

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

---

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

**PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS  
EN BIOPROCESOS**

**EFFECTO DE LA MALTODEXTRINA SOBRE  
LOS DIAGRAMAS DE ESTADO DE SISTEMAS MODELO  
Y NATURALES RICOS EN CARBOHIDRATOS**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS**

PRESENTA:

**I.A. PEDRO GARCÍA CORONADO**

DIRECTOR DE TESIS  
**DR. MIGUEL ÁNGEL RUIZ CABRERA**

**Proyecto realizado en:**

Laboratorio de Ingeniería en Alimentos-CIEP de la Facultad de Ciencias Químicas y en el laboratorio de Agroprocesos del instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San Luis Potosí, México.

**Con el financiamiento de:**

El fondo sectorial de investigación para la educación del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología-SEP con el proyecto I1200/169/2019 general A1-S-32348, y el Fondo de Apoyo a la Investigación con el proyecto C18-FAI-05-64.64.

El fondo mixto Gobierno del estado de San Luis Potosí - Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) SLP-2002-C01-3790. Beca-Tesis del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología: 862541

El programa de Maestría en Ciencias en Bioprocesos de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACyT, registro 000588, en el Nivel Consolidado. Número de registro de la beca otorgada por CONACyT: 862541

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS .....	i
ÍNDICE DE FIGURAS .....	ii
Resumen .....	1
Abstract .....	2
1. Introducción .....	3
2. Marco teórico .....	6
2.1 Diagrama de estado .....	6
2.2 Diagrama de estado simplificado .....	7
2.3 Diagrama de estado complementado .....	9
2.4 Componentes del diagrama de estado complementado .....	11
2.4.1 Curva de transición vítrea $T_g$ .....	11
2.4.2 Curva de punto de congelación/fusión $T_m$ .....	14
2.4.3 Punto final de la congelación/Inicio de la fusión $T_m'$ .....	15
2.4.4 Transición vítrea de la matriz máximamente crio-concentrada $T_g'$ .....	15
2.4.5 Facción de agua no-congelable $X_w'$ .....	16
2.5 Modelación matemática de la curva de transición vítrea .....	17
2.6 Modelación matemática de la curva de punto de congelación .....	18
2.7 Uso de los diagramas de estado en procesamiento y conservación de alimentos .....	19
2.7.1 Procesos que involucran la disminución de la temperatura .....	20
2.7.2 Procesos que involucran la reducción de la humedad .....	22
2.7.3 Procesos que combinan la disminución en la temperatura y reducción de la humedad .....	25
2.8 Diagramas de estado en sistema reales ricos en azúcares .....	26
3. Justificación .....	29
3.1 Justificación del presente estudio .....	29
3.2 Hipótesis .....	29
4. Objetivo .....	30
4.1 Objetivo general .....	30
4.2 Objetivos específicos .....	30
5. Metodología .....	31
5.1 Formulación y preparación de sistemas modelo anhidros .....	31

5.2. Extracción, caracterización y formulación de jugos de fruta en polvo .....	31
5.2.1 Elaboración de jugos de fruta en polvo por liofilización .....	32
5.2.2 Caracterización y cuantificación de azúcares, ácido cítrico y pectina....	33
5.3 Acondicionamiento de muestras a distintos contenidos de humedad .....	34
5.4 Análisis por calorimetría diferencial de barrido .....	35
5.4.1 Protocolo convencional lineal .....	35
5.4.2 Procedimiento de annealing .....	36
5.4.3 Protocolo melt-quenching .....	36
5.4.4 Determinación de parámetros térmicos .....	37
5.6 Análisis estadístico de los datos .....	38
6. Resultados y discusión.....	39
6.1 Determinación de transiciones térmicas en sistemas modelo.....	39
6.2 Efecto del contenido de agua en las transiciones térmicas.....	43
6.3 Efecto del contenido de maltodextrina en las transiciones térmicas .....	45
6.4 Parámetros de diagrama de estado para sistemas modelo .....	49
6.5 Efecto de la maltodextrina en los diagramas de estado de los sistemas modelo .....	51
6.6 Análisis de varianza y desarrollo de modelos matemáticos .....	57
6.7 Composición de la fracción sólida de jugos de frutas .....	59
6.8 Perspectivas del presente estudio. ....	62
7. Conclusiones.....	63
8. Referencias bibliográficas .....	65

## ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla</i>	<i>Descripción</i>	<i>Página</i>
5.1	Diseño experimental D-optimal para mezclas de 6 componentes	32
6.1	Parámetros de diagrama de estado estimados para los sistemas modelo	50
6.2	Parámetros de diagrama de estado para sistemas reales en la literatura	51
6.3	Modelos matemáticos para la predicción de parámetros de estado en función del contenido de sólidos y análisis de varianza (ANOVA) con $p < 0.05$	58
6.4	Composición de la fracción sólida de los jugos de fruta expresada en términos de fracción másica	59

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura</i>	<i>Descripción</i>	<i>Página</i>
2.1	Diagrama de estado simplificado obtenido para fresa liofilizada en polvo. Las líneas punteadas representan el inicio, el punto medio y el final de la transición vítrea (Mosquera et al., 2012).	8
2.2	Diagrama de estado complementado correspondiente a un sistema alimentario modelo a base de azúcares (0.283F, 0.283G, 0.283S, 0.075P, 0.075A). Las líneas continuas representan los modelos predichos para cada parámetro, mientras que los puntos de colores representan las mediciones experimentales.	10
2.3	Diagrama de estado complementado correspondiente a jugo de tuna, donde se ilustran las temperaturas de almacenamiento congelado comercial (-18 °C) e ideal ( $T_g'$ ) (Grajales-Lagunes et al., 2018).	21
2.4	Diagrama de estado complementado correspondiente a jugo de tuna, donde se ilustra el proceso de secado por aspersion (Grajales-Lagunes et al., 2018).	24
2.5	Diagrama de estado complementado correspondiente a jugo de tuna, donde se ilustra el proceso de liofilización (Grajales-Lagunes et al., 2018).	25

