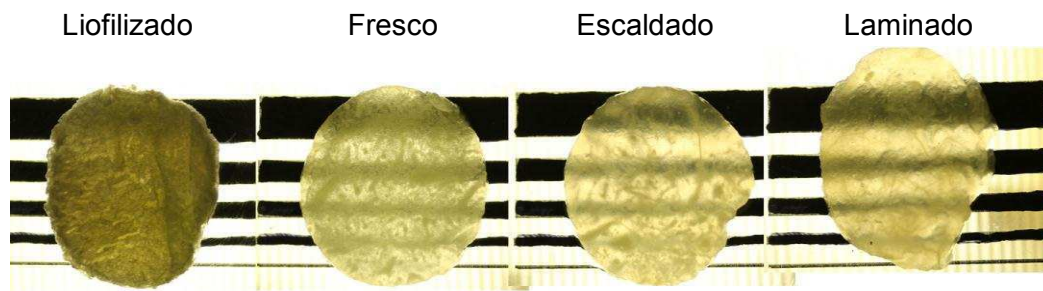
**Tabla IV-6.** Índices de refracción para diversas sustancias presentes en las frutas.

Sustancia	IR	Cita
Celulosa Cristalina	1,55	Saarela y col., 2008
Pectina cristalina	1,5093	Nikolova y col., 2007
Pectina 50% p/v	1,3310	
Sólidos de manzana hidratados	1,35	Mourant y col., 1997
Sacarosa cristalina	1,538	Pancoast y Hunk, 1980
Sacarosa 80% p/v	1,4927	Eyvind Aas, 1996

Se analizó por lo tanto el efecto de la imbibición de discos de melón en líquidos con diferente índice de refracción sobre la opacidad del material. Se determinó la opacidad de discos: a) frescos, b) escaldados, c) laminados con un rodillo y

d) liofilizados. Los discos frescos y laminados se liofilizaron y posteriormente se embebieron en fluidos (agua bidestilada, aceite de maíz o polietilenglicol 400) con distinto índice de refracción (**Tabla III-1**).

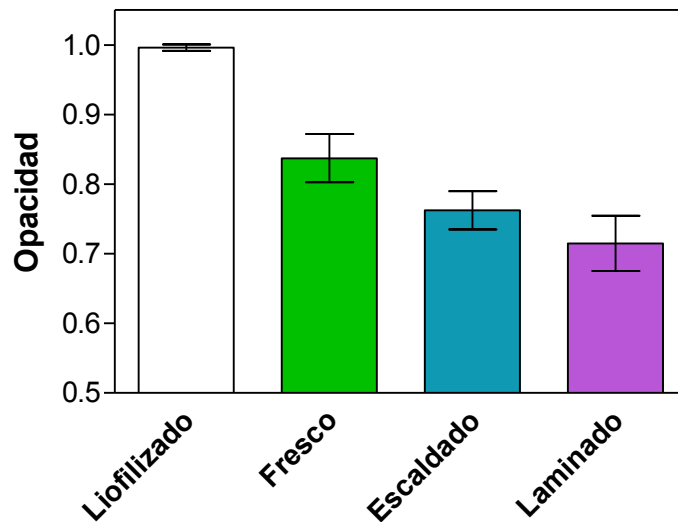
En la **Figura IV-31** se muestra el efecto visual de los tratamientos sobre la opacidad de los discos. Como se mostró anteriormente, al cabo de la liofilización los discos presentaron un grado de opacidad cercano a la unidad (**Figura IV-23**), mientras que los discos frescos, escaldados, y laminados presentaron cierto grado de translucidez, evidenciado por menores valores de opacidad en comparación con los obtenidos en el material liofilizado (**Figura IV-32**).



**Figura IV-31.** Imágenes de discos de melón liofilizado, fresco, escaldado y laminado fotografiados con retroiluminación sobre una escala de líneas horizontales.

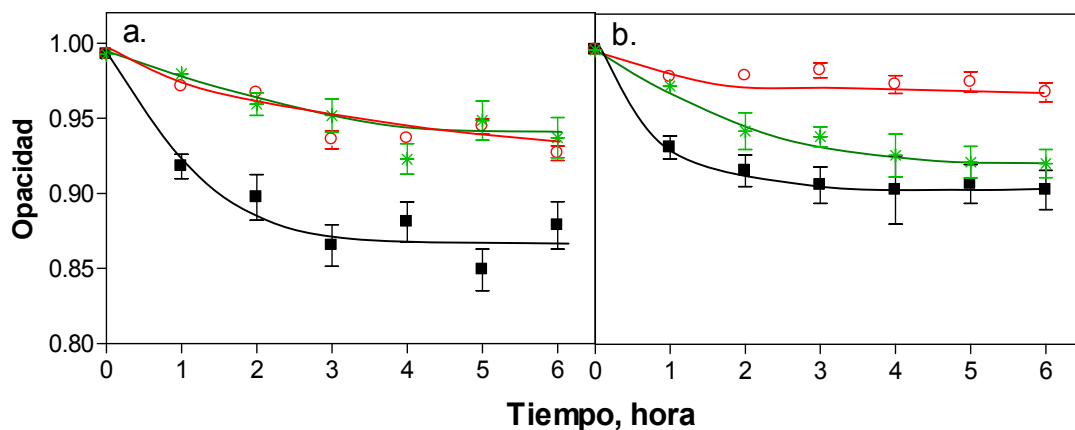
En el caso de la muestra fresca, el agua presente en las estructuras vegetales provocó un descenso en la opacidad ya que el índice de refracción del agua es mayor que la del aire (**Tabla III-1**). El tratamiento de escaldado produjo pérdida de aire, ruptura de las estructuras celulares y modificaciones moleculares que causaron el descenso de la opacidad. En el caso del laminado en rodillos, la ruptura celular, la pérdida de aire y principalmente la reducción de espesor de

las muestras fueron responsables de la disminución en la opacidad (**Figura IV-32**).



**Figura IV-32.** Opacidad de discos de melón con diferentes tratamientos. Se informa el promedio y el desvío estándar.

Se seleccionaron los discos de melón frescos (a) y laminados (b) que fueron las muestras que presentaron las diferencias más importantes de opacidad, se liofilizaron y se estudió la variación de la opacidad en función del tiempo de exposición a los fluidos antes indicados (**Figura IV-33**).



**Figura IV-33.** Variación de la opacidad de discos de melón frescos (a) y laminados (b) liofilizados en función del tiempo de exposición a fluidos de diferente índice de refracción. Agua (negro), aceite (rojo), PEG 400 (verde). Se informa el promedio y el desvío estándar.

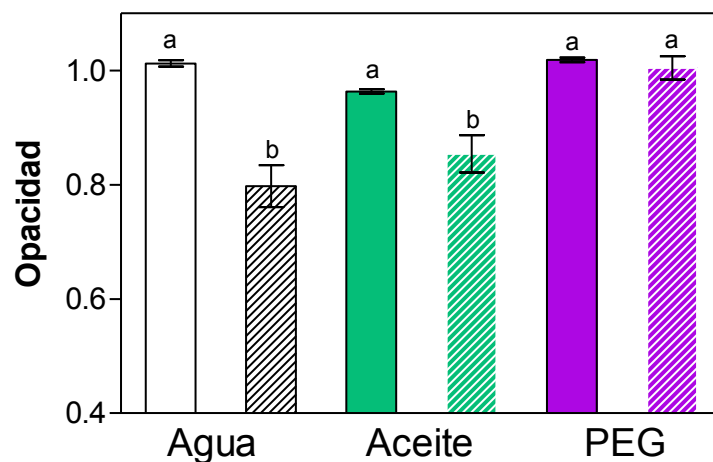
Como se mencionó anteriormente en la sección IV.3.1.1, la liofilización genera materiales totalmente opacos. Con la imbibición de los discos opacos en diversas sustancias se pudo observar que tanto en los discos frescos como en los laminados liofilizados, el fluido que generó mayor grado de translucidez fue el agua bidestilada, la cual presenta menor valor de índice de refracción que los demás fluidos estudiados (**Tabla III-1**). Además se logró una mayor reducción de la opacidad en los discos frescos liofilizados (**Figura IV-33 a**).

La disminución de opacidad más importante se produjo en la primera hora de imbibición. En el caso de los discos frescos liofilizados, el aceite y el polietilenglicol produjeron una disminución leve de la opacidad, y no se vieron diferencias entre ambos fluidos. Por otro lado, en el caso de los discos laminados liofilizados, el aceite no causó cambios en la opacidad y en presencia de PEG se vio un descenso de la opacidad similar al observado en el caso de los discos liofilizados. Es importante considerar que en las muestras laminadas, aunque se observó una disminución de la opacidad en presencia de agua y PEG 400, no se alcanzó el grado de translucidez observado en las muestras antes de su liofilización (**Figura IV-32**). El mayor grado de translucidez obtenido con agua puede deberse a que los componentes solubles dentro de la matriz se disuelven más fácilmente en agua que en los otros líquidos usados en la imbibición.

En adición a lo anterior, se estudió el efecto de la imbibición en los líquidos mencionados a altas temperaturas. Para ello, los fluidos fueron calentados a 80 °C, posteriormente las muestras se sumergieron en los fluidos por un periodo

de 3 minutos, pasado este tiempo se retiraron del fluido. Debido a que el índice de refracción es dependiente de la temperatura, las muestras se dejaron a temperatura ambiente y posteriormente fueron fotografiadas, de manera de poder comparar los resultados con los obtenidos anteriormente. El calentamiento de los líquidos provocó la disminución de la viscosidad y por lo tanto una mayor velocidad de penetración en las estructuras celulares.

En la **Figura IV-34** se muestran los valores de opacidad obtenidos para los discos de melón frescos y laminados liofilizados y posteriormente embebidos en los fluidos calientes.



**Figura IV-34.** Opacidad de discos de melón fresco (barras lisas) y laminados (barras entramadas) liofilizados embebidos en agua, aceite y polietilenglicol a 80 °C. Los promedios con diferente letra corresponden a diferencias significativas ( $p \geq 0,05$ ).

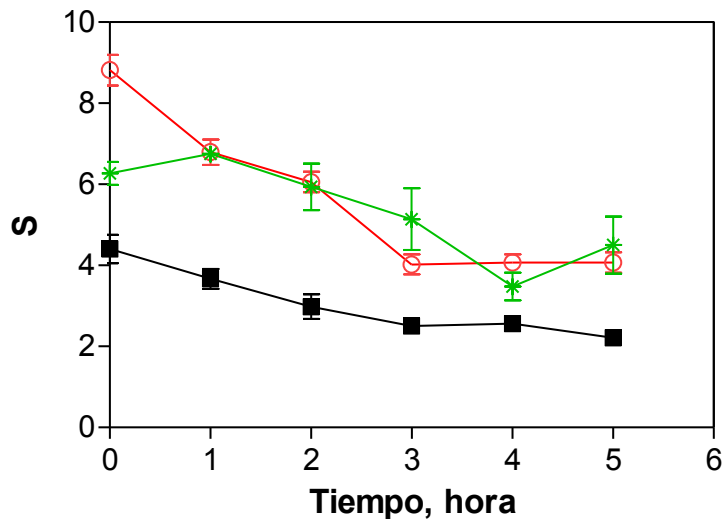
Los discos frescos y laminados liofilizados no presentaron características de translucidez, con valores de opacidad cercanos a la unidad. Por otra parte, la fruta laminada embebida en agua bidestilada presentó el mayor grado de translucidez, alcanzando valores similares a los del material sin tratamientos.

En el caso del aceite, se pudo notar un descenso de translucidez del material con el aumento de la temperatura del fluido. En cambio, el polietilenglicol no produjo disminución en la opacidad del material.

En principio, la igualación de índices de refracción debería producir transparencia sin limitaciones. En la práctica, la dispersión y adsorción representan un límite. El primer límite está dado por la dispersión múltiple ya sea porque la igualación de índices de refracción entre el agente transparentante y la matriz vegetal no es buena, o el espesor de la muestra no es suficientemente fino. La dispersión interfiere y se pierde la transparencia. Por otro lado, la matriz vegetal contiene componentes con diferentes índices de refracción, lo que introduce dispersión y disminuye la transparencia. En tercer lugar, aunque la igualación de índices de refracción fuera buena y la matriz estuviera compuesta por un material idealmente homogéneo, el límite de transparentación está dado por la adsorción propia de la matriz y el agente transparentante (Saarela y col., 2008).

Resulta interesante comparar la opacidad calculada a través de la coordenada  $L^*$  medida por trans-reflectancia con fondo blanco y negro y las variables calculadas a través de la teoría de Kubelka–Munk para medios turbios:  $K$ ,  $S$  y su relación ( $K/S$ ) (Kubelka y Munk, 1931). Este tratamiento permite evitar el efecto del espesor, y contar con un parámetro que tiene en cuenta el cambio de luminosidad independientemente del poder dispersivo del material. Se calcularon estas variables para las muestras a distintos tiempos de imbibición en los líquidos de la **Tabla III-1** a temperatura ambiente (20 °C).

Se estudió la variación del coeficiente de dispersión en función del tiempo de imbibición en los diversos fluidos (**Figura IV-35**).

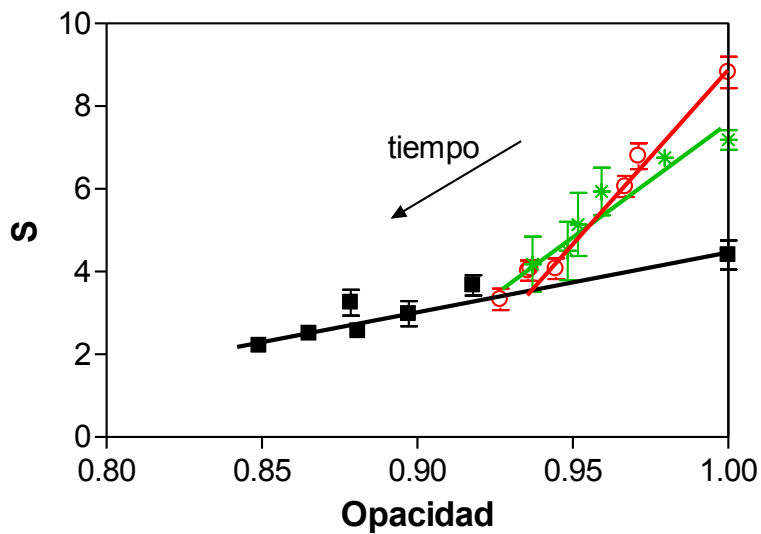


**Figura IV-35.** Variación del coeficiente de dispersión (S) en discos de melón liofilizados en función del tiempo de imbibición en agua (negro), aceite (rojo) y PEG (verde). Se informa el promedio y el desvío estándar.

El aceite y el polietilenglicol, presentaron una disminución del coeficiente S a medida que aumentó el tiempo. Por el contrario, las muestras embebidas en agua no evidenciaron cambios tan importantes en el coeficiente de dispersión. A diferencia de lo observado para los cambios de opacidad (**Figura IV-34**), en el caso de la imbibición en agua la disminución de S fue más gradual en el tiempo. En las muestras sumergidas en polietilenglicol el coeficiente de dispersión comenzó a disminuir después de una hora de contacto con dicho fluido, lo que indica la mayor dificultad para ingresar en la matriz.

Se analizó la relación entre el coeficiente de dispersión y la opacidad en las muestras liofilizadas y embebidas en los diferentes fluidos (**Figura IV-36**).

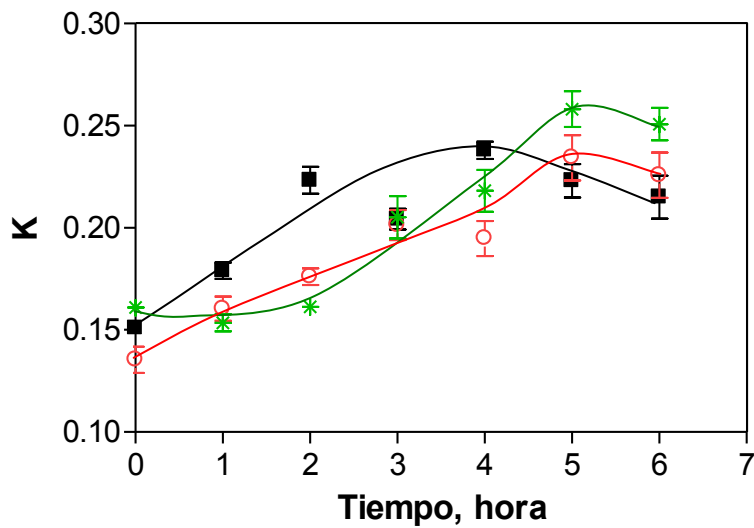




**Figura IV-36.** Relación entre el coeficiente S y la opacidad para agua destilada (negro), aceite de maíz (rojo) y polietilenglicol 400 (verde) de discos de melón liofilizados. Se informa el promedio y el desvío estándar.

Se puede observar que el aceite de maíz y el PEG presentaron amplia variación del coeficiente S y una pequeña variación de la opacidad. En este caso el coeficiente S respondió muy sensiblemente al tiempo de imbibición. Las muestras sumergidas en agua tuvieron mayor cambio de opacidad con pequeñas variaciones de S. Esto puede deberse al hinchamiento paralelo que ocurre en las muestras sumergidas en agua, que afecta más la opacidad que el coeficiente de dispersión.

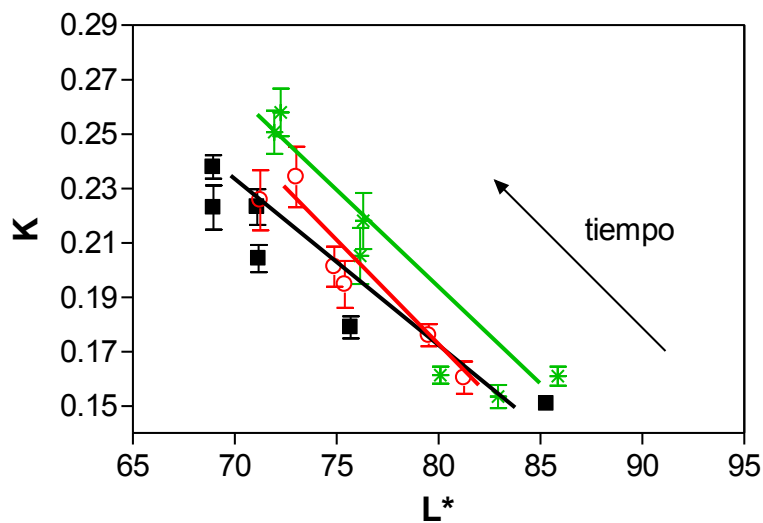
En la **Figura IV-37** se presentan los valores de los coeficientes de absorción, K en función del tiempo de imbibición



**Figura IV-37.** Variación del coeficiente de adsorción (K) en discos de melón liofilizados en función del tiempo de imbibición en agua (negro), aceite (rojo) y PEG (verde). Se informa el promedio y el desvío estándar.

En todos los casos se observó un leve aumento de K, que podría ser atribuido a la disminución de la luminosidad debido al ingreso de los fluidos al tejido. Además, el hinchamiento provocado por la incorporación de los fluidos en la matriz también podría causar un aumento de absorción. En este caso los cambios de K no estarían asociados a modificaciones en la concentración de pigmentos.

En la **Figura IV-38** se muestra la relación entre el aumento del coeficiente de absorción (K) y la luminosidad ( $L^*$ ) de los discos de melón liofilizados embebidos en agua bidestilada, aceite de maíz y polietilenglicol 400.

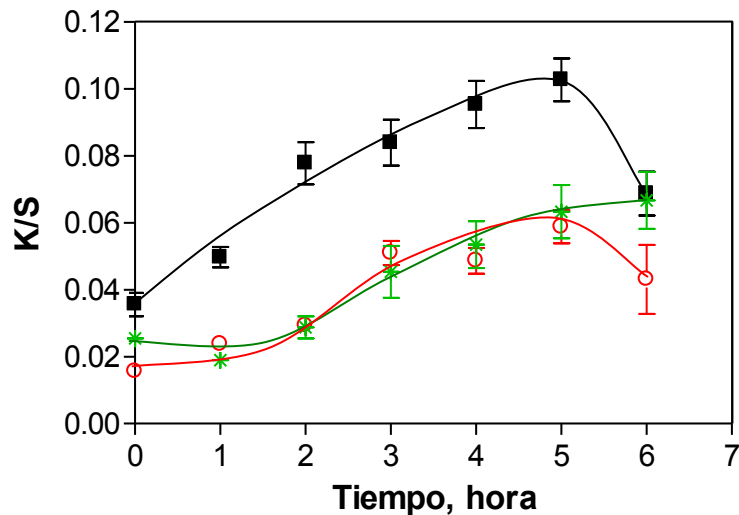


**Figura IV-38.** Relación entre el coeficiente K y  $L^*$  para discos de melón liofilizados embebidos en agua destilada (negro), aceite de maíz (rojo) y polietilenglicol 400 (verde). Se informa el promedio y el desvío estándar.

Se observó que el efecto de la imbibición de los discos de fruta sobre el coeficiente de atenuación es más independiente del índice de refracción de los líquidos empleados que el coeficiente de dispersión.

Se analizó la relación de las variables de la teoría de K-M en función del tiempo de imbibición en los diversos fluidos. En la **Figura IV-39** se puede observar que a medida que aumenta el tiempo de contacto con los fluidos se produjo un incremento en los valores de  $K/S$ , que fue más notorio en las muestras embebidas en agua. Los discos de melón impregnados con aceite y PEG 400 mostraron diferencias menores de esta variable. El aumento en los valores de  $K/S$  se debe principalmente a que cuando las muestras se van haciendo más translúcidas, el coeficiente de dispersión va disminuyendo, lo que implica que la luz incidente en el material encuentra un camino menos tortuoso, hay menos dispersión y menos opacidad. Por otra parte, los aumentos del coeficiente de

absorción son más pequeños, ya que no hay cambio de concentración de pigmentos. Por lo tanto, el aumento de la variable  $K/S$  se puede atribuir principalmente a la disminución del coeficiente de dispersión.