6.1	Termograma típico obtenido experimentalmente para la determinación de $T_g'$ , $T_m'$ y $T_m$ en el sistema modelo 16 (0.327F, 0.327G, 0.077S, 0.035P, 0.035A, 0.198M) acondicionado a 80% de humedad (base húmeda). En el recuadro se resalta una sección del calentamiento para una mejor visualización de $T_g'$ y $T_m'$ .	39
6.2	Termograma típico obtenido experimentalmente para la determinación de $T_g'$ , $T_m'$ y $T_m$ en el sistema modelo 22 (0.077F, 0.077G, 0.577S, 0.035P, 0.035A, 0.198M) acondicionado a 40% de humedad (base húmeda), donde se muestra el proceso de annealing a $T_m'-1$ .	41
6.3	Termograma típico obtenido experimentalmente para la determinación de $T_g$ en el sistema modelo 17 (0.327F, 0.077G, 0.327S, 0.035P, 0.035A, 0.198M) con 2.3% de humedad (base húmeda).	42
6.4	a) Sección del calentamiento en termogramas obtenidos a distintas humedades en el rango de agua congelable para el sistema modelo 6 (0.45F, 0.15P, 0.4M). En el recuadro se resalta la visualización de $T_g'$ . b) Recalentamiento a distintos contenidos de humedad en termogramas obtenidos en el rango de agua no-congelable para el sistema modelo 8 (0.45S, 0.15P, 0.4M).	44
6.5	a) Sección del calentamiento en termogramas de los sistemas modelo 4, 19, 6, 22, 5 acondicionados a 60% de humedad. b) Acercamiento a la sección del calentamiento en termogramas de los sistemas modelo	46

4, 19, 6, 22, 5 acondicionados a 60% de humedad para la mejor visualización de  $T_g'$  y  $T_m'$ .

6.6	Recalentamiento en los termogramas de los sistemas modelo 12, 7,16, 19, 24 obtenidos experimentalmente para muestras anhidras.	48
6.7	Comparativo entre diagramas de estado de sistemas modelo con maltodextrina y sin maltodextrina. a) Exp 5 vs Exp 8. b) Exp 4 vs Exp 14.	52
6.8	Efecto del tipo de azúcar en diagramas de estado de sistemas modelo con la misma cantidad de maltodextrina. Comparativo entre los experimentos 6, 7 y 8.	55
6.9	Efecto de cantidades moderadas de maltodextrina en diagramas de estado de sistemas modelo ricos en azúcares. Comparativo entre los experimentos 13 y 20.	56
6.10	Cromatogramas de jugos de frutas obtenidos mediante HPLC donde se muestra la separación de los azúcares y ácido cítrico para su cuantificación: S (sacarosa), A (ácido cítrico), G (glucosa), F (fructosa), D (Desconocido).	60 - 61

## Resumen

Teniendo en cuenta la variedad de productos existentes derivados de las frutas, así como los métodos de procesamiento y conservación que se tienen en la actualidad, se ha establecido la importancia del diagrama de estado para seleccionar y optimizar las condiciones más adecuadas de procesamiento y almacenamiento. Parámetros como  $T_g'$ ,  $T_m'$  y  $T_g$  han sido evidenciados en la literatura como referentes de estabilidad en productos con alto y bajo contenido de humedad, sin embargo, se ha encontrado que los productos ricos en azúcares como las frutas poseen valores para estos parámetros muy por debajo de las temperaturas de almacenamiento y procesamiento, lo que dificulta la obtención de productos estables, así como la optimización de los procesos. En diversos estudios se ha evidenciado el efecto que tiene la adición de sustancias de alto peso molecular como la maltodextrina para la elevación de estos parámetros, no obstante, los estudios sobre el impacto de la adición de solutos de alto peso molecular en la construcción de diagramas de estado relativos a frutas y sus derivados son muy escasos. Por ello, en este trabajo se investigó el efecto de la adición de maltodextrina en las transiciones de fase/estado y datos térmicos involucrados en la construcción de diagramas de estados de sistemas modelo ricos en carbohidratos. Para ello, se establecieron las proporciones de sólidos de 25 sistemas modelo a partir de un diseño D-optimal para mezclas de 6 componentes. Posteriormente los sistemas modelo fueron acondicionados a distintos niveles de humedad y, sus transiciones de fase ( $T_m$ ) y estado ( $T_g'$ ,  $T_m'$ ,  $T_g$ ) fueron determinadas por calorimetría diferencial de barrido. Las curvas de  $T_m$  y  $T_g$  fueron adecuadamente ajustadas a los modelos de Chen y Gordon-Taylor respectivamente. Los resultados mostraron que los diagramas de estado fueron afectados significativamente ( $p < 0.05$ ) por la composición química de los sistemas modelo, además se observó que la maltodextrina genera un claro aumento en el valor de los parámetros  $T_g'$ ,  $T_m'$  y  $T_g$ , con lo cual los valores de estos parámetros están más cercanos a los rangos de temperatura utilizados en procesos de congelación y deshidratación. Además, se obtuvieron modelos matemáticos que permiten estimar el valor de los parámetros de estado en función de la composición sólida de las frutas, por lo que es posible construir su diagrama de estado y predecir el efecto que tendrá la adición de maltodextrina sobre una amplia gama de productos derivados de las frutas.

## Abstract

Considering the variety of products derived from fruits, as well as the processing and conservation methods that are currently available, the importance of the state diagram has been established to select and optimize the most appropriate processing and storage conditions. Parameters such as  $T_g'$ ,  $T_m'$  and  $T_g$  have been evidenced in the literature as stability referents in products with high and low moisture content, however, it has been found that products rich in sugars such as fruits have values for these parameters below the temperatures of storage and processing, which makes difficult to obtain stable products, as well as the optimization of processes. Several studies have shown the effect of the addition of high molecular weight substances (such as maltodextrin) on the elevation of these parameters, however, studies on the impact of the addition of high molecular weight solutes in construction of state diagrams relating to fruits and their derivatives are very scarce. Therefore, in this work it's investigated the effect of the addition of maltodextrin on the phase / state transitions and thermal data involved in the construction of state diagrams of sugar-rich model systems. For this, the proportions of solids of 25 model systems were established from a D-optimal design for mixtures of 6 components. Next, the model systems were conditioned at different moisture contents and their phase ( $T_m$ ) and state transitions ( $T_g'$ ,  $T_m'$ ,  $T_g$ ) were determined by differential scanning calorimetry, and from these the  $T_m$  and  $T_g$  curves were suitably adjusted to Chen and Gordon-Taylor models respectively. The results showed that the state diagrams were significantly affected ( $p < 0.05$ ) by the chemical composition of the model systems, furthermore, it was observed that maltodextrin generates an evident increase in the values of the parameters  $T_g'$ ,  $T_m'$  and  $T_g$ , with which, the values of these parameters are closer to the temperature ranges used in freezing and dehydration processes. In addition, mathematical models were obtained that allow estimating the value of the state parameters based on the solid composition of the fruits, so it is possible to build their state diagram and predict the effect that the addition of maltodextrin will have on a wide range of fruit derived products.

## 1. Introducción

Un diagrama de estado es una representación gráfica de distintos estados físicos y transiciones de fase/estado que ocurren en un material en función del contenido de sólidos y la temperatura (Rahman, 2007, 2010; Sablani et al., 2010). El diagrama de estado generalmente incluye la curva de congelación en función del contenido de sólidos ( $T_m$  vs  $X_s$ ), la curva de transición vítrea en función del contenido de sólidos ( $T_g$  vs  $X_s$ ) y la condición de máxima crio-concentración, usualmente definida por el inicio de la temperatura de fusión del hielo ( $T_m'$ ), la temperatura de transición vítrea en la condición de máxima formación de hielo ( $T_g'$ ) y el valor del contenido de sólidos en estado de máxima crio-concentración ( $X_s'$ ) (Buera et al., 2011; Rahman, 2007, 2010; Sablani et al., 2010). De esta manera, la fracción de agua no-congelable de una matriz alimentaria puede ser determinada a partir de un diagrama de estado como  $X_w' = 1 - X_s'$  (Zhao et al., 2015). Además, el diagrama de estado se ha utilizado para monitorear el progreso y desarrollo de diversos procesos como el secado, la congelación, la concentración y el almacenamiento de alimentos frescos, congelados, de humedad intermedia o de baja humedad (Buera et al., 2011; Rahman, 2007, 2010; Sablani et al., 2010).

En el caso particular de las frutas, las operaciones unitarias como la congelación, el almacenamiento congelado, la liofilización, la crio-concentración y la deshidratación, son los métodos más comunes para procesar y preservar la textura, el color y los componentes nutricionales de una gran variedad de productos derivados de las frutas, como frutas frescas en trozos, jugos, jaleas, frutos secos, polvos, etc. (Artés and Allende, 2005; Celli et al., 2016; Sagar and Suresh, 2010; Soliva-Fortuny and Martín-Belloso, 2003). En este sentido, la curva de congelación y las temperaturas  $T_g'$  y  $T_m'$  de los productos derivados de las frutas son necesarias para evitar cambios químicos y estructurales durante el almacenamiento congelado de frutas frescas y frutas troceadas, así como para evitar la contracción o el colapso de productos durante la liofilización (Aschenbrenner et al., 2011; Celli et al., 2016; Flores-Ramírez et al., 2019; Liu, 2006; Patel et al., 2017; Silva et al., 2008(a); Singh and Ross, 2006),

ya que es sabido que la máxima formación de hielo ocurre cuando un alimento es almacenado entre  $T_g'$  y  $T_m'$  (Syamaladevi et al., 2012). De manera general se considera que es necesaria la formación de una matriz vítrea durante el almacenamiento congelado para evitar el movimiento molecular y la posterior recristalización del agua en hielo, así como las reacciones químicas asociadas a la difusión molecular del agua. También en la liofilización es deseable la formación de una matriz vítrea, ya que puede ocurrir un colapso durante el secado primario si la temperatura del producto supera la temperatura de colapso, que normalmente está unos pocos grados por encima de  $T_g'$  (Aschenbrenner et al., 2011; Flores-Ramírez et al., 2019; Patel et al., 2017; Singh and Ross, 2006).

Por otro lado, se ha evidenciado en la literatura la importancia de la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) en el rango de sólidos comprendido entre  $X_s'$  y 1 (sólidos anhidros) para procesos de secado y almacenamiento de productos alimenticios con baja humedad (Bhandari et al., 1997; Bhandari and Howes, 1999; Kasapis, 2006; Mosquera et al., 2012; Normand et al., 2013; Yousefi et al., 2011). Se asume que valores de  $T_g$  por encima del contenido de sólidos del estado de máxima crioconcentración ( $X_s'$ ) tienen un efecto significativo sobre varias transformaciones estructurales dependientes del tiempo como la adherencia y fenómenos de deposición que ocurren en la superficie del secador durante el secado por aspersion, o fenómenos como el apelmazamiento y cristalización que pueden ocurrir durante el almacenamiento de frutas en polvo (Bhandari et al., 1997; Bhandari and Howes, 1999).

Así entonces, para predecir las condiciones más adecuadas de procesamiento y almacenamiento, los diagramas de estado de componentes puros, sistemas modelo y sistemas reales (frutas y sus derivados) propuestos en la literatura pueden ser utilizados (Al-Farsi et al., 2018; Bai et al., 2001; Fabra et al., 2009; Grajales-Lagunes et al., 2018; Rahman, 2004; Ruiz-Cabrera et al., 2016; Syamaladevi et al., 2009; Telis and Sobral, 2001; Vasquez et al., 2013; Zhao et al., 2015). Sin embargo, en la literatura mencionada anteriormente se encontró que los productos de fruta presentaron valores bajos de  $T_g'$ ,  $T_m'$  y de transición vítrea de sólidos anhidros ( $T_{gs}$ ) que varían de -59 a -43 ° C, de -50 a 31 ° C, y de 12 a 75 ° C respectivamente. Lo

que provoca que en ocasiones no sea posible diseñar procesos de secado y procedimientos de almacenamiento congelado que sean adecuados, eficientes y económicos para productos ricos en azúcares, como las frutas (Flores-Ramírez et al., 2019; Sablani et al., 2010).

El método de adición de moléculas de alto peso molecular como maltodextrinas, goma arábiga, etc. para manipular el estado físico y deliberadamente elevar los valores de  $T_g'$ ,  $T_m'$  y  $T_g$  de los alimentos se ha utilizado ampliamente en los procesos de almacenamiento congelado y secado por aspersion (Bhusari et al., 2014; Cano-Chauca et al., 2005; Ferrari et al., 2012; Flores-Ramírez et al., 2019; Harnkarnsujarit et al., 2014; Mishra et al., 2014; Mosquera et al., 2012; Murali et al., 2014; Roos and Karel, 1991; Silva et al., 2008(b); Tanushree et al., 2018; Tonon et al., 2008; Tonon et al., 2009; Yousefi et al., 2010). Sin embargo, los estudios acerca del efecto de la adición de carbohidratos de alto peso molecular en la construcción de diagramas de estado relativos a frutas y sus derivados son escasos, y solo se encontraron tres en la literatura, correspondientes a camu-camu (Silva et al., 2006), jujube (Chen et al., 2017) y pulpa de noni (Fabra et al., 2011).