**Figura IV-39.** Evolución de la variable  $K/S$  en discos de melón embebidos en agua bidestilada (negro), aceite de maíz (rojo) y polietilenglicol 400 (verde) en función del tiempo. Se informa el promedio y el desvío estándar.

Teniendo en cuenta las transformaciones provocadas por los diferentes tratamientos (secado, escaldado y laminado) en la microestructura, conjuntamente con los resultados previamente mostrados sobre la medición de opacidad, sumado lo observado por la imbibición en distintos fluidos, puede concluirse que los cambios tendientes a homogenizar los índices de refracción de los diferentes componentes de la matriz minimizan el efecto dispersivo de las interfases y las matrices se tornan más transparentes (Saarela y col., 2008). En este sentido se destaca el efecto transparentizante del agua en tiempos cortos, que a pesar de que no iguala el índice de refracción estimado de los sólidos de las matrices, logra mayor transparencia que otros fluidos de índice

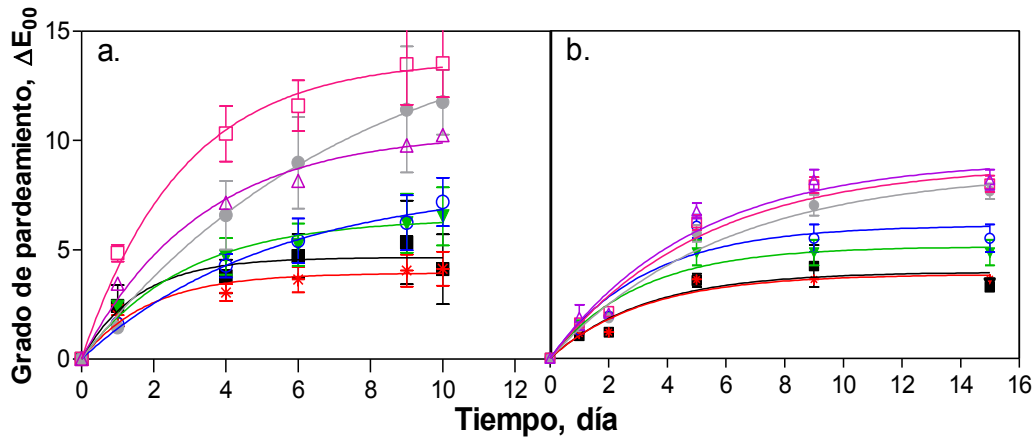
de refracción más próximo al de dichos sólidos. Esto se atribuye a la presencia de componentes con diferentes índices de refracción en la matriz vegetal, a la absorción propia de la matriz y del agente transparentante (Saarela y col., 2008), y al poder solvente del agua en relación a los otros fluidos empleados. Además la mejor difusión del agua en el interior de los tejidos, con respecto a los otros líquidos empleados se vio reflejada en la translucidez lograda a menores tiempos.

#### **IV.3.2. Efectos de los cambios físicos sobre las reacciones de pardeo en sistemas con distribución homogénea de color**

##### ***IV.3.2.1. Oscurecimiento de discos de fruta en función del tiempo de almacenamiento a 45 °C***

Se estudió la evolución del oscurecimiento de discos de melón y pera liofilizados asociado a las reacciones de pardeamiento durante el tiempo de almacenamiento a 45 °C en función de la humedad relativa. En esta etapa, podrían desarrollarse tanto reacciones de pardeamiento enzimático como no enzimático. Los materiales seleccionados para analizar la cinética de pardeo, permitieron evaluar el oscurecimiento sin interferencia de colorantes propios del medio y con la ventaja de no presentar inhomogeneidades en la distribución superficial de color.

La **Figura IV-40** muestra la evolución de la variable  $\Delta E_{00}$  para melón (a) y pera (b) en función del tiempo de almacenamiento.



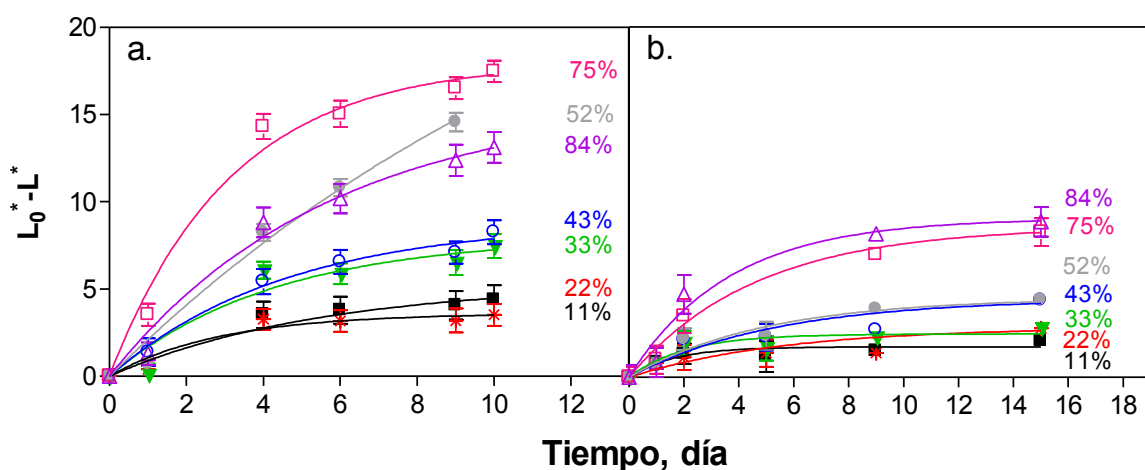
**Figura IV-40.** Cambio de color global ( $\Delta E_{00}$ ) en discos de melón (a) y pera (b) humidificados a 11% (■), 22% (\*), 33% (▼), 43% (○), 52% (●), 75% (□) y 84% (△) HR en función del tiempo de almacenamiento a 45 °C. Se informa el promedio y el desvío estándar.

Las frutas presentaron un comportamiento similar, con un acelerado desarrollo de color en la etapa inicial y un descenso en la velocidad de pardeamiento al cabo de 4 ó 5 días de almacenamiento a 45 °C. Sin embargo, el rápido desarrollo de oscurecimiento y la mayor intensidad de color obtenida en las muestras de melón puede deberse, además de a la influencia de la composición de azúcares solubles y de ácidos orgánicos, del pH más cercano a la neutralidad que presenta el melón en comparación con la pera. Algunos estudios han indicado que a pesar que la mayoría de las frutas presentan pHs fuertemente ácidos, los “melones dulces” son los únicos que tienen un inusual nivel de acidez bajo en la fruta madura, por lo tanto, los valores de pH en dicha fruta están cercanos al rango de neutralidad próximo a 6 (Cohen y col., 2012). En el almacenamiento a 45 °C, la actividad enzimática también podría contribuir aún más al desarrollo del oscurecimiento en el material, particularmente a altas HR. Ambas frutas presentaron un incremento en el

grado de pardeamiento a partir de 43% HR, mostrando un máximo a 75% y 84% HR para melón y pera respectivamente.

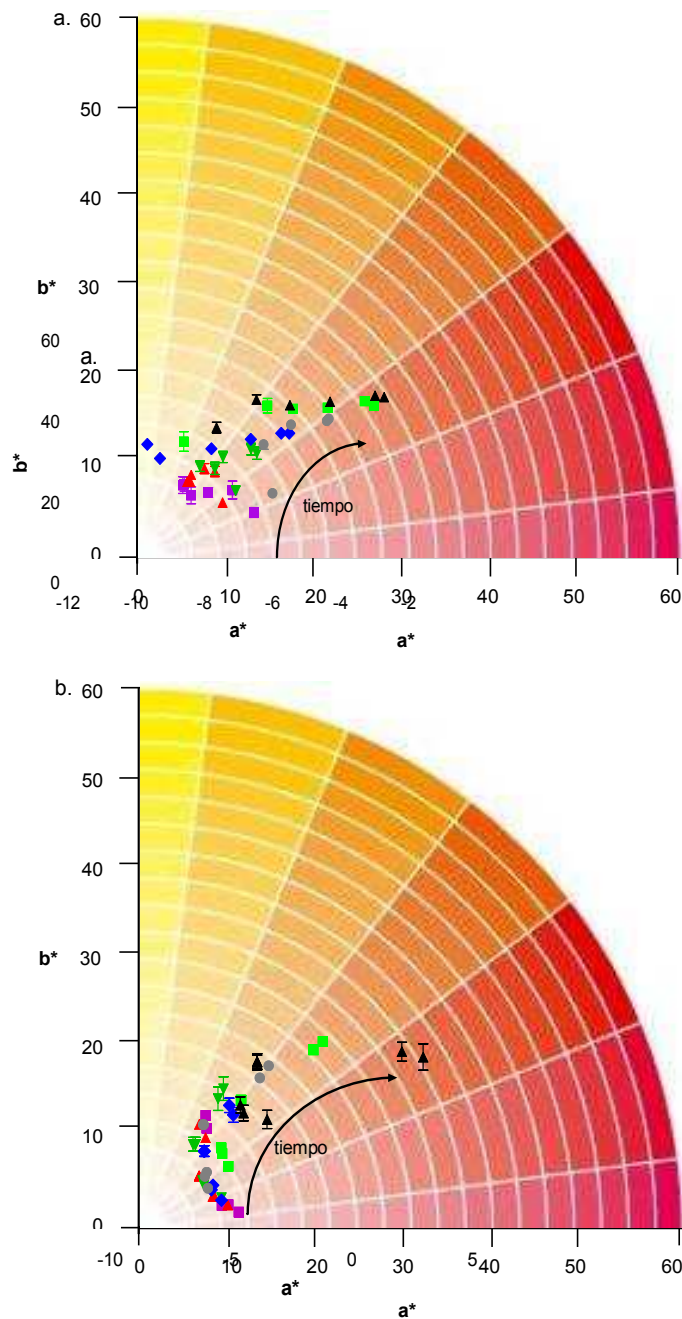
Se estudiaron las variables que representan los cambios de color de manera individual, con el objeto de determinar a cuál de ellas se puede atribuir las grandes variaciones de color observadas en la **Figura IV-40**. La evolución del oscurecimiento de melón y pera liofilizadas se estudió a través de la variable  $L_0^* - L^*$ , siendo  $L_0^*$  el valor de luminosidad a tiempo cero, que corresponde al color inicial adquirido durante la humidificación a cada HR y  $L^*$  el valor de luminosidad a cada tiempo de almacenamiento a 45°C (**Figura IV-41**).

Se produjo un aumento en el grado de oscurecimiento al aumentar la humedad relativa. En el caso de melón el mayor valor de  $L - L_0$  (máximo oscurecimiento) se presentó a 75% HR, mientras que en pera se produjo a 84% HR. Además, en todo el rango de humedades relativas analizado los discos de melón desarrollaron mayor grado de pardeamiento que los de pera.



**Figura IV-41.** Grado de pardeamiento de discos de melón (a) y pera (b) liofilizados y humidificados a 11%(■), 22% (\*), 33%(▼), 43%(○), 52%(●), 75%(□) y 84%(△) HR en función del tiempo de almacenamiento a 45 °C. Se informa el promedio y el desvío estándar.

Se analizó además el cambio en las variables cromáticas durante el almacenamiento a 45 °C a diversas HR. En la **Figura IV-42** se muestra la distribución de las muestras de acuerdo a la humedad relativa y el tiempo en el círculo cromático ( $a^*$ ,  $b^*$ ).



**Figura IV-42.** Cambio en las variables  $a^*$  y  $b^*$  de discos de melón (a) y pera (b) humidificados a 11%(■), 22%(▲), 33%(▼), 43%(◆), 52%(●), 75%(■) y 84%(▲) HR. Las flechas indican el desplazamiento debido al tiempo de almacenamiento. Se informa el promedio y el desvío estándar.

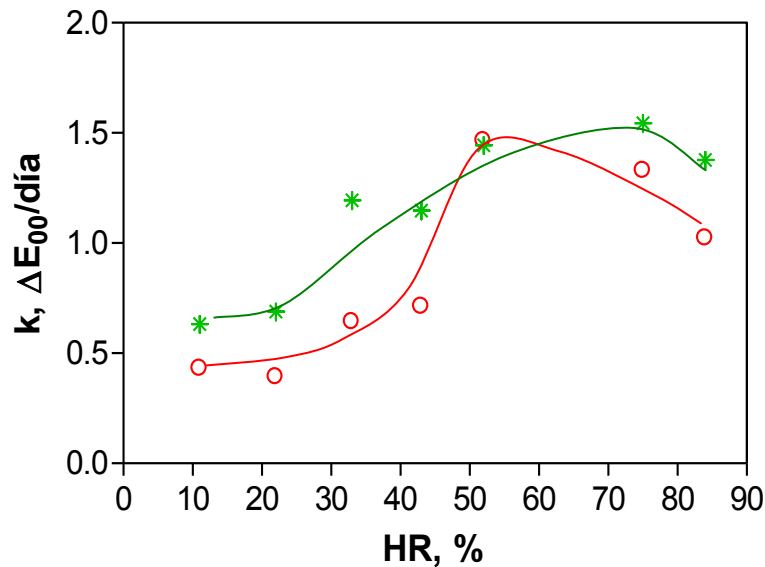


En el tiempo inicial, las muestras se encuentran ubicadas sobre el cuadrante positivo de  $b^*$ , el cual representa los valores amarillos y el cuadrante de valores negativos de  $a^*$  correspondientes a tonalidades verdosas, siendo levemente menores en este último los valores del melón que los de pera. Con el aumento de la HR, se produjo un desplazamiento hacia valores positivos de la coordenada cromática  $a^*$  indicando la pérdida de la tonalidad verde y ganancia de tonos rojos. En la coordenada cromática  $b^*$  se observan cambios importantes a bajas HR (11, 22 y 33%). Por el contrario, a valores intermedios y altos de humedad relativa las variaciones en la variable  $a^*$  son más importantes que las de  $b^*$ . Esto podría deberse a la formación de pigmento marrones propios de la reacción de pardeamiento, la cual se ve favorecida a altas HR dada la mayor movilidad. Es interesante notar que los cambios en las coordenadas cromáticas fueron más marcados es los discos de pera (mayores a 10 unidades en el parámetro  $a^*$ ) que en los de melón, a diferencia de lo observado en la luminosidad (**Figura IV-41**).

#### ***Constantes cinéticas de los cambios de color***

Con el fin de obtener las variables cinéticas, se describió el cambio de  $\Delta E_{00}$  en función del tiempo (**Figura IV-40**) a través del análisis de correlación no lineal de datos empleando la ecuación III-17.

En la **Figura IV-43** se graficó la constante cinética  $k$  en función de la HR para las frutas estudiadas. Las curvas resultantes de la velocidad de pardeamiento en función de la HR presentaron forma de campana.



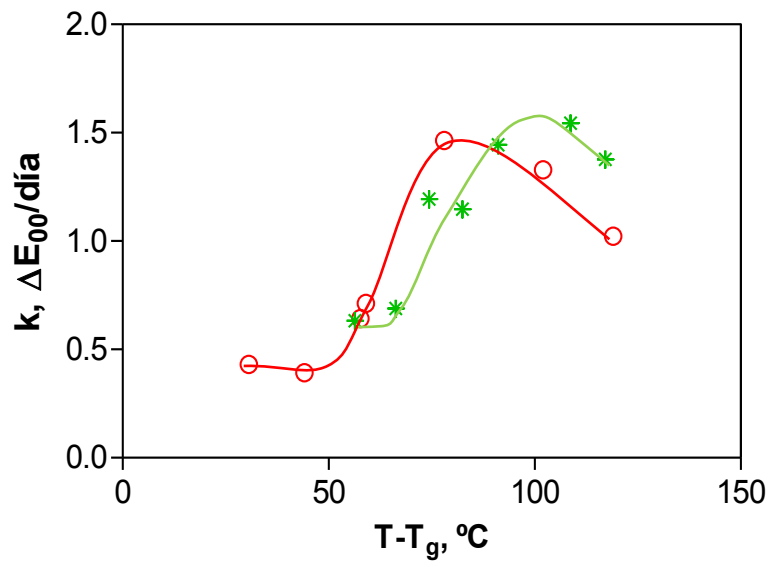
**Figura IV-43.** Velocidad de pardeamiento ( $k$ ) a 45 °C de melón (rojo) y pera (verde) en función de la humedad relativa.

A humedades relativas bajas la velocidad de desarrollo de pardeamiento fue menor que para HR altas, y se presentó un máximo de velocidad a 52% para melón y a 75% HR para pera. De acuerdo con Labuza y col. (1970), existe un máximo de velocidad de pardeamiento no enzimático en sistemas sólidos, en un rango de actividades de agua entre 0,6 y 0,8. Acevedo y col., (2006) observaron un máximo de pardeo a 75% HR en discos de manzana almacenados a 70 °C. Según estos autores los sistemas con componentes que proveen estructura, como los biopolímeros insolubles de los tejidos vegetales, muestran un máximo de velocidad de pardeamiento no enzimático a altas HR. Los máximos de velocidad observados en este trabajo concuerdan con los valores presentados en bibliografía (Acevedo y col., 2008b, Lavelli y Vantaggi, 2009).

La forma de las curvas de  $k$  en función de la HR ha sido previamente explicada (Warmbier y col., 1976; Labuza, 1980). A bajas HR el factor limitante es la

dificultad en la movilidad de los reactivos, que no pueden interactuar entre ellos, y la reacción tiene lugar a velocidades muy bajas. A medida que aumenta la HR del sistema, ocurren dos fenómenos: disminución de la viscosidad de la fase acuosa, y disolución de los reactivos en esa fase. Como consecuencia, se va produciendo un aumento gradual de la concentración de los reactivos en la fase acuosa y de su velocidad de difusión, lo cual se traduce en un incremento sostenido de la velocidad de reacción al aumentar HR. Llega un momento en que la fase acuosa se satura y un aumento del contenido acuoso no altera la concentración de reactivos, sino hasta el momento en que cesa la disponibilidad de los mismos para disolverse, y un aumento de HR solo produce dilución. Este efecto, sumado al hecho de que el agua, por ser producto de la reacción tiene una acción inhibitoria sobre la misma, ocasiona una disminución de la velocidad de reacción (Eichner y Karel, 1972; Labuza y Saltmarch, 1981; Labuza y col., 1977; Acevedo y col., 2008).

Se estudió el efecto de la temperatura de transición vítrea sobre la velocidad de pardeamiento de los discos de melón y pera. En la **Figura IV-44** se muestra la velocidad de pardeo de las frutas en función de  $T-T_g$  donde  $T$  es  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $T_g$  la temperatura de transición vítrea a cada HR. Las curvas obtenidas presentaron forma de campana. Las muestras de melón presentaron un descenso en la velocidad de oscurecimiento a  $T-T_g$  más bajos que las muestras de pera. Se puede observar que ambas muestras presentaron un incremento en la velocidad de pardeo a valores de  $T-T_g$  superiores a  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



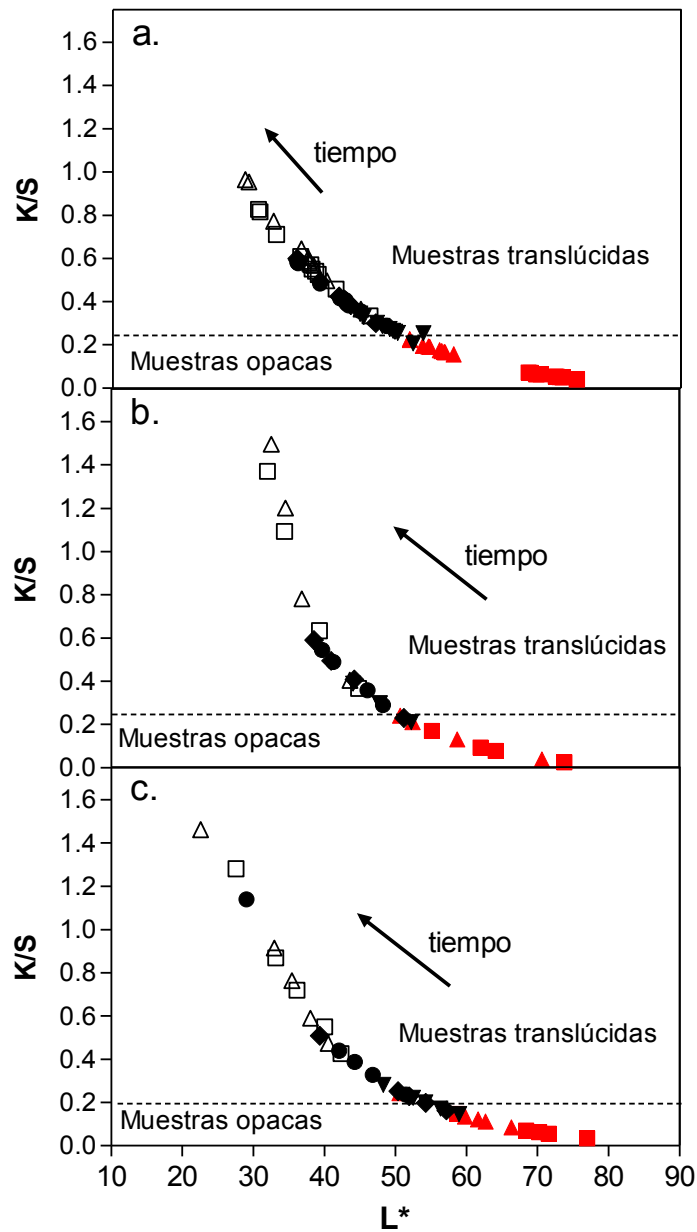
**Figura IV-44.** Velocidad de pardeamiento a 45 °C de melón (rojo) y pera (verde) en función de  $T-T_g$ .

De acuerdo con Levi y Karel (1995) las diferencias entre  $T-T_g$  gobierna la velocidad de la movilidad de la matriz, ya que dicha movilidad en la matriz seca está estrechamente relacionada con su estado físico: una alta movilidad corresponde entonces a un comportamiento viscoelástico típico del estado gomoso, mientras que bajas movilidades se relacionan con el comportamiento elástico de un estado vítreo.