Por lo tanto, en el presente trabajo se investiga el efecto de la adición de maltodextrina en las transiciones de fase/estado y los datos termo-físicos asociados involucrados en la construcción de diagramas de estados de sistemas alimentarios modelo ricos en azúcares.

## 2. Marco teórico

### 2.1 Diagrama de estado

Un diagrama de estado consiste, de manera general, en una representación gráfica de ciertos parámetros térmicos en función del contenido de humedad de un material. Estos diagramas surgieron con la necesidad de predecir el comportamiento de un sistema alimentario cuando ciertos factores como la humedad y la temperatura son modificados, y de esta manera establecer condiciones que permitan una mejor conservación del mismo. Cuando hablamos de la estabilidad de un alimento, típicamente se consideraba a la actividad de agua como un parámetro más importante que la cantidad de agua total en este, ya que un alimento es más estable a su contenido de humedad de monocapa, lo que varía según la composición química y estructura de la matriz (Rahman, 2006). Sin embargo, en la actualidad se han establecido ciertas limitaciones para la actividad de agua, entre las cuales se incluyen las siguientes: (1)  $a_w$  se define en el equilibrio, mientras que los alimentos pueden no estar en estado de equilibrio, (2) los límites críticos de la actividad de agua pueden cambiar a niveles más altos o más bajos por otros factores como pH, presencia de sales, agentes antimicrobianos, tratamientos térmicos y temperatura, (3) la naturaleza del soluto presente también juega un papel importante, (4) además no indica el estado del agua presente y cómo interacciona con el sustrato (Rahman, 2006). Teniendo en cuenta estas limitaciones, se ha propuesto la utilización del concepto de transición vítrea, por lo que actualmente el estudio de la relación entre la temperatura de transición vítrea y fracción másica del agua ( $x_w$ ), fracción másica del sólido ( $X_s$ ) o actividad de agua ( $a_w$ ), ha recibido un interés considerable para la construcción de diagramas de estado simplificados o diagramas de estado complementados de diversos alimentos, incluyendo alimentos ricos en azúcares como frutas frescas, frutas deshidratadas, o frutas en polvo liofilizadas (Al-Farsi et al., 2018; Bai et al., 2001; Fabra et al., 2009; Grajales-Lagunes et al., 2018; Rahman, 2004; Syamaladevi et al., 2009; Telis and Sobral, 2001; Vasquez et al., 2013; Zhao et al., 2015; Moraga et al., 2004; Moraga et al., 2006; Moraga et al., 2011; Goula et al., 2008; Fabra et al., 2009; Tonon et al., 2009; Mosquera et al., 2011; Mosquera et al., 2012). La ventaja principal del uso de estos diagramas se encuentra en la

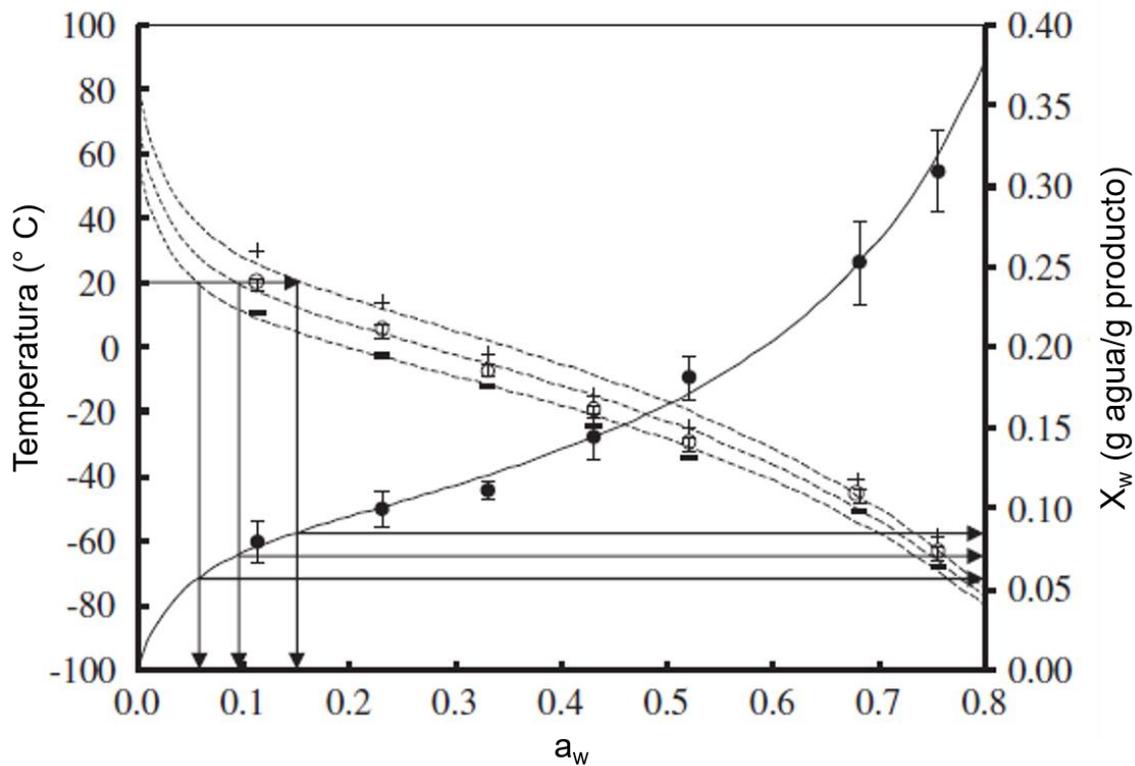
identificación de distintos estados de un alimento, como el punto de congelación y la transición vítrea, siendo de gran ayuda en el entendimiento de cambios complejos cuando se modifica la cantidad de agua o la temperatura del alimento (Rahman, 2006; Jaya & Das, 2009; Rahman, 2010; Roos, 2010; Sablani *et al.*, 2010; Buera *et al.*, 2011). También es posible visualizar la estabilidad de un alimento durante el almacenamiento, así como seleccionar las condiciones más adecuadas de temperatura y humedad para el procesamiento (Rahman, 2006; 2010; Sablani *et al.*, 2010).

Es importante mencionar que, según lo reportado en la literatura, los diagramas de estado pueden ser de dos tipos: simplificados y complementados. Los primeros consisten en la representación gráfica de  $T_g$  vs  $a_w$  vs  $X_w$ , y son aplicables solamente para alimentos de humedad intermedia o humedad reducida. En cambio, los diagramas de estados complementados tienen aplicabilidad en el rango completo de humedad.

## **2.2 Diagrama de estado simplificado**

Los conceptos de actividad de agua ( $a_w$ ) y transición vítrea ( $T_g$ ) han sido acoplados en lo que se conoce como diagrama de estado simplificado, con la finalidad de entender y explicar cambios indeseables que pueden ocurrir durante el procesamiento, almacenamiento y distribución de alimentos con humedad reducida o moderada. Mediante las isotermas de sorción se han logrado establecer tres zonas de agua según el tipo de interacción entre esta y los demás componentes en una matriz alimentaria, siendo las zonas de agua de monocapa, agua multicapa y agua libre. Lo anterior, ha permitido entender el concepto de actividad de agua, que ha sido ampliamente utilizado para predecir el crecimiento microbiano, oxidación lipídica, actividad enzimática y no enzimática, así como variación en la textura de algunos alimentos a diferentes valores de  $a_w$  (Rahman, 2006). En la Figura 2.1 se observa un diagrama de estado simplificado obtenido para fresa en polvo (Mosquera *et al.*, 2012), en el cual la curva de  $T_g$  aparece dividida en tres líneas punteadas que representan el inicio, el punto medio y el final de la transición. Cuando la curva de transición vítrea es expresada en función de la actividad de agua, pueden predecirse

cambios físicos indeseables como el colapso, recristalización, pegajosidad y apelmazamiento que, comúnmente están delimitados por el valor de  $T_g$  y son inducidos por cambios en la temperatura o humedad del alimento. En este caso, el diagrama de la Figura 2.1 permite predecir las variables críticas en las que se produce la transición vítrea del producto a una temperatura de almacenamiento determinada. A una temperatura ambiente de  $20^\circ\text{C}$  y considerando el punto medio de  $T_g$ , la actividad de agua crítica para la transición vítrea de la fresa en polvo fue de 0.094 y, por lo tanto, la humedad relativa atmosférica máxima que garantizaría el estado vítreo del producto durante todo el periodo de almacenamiento, es del 9.4%, a la cual corresponde un contenido de agua crítico de 7.5 g de agua / 100 g de producto.



**Figura 2.1** Diagrama de estado simplificado obtenido para fresa liofilizada en polvo. Las líneas punteadas representan el inicio, el punto medio y el final de la transición vítrea (Mosquera et al., 2012).

En el caso de los productos en polvo, el desarrollo de pegajosidad podría ocurrir alrededor y por encima de esos valores críticos (Mosquera et al., 2012).

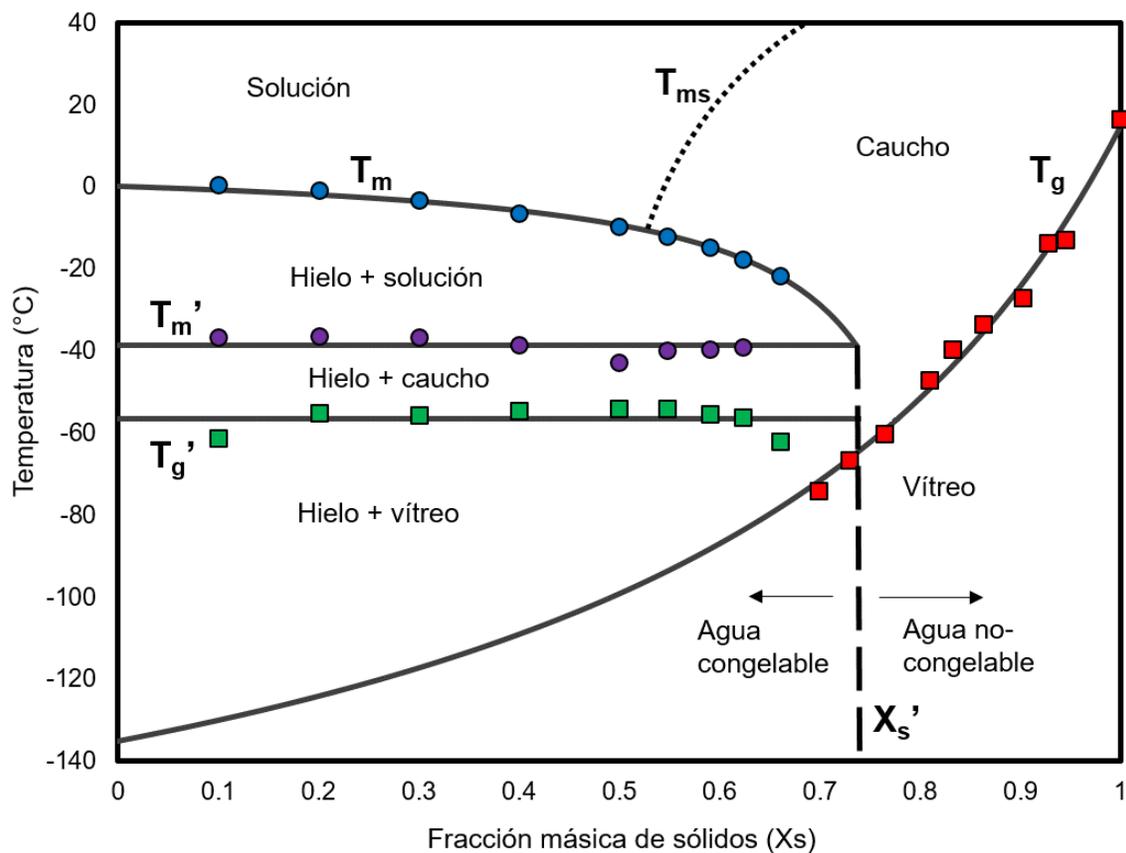
En este contexto, la combinación entre una curva  $T_g$  y una isoterma de sorción han sido reportados para una gran gama de frutas deshidratadas o frutas en polvo, destacando productos como fresa, kiwi, uva, tomate, banana, mango, piña, manzana, caqui, borojón, etc. (Sá & Sereno, 1994; Welte-Chanes *et al.*, 1999; Kalloufi *et al.*, 2000; Moraga *et al.*, 2004; Moraga *et al.*, 2006; Moraga *et al.*, 2011; Goula *et al.*, 2008; Jaya & Das, 2009; Fabra *et al.*, 2009; Tonon *et al.*, 2009; Mosquera *et al.*, 2011; Mosquera et al., 2012). A pesar de ello, este tipo de diagramas tiene un uso limitado, ya que no predicen los estados físicos ni propiedades térmicas en productos con elevado contenido de humedad, por ejemplo, las transiciones térmicas asociadas al proceso de congelación. Es en este punto donde surge la necesidad de la implementación de diagramas de estado complementados.