#### ***IV.3.2.2. Oscurecimiento de polvos de fruta en función del tiempo de almacenamiento a 45 °C***

Debido a que las muestras de manzana, melón y pera en polvo utilizados en este trabajo presentaron características de translucidez (sección IV.3.1.2), para evaluar el pardeamiento luego de la humidificación y el almacenamiento a 45 °C, se calcularon los valores de  $K/S$  (**Figura IV-45**) en función de  $L^*$  (medición realizada por reflectancia sobre fondo blanco). La correlación de  $K/S$  vs  $L^*$  se

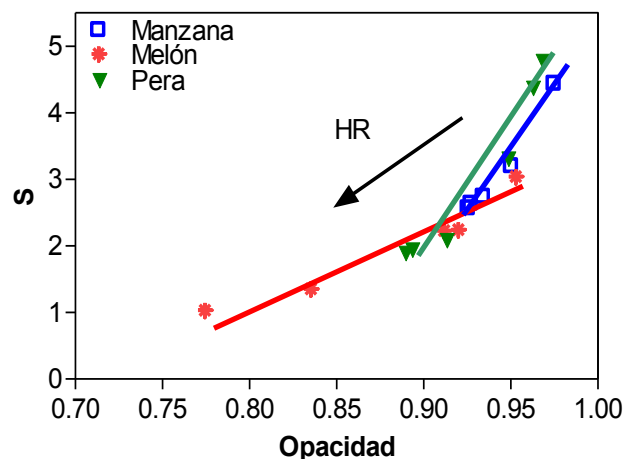
hizo con el objeto de evaluar cuál de estas variables es la más adecuada para el seguimiento de los cambios de color en el almacenamiento (Rozycki y col, 2007).



**Figura IV-45.** Relación K/S en función del parámetro luminosidad ( $L^*$ ) a diferentes tiempos de tratamiento a 45 °C para manzana (a), melón (b) y pera (c) en polvo liofilizados y humidificados a HR 11% (■), 22% (▲), 33% (▼), 43% (◆), 52% (●), 75% (□) y 84% (△). La línea de puntos divide la zona de muestras opacas y translúcidas.

Se pudo observar que para muestras hasta 22% de HR (muestras opacas debajo de la línea punteada), la variación de los valores de K/S fue muy pequeña. Sin embargo, a partir de HR intermedias K/S fue la variable que permitió medir más sensiblemente los cambios de color en comparación con los valores de  $L^*$  (debido al aumento de translucidez). Por lo tanto, a bajas HR la función  $L^*$  fue mucho más sensible que K/S para revelar los cambios de oscurecimiento, y lo opuesto ocurrió a humedades relativas más altas.

Para los polvos humidificados a las distintas HR se analizó la correlación entre el coeficiente de dispersión (S) de la teoría de Kubelka Munk (K-M) y la opacidad para las muestras luego de la humidificación (**Figura IV-46**).

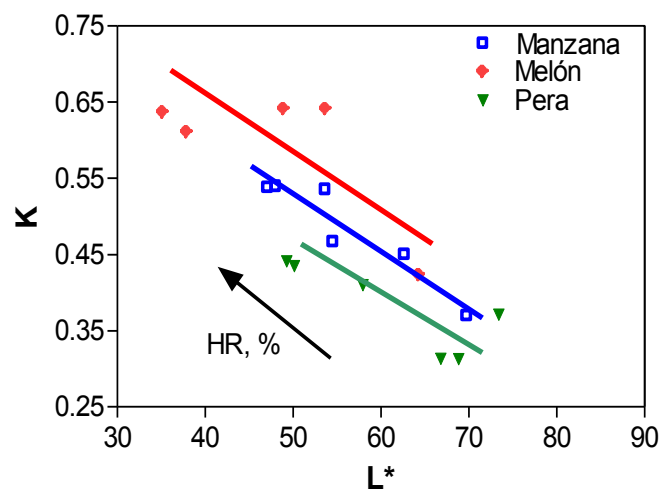


**Figura IV-46.** Relación entre las variables S y Opacidad para manzana (azul), melón (rojo) y pera (verde) al cabo de la humidificación durante 14 días a 25 °C. La flecha indica el aumento de la HR.

En todos los casos se presentó una correlación lineal entre ambas variables. Las muestras de pera y manzana mostraron curvas de pendiente similar. En cambio en las muestras de melón presentaron una mayor variación de la

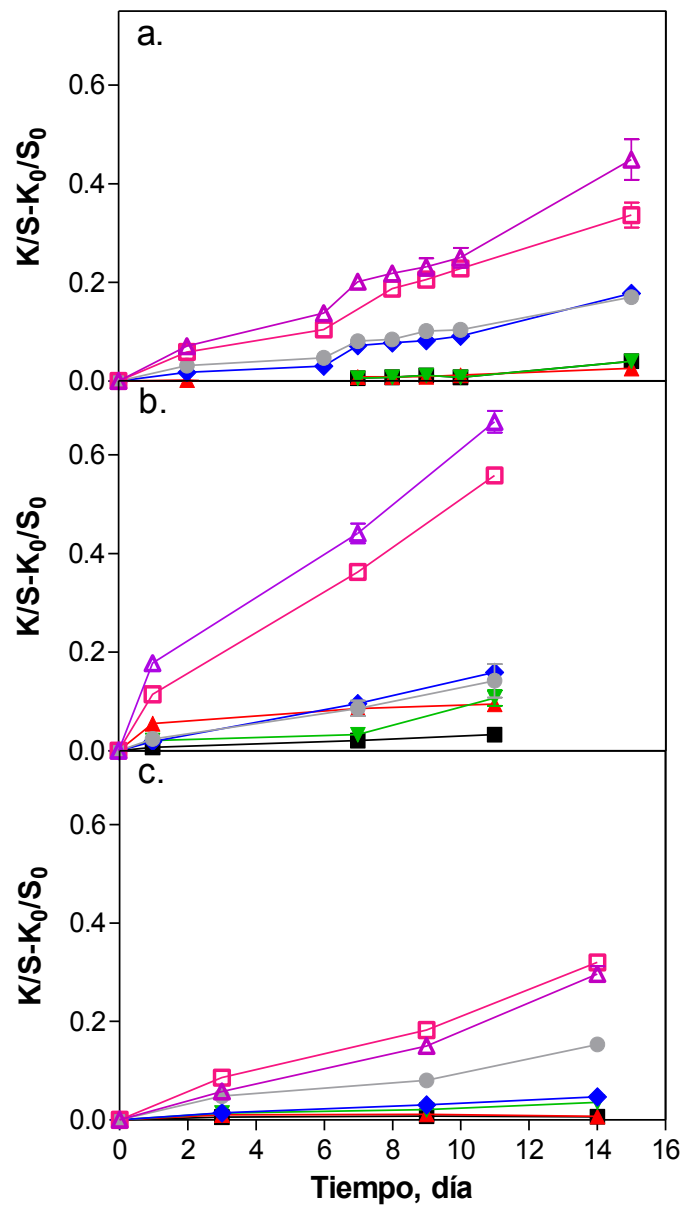
opacidad con menor variación del coeficiente S en comparación con las de pera y manzana, efecto atribuible a su diferente composición. Como se discutió en la sección IV.3.1.2, el ingreso de agua a la matriz genera un cambio en el camino óptico de la luz incidente, lo cual se ve evidenciado por la disminución de S y, por ende, de la opacidad en los materiales.

Por otra parte, se relacionó el coeficiente de absorción (K) con la luminosidad ( $L^*$ ) (**Figura IV-47**) al cabo del almacenamiento (9 días) a 45 °C a todas las humedades relativas estudiadas. En todos los casos el coeficiente de atenuación, K, aumentó con la disminución de la luminosidad debido a la formación de los pigmentos pardos. Esta tendencia concuerda con lo establecido en la teoría de K-M. Las correlaciones entre ambas variables presentaron rectas con pendientes similares, indicando un comportamiento menos dependiente del sistema en comparación con el coeficiente de dispersión S (**Figura IV-46**).



**Figura IV-47.** Relación entre las variables K y  $L^*$  para manzana (azul), melón (rojo) y pera (verde) al cabo de 9 días de almacenamiento a 45 °C.

Dado que la variable  $K/S$  mostró mayor sensibilidad para seguir los cambios en las muestras pulverizadas (**Figura IV-45**), se decidió estudiar el desarrollo de oscurecimiento generado durante el almacenamiento a 45 °C. Utilizando la variable  $K/S - K_0/S_0$ , donde  $K_0/S_0$  corresponde al color inicial adquirido durante la humidificación y  $K/S$  el valor obtenido a cada tiempo de almacenamiento a 45 °C (**Figura IV-48**).

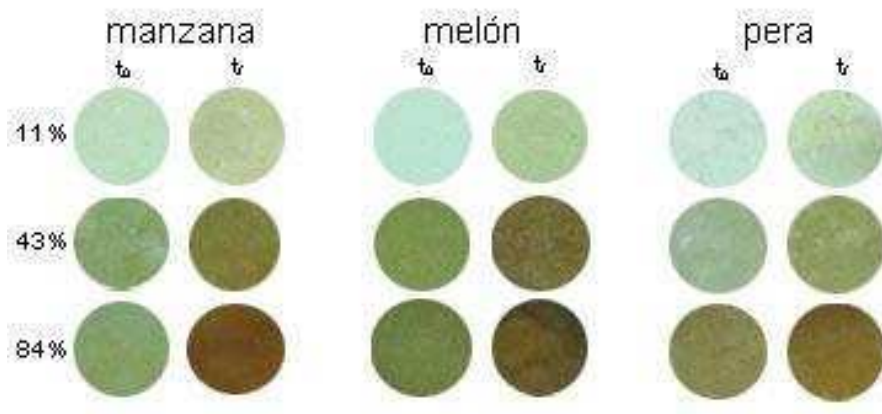


**Figura IV-48.** Desarrollo de pardeamiento para manzana (a), melón (b) y pera (c) en polvo humidificados a 11%(■), 22% (▲), 33%(▼), 43%(◆), 52%(●), 75%(□) y 84%(△) HR en función del tiempo de almacenamiento a 45 °C. Se informa el promedio y el desvío estándar.



Se observó un crecimiento del pardeamiento con el aumento de la humedad relativa. La manzana y el melón en polvo presentaron un oscurecimiento máximo a una HR de 84%, mientras que en el polvo de pera los mayores valores de K/S se obtuvieron a una humedad relativa de 75%. El polvo de melón fue el que más oscurecimiento presentó durante el tiempo de almacenamiento (**Figura IV-48**), atribuible al pH cercano a la neutralidad (**Tabla IV-1**), según lo discutido para los discos en la sección IV.3.1.2.

De esta manera, mientras que K y S permiten analizar distintos fenómenos separadamente, el cociente K/S está relacionado con la apariencia visual de las muestras. La **Figura IV-49** muestra el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el color de las frutas.



**Figura IV-49.** Imágenes de fruta pulverizada al cabo de la humidificación ( $t_0$ ) y al finalizar el tiempo de almacenamiento a 45 °C ( $t_f$ ).

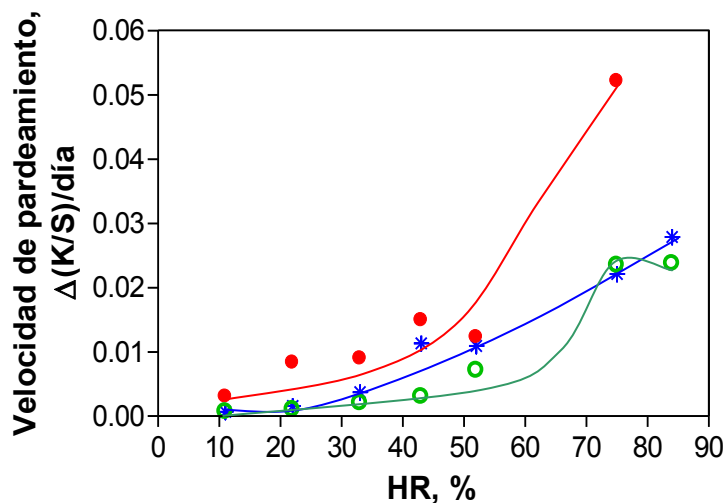
Se puede observar la influencia de la temperatura en el desarrollo de color en los polvos. Es importante considerar que hay un importante pardeo debido a la

humidificación, sin embargo, el almacenamiento a 45 °C también produjo cambios en el color principalmente a elevadas humedades relativas.

**Constantes cinéticas de los cambios de opacidad.**

Los datos mostrados en la **Figura IV-48** se describieron mediante la ecuación lineal III-18.

En la **Figura IV-50** se muestra la constante cinética  $k$  de pardeamiento de los polvos de manzana, melón y pera en función de la humedad relativa. Se observa que a humedades relativas bajas hay una velocidad de desarrollo de pardeamiento más lenta que para HR altas.

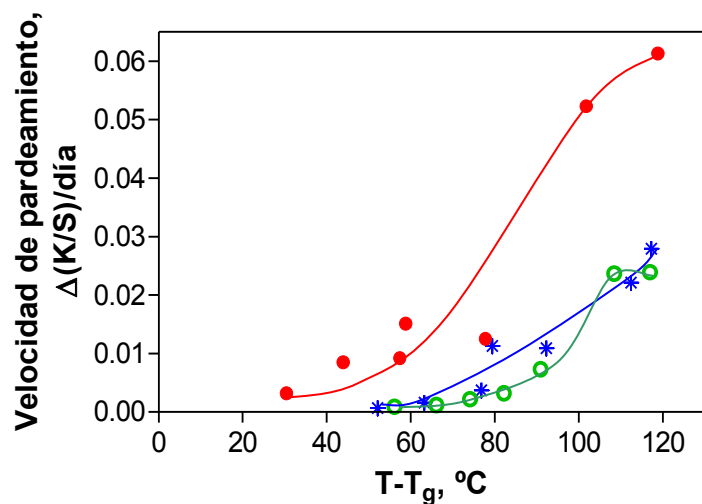


**Figura IV-50.** Velocidad de pardeamiento a 45 °C de manzana (azul), melón (rojo) y pera (verde) en polvo en función de la humedad relativa.

En el rango de HR en que se realizó el estudio, la velocidad de pardeamiento fue siempre creciente para manzana y melón en polvo, mientras que en el caso de la pera se obtuvo un máximo a una humedad relativa del 75%. Al igual que

lo observado en los discos de fruta, el melón en polvo presentó constantes de velocidad mayores que el de las otras frutas en todo el rango de humedades relativas analizado. Las velocidades de pardeamiento de pera y manzana fueron muy similares.

De igual manera que lo analizado para los materiales en discos, se estudió la influencia de temperatura de transición vítrea sobre el desarrollo de pardeamiento de las frutas pulverizadas. En la **Figura IV-51** se muestran las velocidades de pardeamiento para las muestras de manzana, melón y pera en polvo en función de  $T-T_g$  donde  $T$  es  $45\text{ }^\circ\text{C}$  y  $T_g$  es la temperatura de transición vítrea a cada HR.



**Figura IV-51.** Velocidad de pardeamiento de manzana (azul), melón (rojo) y pera (verde) en polvo en función de  $(T-T_g)$ .

Los alimentos analizados se encontraban en estado sobre-enfriado a  $45\text{ }^\circ\text{C}$  en todo el rango de humedad relativa analizado. La velocidad máxima de pardeamiento alcanzada correspondió a valores elevados de  $(T-T_g)$ . Para las

muestras de manzana y melón en polvo no se presentaron máximos de velocidad en el rango de humedades relativas analizado, por el contrario para la pera en polvo se observó un máximo a un  $T-T_g$  de 112,44 °C.

### **IV.3.3. Cambios de color en frutas con distribución cromática heterogénea: frutilla**

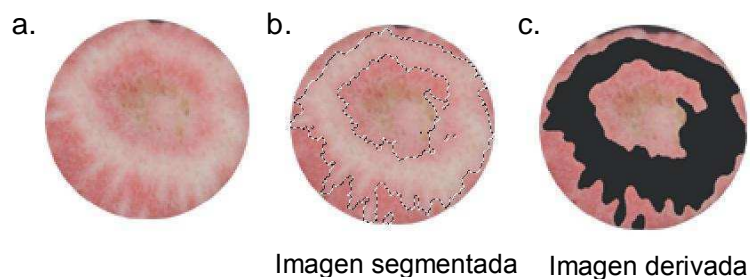
En esta sección se evaluó además del desarrollo y la cinética de la reacción de pardeamiento, la influencia de la degradación de pigmentos naturales en los cambios de color. Por otro lado, se verificó como dicha reacción es afectada por las transiciones térmicas, cambios de fase y las características estructurales.

#### ***IV.3.3.1. Segmentación de imágenes***

Los discos liofilizados de frutilla presentaron una distribución de color heterogénea, con una zona entre blanca y verdosa en el centro del disco y diversas tonalidades de rojo hacia la periferia del fruto. En la **Figura IV-52 a** se muestra la imagen de un disco de frutilla sin tratamiento, donde se puede observar las tonalidades del mismo. La característica heterogénea en la frutilla no permite la medición de la manera usual, la que daría valores de las funciones cromáticas irreales (Balaban, 2008), es decir lejanos a la percepción visual. El uso de la segmentación de imágenes es aplicable tanto para subsanar inconvenientes derivados de la textura superficial (que puede causar

sombras), como para la cuantificación de áreas con diferentes características cromáticas.

La **Figura IV-52** muestra un ejemplo del tratamiento de una imagen para cuantificar la proporción de los diferentes colores en las secciones de una rodaja de frutilla. Se muestra la imagen de los discos de frutilla sin tratar, la imagen segmentada y la imagen derivada. La imagen segmentada permite delimitar separadamente las áreas más pálidas y las de tonalidad más rojiza en los disco de fruta. Al teñir, con ayuda del programa, una de las áreas con un color contrastante, se facilita la cuantificación de las distintas áreas en la imagen derivada obtenida, y se evitan errores.



**Figura IV-52.** Ejemplo de un disco de frutilla liofilizado (a), luego de la segmentación (b) y derivatización (c) de la imagen. Análisis realizado con Adobe Photoshop CS4.

Este análisis se realizó con la finalidad de determinar el comportamiento de cada una de estas secciones y observar su aporte al desarrollo de color global en el material. Por lo tanto, las imágenes de los discos de frutilla fueron divididas en dos zonas diferentes, de acuerdo con los valores de la coordenada cromática  $a^*$  que varía entre el verde y el rojo. Se eligió esta variable debido al color de los discos de frutilla. Se calculó la proporción de píxeles

correspondientes al área total de cada disco de fruta. Los intervalos de la variable cromática  $a^*$  seleccionados para este estudio fueron desde 0,5 a 17 (representando la zona clara del disco de frutilla); y desde 17 a 28 (correspondiente a la zona roja).

Los cambios de color en cada una de las secciones de los discos de frutilla, se analizaron a través de las variables cromáticas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ .

#### ***IV.3.3.2. Cambios de color en las distintas secciones de frutilla como consecuencia del secado y la humidificación***

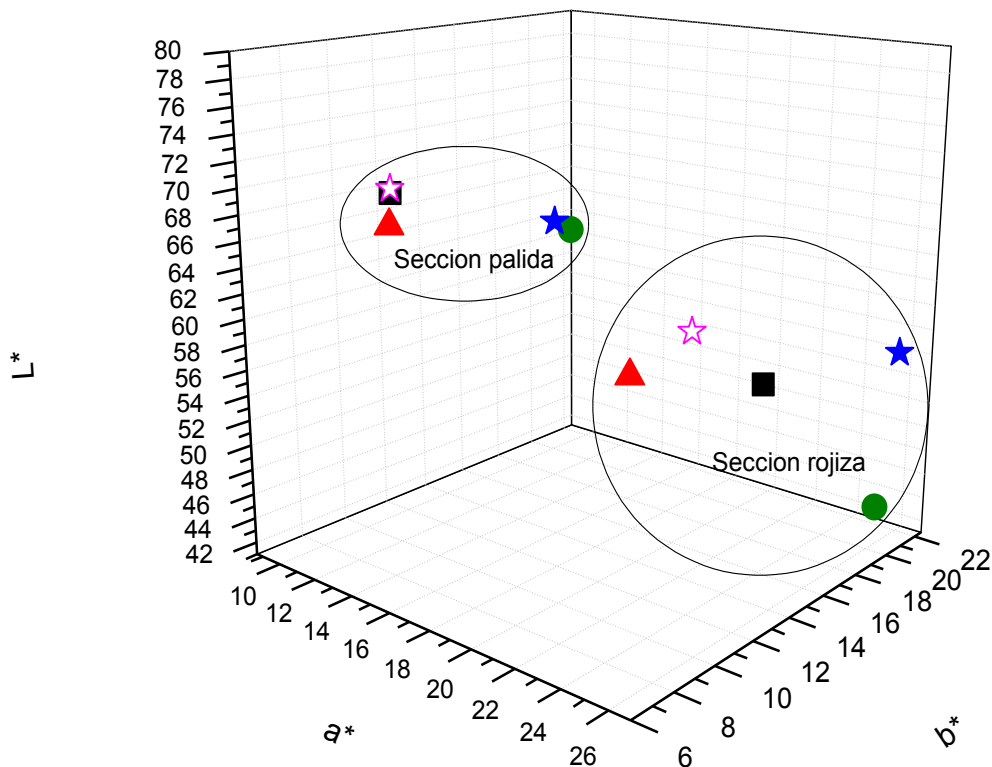
De igual forma que lo observado en la sección IV.3 para melón y pera, durante el secado se producen cambios importantes en el color de los discos de frutilla. Dichos cambios se manifiestan en el cambio global de color,  $\Delta E_{00}$ , considerando las muestras frescas como referencia (**Figura IV-53**).



**Figura IV-53.** Imágenes de un disco de frutilla fresco (izquierda) y liofilizado (derecha) fotografiados con sobre fondo blanco y su valor de  $\Delta E_{00}$ .