### **2.3 Diagrama de estado complementado**

Un diagrama de estado complementado es un mapa de los diferentes estados de una matriz alimentaria en función de ciertos parámetros térmicos a lo largo del rango completo de humedad (0 – 100%), por lo que puede emplearse para el desarrollo y optimización de procesos relativos a productos con cualquier contenido de humedad. En este diagrama se incluye la curva de transición vítrea ( $T_g$  vs  $X_s$ ) donde se observa el efecto plastificante del agua sobre la temperatura de transición vítrea, la curva de fusión de hielo ( $T_m$  vs  $X_s$ ) que describe la depresión del punto de congelación con el incremento de sólidos, además de los parámetros asociados a la máxima formación de hielo:  $T_g'$  (transición vítrea de la matriz máximamente crio-concentrada),  $T_m'$  (Punto final de la congelación) y  $X_s'$  (contenido de sólidos en el estado de máxima crio-concentración); usualmente se considera que este último divide el diagrama en dos regiones características, la región de agua congelable y la de agua no-congelable. Para ejemplificar un diagrama de estado complementado, en la Figura 2.2 se presenta el diagrama correspondiente a un sistema alimentario modelo a base de carbohidratos, donde se aprecia que los parámetros  $T_g'$  y  $T_m'$  están representados por líneas que se mantienen constantes

a lo largo del rango de humedad congelable, ya que típicamente se suele considerar que estos son independientes del contenido de agua dentro de esa región (Orlien et al., 2003; Roos, 2010; Slade & Levine, 1989; 1991).

A diferencia de un diagrama de estado simplificado, en el diagrama complementado también se pueden predecir estados físicos y seleccionar condiciones de procesamiento y almacenamiento relativos a procedimientos de congelación, almacenamiento congelado y liofilización, correspondientes a productos con alto contenido de agua.



**Figura 2.2** Diagrama de estado complementado correspondiente a un sistema alimentario modelo a base de azúcares (0.283F, 0.283G, 0.283S, 0.075P, 0.075A). Las líneas continuas representan los modelos predichos para cada parámetro, mientras que los puntos de colores representan las mediciones experimentales.

Existen abundantes estudios acerca de la construcción y análisis de diagramas de estado complementados para una gran variedad de matrices alimentarias,

incluyendo componentes puros, sistemas modelo (Grajales-Lagunes et al., 2018; Ruiz-Cabrera et al., 2016) y matrices reales, como son las frutas y sus derivados (Al-Farsi et al., 2018; Bai et al., 2001; Fabra et al., 2009; Grajales-Lagunes et al., 2018; Rahman, 2004; Syamaladevi et al., 2009; Telis and Sobral, 2001; Vasquez et al., 2013; Zhao et al., 2015).

## **2.4 Componentes del diagrama de estado complementado**

Los primeros diagramas de estado complementados fueron construidos considerando únicamente la curva del punto de congelación ( $T_m$ ) y la curva de transición vítrea ( $T_g$ ), ahora bien, en la actualidad los diagramas de estado exhiben otras regiones que permiten identificar distintos estados físicos de los alimentos (Figura 2.2). A continuación, se presenta una descripción detallada de los componentes de un diagrama de estado complementado, así como los cambios de estado y de fase que estos delimitan.

### **2.4.1 Curva de transición vítrea $T_g$**

La curva  $T_g$  en un diagrama de estado, es una representación gráfica de la temperatura de transición vítrea en función de la fracción másica sólida o del contenido de humedad, la cual principalmente delimita los dos posibles estados físicos que puede presentar un material amorfo (bajo contenido de humedad), ya que por encima de su  $T_g$  se encontrará en estado caucho y por debajo de  $T_g$  en estado vítreo, de manera que es posible predecir el cambio de un estado a otro cuando existen variaciones en la temperatura o humedad del material (Figura 2.2). Por otro lado, la curva  $T_g$  adquiere valores muy bajos cuando una matriz tiene un elevado contenido de agua, representando la vitrificación de una solución por efecto de una disminución instantánea de la temperatura por debajo de la temperatura de transición vítrea del agua pura ( $T_{gw} = -135 \text{ °C}$ ). Este valor corresponde a la intersección de la curva  $T_g$  cuando no hay presencia de sólidos ( $X_s = 0$ ), mientras que la intersección cuando el contenido de agua es nulo ( $X_s = 1$ ) corresponde al parámetro de transición vítrea de sólidos anhidros ( $T_{gs}$ ), el cual es variable según el

tipo de material. Esta curva depende, en gran medida, de la composición química, del contenido de agua, del peso molecular y grado de polimerización de los componentes de una matriz determinada, puesto que  $T_g$  aumenta a medida que aumentan los pesos moleculares, tamaño, rigidez y enlaces cruzados de las moléculas, y disminuye a medida que aumenta la flexibilidad de una cadena de biopolímeros. Sin embargo, en un diagrama de estado complementado, la disminución de  $T_g$  expresa solamente el efecto plastificante del agua, que se debe principalmente al valor extremadamente bajo de  $T_g$  del agua pura ( $-135\text{ °C}$ ), lo que genera una drástica disminución del valor de  $T_g$  a medida que aumenta la concentración de agua en el sistema.

#### **2.4.1.1 Estado amorfo**

El estado amorfo de un material se refiere a su estructura molecular aleatoria y desordenada, es decir, no se puede definir una posición exacta para ninguna de las moléculas constituyentes en un momento dado. El estado amorfo incluye los estados gaseoso y líquido de los materiales, mientras que el estado cristalino es altamente organizado. Durante el enfriamiento de un líquido muy por debajo de su temperatura de fusión sin cristalización se retiene el desorden molecular, y puede permitir la congelación de las moléculas en posiciones aleatorias y la formación de un vidrio no cristalino de tipo sólido pero desordenado (Roos, 2010).