Se estudiaron los cambios de color en las secciones más pálida y más rojiza de los discos de frutilla frescos, liofilizados y humidificados a 25 °C, a través de las variables cromáticas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . En la **Figura IV-54** se representa la ubicación en el espacio tridimensional de color CIELAB de las secciones saturadas (zona

rojiza) y desaturadas (zona más pálida) de los discos de frutilla para la fruta fresca, liofilizada y humidificada a diferentes HR. Los valores de luminosidad de la zona rojiza fueron menores que los obtenidos en la zona más pálida, por la influencia de la tonalidad roja de los pigmentos naturales presentes en la fruta. Las diferencias fueron visualmente perceptibles, dado que cambios de 10 unidades en la luminosidad son fácilmente distinguibles por el ojo humano (MacDougall, 2002).



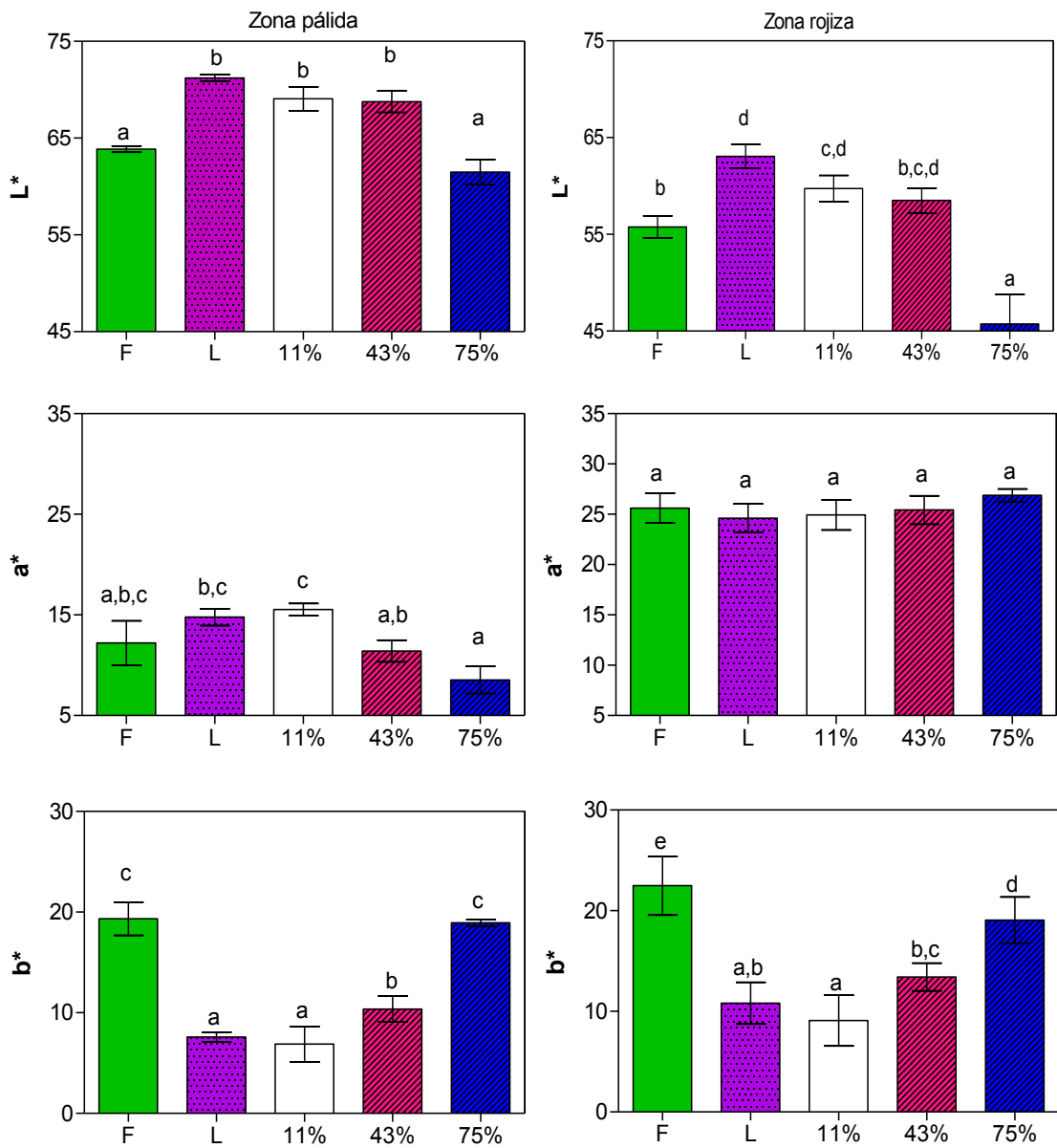
**Figura IV-54.** Ubicación espacial de las dos secciones estudiadas (sección pálida) y (sección rojiza) en el espacio de color CIELAB: frutilla fresca (★), frutilla liofilizada (☆), y frutilla humidificada a 11% R.H. (▲), 43% (■) y 75% (●).

A la sección más pálida le correspondieron mayores valores de  $L^*$  y menores valores de  $a^*$  y  $b^*$  que a la sección más saturada de coloración roja. Los discos de frutilla fresca contienen una fracción de masa de agua mayor al 85%, y

dicha cantidad disminuye debido al proceso de secado, causando una concentración de todos los sólidos en las muestras. Debido a que las antocianinas están altamente concentradas en el material seco, podría esperarse que las frutillas deshidratadas presentaran una apariencia más oscura que las frutillas frescas. Sin embargo, es interesante notar que el proceso de secado promueve la disminución de los valores de  $a^*$  y  $b^*$  en la zona roja del material y un aumento en los valores de luminosidad. En consecuencia, las muestras frescas presentaron una coloración roja intensa, mientras que las muestras liofilizadas muestran una apariencia más luminosa y desaturada, con respecto a la muestra fresca. Este efecto ha sido observado en trabajos previos para otras matrices como tomate y kiwi los cuales mostraron una apariencia opaca y pálida luego del secado (Talens y col., 2001; Lana y col., 2006). Como se discutió en las secciones referentes a las frutas melón y pera (sección IV.3.1.1), durante el secado, el agua presente en los espacios intra e intercelulares del material fresco es reemplazada por el aire. Por lo tanto la apariencia opaca y pálida podría deberse a la difusión de la luz en un material con interfases de diferentes índices de refracción (Saarela y col., 2008), y se manifiesta aún más en frutas que presentan un tono cromático definido, como la frutilla.

La **Figura IV-55** muestra el efecto de los procesos de secado y humidificación en los valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  de las diferentes secciones de las imágenes segmentadas.





**Figura IV-55.** Valores de L\*, a\* y b\* para discos de frutilla fresca (F), liofilizada (L) y humidificada a 11% 43% y 75% HR. Los promedios con diferente letra corresponden a diferencias significativas ( $p \geq 0,05$ ).

En los discos frescos la sección más pálida mostró valores de a\* de alrededor de 12, mientras que los valores de a\* de la sección más rojiza fueron superiores a 20.

Los valores iniciales de  $b^*$  (**Figura IV-55**) de los discos frescos fueron mayores en la sección rojiza que en la más pálida. El parámetro  $b^*$  fue la coordenada más afectada por el proceso de liofilización

Como consecuencia del secado, en ambas secciones estudiadas, se observó una marcada disminución en los valores de  $b^*$ , mucho más importante que el cambio en las variables  $L^*$  y  $a^*$ .

Durante la humidificación a 25 °C a 11 y 43% de HR no se presentaron cambios significativos en los valores de  $L^*$  y  $a^*$  (en ninguna de las dos secciones), mientras que a la humedad más alta se observó una disminución de  $L^*$  en ambas secciones, lo cual se atribuyó a las reacciones de pardeamiento. Con el aumento de la HR los cambios de  $b^*$  fueron más notorios, y los valores aumentaron tanto en la sección más pálida como en la más rojiza de los discos de frutilla.

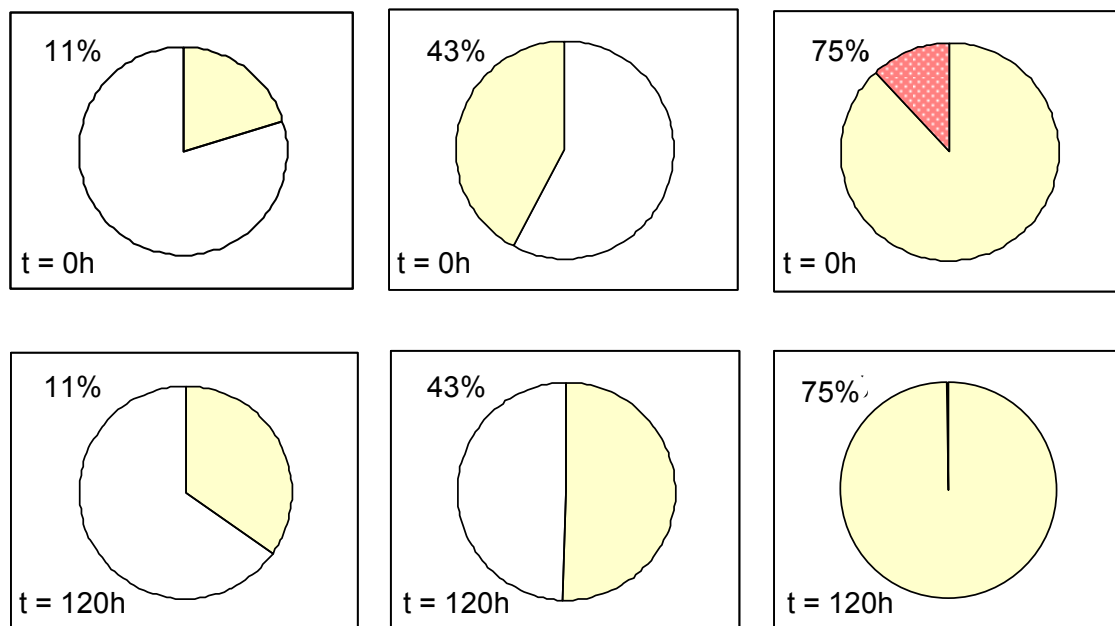
La sección más pálida de las muestras humidificadas a 75% HR presentó valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  similares a los de las muestras frescas. En la sección rojiza el valor de  $a^*$  se asemejó también al del material fresco, pero no así  $L^*$  y  $b^*$ .

#### ***IV.3.3.3. Cambios cromáticos de discos de frutilla durante el almacenamiento a 45 °C***

Se calculó el porcentaje de unidades pixelares que conformaron cada una de las secciones en estudio y se analizó la evolución cromática de ambas zonas.

En la **Figura IV-56** se representa el área relativa de cada sección en las muestras humidificadas a HR 11, 43 y 75%, tanto en el tiempo inicial del almacenamiento como a las 120 h de tratamiento a 45 °C.

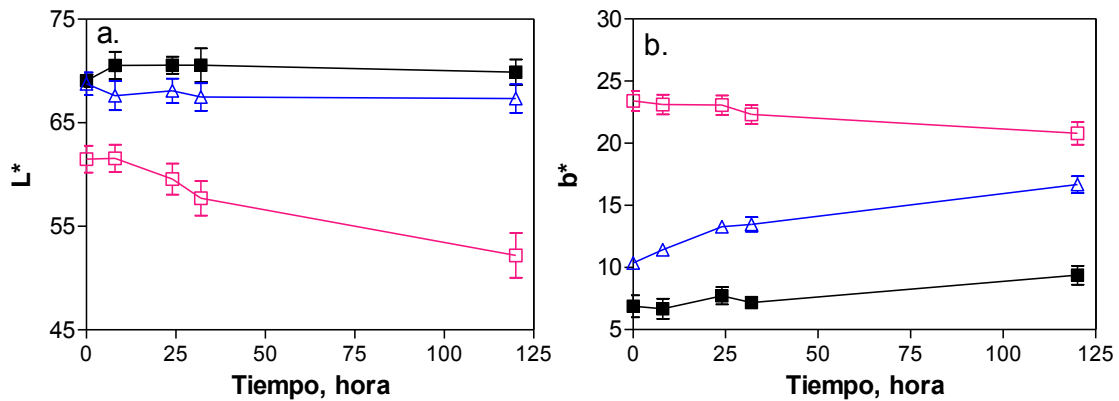
Se puede observar que a medida que aumenta la humedad relativa, se incrementa la cantidad de píxeles de la sección de menor saturación de rojo, con la consecuente disminución de las áreas rojas. Este efecto de intensificó con el tiempo de almacenamiento a 45 °C. En muestras humidificadas a 75% HR se generó una distribución de color más homogénea y desaturada.



**Figura IV-56.** Porcentaje de píxeles correspondientes a la sección pálida (□) y la sección rojiza (■) de discos de frutilla humidificados a 11, 43 y 75% HR a 0 y 120 horas de almacenamiento a 45 °C.

En la **Figura IV-57** se pueden observar los principales cambios ocurridos durante este tratamiento en la sección más pálida de las muestras. Se

analizaron las variables  $L^*$  y  $b^*$  dado que son las que muestran los cambios más relevantes.

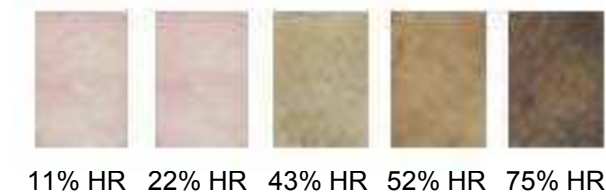


**Figura IV-57.** Evolución de las variables  $L^*$  y  $b^*$  para la sección más pálida de los discos de frutilla durante el almacenamiento a 45 °C en muestras humidificadas a 11% (■), 43% (△) y 75% (□). Se informa el promedio y el desvío estándar.

Las luminosidad de las muestras humidificadas a 11 y 43% no mostró cambios durante el almacenamiento reflejando la alta estabilidad de los sistemas. Para las muestras humidificadas a 75% de HR se observó una disminución relevante en este parámetro.

Durante el almacenamiento a 45 °C, la variable  $b^*$  mostró mayores variaciones, representado por incrementos en las humedades de 11 y 43% y un descenso a altas HR.

El cambio en las variables de color está relacionado con la percepción visual del pardeamiento que experimentan las muestras en esta etapa. En la **Figura IV-58** puede observarse la fotografía de los cambios ocurridos en la sección más pálida de las frutillas en función de la humedad relativa al finalizar el tiempo de almacenamiento a 45 °C

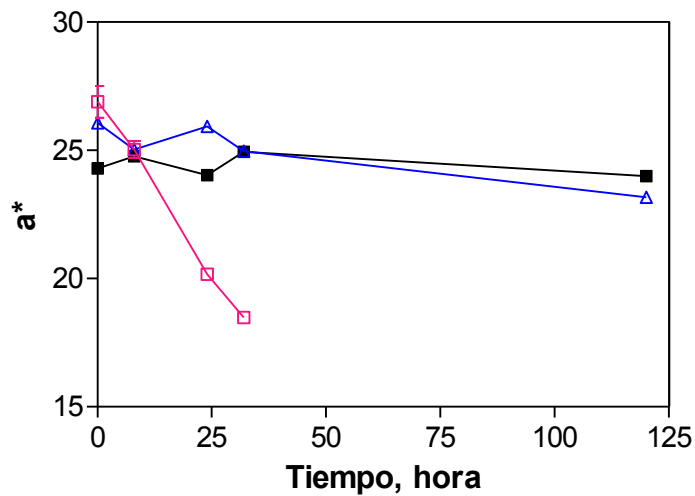


**Figura IV-58.** Imágenes mostrando el grado de pardeamiento en la sección blanca de los discos de frutilla humidificados a diferentes HR al final del almacenamiento a 45 °C (120 horas).

La luminosidad del material disminuyó en todos los estadios del pardeamiento, mientras que la coordenada cromática  $b^*$ , aumentó en los estadios tempranos de la reacción, en los cuales las muestras adquirieron una coloración amarilla. Sin embargo, los valores de  $b^*$  disminuyeron en las etapas de pardeamiento avanzadas, cuando las muestras tomaron una coloración castaño oscuro, como puede notarse en las muestras a 75% de humedad relativa.

En la sección rojiza de las muestras, los principales cambios ocurridos durante el almacenamiento a 45 °C, fueron mejor representados por las variaciones en la coordenada  $a^*$  dada la tonalidad de las muestras. En la **Figura IV-59** se muestran los cambios en los valores de  $a^*$  en función del tiempo de almacenamiento para los discos de frutilla humidificados a diversas humedades relativas.

Se observa que a humedades relativas bajas e intermedias no se presentaron cambios importantes en los valores de  $a^*$  durante el tiempo de almacenamiento.

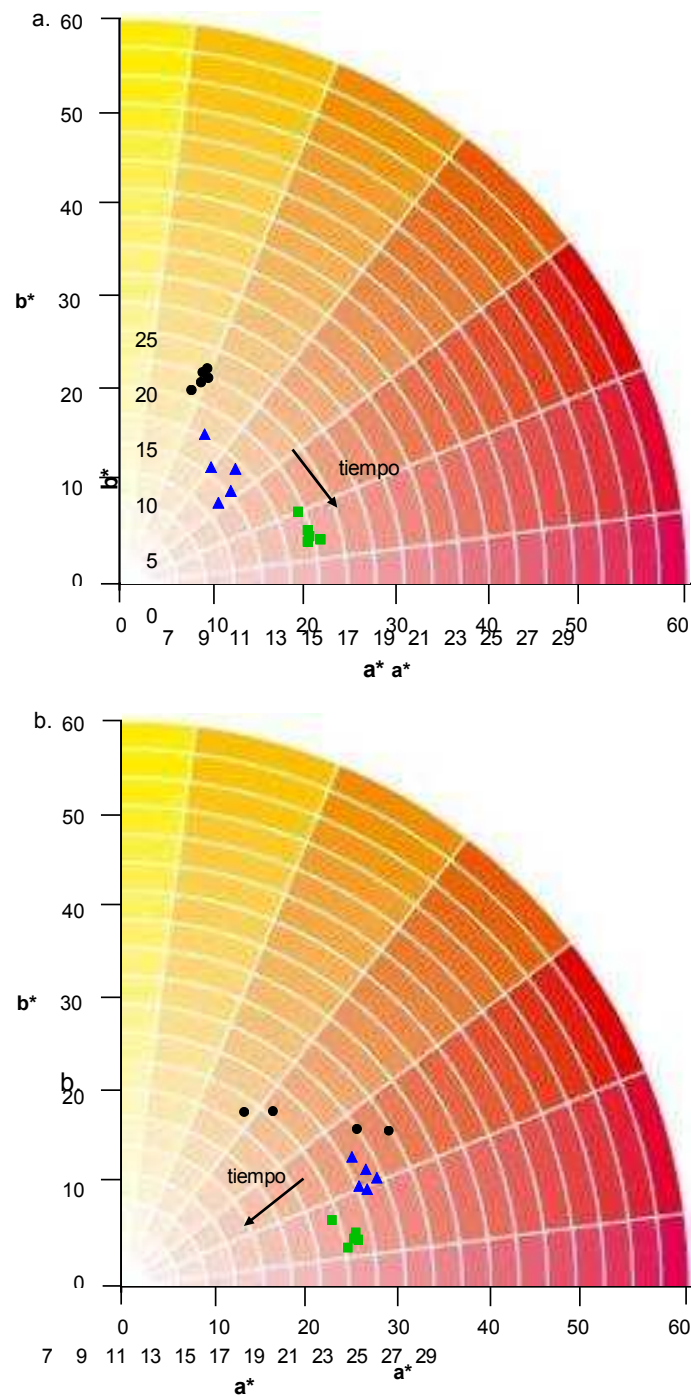


**Figura IV-59.** Evolución de la variable  $a^*$  para la sección rojiza de los discos de frutilla durante el almacenamiento  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  en muestras humidificadas a 11% (■), 43% (△) y 75% (□). Se informa el promedio y el desvío estándar.

A altas HR hay una disminución muy importante en la coordenada cromática  $a^*$ . A 75% de humedad relativa no se encuentra graficado el punto a 120 h de almacenamiento, debido a que los valores de la coordenada cromática  $a^*$  se encontraron por debajo del rango de la sección rojiza, debido a la pérdida de saturación y luminosidad. Por lo tanto, los valores ubicaban a las muestras en la sección más pálida de la distribución.

En general, en muestras que sufren reacciones de pardeamiento el color puede generarse en diversas etapas, las coordenadas cromáticas  $a^*$  y  $b^*$  aumentan en la primera etapa y este incremento corresponde a una coloración amarilla y luego se presenta una coloración roja. En la última etapa ambos parámetros disminuyen debido a la formación de melanoidinas de color pardo oscuro, por lo tanto, se da pérdida cromática. El valor de la luminosidad disminuye constantemente durante el pardeamiento de las muestras (Acevedo y col., 2008, Quevedo y col., 2009a; b).

En la **Figura IV-60** se puede observar la distribución de las muestras de frutilla humidificadas a 11, 43 y 75% HR en espacio de color en un plano xy cuyos ejes están representados por las coordenadas cromáticas  $a^*$  y  $b^*$ , independientemente de cual sea el valor de  $L^*$ .