La transformación sólido-líquido del material amorfo se conoce como transición vítrea. Muy por debajo de la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), las moléculas se congelan en sus posiciones y sus movimientos son muy limitados, lo que da como resultado que el material amorfo se vitrifique en una estructura transparente y frágil que adquiere características similares a las de los sólidos, conocida como estado vítreo. Este material se caracteriza por poseer una viscosidad extremadamente elevada, del orden de  $10^{14}$  Pa.s, por lo que podría fluir alrededor de  $30\text{ }\mu\text{m}$  en un siglo, o a una velocidad de  $10^{-14}$  m/s comparado contra una velocidad de  $10\text{ m/s}$  a la que fluye un fluido típico newtoniano a condiciones ambientales ( $25\text{ °C}$  a  $1\text{ atm}$ ) (Rahman, 2010). Por ello suele denominarse como sólido vítreo, y debido a su viscosidad tan alta presenta una movilidad molecular muy reducida y fenómenos de

difusión limitados (Rhaman, 2010; Ribeiro *et al.*, 2003; Santivarangkna *et al.*, 2011), ya que sus movimientos moleculares están restringidos a vibraciones y movimientos rotacionales de corto alcance (Liu *et al.*, 2006), por ello los cambios que ocurren en el estado vítreo son extremadamente lentos y usualmente son referidos como envejecimiento físico. En principio, todos los fluidos o materiales fundidos pueden ser convertidos en una matriz amorfa en estado vítreo, esto si la velocidad de enfriamiento es lo suficientemente rápida y el material no cristaliza durante el enfriamiento (Sablani *et al.*, 2010; Rahman, 2010).

Cuando un material en estado vítreo se calienta por encima de la temperatura de transición vítrea, las moléculas adquieren movilidad de traslación y entran en el estado de líquido subenfriado, el cual presenta un flujo viscoso. Tanto el estado de líquido amorfo subenfriado (gomoso, caucho) como el estado vítreo son estados de equilibrio no termodinámico o meta-estables, donde sus propiedades son dependientes del tiempo (Roos, 2010).

Estas propiedades y las diferencias significativas de los estados sólidos y líquidos de los materiales amorfos hacen que la transición vítrea sea la transición de estado más importante responsable del procesamiento, la estabilidad y las características de calidad de las matrices alimentarias.

#### **2.4.1.2 Transición vítrea**

La transición vítrea, es una transición de estado entre el estado vítreo y caucho (o viceversa), experimentada por un material debido a un cambio de humedad o temperatura (Rhaman, 2010; Sablani *et al.*, 2010). La temperatura a la que el sistema experimenta la transición se le conoce como temperatura de transición vítrea o  $T_g$ , la cual ocurre aproximadamente a 100 - 150 ° C por debajo de la temperatura de fusión de una sustancia pura (Ross, 2010).

Sin embargo, debido a la naturaleza meta-estable del sistema amorfo y puesto que el proceso de vitrificación o desvitrificación puede ocurrir en un intervalo amplio de temperaturas, a la transición vítrea se le conoce como una transición de estado, y no una transición de fase (Liu *et al.*, 2006; Kasapis, 2006; Rahman, 2010). La transición es dependiente de la temperatura y el tiempo con una naturaleza de

segundo orden, que se caracteriza por una discontinuidad en las propiedades físicas, mecánicas, eléctricas, térmicas, etc. de un material. (Rahman, 2006).

La transición vítrea no muestra calor latente, y no se puede definir la temperatura donde los estados vítreo y caucho podrían coexistir. Tanto el estado de sólido vítreo como el estado caucho, separados por la transición vítrea, son estados de no equilibrio, lo que sugiere que las propiedades de los materiales amorfos pueden variar con el tiempo y no se puede obtener un vidrio estable (Roos, 2010).

La transición vítrea es una de las características fisicoquímicas más importantes de los sólidos amorfos no cristalinos, y en el caso de matrices alimentarias regula muchas de sus características funcionales además de la plastificación.

#### **2.4.2 Curva de punto de congelación/fusión $T_m$**

La curva  $T_m$  es generalmente descrita como la curva de punto de congelación en función de la fracción másica sólida. Como se visualiza en la Figura 2.2, el punto de congelación del agua pura ( $X_s = 0$ ) a presión estándar (1 atm) es de 0 °C, y a partir de ahí comienza a disminuir conforme aumenta la cantidad de sólidos, de acuerdo con las propiedades coligativas de las soluciones ( $T_m$  vs  $X_s$ ). A diferencia de la temperatura de transición vítrea, el punto de congelación es un proceso de equilibrio, conforme a su definición es la temperatura a la cual la fase líquida y la fase sólida del agua en una matriz están en equilibrio a una determinada presión, donde el punto de transición de fase del estado cristalino al estado líquido (o viceversa) no se ve afectado por la velocidad de calentamiento ni enfriamiento, y por tanto es una transición característica de sistemas con un contenido de agua alto a moderado (agua-congelable). Cabe mencionar que, contrario a la transición vítrea  $T_g$ , esta transición no depende de la naturaleza de los componentes del sistema, si no de la concentración de sólidos que se encuentran disueltos en el agua de la matriz, es decir, del número de partículas de soluto presentes en la solución.

Por debajo de la temperatura  $T_m$  hay presencia de cristales de hielo en el seno de una solución, los cuales aumentarán en número y tamaño al continuar disminuyendo la temperatura, concentrando la solución. Esta región se considera de gran importancia cuando se utilizan métodos de preservación de alimentos basados en

la disminución de temperatura, ya que en ella es posible visualizar la presencia de agua sin congelar a bajas temperaturas, como la temperatura de almacenamiento congelado estándar (-18 °C), lo que significa que un alimento aún es susceptible de sufrir reacciones de deterioro asociadas a la movilidad molecular.

#### **2.4.3 Punto final de la congelación/Inicio de la fusión $T_m'$**

Por debajo de la curva  $T_m$  los cristales de hielo se multiplican y aumentan de tamaño a una velocidad cada vez menor conforme la temperatura disminuye, mientras que la fase no congelada se concentra aumentando su viscosidad hasta alcanzar un punto donde se inicia la formación de una matriz amorfa en estado caucho, entonces la formación de hielo cesa debido al alto contenido de sólidos y la elevada viscosidad en la fase no congelada. El punto en el cual sucede este fenómeno es comúnmente asociado a la condición de máxima congelación-concentración, y es denominado como el punto final de la congelación ( $T_m'$ ), también llamado punto inicial de la fusión, y corresponde a la temperatura que establece una transición de estado en la cual la formación y crecimiento de cristales de hielo se detiene. Esta temperatura generalmente se encuentra en las proximidades del punto de transición vítrea de la matriz en estado de máxima congelación-concentración.