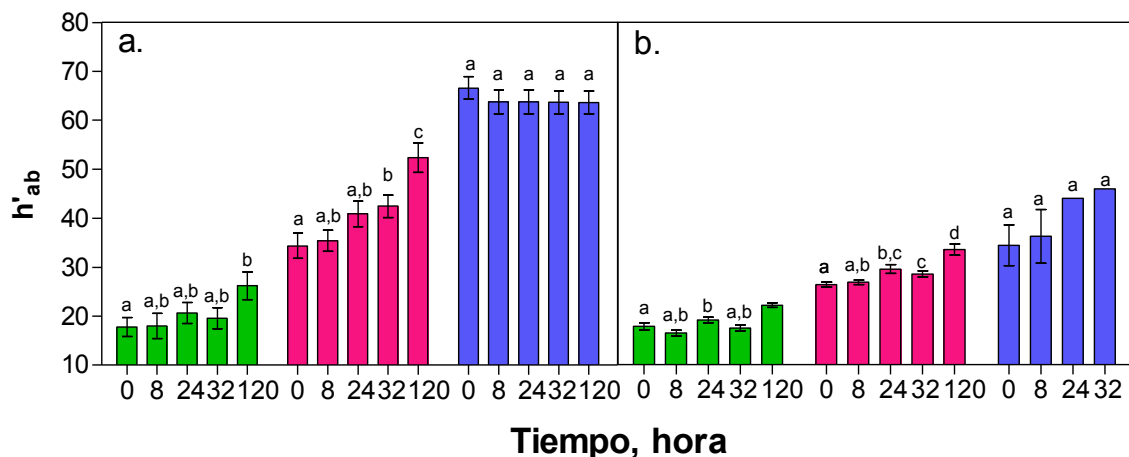


**Figura IV-60.** Cambio en las variables  $a^*$  y  $b^*$  en la sección pálida (a) y en la sección rojiza (b) de discos de frutilla humidificadas a 11%(■), 43%(▲) y 75%(●) HR en función del tiempo de almacenamiento a 45 °C.

Se puede observar que la humedad relativa afecta significativamente al color. Además en ambas secciones la coordenada cromática que más cambia es  $b^*$  con un desplazamiento hacia la zona amarilla.

Hay una marcada diferencia en la ubicación de las coordenadas cromáticas de cada una de las secciones estudiadas, que también es dependiente de la humedad de la muestra. A humedades relativas bajas e intermedias no hay influencia del tiempo de almacenamiento a 45 °C. A altas HR solo hay variaciones importantes en la sección roja de los discos de frutillas con el almacenamiento, representado por el desplazamiento de  $a^*$  hacia valores mayores. Es la única condición en la que cambia significativamente la variable  $a^*$ .

Se calculó el valor del ángulo de tono para las diferentes secciones de los discos de frutilla (**Figura IV-61**).



**Figura IV-61.** Variación del ángulo de tono ( $h'_{ab}$ ) en la sección pálida (a) y rojiza (b) de discos de frutilla humidificados a 11% (verde), 43% (rosa) y 75% (azul) HR en función del tiempo de almacenamiento a 45 °C. Se informa el promedio y el desvío estándar. Los promedios con diferente letra corresponden a diferencias significativas ( $p \geq 0,05$ ).



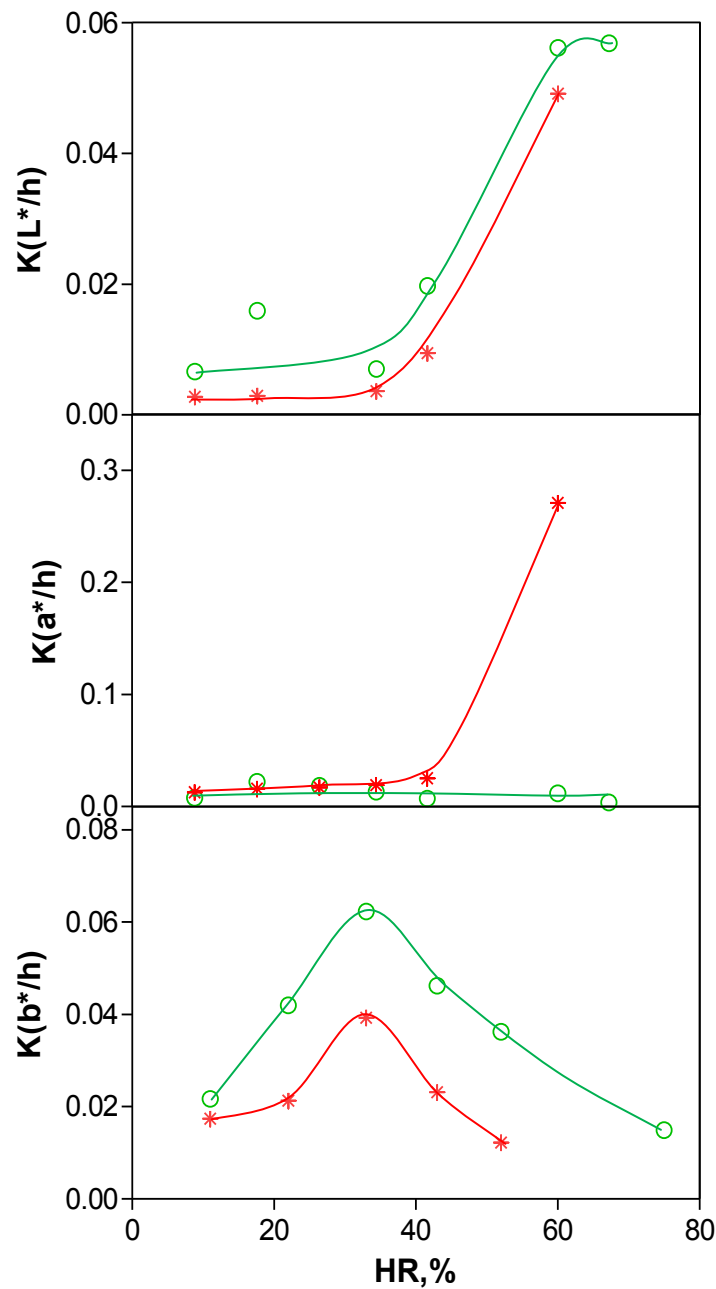
Si dicho ángulo es de  $0^\circ$   $a^*$  es positivo (+) y sólo la componente roja está presente, para  $90^\circ$   $b^*$  es (+) (amarillo), para  $180^\circ$  es  $a^*$  negativo (-) y se presenta sólo la componente verde, y finalmente para  $270^\circ$   $b^*$  es (-) (azul).

Los valores de  $a^*$  y  $b^*$  fueron siempre positivos, por lo tanto, todos los puntos correspondieron a un ángulo de tono entre  $0$  y  $90^\circ$ , indicando que los componentes dominantes en las muestras fueron el rojo y el amarillo.

En ambas secciones se presenta la misma tendencia, un aumento en los valores de  $h'_{ab}$  debido tanto al aumento de la humedad relativa como al almacenamiento, que promovieron el desarrollo del pardeamiento, y la degradación de pigmentos. Se puede observar que los ángulos de tono en la sección rojiza fueron inferiores a los obtenidos en la sección pálida, esto se debe a la coloración roja que se presenta en esta sección, lo que indica ángulos más cercanos a  $0^\circ$ .

#### ***Constantes cinéticas del cambio de color en el almacenamiento***

Se determinaron las constantes cinéticas del cambio de color de las dos secciones de los discos de frutilla a partir las curvas de disminución de luminosidad y de los parámetros  $a^*$  y  $b^*$  versus el tiempo de almacenamiento (**Figuras IV-57 y 59**), a través del análisis de correlación lineal de datos como se mencionó en la sección III.3.14 (**Ecuación III-19**).



**Figura IV-62.** Constantes cinéticas de las variables cromáticas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  para la sección pálida (círculos y líneas verdes) y para la sección rojiza (asteriscos y líneas rojas) de discos de frutilla liofilizados.

La sección más pálida, mostró cambios de velocidad en los parámetros  $L^*$  (luminosidad) y  $b^*$  (grado de amarillo), dado que la misma no tiene una coloración roja importante, y la constante cinética para el cambio de la variable  $a^*$  fue 0. Por el contrario, en el caso de  $L^*$  se puede observar que la velocidad de pérdida de la luminosidad en esta zona, aumenta al aumentar la humedad

relativa, indicando un oscurecimiento debido a reacciones de pardeamiento, con un máximo entre 52 y 75% HR.

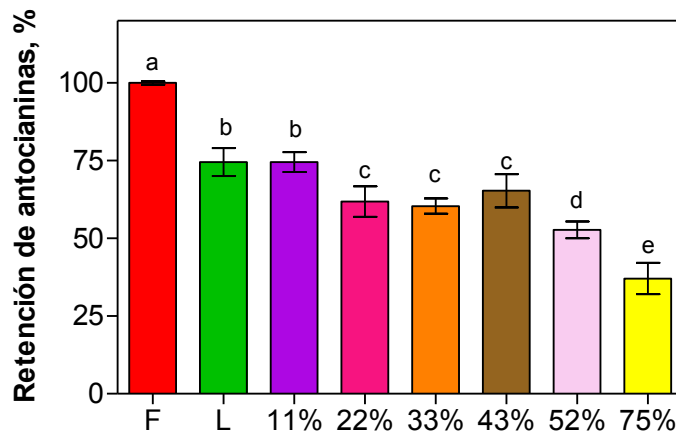
Las secciones con mayor porcentaje de rojo en los discos de frutilla, presentaron principalmente pérdida de la luminosidad y de tonalidad roja ( $a^*$ ) particularmente a altas HR. Esto indicaría que en las zonas en las que el color rojo es importante, el cambio de color global estaría dado por el pardeamiento del material y la pérdida del pigmento.

En el caso de la coordenada cromática  $b^*$  se puede observar que en las dos secciones estudiadas se presentan curvas en forma de campana, presentando en ambos casos una máxima velocidad de disminución de  $b^*$  a 33% de HR.

#### ***IV.3.3.4. Retención de las antocianinas en frutillas en relación a los cambios de color***

Dado que los cambios de color observados en la sección rojiza están dados por la degradación de pigmentos, se determinó el contenido total de antocianinas en cada etapa y condición estudiada (liofilización, humidificación y almacenamiento a 45 °C). La estabilidad de las antocianinas está afectada por una serie de factores, entre ellos, la temperatura de almacenamiento, el contenido de azúcares del material, el valor de pH, el ácido ascórbico y la actividad de agua (Tsai y col., 2004).

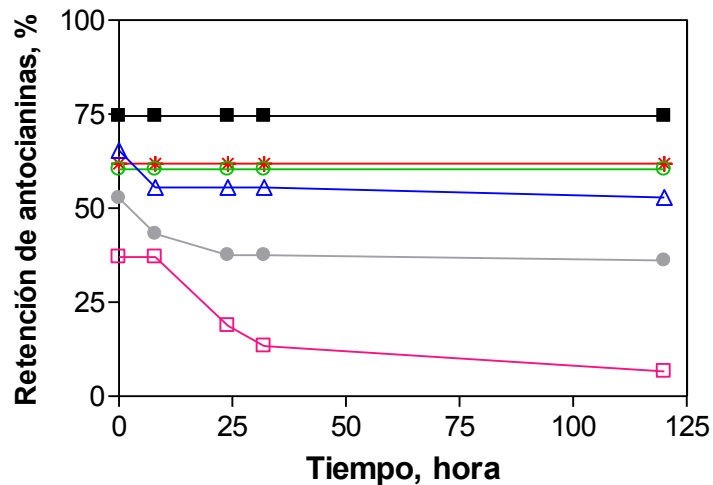
En la **Figura IV-63** se puede observar el porcentaje de retención de antocianinas al cabo de la liofilización y la humidificación a diversas humedades relativas. Durante la liofilización del material se produjo una disminución del contenido de antocianinas de 25% aproximadamente. A 11% de HR no se presentaron cambios importantes en el contenido de pigmentos en comparación con las muestras liofilizadas. A partir de 22% de humedad relativa comienzan a observarse pequeños cambios en el contenido de antocianinas en el material. A HR superiores a 52% estos cambios fueron más importantes, presentando valores de retención de las antocianinas menores que 50% en relación a las muestras frescas.



**Figura IV-63.** Porcentaje de retención de antocianinas para muestras de frutillas frescas (F), liofilizadas (L) y humidificadas en un rango de humedades relativas entre 11 y 75%. Los promedios con diferente letra corresponden a diferencias significativas ( $p \geq 0,05$ ).

La **Figura IV-64** muestra el efecto del tratamiento térmico a 45 °C sobre la degradación de los pigmentos. Se puede observar que a bajas HR (11-33%) no se producen cambios en concentración de antocianinas. Sin embargo, a

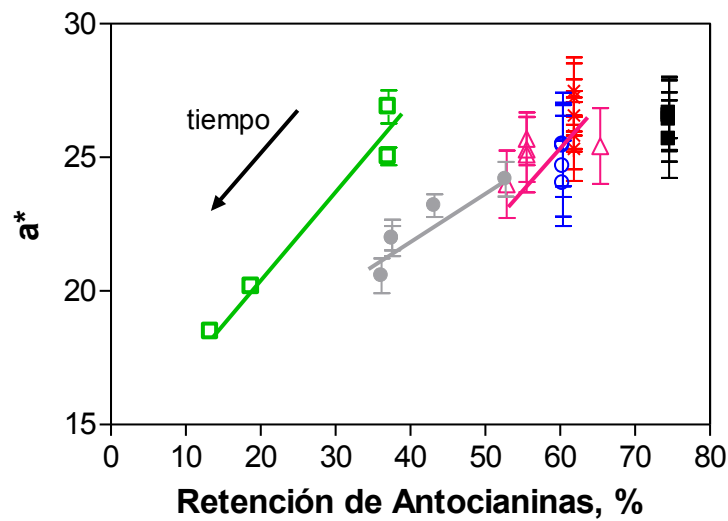
humedades relativas a partir de 43% empieza a haber degradación de antocianinas hasta llegar a valores de retención del 6%.



**Figura IV-64.** Porcentaje de retención de antocianinas en frutillas humidificadas a 11 (■), 22 (\*), 33 (○), 43 (△), 52 (●) y 75 (□) % en función del tiempo de almacenamiento a 45 °C.

El deterioro en la apariencia de discos de frutilla liofilizada durante el almacenamiento a 45 °C se debe principalmente a que se presentan dos reacciones de manera simultánea: la destrucción de antocianinas y la formación de pigmentos pardos.

Se evaluó la contribución de la degradación de antocianinas al cambio de color observado en la sección rojiza de las frutillas, representado por el parámetro  $a^*$  (componente roja) (**Figura IV-65**).



**Figura IV-65.** Correlación de variable cromática  $a^*$  de la sección rojiza y el porcentaje de retención de antocianinas en discos de frutilla humidificados a 11% (■), 22 (\*), 33 (○), 43 (△), 52 (●) y 75 (□) % HR en función del tiempo de almacenamiento a 45 °C. Se informa el promedio y el desvío estándar.

En general, la correlación entre la coordenada cromática  $a^*$  y la concentración de antocianinas puede estudiarse únicamente en un estrecho rango de humedad relativa, debido a que los efectos de microestructura en la superficie de las muestras, como así también los factores de apariencia afectan la medición de las coordenadas cromáticas.

A HR bajas entre 11 y 33% se obtuvieron valores constantes en la retención de antocianinas y cambios pequeños de los valores de  $a^*$ . Esto se debe a la baja concentración de agua en el material, que genera estabilidad de las antocianinas (Wrolstad y col., 2005).

A humedades relativas entre 43 y 75% se observó una correlación entre las variables, dado que la disminución de la retención de pigmentos fue acompañada por el descenso de la variable cromática  $a^*$ .

Los resultados analizados en esta sección indican que el comportamiento de  $L^*$ ,  $b^*$  y  $h'_{ab}$  en la sección más pálida de las imágenes segmentadas está relacionado con las reacciones de pardeo. Por lo tanto, en condiciones adecuadas las mediciones de reflectancia se podrían emplear para el seguimiento de los cambios de calidad en frutillas deshidratadas a través del análisis y segmentación de imágenes.

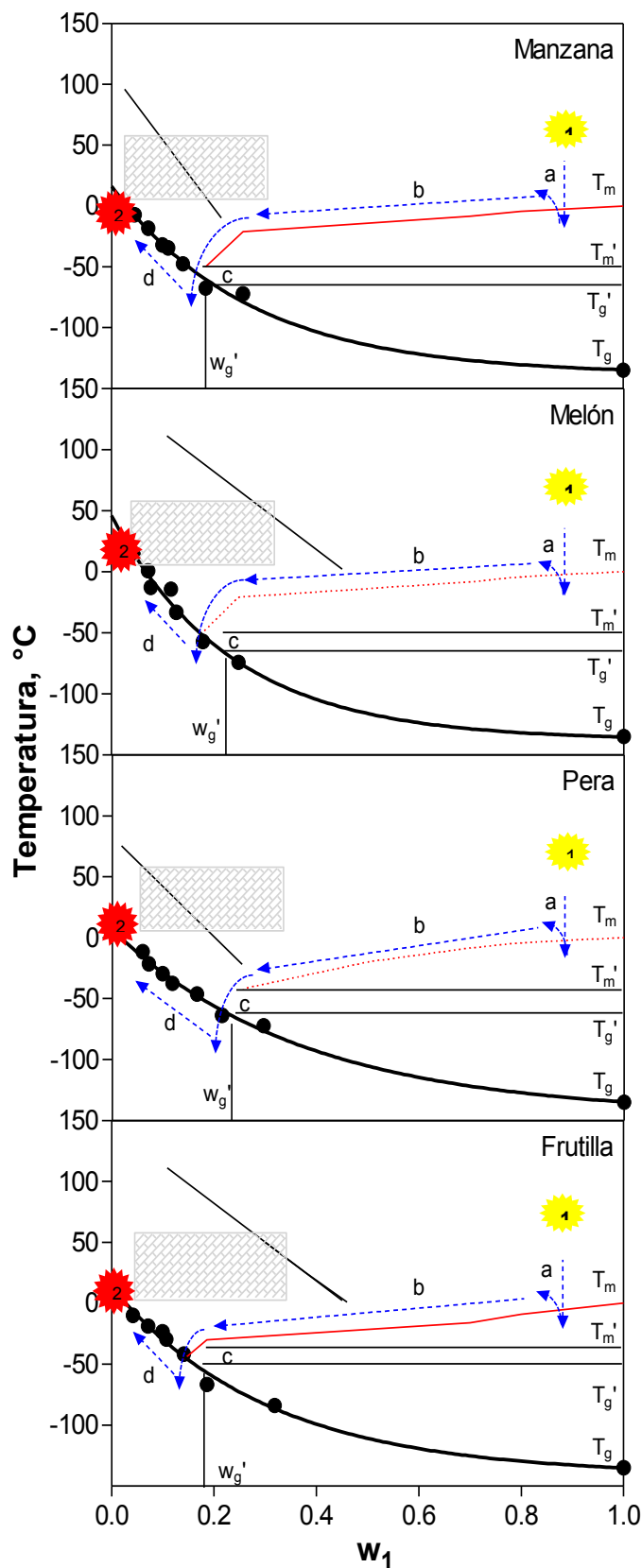
Por otro lado, si la humedad de las muestras está ajustada adecuadamente (a un valor igual o mayor que 43%), los valores de  $a^*$  de las secciones rojizas de los discos se podrían utilizar como un índice de la degradación de antocianinas. La correlación entre  $a^*$  y la concentración de antocianinas es posible únicamente si se mantiene constante el contenido acuoso en las muestras.

## V. INTEGRACIÓN DE RESULTADOS



### V.1. DIAGRAMAS DE ESTADO SUPLEMENTADOS

El proceso de secado por liofilización se lleva a cabo en condiciones que generan importantes variaciones físicas en algunos componentes claves de las frutas. Las transformaciones físicas implican cambios de estado y transiciones de fase. Estos cambios pueden ser descritos e interpretados con la ayuda de diagramas de estado suplementados, que incluyen la curva de no-equilibrio (temperatura de transición vítrea) y las curvas de equilibrio (fusión de hielo y solubilidad). La **Figura V-1** muestra los diagramas de estado que comprenden las transformaciones que tienen lugar durante el proceso de liofilización de manzana, melón, pera y frutilla. Los diagramas de estado se construyeron empleando los valores de temperatura de transición vítrea determinados en este trabajo. Como referencia a las condiciones de equilibrio se agregaron las curvas de temperaturas de fusión ( $T_m$ ) de agua y las de solubilidad de los azúcares mayoritarios en cada una de las frutas ( $T_s$ ), la temperatura de transición vítrea de la matriz máximamente crio concentrada ( $T_g'$ ), la concentración máxima de sólidos ( $c_g'$ ) y  $T_m'$  (el punto final de la línea de congelación). Los datos de las condiciones de equilibrio para manzana y frutilla se obtuvieron a partir de datos experimentales publicados en trabajos previos (Bai y col., 2001; Sá y Sereno, 1994). Los datos de temperaturas de fusión de agua en pera y melón no se encuentran publicados. Considerando las similitudes de las frutas analizadas, se construyeron curvas teóricas para completar los diagramas de estado.

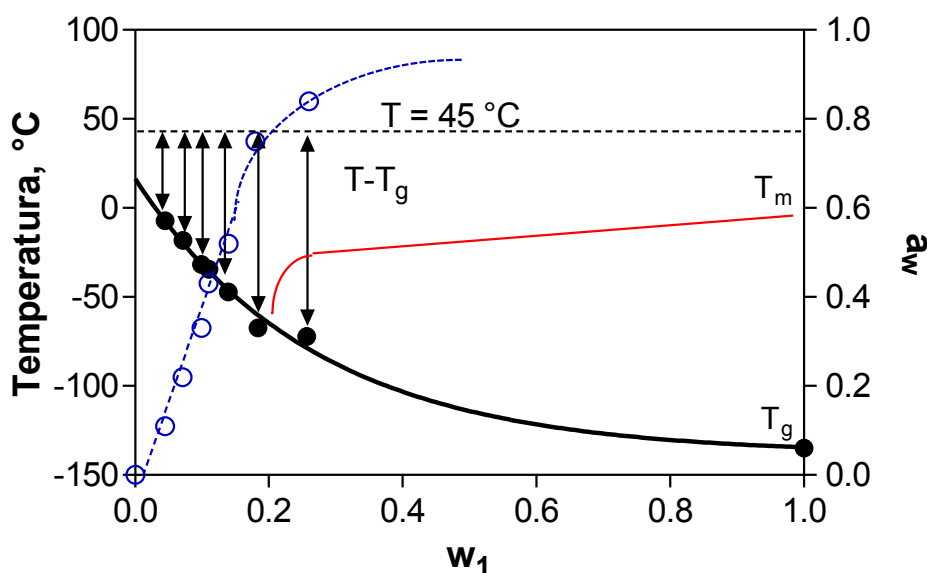


**Figura V-1.** Diagrama de estado suplementado para manzana, melón pera y frutilla que muestra formación de un vidrio de bajo contenido de agua por liofilización (a través de las líneas azules a → b → c → d). Los puntos 1 y 2 indican el inicio y final del proceso.

En los diagramas de la **Figura V-1** se indica la trayectoria de una fruta fresca durante la liofilización. El proceso inicia con las frutas con elevado porcentaje de agua (punto 1), que se congelan. Para ello se sub-enfrían por debajo del punto de fusión de agua (curva a) y se mantienen a esta temperatura por 24h. Durante este estado los sólidos se crio-concentran siguiendo la curva de equilibrio (curva b) hasta alcanzar la mínima fracción másica de agua ( $w_g'$ ). La temperatura de transición vítrea de la matriz máximamente concentrada se define como  $T_g'$ , llegando a este punto se produce la formación de un vidrio más agua congelada. El punto  $w_g'$ ,  $T_g'$  es dependiente de la composición de cada material. En el llamado secado primario, el hielo formado sublima tomando su calor latente de la muestra y en la etapa final de la sublimación el material se enfría (curva c). El secado secundario se realiza por desorción al vacío (curva d) y se obtiene un vidrio de muy bajo contenido de agua (punto 2). En los gráficos se incluye un área sombreada que corresponde a las condiciones en las que se realizó el almacenamiento para los estudios de estabilidad. Como se puede observar en la **Figura V-1**, la zona experimental se desarrolló en condiciones bastante superiores a la  $T_g$  en la mayoría de los casos, llegando a valores tan altos como 120°C. Por otro lado, según se observa en la **Figura V-1**, muchas de las condiciones analizadas se encuentran en la zona atravesada por la solubilidad de los azúcares, por lo que se esperaba observar cristalizaciones ya sea en las muestras almacenadas o bien durante las corridas de DSC. Sin embargo, en ningún caso se vio reflejada la cristalización de azúcares, lo que por otro lado hubiera provocado un decrecimiento de la cantidad de agua adsorbida o un quiebre en la isoterma de sorción. La falta de cristalización se puede atribuir a la presencia de

biopolímeros y estructura celular, que causa impedimentos para la cristalización en sistemas multi-componentes.

En la **Figura V-2** se esquematiza un diagrama de estado suplementado general (representativo de las diferentes frutas estudiadas) con el agregado de los datos de la isoterma de sorción de agua. Se puede ver el aumento del parámetro  $T-T_g$ , relacionado con la estabilidad de los materiales en el almacenamiento, a medida que aumenta el contenido de agua. Se puede observar que las muestras equilibradas a la humedad relativa de 84% atraviesan la zona de congelación, y esto explica la aparición de picos de fusión de agua en los termogramas por DSC (**Figura IV-7**). Por otro lado coincide con el cambio de pendiente en la curva de sorción de agua (**Figura IV-2**).



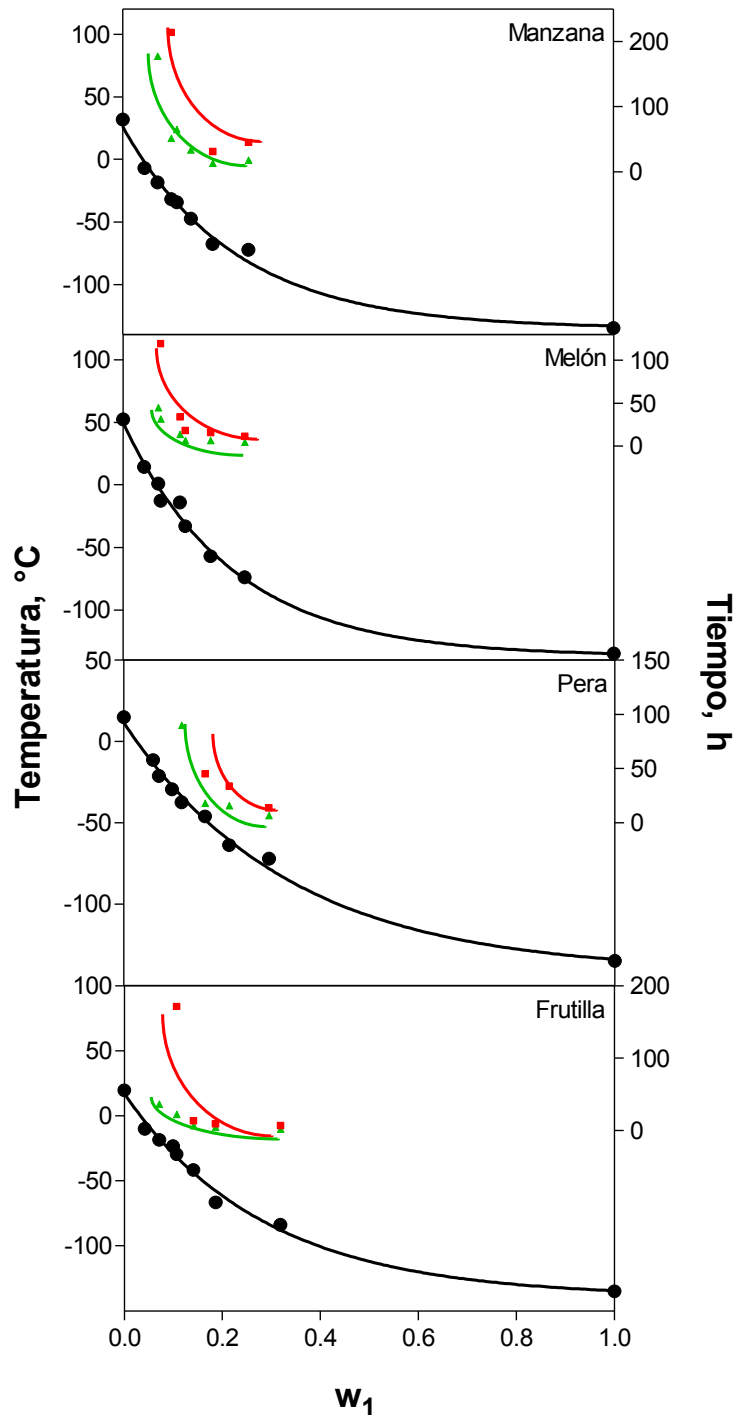
**Figura V-2.** Diagrama de estado suplementado que muestra el cambio de  $T-T_g$  con el aumento del contenido de agua del material liofilizado. Los símbolos vacíos corresponden a los datos experimentales de la isoterma de sorción de agua.

## V.2. RELACIÓN ENTRE LA $T_g$ EL GRADO DE COLAPSO Y LA FRACCIÓN MÁSCICA DE AGUA

Los primeros trabajos sobre la determinación de colapso estructural fueron realizados en sistemas modelo de azúcares y maltodextrinas, y en ellos se analizó este fenómeno en función de la temperatura, a través de observaciones macro y microscópicas (To y Flink, 1978; Gerschenson y col., 1981). Se definieron temperaturas o tiempos de colapso en los que se registraba el comienzo de modificaciones estructurales en las muestras, y se relacionó el fenómeno con la reducción en la viscosidad de la matriz. Posteriormente, Levine y Slade (1989, 1991) y Roos y Karel (1990, 1991b) discutieron la relación existente entre la transición vítrea y el colapso estructural. La **Figura V-3** muestra la temperatura de transición vítrea de las frutas estudiadas, junto con el tiempo en que el material alcanzó un 10 y un 20% de colapso en función de la fracción másica de agua.

Muchos de los trabajos mencionados anteriormente Levine y Slade (1990, 1991) y Roos y Karel (1990, 1991b) representan en forma hipotética distintos grados de colapso en forma paralela a la que describe el descenso de la temperatura de transición vítrea en función del contenido de agua. Sin embargo, como se observa en la **Figura V-3**, para todos los sistemas estudiados en esta tesis, el paralelismo postulado se verificó en un rango estrecho de fracción másica de agua. Como se discutió en la sección IV.2.1 el grado de colapso que puede alcanzar un sistema no es indefinido, ya que está restringido por las características estructurales de sus componentes. Esto se refleja en los gráficos de la **Figura V-3**, en donde el tiempo para alcanzar un

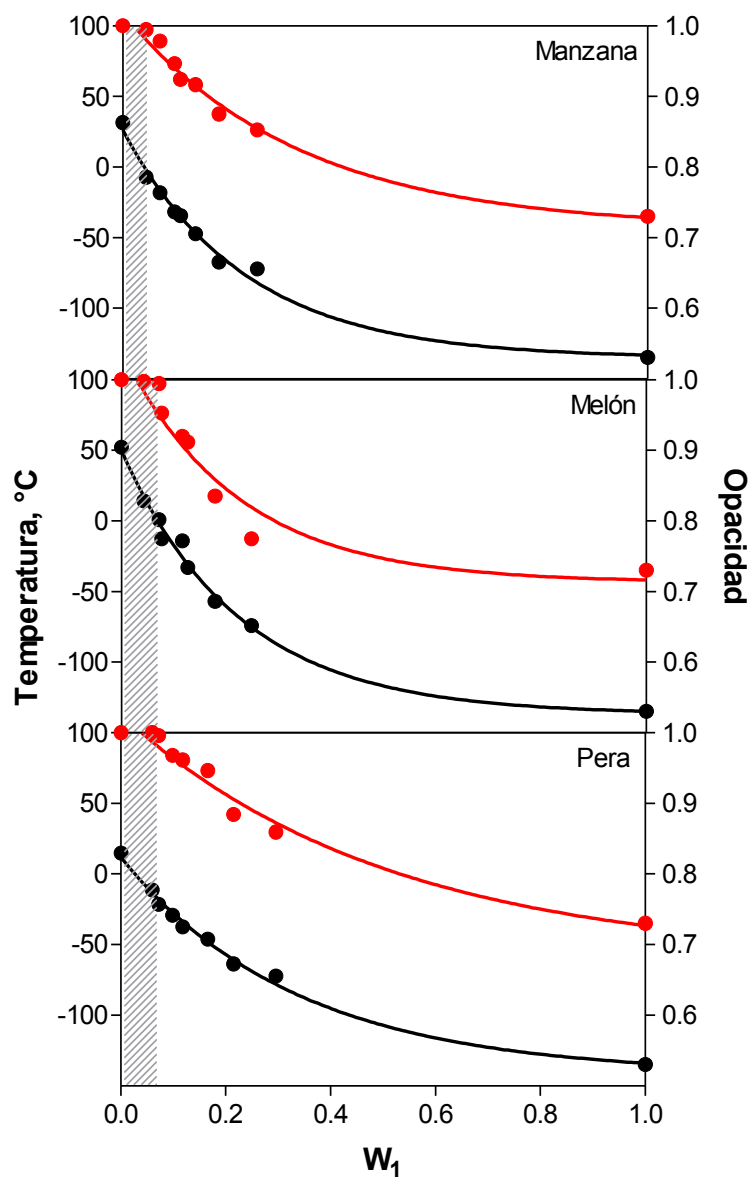
determinado grado de colapso decrece exponencialmente a partir de bajos contenido de agua, y luego, se aproxima a un valor constante.



**Figura V-3.** Temperatura de transición vítrea (●), y tiempo al cual fue alcanzado el 10% (▲) y el 20% (■) de colapso en función de la fracción másica de agua de manzana, melón, pera y frutilla.

### V.3. RELACIÓN ENTRE LA $T_g$ , EL GRADO DE OPACIDAD Y LA FRACCIÓN MÁSCICA DE AGUA

La **Figura V-4** muestra la temperatura de transición vítrea y la opacidad de manzana, melón y pera en polvo determinada al cabo de la humidificación a las diversas HR.



**Figura V-4.** Temperatura de transición vítrea (●), y grado de opacidad (●) en función de la fracción másica de agua de manzana, melón, pera en polvo. La zona sombreada corresponde a muestras opacas y en el estado vítreo.

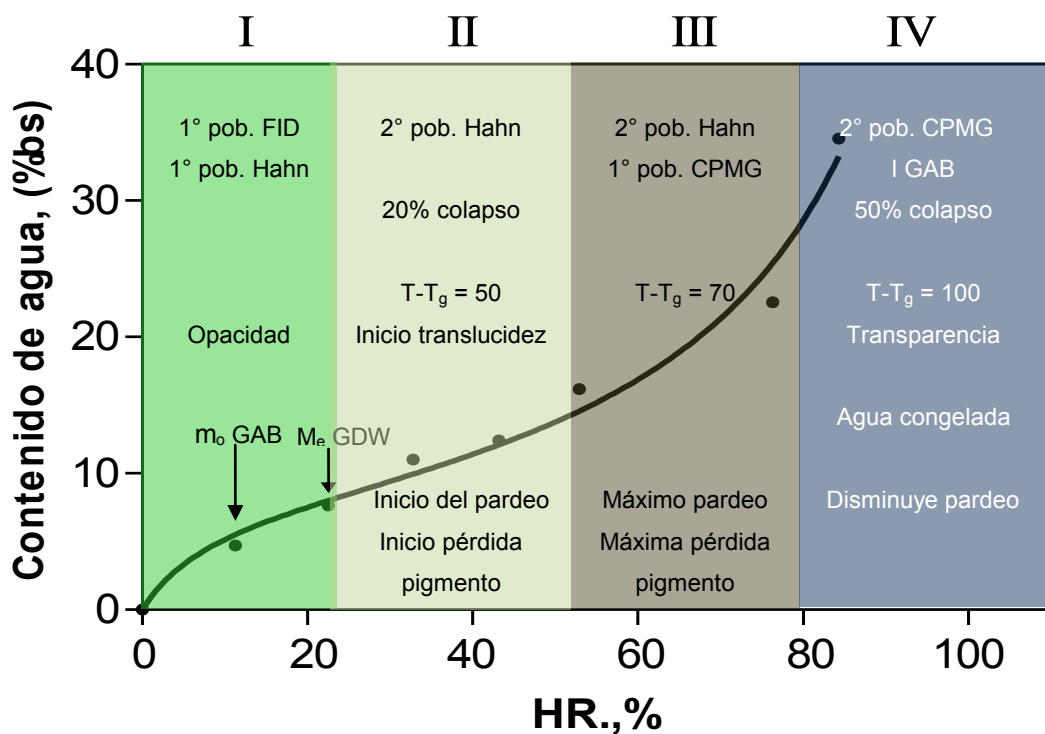
Se puede observar que la opacidad de las frutas pulverizadas presenta una tendencia paralela a las curvas de temperatura de transición vítrea a partir de un cierto valor de fracción de agua en las muestras, a partir del cual las muestras comienzan a comportarse como materiales translúcidos. La zona sombreada de la **Figura V-4** corresponde a muestras en el estado vítreo que se comportaron como opacas. Es interesante notar que la relación entre opacidad y el fenómeno de transición vítrea no había sido discutida previamente. Además, el comienzo de la translucidez se relacionó con un colapso de la matriz cercano a 20% y un tiempo de relajación  $T_{2-2}$  de 1 ms.

#### **V.4. LA MOVILIDAD DE PROTONES COMO INDICADOR DE PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE FRUTAS DESHIDRATADAS**

Desde mediados del siglo pasado, la estabilidad física y química se discutió en términos de actividad de agua e isothermas de sorción de agua (Levine y Slade, 1992; Roos, 1995b; Van der Berg 1981). Posteriormente, surgieron diferencias en la interpretación de conceptos tales como humedad de monocapa, agua libre, agua ligada y condiciones de equilibrio, que hicieron reconsiderar dichos conceptos. En la década de los 80 se introdujo en ciencia de alimentos el fenómeno de transición vítrea que ayudó a explicar en forma complementaria a las propiedades de sorción, ciertos fenómenos relacionados con la estabilidad de alimentos. En la actualidad se considera que un mapa de estabilidad basado en los diagramas de estado suplementados y la información aportada por los estudios de movilidad de protones por  $^1\text{H}$  RMN permiten definir en forma mucho más precisa ciertos límites de estabilidad.



La **Figura V-5** muestra una isoterma de sorción de agua típica de frutas, donde se representan las observaciones sobre los fenómenos físicos y químicos realizadas en esta tesis en relación a la humedad relativa. Se dividió en cuatro zonas, de acuerdo con el valor de tiempos de relajación  $T_2$  y la presencia o no de más de una población de protones, según la secuencia de pulsos empleada. Se incluyen en cada zona las principales observaciones realizadas sobre aspectos físicos, químicos y fenómenos de movilidad.



**Figura V-5.** Isoterma de sorción de agua típica de sistemas de fruta. Las zonas sombreadas indican el inicio de características físicas y químicas estudiadas. La palabra pob. corresponde a la abreviación de población.

Zona I. Corresponde a la presencia de una sola población de protones que se puede determinar por FID después de un solo pulso de radiofrecuencia, presentando tiempos de relajación del orden de microsegundos. En esta zona se encuentra la humedad de monocapa

determinada por GAB ( $m_0$ ) y su límite es la humedad de equilibrio ( $M_e$ ); determinada por GDW. En esta zona sólo hay agua de hidratación (aquella que se encuentra interactuando fuertemente con los sólidos). Además el encogimiento es relativamente bajo, así como las velocidades de pardeamiento. El material en este estado presenta características importantes de estabilidad, es opaco y se encuentra cerca de su temperatura de transición vítrea a temperatura ambiente.

Zona II. Cuando las muestras superan el agua límite de hidratación, se encuentran protones con movilidad media, que pertenece a una segunda población con tiempos de relajación detectada por la secuencia de Hahn  $T_{2-2 \text{ HAHN}}$  que llegan hasta los milisegundos. En este punto la temperatura es aproximadamente 50 °C superior a la temperatura de transición vítrea ( $T-T_g = 50 \text{ °C}$ ). Las reacciones dependientes de la difusión tienen una velocidad relativamente baja en las cercanías de  $T_g$ , es decir, a valores bajos de  $(T-T_g)$  (Levi y Karel, 1995; Bonelli y col., 1997). A partir de estos valores de  $(T-T_g = 50)$  se observa que empieza a aumentar la velocidad de las reacciones de pardeamiento y el ingreso de agua en la matriz deshidratada produce reducciones en el volumen del 20% con respecto al inicial. El agua presente en las muestras en esta zona, produce el inicio de la pérdida de opacidad del material.

Zona III. Hay un aumento considerable de los tiempos de relajación  $T_{2-2 \text{ HAHN}}$  de hasta 3 ms. El valor de  $(T - T_g)$  supera los 70°C. En esta zona (a HR iguales o superiores que 52%) se observa la máxima velocidad de

pardeamiento en las muestras, y hay mayor degradación de pigmentos, debido a que la mayor movilidad molecular favorece la velocidad de las reacciones de deterioro. Los cambios más importantes en la luminosidad y en las variables cromáticas  $a^*$  y  $b^*$  se presentan a 75% de HR. Esta humedad relativa corresponde a la parte ascendente de la isoterma de sorción de agua, por encima de la llamada zona "multicapa".

Zona IV. Su límite inferior se relaciona con el desvío en la gráfica linealizada de GAB (I), que se corresponde con el punto en el que se detecta la población de protones más móvil determinada por  $^1\text{H}$  RMN, cuyo valor de  $T_2$  CPMG llega hasta 50 ms. Por otra parte, el calor de sorción se anula en este punto (según lo discutido en la sección IV.1.2.). La presencia de agua más móvil, que puede congelar según se detecta por DSC, genera la disminución de la velocidad de pardeamiento y las muestras alcanzan el máximo grado de colapso (50%). En este punto se observa que la temperatura es 100 °C superior a la temperatura de transición vítrea ( $T-T_g = 100$  °C). Según el espesor, la presencia de pigmentos y la estructura, las muestras llegan a su máximo de transparencia.

Estos resultados permiten integrar la información provista por todos los experimentos realizados y demuestra la importancia de la estructura y las características físicas de los materiales en la estabilidad y apariencia de las frutas deshidratadas, lo que define su calidad.

## VI. CONCLUSIONES

En frutas liofilizadas, a bajos contenidos de agua el fenómeno de difusión de la luz producido por el aire en el interior de los poros, les otorga las características de apariencia opaca y claridad, que distorsiona la percepción cromática de las muestras.

Las distorsiones de apariencia producen que las muestras secas se perciban como de mayor luminosidad y menos pigmentadas, lo que se refleja tanto visualmente como en las mediciones de reflectancia. Este efecto disminuye al ingresar agua en la matriz y llenar los capilares de la muestra. Por lo tanto, se podría tener una estimación de la concentración de pigmentos propios de la fruta liofilizada a través de la medición de las características ópticas determinadas por reflectancia, si se humidifican las muestras hasta un contenido de agua fijo, que corresponde a humedades relativas intermedias.

Por otro lado, a altos contenidos de agua los pigmentos pardos que se generan interfieren en la percepción de los tonos típicos de la fruta.

Dados los distintos grados de opacidad que presentan las frutas liofilizadas y rehumidificadas, se puede establecer que, para aquellos sistemas opacos la variable  $L^*$  es adecuada para evaluar el oscurecimiento producido por pardeamiento. En cambio, en aquellos que presentan translucidez, el empleo de la teoría de Kubelka-Munk mediante mediciones por transreflectancia, es más sensible.

La efectividad del empleo del análisis de imagen por visión computarizada constituye un punto de partida para su utilización en el análisis tanto de

características cromáticas, como de aquellas relacionadas con la distribución espacial de la luz (opacidad, transparencia, brillo y textura visual) y cambios de estructura. Por lo tanto podría tener una aplicación más generalizada en la industria de alimentos, con la finalidad de evaluar diversos atributos de apariencia relacionados con etapas del proceso o para controlar la calidad de manera práctica, económica y no destructiva.

El tratamiento de los datos de sorción de agua a través del modelo de D'Arcy-Watt permite un análisis más completo que el de otras ecuaciones de uso generalizado, ya que incorpora parámetros relacionados con aspectos de la microestructura del material. Dichos parámetros nos permiten determinar que en las condiciones experimentales empleadas (particularmente, velocidad de congelación) la tortuosidad de la estructura produce que solamente un tercio de los sitios primarios de sorción se conviertan en sitios secundarios. De esta forma, la comúnmente llamada "multicapa" ocurre en dichos sitios, mientras que el resto se comporta como "monocapa". La humedad de equilibrio calculada a través de este modelo ( $M_e$ ) fue mayor que el contenido de agua de monocapa determinado por GAB, y coincidió mejor con la movilidad de protones.  $M_e$  define entonces el límite a partir del cual se manifiestan dos poblaciones de protones cuando se aplica la secuencia de Hahn por  $^1\text{H}$  RMN.

El tratamiento mediante la linealización del modelo GAB propuesto por Timmermann y Chirife (1991) permite determinar el punto de inflexión de la isoterma de sorción, que corresponde a la aparición de agua con la mayor movilidad, manifestada por los tiempos  $T_{2-2\text{CPMG}}$  de relajación transversales por

$^1\text{H}$  RMN, la transición que refleja agua congelada por DSC, y además el calor de sorción se hace nulo. Los fenómenos de colapso estructural y transparentización justamente se relacionan con la presencia de agua con alto grado de movilidad.

A su vez, el decrecimiento de la velocidad de pardeo luego de pasar por un máximo, en función del contenido de agua, ocurre en esta zona de mayor movilidad de agua.

El estudio integral de las propiedades de sorción de agua, temperaturas de transición vítrea en función de la fracción de agua y de la movilidad molecular permitió explicar el efecto del agua sobre el colapso estructural, la cinética de reacción de pardeamiento, la pérdida de pigmento y el desarrollo de transparencia en sistemas de frutas liofilizadas.

Los resultados de esta tesis podrían contribuir a la obtención de productos de fruta liofilizada con características cromáticas, de transparencia y estructura adecuadas, según las aplicaciones requeridas, ya sea de estabilidad o apariencia atractiva, para incrementar el valor agregado de frutas, promoviendo su consumo. El análisis de la interacción agua-sólido a múltiples niveles puede, por tanto, considerarse como una herramienta para el desarrollo de productos innovadores.

## VII. BIBLIOGRAFÍA



- Aas, E., 1996. Refractive index of phytoplankton derived from its metabolite composition. *J. Plankton Res.*, 18, 2223-2249.
- Acevedo N., Schebor C. & Buera M., 2006. Prediction of the relative humidity for the maximum rate of non-enzymatic browning in food systems. *Food Science*, 4:153-160.
- Acevedo, N., Schebor, C. & Buera, M., 2008a. Water solids interactions, matrix structural properties and the rate of non – enzymatic browning. *Journal of food engineering*, 77: 1108-1115.
- Acevedo, N., Briones, V., Buera, M. & Aguilera, J. 2008b. Microstructure affects the rates of chemical, physical and color changes during storage of dried apple discs. *Journal of food engineering*, 85(2): 222-231
- Adamson, A. W. 1963. *Physical chemistry of surfaces*, Wiley: Wiley.
- Aguilera J., Cuadros, T. & del Valle, J. 1998. Differential scanning calorimetry of low moisture apple products. *Carbohydrate polymers*, 37: 79-86.
- Aguilera J. & Stanley, D. 1999. *Microstructural principles of food processing and engineering*. Lancaster: Aspen Publishers, EEUU.
- Aguilera, J.M., Levi, G. & Karel, M. 1993. Effect of water content on the glass transition and caking of fish protein hydrolyzates. *Biotechnology Progress*, 9 (6): 651-654.
- Anglea, S.; Karathanos, V. & Karel, M., 1993. Low temperature transitions in fresh and osmotically dehydrated plant materials. *Biotechnol. Prog.*, 9:204-209.
- Arevalo-Pinedo A., Giraldo-Zuniga A.D., Dos Santos F.L., Arevalo D.S.Z. & Arevalo P.R. (2004): Sorption isotherms experimental data and mathematical models for murici pulp (*Byrsonima sericea*). In: Silva M., Rocha S. (eds): *Drying 2004, Proceedings 14 th Drying Symposium (IDS 2004)*. Sao Paulo, Brazil, A: 634–639.
- Ayranci E., Ayranci G. & Dogantan Z. 1990. Moisture sorption isotherms of dried apricots, fig and raisin at 20°C and 36°C. *Journal of Food Science*, 55: 1591–1594.
- Bai, Y., Shafiur, M., Perera, C., Smith, B. & Melton, L. 2001. State diagram of apple slices: glass transition and freezing curves. *Food research International*, 34: 89-95.

- Balaban, M.O. 2008. Quantifying nonhomogeneous colors in agricultural materials. Part I: method development. *Journal of Food Science*, 73(9): 431-437.
- Bell, L. N. 1997. Maillard reaction as influenced by buffer type and concentration. *Food Chem*, 1: 143-147.
- Bellows, R., & King, C. 1973. Product collapse during freeze drying of liquid foods, *AIChE Symposium Series*, 69: 33-41.
- Benvenuti, S., Pellati, F., Melegari, M., & Bertelli, D. 2004. Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of *Rubus*, *Ribes*, and *Aronia*. *Journal of Food Science*, 69(3): 164-169.
- Bhandari, B.R. & Howes, T. 1999. Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods. *Journal of Food Engineering*, 40(1-2): 71-79.
- Bolin H.R. (1980): Relation of moisture to water activity in prunes and raisins. *Journal of Food Science*, 45: 1190-1192.
- Bonelli, P.; Schebor, C.; Cukierman, A.L.; Buera, M.P. & Chirife, J., 1997. Residual moisture content as related to collapse of freeze-dried sugar matrices. *J. Food Sci.*, 62:693-695.
- Briones, V. & J.M. Aguilera. 2005. Image analysis of changes in surface color of chocolate. *Food Research International* 38(1): 87-94.
- Brownstein, K.R. & Tarr, C.E. 1979. Importance of classical diffusion in NMR studies of water in biological cells. *Physical Review A*, 19:2446-245.
- Brunauer, S., Demming, L., Demming, W., & Teller, E. 1940. On a theory of the Van der Waals adsorption of gases. *J. Am. Chem. Soc.*, 62: 1723-1732.
- Brunauer, S., Emmet, P., & Teller, E. 1938. Adsorption of gases in multimolecular layers. *J. Am. Chem. Soc.*, 60: 309-319.
- Buera, M., & Resnik, S. 1989. Colorimetric measurements in a turbid medium: hidroyzed concentrated cheese whey. *Die Farbe*, 35/36: 201-214.
- Buera, M.P. & Karel, M., 1995. Effect of physical changes on the rates of non-enzymatic browning and related reactions. *Food Chem.*, 52:167-173.
- Buera M.P., Farroni A.E. & Dalla Rosa M. 2010. Early markers for chemical reactions affecting food stability. *Food Processing*. K. Kristbergsson y S. Otlés, ISEKI-Food Association. En prensa

- Buera, M.P., Roos, Y., Levine, H., Slade, L., Corti, H.R., Reid, D.S., Auffret, T. & Angell, C.A. 2011. State diagrams for improving processing and storage of foods, biological materials, and pharmaceuticals (IUPAC Technical Report). Pure Appl. Chem., ASAP Article doi:10.1351/PAC-REP-10-07-02.
- Caivano, J. 1991. Cesia: A system of visual signs complementing color. Color Research and Application 16 (4): 258-268.
- Caivano, J.L., Menghi, I., & Iadisernia, N. 2004. Cesia and paints: An atlas of cesia with painted samples. AIC 2004 Color and Paints, Interim Meeting of the International Color Association, Proceedings.
- Cardona S., Schebor C., Buera M.P. & Chirife J. 1997. Thermal stability of invertase in reduced moisture amorphous matrices in relation to glassy state and role of trehalose crystallization." Journal of Food Science 62: 105-112.
- Carr, H. Y. & Purcell, E. M. 1954. Effects of diffusion on free precession in Nuclear Magnetic Resonance Experiments. Phys. Rev., 94: 630-638.
- Chan, R. K., Pathmanathan, K. & Johari, G. P. 1986. Dielectric relaxations in the liquid and glassy states of glucose and its water mixtures. J. Phys. Chem., 90: 6358-6362.
- Clementz, A. & Delmoro, J. 2011. Snacks Frutales. Disponible en Internet: <http://www.redalyc.org/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=87722114010>. ISSN 0329-3475. Invenio 14 (27): 153-163.
- Código Alimentario Argentino. Artículos IV y XI.
- Cohen, S., Tzuri, G., Harel-Beja, R., Itkin, M. Portnoy, V., Sa'ar, U., Lev, S., Yeselson, L., Petrikov M., Rogachev, I., Aharoni, A., Ophir, R. & Tadmor, Y. 2012. Co-mapping studies of QTLs for fruit acidity and candidate genes of organic acid metabolism and proton transport in sweet melon (*Cucumis melo* L.) Theor Appl Genet, 125: 343–353.
- Colquhoun, I. & Goodfellow, B. 1994. Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy. En: Reginald, W. (Ed.). Spectroscopic techniques for food analysis, 87-145.
- Crecente-Campo, J., Nunes-Damaceno, M., Romero-Rodríguez, M.A. & Vázquez-Odériz, M.L. 2012. Color, anthocyanin pigment, ascorbic acid

- and total phenolic compound determination in organic versus conventional strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch, cv Selva). *Journal of Food Composition and Analysis*, 28: (1) 23-30.
- D'Arcy, R.L. & Watt, I.C. 1970. Analysis of sorption isotherms of nonhomogeneous sorbents. *Transaction Faraday Society*, 66:1236–1240.
- Debenedetti P.G. 1996. *Metastable Liquids. Concepts and Principles*, Princeton University Press.
- Delgado, A., & Rubiolo, A. 2005. Microstructural changes in strawberry after freezing and thawing processes. *Lebensm. –Wiss. U.- Technol.*, 38: 135-142.
- Delgado, A., & Sun, D. 2002. Desorption isotherms and glass transition temperature for chicken meat. *J. Food Eng.*, 55: 1-8.
- del Valle, J.M., Cuadros T.R.M. & Aguilera, J.M. 1998. Glass transition and shrinkage during drying and storage of osmosed apple pieces, *Food Research International*, 31 (3) 191–204.
- Ding, B., Song, T., Liu, Z. & Zhang, L. 2004 Investigation of the interaction between flavonoids and human serum albumin. *J. Molecular Structure* 703, 37-45.
- Eichner, K., & Karel, M. 1972. The influence of water content and water activity on the sugar-amino browning reaction in model systems under various conditions. *J. Agric. Food Chem.*, 20: 218-223.
- Ellis, G. 1959. The Maillard Reaction. En: M.L. Wolfrom (Ed.), *Advances in Carbohydrate Chemistry*, 63-134. New York: Academic Press.
- Fennema, O. 1996. *Water and Ice*. Fennema (Ed.). New York: Marcel Dekker.
- Flink, J.M., 1983. Nonenzymatic browning of freeze-dried sucrose. *J. Food Sci.*, 48: 539–542.
- Flink J.M., & Karel, M., 1972. Mechanisms of retention of organic volatiles in freeze-dried systems, *Journal of Food Technology*, 7: 199–211.
- Flores, P., Hellín, P. & Fenoll J. 2012. Determination of organic acid in fruit and vegetables by liquid chromatography with tandem-mass spectrometry. *Food Chemistry* 132: 1049-1054.

- Fox, T., & Flory, P. 1950. Second-order transition temperatures and related properties of polystyrene. I. Influence of molecular weight. *J. Appl. Phys.*, 21: 581-591.
- Franks, F. 1994. Long term stabilization of biologicals. *Biotech*, 12: 253-256.
- Friedman, M., 1996. Food browning and its prevention: an overview. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(3), 631-663.
- Furmaniak, S., Gauden, P.A., Terzyk, A.P., Rychlicki, G., Wesółowski, R.P., Kowalczyk, P. 2005. Heterogeneous Do–Do model of water adsorption on carbons. *Journal of Colloid and Interface Science*, 290: 1-13.
- Furmaniak, S., Terzyk, A.P., & Gauden, P.A. 2007 a. The general mechanism of water sorption on foodstuffs – Importance of the multitemperature fitting of data and the hierarchy of models. *Journal of Food Engineering* 82: 528–535.
- Furmaniak, S., Terzyk, A.P., Gauden, P.A. & Rychlicki, G. 2007 b. Applicability of the generalised D’Arcy and Watt model to description of water sorption on pineapple and other foodstuffs. *Journal of Food Engineering* 79: 718–723.
- Furmaniak, S., Gauden, P.A., Terzyk, A.P. & Rychlicki, G. 2008. Water adsorption on carbons — Critical review of the most popular analytical approaches. *Advances in Colloid and Interface Science* 137: 82–143.
- Furmaniak, S., Terzyk, A.P., Gołembiewski, R., Gauden, P.A. & Czepirski, L. 2009. Searching the most optimal model of water sorption on foodstuffs in the whole range of relative humidity. *Food Research International* 42: 1203–1214.
- Furmaniak, S., Terzyk, A.P. & Gauden, P.A. 2011. Some Remarks on the Classification of Water Vapor Sorption Isotherms and Blahovec and Yanniotis Isotherm Equation. *Drying Technology*, 29: 984-991.
- Gabas A.L., Telis V.R.N., Sobral P.J.A. & Telis-Romea J. 2007. Effect of maltodextrin and arabic gum in water vapor sorption thermodynamic properties of vacuum dried pineapple pulp powder. *Journal of Food Engineering*, 82: 246–252.

- Gejl-Hansen, F., & Flink, J. 1977. Freeze-dried carbohydrate containing oil-in-water emulsions: Microstructure and fat distribution. *J. Food Sci.*, 42: 1049-1055.
- Gerschenson, L.; Bartholomai, G. & Chirife, J., 1981. Structural collapse and volatile retention during heating and rehumidification of freeze-dried tomato juice. *J. Food Sci.*, 46:152-1556.
- Goff, H. D. 1995. The use of thermal analysis in the development of a better understanding of frozen food stability. *Pure Appl. Chem.* 67: 1801-1808.
- Gonzalez, R., & Woods, R. 1992. Digital imaging processing. Boston, USA: Addison-Wesley Longman Publishing Co. Inc.
- Gordon, M., & Taylor, J. 1952. Ideal polymers and the second order transitions of synthetic rubbers. I. Non-crystalline copolymers. *J. Appl. Chem.*, 2: 493-500.
- Guisti, M.M., & Wrolstad, R.E. 2001. Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. In R.E. Wrolstad, T.E. Acree, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. & Schwart, (Eds.), *Current protocols in food analytical chemistry* (pp. Unit F.1.2.1-Unit F.1.2.13). New York: John Wiley and Son, Inc.
- Guohong, L., Junruo C., Meihong, L., & Xinxin, W. 2012. Shrinkage, porosity and density behaviour during convective drying of bio-porous material. *Procedia Engineering* 31, 634 – 640.
- Green-Armytage P. 1992. Colour and other aspects of appearance. *Spectrum* 6(3): 1-11.
- Greenspan, L., 1977. Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. *Journal of research*, 8: 89-96.
- Guiné, R. 2006. Influence of drying method on density and porosity of pears. *Food and Bioproducts Processing*, 84: 179–185.
- Guiné, R. & Castro, J. 2002. Experimental determination and computer fitting of desorption isotherms of D. joaquina pears. *Institutions of chemical engineers*, 80: 149-154.
- Hahn E.L. 1950. Spin echoes. *Physical Review* 80(4): 580-594.

- Hannum, S.M. 2004. Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(1): 1-17.
- Hossain, M.D. Bala, B.K. Hossain, M.A. & Mondol, M.R.A. 2001. Sorption isotherms and heat of sorption of pineapple. *Journal of Food Engineering*, 48: 103-107.
- Hunter R.S. 1975. *The measurement of appearance*. Nueva York, John Wiley.
- Hutchings, J.B., 1994. *Food colour and appearance*. Primera edición. Publicado por Blackie Academic & Professional, impreso por Chapman & Hall, Gran Bretaña.
- Iglesias, H. A. & Chirife, J. 1978. Isosteric heats of water vapour sorption on dehydrated foods. Part 1. Analysis of the differential heat curves. *LWT*, 9: 116-122.
- Jaya, S & Das, H. 2009. Glass Transition and Sticky Point Temperatures and Stability/Mobility Diagram of Fruit Powders. *Food Bioprocess Technology*, 2: 89-95.
- Jayas, D., Paliwal, J., & Visen, N. 2000. Multi-layer neural network for image analysis of agricultural products. *J. Agric. Eng. Res.*, 77: 119-128.
- Junk, W.R. & Pancoast, H.M. 1980. *Handbook of sugars*. AVI Publishing Co., Westport, CT, USA.
- Kalichevsky, M. T., Jaroskiewicz, E. M., Ablett, S., Blanshard, J. M. & Lillford, P. J. 1992. The glass transition of amylopectin measured by DSC and NMR. *Carbohydr. Polymers*, 18: 77-88.
- Karathanos, V. 1993. Collapse of structure during drying of celery. *Drying Technology: An International Journal*, 11(5): 1005-1023.
- Karmas, R., Buera, M., & Karel, M. 1992. Effect of glass transition on rates of non-enzymatic browning in food systems. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 4: 873-879.
- Kaya A., Gogus F. & Maskan M. 2002. Moisture sorption isotherms of grape pestil and foamed grape pestil. *Nahrung/Food*, 46: 73–75.
- Kaya, A., Aydin, O. & Demirtas, D. 2007. Drying kinetics of red delicious apple. *Biosystems engineering*, 96: 517-524.

- Kaymak-Ertekin, F. & Gedik, A. 2004. Sorption isotherms and isosteric heat of sorption for grapes, apricots, apples and potatoes. *LWT* 37: 429–438.
- Kaymak Ertekin F. & Sultanoglu, M. 2001. Moisture sorption isotherm characteristic of peppers. *Journal of food engineering*, 47: 225 – 231.
- Karel, M., & Saguy, I. 1991. Effects of water in food systems. In H. Levine & L. Slade (Eds.), *Water Relationships in Foods*, 157-174. New York: Plenum Press.
- Khalloufi, S. & Ratti, C. 2003. Quality Deterioration of Freeze-dried Foods as Explained by their Glass Transition Temperature and Internal Structure. *Journal of food science*, 68: 892-903.
- Krokida, M.K. & Maroulis, Z.B. 1997. Effect of drying method on shrinkage and porosity. *Drying Technology*, 10: 1145-1155.
- Krokida, M.K. & Maroulis, Z.B. 2001. Structural properties of dehydrated products during rehydration. *International Journal of Food Science and Technology*, 36: 529-538.
- Krokida, M.K., Oikonomopoulou, V. & Karathanos, V. 2011. Evaluation of structural properties of freeze-dried food products. *European Drying Conference - EuroDrying'2011*.
- Kubelka, P. & Munk, F. 1931. Ein Beitrag zur Optik der Farbanstriche. *Z. Techn. Physik*, 12: 591-601.
- Kurozawa, L.E., Hubinger, M.D. & Park, K.J. 2012. Glass transition phenomenon on shrinkage of papaya during convective drying. *Journal of Food Engineering* 108: 43–50.
- Labuza, T. 1968. Sorption phenomena in foods. *Food Technol.*, 24: 543-550.
- Labuza, T. 1980. The effect of water activity on reaction kinetics of food deterioration. *Food Technol.*, 34 (59), 18: 36-41.
- Labuza, T.P. & B. Altunakar, B. 2007. Water activity prediction and moisture sorption isotherms. Chapter 5 In: *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications*. G. Barbosa-Canovas, A. Fontana, S. Schmidt, and T.P. Labuza (eds.). IFT Blackwell Press. Ames, IA. pp. 109-154.
- Labuza, T., & Saltmarch, M. 1981. Kinetics of browning and protein quality loss in whey powders during steady state and nonsteady state storage conditions. *J. Food Sci.*, 41 (1), 2: 92-96.



- Labuza, T., Tannenbaum, S., & Karel, M. 1970. Water content and stability of low-moisture and intermediate moisture foods. *Food Technol.*, 24, 12: 543-550.
- Labuza, T., Warren, R., & Warmbier, J. 1977. The physical aspects with respect to water and non-enzymatic browning. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 86B: 379.
- Lana, M.M., Tijssens, L.M.M. & Kooten, O. 2006. Modelling RGB colour aspects and translucency of fresh-cut tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*, (40): 15-25.
- Lavelli, V. & Vantaggi, C. 2009. Rate of antioxidant degradation and color variations in dehydrated apples as related to water activity. *J. Agric. Food Chem.*, 57: 4733-4738.
- León, K., Mery, D., Pedeschi, F. & León, J., 2006. Color measurement in L\* a\* b\* units from RGB digital images. *Food research international*. 39: 1084-1091.
- Levi, G. & Karel, M., 1995. Volumetric shrinkage (collapse) in freeze-dried carbohydrates above their glass transition temperature. *Food Res. Intl.*, 28:145-151.
- Levine, H., & Slade, L. 1986. Polymer physico-chemical approach to the study of commercial starch hydrolysis products. *Carbohyd. Polym.*, 6: 213-244.
- Levine, H., & Slade, L. 1988. "Collapse" phenomena - a unifying concept for interpreting the behaviour of low moisture foods. In J. Blanshard y R. Nitchell (Eds.), "Food Structure - Its Creation and Evaluation", 149-180. Butterworths, London.
- Levine, H. & Slade, L., 1989. Response to the letter by Simatos, Blond and Le Meste on the relation between glass transition and stability of a frozen product. *Cryo-Letters*, 10:347-370.
- Levine, H. & Slade, L. 1990. Influences of the glassy and rubbery states on the thermal, mechanical, and structural properties of dough and baked products. En: "Dough rheology and baked products texture". H. Faridi y J. M. Faubion, (Eds.). AVI. New York. Cap. 5. 157-330.
- Levine, H. & Slade, L., 1992. Glass transitions in foods. En: *Physical Chemistry of Foods*, Schwartzberg, H. y Hartel, R. (Eds.), Marcel Dekker, New York, pág. 83-221.

- Ling Hang-Ing, H., Birch, J. & Lim, M. 2005. The glass transition approach to determination of drying protocols for colour stability in dehydrated pear slices. *International Journal of Food Science and Technology*, (40): 921-927.
- Lim L.T., Tang J &, He J. 1995. Moisture sorption characteristics of freeze dried blueberries. *Journal of Food Science*, 60: 810–814.
- Little, A. 1964. Color measurements of translucent food samples. *J. Food Sci.*, 29: 782-789.
- Little, A., y Brinner, L. 1981. Optical properties of instant tea and coffee solutions. *J. Food Sci.*, 46: 519-525.
- Loncin, M., Jackmain, D., Tutundjian Provost, A., Lenges, J., & Bimbenet, J. 1965. Influence de l'eau sur les réactions de Maillard. *Crit. Rev. Acad. Sci.*, 3: 260-3208.
- Lozano, R. 1978. *El color y su medición*. Buenos Aires: Editorial América Lee.
- MacDougall, D.B. 2002. *Colour in food Improving quality*. MacDougall (Ed.) CRC Press. Boca Ratón
- Mackinney, G., Little, A., & Brinner, L. 1966. Visual appearance of foods. *Food Technol.*, 20: 60-68.
- Márquez L.G. & Freire, J.T. 2005. Analysis of Freeze-Drying of Tropical Fruits. *Drying Technology*, (23): 2169-2184.
- Martínez-Monzó, J, Martínez-Navarrete, N., Chiralt, A. & Fito, P. 1998. Mechanical and Structural Changes in Apple (Var. Granny Smith) Due to Vacuum Impregnation with Cryoprotectants. *Journal of Food Science* vol 63 (3): 499-503.
- Mataix-Verdú, J. 2002. *Nutrición y alimentación humana, nutrientes y alimentos*. España. Ergón.
- Matchett, M.D., MacKinnon, S.L., Sweeney, M.I., Gottschall-Pass, K.T., & Hurta, R.A.R. 2005. Blueberry flavonoids inhibit matrix metalloproteinase activity in DU145 human prostate cancer cells. *Biochemistry and Cell Biology*, 83(5): 637-643.
- Mauron, J. 1981. The Maillard reaction in food: A critical review from the nutritional stand point. *Prog. Food Nutr. Sci.*, 5: 5.

- Mayor, L. & Sereno, A.M. 2004. Modelling shrinkage during convective drying of food materials: a review. *Journal of Food Engineering*, 61(3): 373-386.
- Mayor L., Moreira R. & Sereno, A.M. 2011. Shrinkage, density, porosity and shape changes during dehydration of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) fruits. *Journal of Food Engineering* 103: 29–37.
- Meiboom, S. & Gill, D. 1958. Modified spin-echo method for measuring nuclear magnetic relaxation times. *Rev. Scient. Instr.*, 29: 688–691.
- Mendoza, F., Dejmek, P. & Aguilera, J.M. 2006. Calibrated color measurements of agricultural foods using image analysis. *Postharvest Biology and Technology* 41: 285–295.
- Mizrahi, S. & Karel, M. 1978. Evaluation of kinetic model for reactions in moisture-sensitive products using dynamic storage conditions. *J. of Food Science*, 43: 750.
- Moraga, G., Martínez-Navarrete, N., & Chiralt, A. 2004. Water sorption isotherms and glass transition in strawberries: influence of pretreatment. *Journal of Food Engineering*, 62(4): 315-321.
- Moraga, G., Martínez-Navarrete, N., & Chiralt, A. 2006. Water sorption isotherms and phase transitions in kiwifruit. *Journal of Food Engineering*, 72(2): 147-156.
- Moraga, G., Talens, P., Moraga, M.J. & Martínez-Navarrete, N. 2011. Implication of water activity and glass transition on the mechanical and optical properties of freeze-dried apple and banana slices. *Journal of Food Engineering* 106: 212–219.
- Mosquera L.H., Moraga, G. & Martínez-Navarrete, N. 2012. Critical water activity and critical water content of freeze-dried strawberry powder as affected by maltodextrin and arabic gum. *Food Research International* 47: 201–206.
- Mourant, J.R., Fuselier, T., Boyer, J., Johnson, T. M. & Bigio. I.J. 1997. Predictions and measurements of scattering and absorption over broad wavelength ranges in tissue phantoms. *Applied Optics* 36(4): 949-957.
- Myhara M.R., Taylor M.S., Slominski B.A. & Al-Bulushi I. 1998. Moisture sorption isotherms and composition of Omani dates. *Journal of Food Engineering*, 37, 471–479.

- Namiki, M. 1988. Chemistry of Maillard reactions: Recent studies on the browning reaction mechanism and the development of antioxidants and mutagens. *Adv. Food. Res.*, 32: 116-184.
- Nelson, K., & Labuza, T. 1994. Water activity and food polymer science: implications of state on Arrhenius and WLF models in predicting shelf life. *J. Food Eng.*, 22: 271-287.
- Nguyen, T.A., Verboven, P., Jean D. Daudin, J.D. & Nicola, B.M. 2004. Measurement and modelling of water sorption isotherms of 'Conference' pear flesh tissue in the high humidity range. *Postharvest Biology and Technology*, (33): 229-241.
- Nikolova, K., Panchev, I., Sainov, S. 2007. Optical characteristics of biopolymer films from pectin and gelatin. *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, 7(3): 1439- 1444.
- Noel, T. R., Ring, S. G. & Whittam, M. A. 1992. Dielectric relaxations of small carbohydrate molecules in the liquid and glassy states. *J. Phys. Chem.*, 96: 5662-5667.
- Nursten, H. 1980. Recent developments in studies of the Maillard reaction. *Food Chem.*, 6: 263.
- Olsson, M.E., Gustavsson K.E., Andersson, S., Nilsson, A. & Duan, R.D. 2004. Inhibition of Cancer Cell Proliferation in Vitro by Fruit and Berry Extracts and Correlations with Antioxidant Levels. *J. Agric. Food Chem.*, 52:(24), 7264–7271.
- Pancoast, H. & Junk, W.R. 1980. *Handbook of Sugars*. Van Nostrand Reinhold publisher. 598.
- Papadakis, S., Abdul-Malek, S., Kandem, R., & Yam, K. 2000. A versatile and inexpensive technique for measuring colour of foods. *Food technol.*, 54 (12): 48-51.
- Parzanese, M. 2011. *Tecnologías para la Industria Alimentaria: Liofilización de alimentos*. Ficha 3.  
[http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/tecnologia/Ficha\\_03\\_Liofilizados.pdf](http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/tecnologia/Ficha_03_Liofilizados.pdf)
- Pikal, M.J. & Shah, S. 1990. The collapse temperature in freeze drying: Dependence on measurement methodology and rate of water removal

- from the glassy phase. *International Journal of Pharmaceutics*, 62 (2-3), 165-186
- Piola, M. & Mitidieri, M. 2008. Estudio sobre incentivos y obstáculos en el consumo de frutas y hortalizas en mujeres del área metropolitana de Buenos aires. San Pedro, INTA. Año 2008
- Proteggente, A.R., Pannala, A.S., Paganga, G., van Buren, L., Wagner, E. & Wiseman, S. 2002. The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Radical Research*, 36(2): 217-233.
- Quevedo, R., Díaz, O., Caqueo, A., Ronceros, B. & Aguilera, J.M. 2009a. Quantification of enzymatic browning kinetics in pear slices using non-homogenous L\* color information from digital images. *LWT*, 42: 1367-1373.
- Quevedo, R., Díaz, O., Caqueo, A., Ronceros, B. & Aguilera, J.M. 2009b. Quantification of enzymatic browning in apple slices applying the fractal texture Fourier image. *Journal of Food Engineering*, 95: 285-290.
- Raffo, M.D., Ponce, N.M.A., Sozzi, G.O., Stortz, C.A. & Vicente, A.R. 2012. Changes on the cell wall composition of tree-ripened "Bartlett" pears (*Pyrus communis* L.) Postharvest Biology and Technology, 73: 72–79.
- Rahman, M.S. & Labuza T.P. 1999. Water activity and food preservation. In M. S. Rahman (Ed.), *Handbook of Food Preservation*. 339-382. New York: Marcel Dekker.
- Ratti, C. 2001. Hot air and freeze-drying of high value foods: a review. *Journal of food engineering*, 49: 311-319.
- Reynolds, T. 1963. Chemistry of nonenzymic browning. I. The reaction between aldoses and amines. *Adv. in Food Research*, 12: 1.
- Reynolds, T. 1970. Flavors from nonenzymic browning reactions. *Food Technol. Australia*: 610.
- Rozycki, S.D., Pauletti, M.S., Costa, S.C., Piagentini, A.M. & Buera, M.P. 2007. The kinetics of colour and fluorescence development in concentrated milk systems. *International Dairy Journal*, 17: 907-915.

- Roos, Y.H. 1992. Reaction kinetics and thermodynamics in food systems; Part II, Phase transitions and transformations. In D. Lund y D. Heldman (Ed.), Handbook of Food Engineering. New York: Marcel Dekker.
- Roos, Y.H. 1993. Melting and glass transitions of low-molecular weight carbohydrates. Carbohydr. Res., 238: 39-48.
- Roos, Y.H. 1995a. Kinetics in amorphous foods. In S. Taylor (Ed.), Phase Transitions in Foods, 283-302. New York: Academic Press.
- Roos, Y.H. 1995b. The physical state of amorphous materials. In S. Taylor (Ed.), Phase Transitions in Foods, 26-34. New York: Academic Press.
- Roos, Y.H. 1995c. Time-dependent phenomena. In S. Taylor (Ed.), Phase Transitions in Foods, 193-240. New York: Academic Press.
- Roos Y.H. 1998. Role of water in phase – transition phenomena in foods. Phase/State Transitions in Foods. M. Rao y R. W. Hartel, Marcel Dekker.
- Roos, Y.H. & Himberg, M., 1994. Nonenzymatic browning behavior as related to glass transition of a food model at chilling temperatures. J. Agric. Food Chem., 42:893-898.
- Roos, Y.H. & Karel, M. 1990. Differential scanning calorimetry study of phase transitions affecting the quality of dehydrated materials. Biotechnol. Prog., 6: 159-163.
- Roos, Y.H. & Karel, M. 1991a. Amorphous state and delayed ice formation in sucrose solutions. Int. J. Food Sci. Technol., 26: 553-566.
- Roos, Y.H. & Karel, M. 1991b. Phase transition of amorphous sucrose and frozen sucrose solutions. Journal of food science, 56: 266-267.
- Roos, Y.H., Jouppila, K. & Zielasko, B. 1996. Nonenzymatic browning-induced water plasticization: Glass transition temperature depression and reaction kinetics determination using differential scanning calorimetry. J. Thermal Anal., 47:1437-1450.
- Ruan, R.R., Long, Z., Song, A. & Chen, P.L. 1998. Determination of the Glass Transition Temperature of Food Polymers Using Low Field NMR. LWT, 31, 516-521.
- Sá, M.M. & Sereno, A.M. 1994. Glass transitions and state diagrams for typical natural fruits and vegetables. Thermochemica Acta 246: 285-297.

- Sá, M.M., Figueiredo, A.M. & Sereno, A.M. 1999. Glass transitions and state diagrams for fresh and processed apple. *Thermochimica*, (329): 31-38.
- Saarela, J.M.S., Heikkinen, S.M., Fabritius, T.E.J., Haapala, A.T., & Myllylä, R.A. 2008. Refractive index matching improves optical object detection in paper. *Measurement Science and Technology*, 19, 1-7.
- Saravacos, G.D., Tsiourvas, D. A. & Tsami, E. 1986. Effect of Temperature on the Water Adsorption Isotherms of Sultana Raisins. *Journal of food science*, 51:381
- Shallenberger, R. & Birch, G. 1975. Non-enzymatic browning reactions. In *The AVI Publishing Company Westport (Ed.), Sugar Chemistry: cap. 7. Connecticut.*
- Shishegharha, F., Makhlouf, J. & Ratti, C. 2002. Freeze-drying characteristics of strawberries. *Drying Technology*, 20(1): 131–145.
- Simatos, D., & Karel, M. 1988. Characterization of the condition of water in foods: Physico-chemical aspects. In C. Seow (Ed.), *Food Preservation by Moisture Control*, 24-30. New York: Elsevier.
- Sikorski Z., Pokorny J. & Damodaran S. (2007). Physical and chemical interactions of components in food systems. *Food Chemistry*. K.L. Parkin y O. Fennema. New York, CRC Press.
- Slade L., & Levine H. 1987. Structural stability of intermediate moisture foods - a new understanding. En *Food Structure - Its Creation and Evaluation*. Eds. Mitchell y Blanshard London: Butterworths. pp. 115-147.
- Slade, L., & Levine, H. 1991. Beyond water activity: Recent advances based on an alternative approach to the assessment of food quality and safety. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 30: 115-360.
- Sperling, L. 1986. *Introduction to physical Polymer Science*. New York: Jhon Wiley y Sons.
- Stepansky, A., Kovalski, I., Schaffer, A.A. & Perl-Treves, R. 1999. Variation of sugar levels and invertase activity in mature fruit representing a broad spectrum of *Cucumis melo* genotypes. *Genetic Resour. Crop Evolut.* 46: 53-62.
- Sun, D. 1998. Selection of EMC/ERH isotherm equations for drying and storage of grain and oilseed. In *Proceedings of CIGR XIIIth International*

- Congress on Agricultural Engineering, (Vol. 6): 331-336. Rabat, Morocco.
- Sun, D. 1999. Comparison and selection of EMC/ERH isotherm equations for rice. *J. Sto. Prod. Res.*, 35 (3): 249-264.
- Talens, P., Martínez-Navarrete, P., Fito N. & Chiralt, A. 2002. Changes in optical and mechanical properties during osmodehydrofreezing of kiwi fruit. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* (3): 191-199.
- Telis, V.R.N. & Sobral, P J A. 2001. Glass transitions and state diagram for freeze-dried pineapple. *LWT*, 34: 199-205.
- Telis, V.R.N. & Martínez-Navarrete, N. 2010. Application of compression test in analysis of mechanical and color changes in grapefruit juice powder as related to glass transition and water activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie*, 43(5): 744-751.
- Thybo, A.K., Andersen, H.J., Karlsson, A.H., Donstrup, S. & Stodkilde-Jorgensen, H. 2003. Low-field NMR relaxation and NMR-imaging as tools in differentiation between potato sample and determination of dry matter content in potatoes. *LWT*, 36: 315-322.
- Timmermann, E., 2003. Multilayer sorption parameters: BET or GAB values? *Colloids and surfaces*, 220: 235-260.
- Timmermann, E & Chirife, J. 1991. The physical state of water sorbed at high activities in starch in terms of GAB sorption equation. *Journal of food engineering*, 13(3): 171-179.
- To, E.C. & Flink, J., 1978 a. Collapse, a structural transition in freeze dried carbohydrates I. Evaluation of analytical methods. *J. Food Technol.*, 13:551-565.
- To, E.C. & Flink, J.M. 1978 b. "Collapse", a structural transition in freeze-dried carbohydrates. III Prerequisite of recrystallization, *J. Food Technol.*, 13:586-594.
- Tóth-Markus, M., Bánáti, D., Adányi, N., Boross, F., Konrád-Németh, C., Szabó, Z., Soltész, M. & Nyéki, J. 2011. Composition and storage of pear cultivars from Nagykanizsa. *International Journal of Horticultural Science*, 17 (1–2): 63–68.



- Tsai, P.J., Hsieh, Y.Y. & Huang, T.C. 2004. Effect of sugar on anthocyanin degradation and water mobility in a roselle anthocyanin model system using  $^{17}\text{O}$  NMR. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(10): 3097-3099.
- Tsami, E., Maroulis, Z.B., Marinos-Kouris, D & Saravacos, G.D. 1990. Heat of sorption of water in dried fruits. *International Journal of Food Science and Technology* 25: 350-359.
- Tsourouflis, S.; Flink, J. & Karel, M. 1976. Loss of structure in freeze-dried carbohydrates solutions: Effect of temperature, moisture content and composition. *J. Sci. Food Agric.*, 27:509-519.
- Uddin, M.S., Hawlader, M.N.A., Ding, L., & Mujumdar, A.S. 2002. Degradation of ascorbic acid in dried guava during storage. *Journal of Food Engineering*, 51: 21-26.
- Van den Berg, C. 1981. Water activity and its estimation in foods systems: theoretical aspects. En: "Water Activity: Influences on Food Quality". Rockland, L. y Stewart, G. (Eds.), Academic Press, New York, pp. 1-61.
- Van den Berg, C. & Bruin, 1981. Water activity and its estimation in foods systems: Theoretical aspects. In L. y S. Rockland, G. (Ed.), *Water Activity: Influences on Food Quality*, 1-61. New York. Academic Press.
- Vega-Gálvez, A., Ah-Hen, K., Chacana, M., Vergara, J., Martínez-Monzó, J., García-Segovia, P., Lemus-Mondaca, R., & Di Scala, K. 2012. Effect of temperature and air velocity on drying kinetics, antioxidant capacity, total phenolic content, colour, texture and microstructure of apple (var. *Granny Smith*) slices. *Food Chemistry* 132: 51–59.
- Venir, E. Munari, M., Tonizzo, A. & Maltini, E. 2007. Structure related changes during moistening of freeze dried apple tissue. *Journal of engineering*, 81: 27-32.
- Warmbier, H., Schnickels, R., & Labuza, T. 1976. Effect of glycerol on nonenzymatic browning in a solid intermediate moisture model food system. *J. Food Sci.*, 41: 528-531.
- Welti-Chanes, J., Guerrero, J.A., Barcenas, M.E., Aguilera, J.M. Vergara, F. & Barbosa-Canovas, G.V. 1998. Glass transition temperature ( $T_g$ ) and

- water activity ( $a_w$ ) of dehydrated apple products. *Journal of Food Process Engineering* 22: 91-101.
- Williams M.L., Landel R.F. & Ferry J.D. 1955. The temperature dependence of relaxation mechanisms in amorphous polymers and other glass-forming liquids. *J Am Chem Soc* 77:3701-3707.
- White, G., & Cakebread, S. 1966. The glassy state in certain sugar- containing food products. *J. Food Technol.*,1:73.
- Wunderlich, B. 1981. The basis of thermal analysis. En: "Thermal characterization of polymeric materials". E. A. Turi (Ed.). Academic Press Inc., NY. Cap. 2. 91-234.
- Wrolstad, R.E. 2004. Symposium 12: Interaction of natural colors with other ingredients. Anthocyanin pigments e bioactivity and coloring properties. *Food Chemistry and Toxicology*, 69(5): 419-425.
- Wrolstad, R.E., Durst R.W., & Lee, J. 2005. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science & Technology* 16: 423–428.
- Xue keqing. 2004. Optimización del secado por aire caliente de pera (variedad blanquilla). Tesis para optar al título de doctor del departamento de tecnología de alimentos de la Universidad Politécnica de Valencia.
- Yan, Z., Sousa-Gallagher, M.J., & Oliveira, F.A.R. 2008. Shrinkage and porosity of banana, pineapple and mango slices during air-drying. *Journal of Food Engineering* 84: 430–440.
- Yanniotis, S. & Blahovec, J. 2009. Model analysis of sorption isotherms. *LWT*, 42:1688-1695.
- Zeleznek, K. J. & Hosney, R. C. 1987. The glass transition in starch. *Cereal Chem*, 64:121-124.

**ANEXO**

**Anexo 1.** Parámetros de ajuste de la ecuación de GAB para las isotermas de sorción de agua a 10 y 45 °C. Se informa el promedio y el desvío estándar (n=2).

GAB 10°C

Fruta	$m_o$	$k_{GAB}$	C	$R^2$
Manzana	11,31 ± 1	0,99 ± 0,03	26,87 ± 7	0,9985
Melón	14,94 ± 1,1	0,99 ± 0,01	21,85 ± 9	0,9578
Pera	15,68 ± 0,9	0,98 ± 0,02	33,4 ± 7	0,948
Frutilla	16,88 ± 0,9	0,98 ± 0,01	11,66 ± 8	0,9937

GAB 45°C

Fruta	$m_o$	$k_{GAB}$	C	$R^2$
Manzana	8,049 ± 0,8	1,089 ± 0,03	5,99 ± 1	0,9932
Melón	8,97 ± 0,7	1,087 ± 0,02	4,53 ± 0,5	0,9922
Pera	8,66 ± 1	1,109 ± 0,05	5,8 ± 0,5	0,9964
Frutilla	8,57 ± 0,9	1,093 ± 0,02	5,38 ± 0,6	0,9933

**Anexo 2.** Parámetros de ajuste de la ecuación GDW para las isotermas de sorción de agua a 10 y 45 °C. Se informa el promedio y el desvío estándar (n=2).

GDW 10°C

Fruta	$M_e$	$K_{GDW}$	$k_{GDW}$	w	$R^2$
Manzana	20,45 ± 1,5	5,6 ± 0,5	0,97 ± 0,01	0,63 ± 0,06	0,999
Melón	24,24 ± 1,1	5,15 ± 0,4	0,95 ± 0,01	0,82 ± 0,05	0,9905
Pera	28,26 ± 1,2	5,16 ± 0,4	1,007 ± 0,02	0,50 ± 0,05	0,9963
Frutilla	29,32 ± 1,2	4,89 ± 0,5	1,03 ± 0,01	0,47 ± 0,02	0,9935

## GDW 45°C

Fruta	$M_e$	$K_{GDW}$	$k_{GDW}$	w	$R^2$
Manzana	$11,65 \pm 1$	$3,92 \pm 0,09$	$1,02 \pm 0,01$	$1,15 \pm 0,08$	0,9908
Melón	$10,68 \pm 0,9$	$5,34 \pm 0,1$	$1,08 \pm 0,02$	$0,84 \pm 0,07$	0,9916
Pera	$11,88 \pm 1$	$4,24 \pm 0,1$	$1,08 \pm 0,03$	$0,98 \pm 0,07$	0,9925
Frutilla	$11,54 \pm 1$	$5,21 \pm 0,2$	$1,11 \pm 0,03$	$0,85 \pm 0,05$	0,9889