Típicamente ha sido encontrado que  $T_m'$  no depende de la concentración de sólidos, por lo que su comportamiento es descrito en el diagrama de estado como constante a lo largo de la región de agua congelable (Grajales-Lagunes et al., 2018; Ruiz-Cabrera et al., 2016; Orlie et al., 2003; Roos, 2010).

#### **2.4.4 Transición vítrea de la matriz máximamente crio-concentrada $T_g'$**

En las proximidades de  $T_m'$ , a una temperatura por debajo de esta, la matriz amorfa no congelada en estado caucho alcanza una viscosidad tan elevada del orden de  $10^7$  Pa.s, tal que se considera que se comporta prácticamente como un sólido. En este punto la matriz no congelada se denomina como una matriz en estado vítreo, donde la movilidad molecular se ve disminuida al máximo debido a la elevada viscosidad, por lo que se considera que un alimento (con agua congelable) alcanza su máxima estabilidad en este estado. Este fenómeno, al igual que la transición

vítrea ( $T_g$ ) y el punto final de la congelación ( $T_m'$ ), es una transición de estado, y la temperatura a la cual sucede es denominada transición vítrea de la matriz máximamente crio-concentrada ( $T_g'$ ).

Al igual que el punto final de la congelación, en la literatura ha sido descrita una ligera variación sin un patrón específico en los valores de  $T_g'$  a lo largo de la región de agua congelable, por lo que se considera que este parámetro también permanece constante (Grajales-Lagunes et al., 2018; Ruiz-Cabrera et al., 2016; Orlien et al., 2003; Roos, 2010).

#### **2.4.5 Facción de agua no-congelable $X_w'$**

El parámetro  $X_w'$  representa la fracción másica de agua no congelable, que es complementario al contenido de sólidos en la condición de máxima congelación-concentración  $X_w' = 1 - X_s'$  (Zhao et al., 2015). La fracción másica de agua no congelable representa el agua que permanece sin congelar incluso a una temperatura muy baja, e incluye el agua libre sin congelar y el agua estrechamente ligada a los sólidos de la matriz (Rahman 2006).

Para la estimación de este parámetro se han propuesto diversos métodos, entre los que se pueden encontrar en la literatura están los siguientes: a) mediante la aplicación de la ecuación de Chen (4); b) utilizando la siguiente ecuación:  $X_w' = X_w - (\Delta H_m \text{ muestra} / \Delta H_m \text{ agua})$ , donde  $\Delta H_m \text{ muestra}$  es el cambio de entalpía de la muestra durante la fusión de hielo,  $\Delta H_m \text{ agua}$  es el calor latente de fusión del hielo y  $X_w$  es la humedad contenida en la muestra; c) graficando la variación en la entalpía de fusión de la muestra en función del contenido de humedad ( $\Delta H_m \text{ muestra}$  vs  $X_w$ ) y tomando el valor donde la recta cruza con el eje  $X_w$  ( $\Delta H_m \text{ muestra} = 0$ ); d) tomando la intersección de  $T_m$  con  $T_m'$  en el diagrama de estado (Rahman 2004). No obstante, el último método ha sido mayormente utilizado para la determinación de  $X_w'$  y  $X_s'$  (Rahman, 2004; 2006; Zhao et al., 2015; Ruiz-Cabrera et al., 2016; Grajales-Lagunes et al., 2018).

## 2.5 Modelación matemática de la curva de transición vítrea

Se ha observado que la temperatura de transición vítrea global de un sistema no sigue una ley aditiva de la  $T_g$  de cada uno de sus componentes, además de que ésta varía también en función del contenido de humedad. Se han propuesto varios modelos matemáticos para la predicción de la temperatura de transición vítrea en función de la fracción másica de agua y fracción másica de sólido, como la ecuación de Couchman y Karasz, ecuación de Kwei y el modelo de Gordon-Taylor (Khalloufi *et al.*, 2000). Entre estos, el modelo de Gordon-Taylor ha sido el más utilizado para ajustar los datos experimentales de  $T_g$  de varios azúcares y diversas matrices multicomponentes:

$$T_{gm} = \frac{X_s T_{gs} + K(1 - X_s) T_{gw}}{X_s + K(1 - X_s)} \quad (1)$$

En la Ecuación (1)  $T_{gm}$ ,  $T_{gs}$  y  $T_{gw}$  son las temperaturas de transición vítrea de la muestra, sólidos anhidros y el agua pura (-135 °C) respectivamente;  $K$  es un parámetro constante propio del modelo y  $X_s$  representa la fracción másica de sólidos. La constante  $K$  representa la relación del volumen libre o densidades reales de los componentes químicos que conforman la muestra (Katkov y Levine, 2004), y puede ser obtenida de distintas formas, incluyendo una regresión no lineal a partir de datos experimentales, al igual que el parámetro  $T_{gs}$ . Adicionalmente, la constante  $K$  se puede calcular a partir de la siguiente relación:

$$K = \rho_s T_{gs} / \rho_w \quad (2)$$

Mediante la Ecuación (2), se deduce también que la constante de Gordon-Taylor caracteriza el efecto plastificante del agua. La adición de agua en un sistema provoca un aumento del espacio intermolecular o del volumen libre, disminuyendo la viscosidad e incrementando la movilidad molecular (Collares *et al.*, 2002). Por lo tanto, el valor de  $K$  es alto cuando la relación  $T_{gs}/T_{gw}$  es grande, significando que  $T_{gw}$  del diluyente (agua) es mucho menor que la  $T_{gs}$  del soluto (Katkov y Levine,

2004). Sin embargo, aunque la Ecuación (2) da una buena predicción para mezclas polímero-polímero o polímero-plastificante, no funciona tan bien con sistemas en los cuales el soluto no es una sustancia de alto peso molecular. Para sistemas en los cuales los solutos son azúcares de bajo peso molecular, la constante  $K$  de Gordon-Taylor puede ser obtenida empíricamente ajustando la curva  $T_g$  del diagrama de estado con datos experimentales. Mientras mayor sea el valor de la constante, mayor es el efecto plastificante del agua en la matriz alimenticia, es decir, mayor es la disminución de  $T_g$  a medida que aumenta la cantidad de agua. La capacidad de plastificación del agua se atribuye a su bajo peso molecular y baja temperatura de transición vítrea (-135 °C), además de su capacidad para formar puentes de hidrógeno con moléculas hidrofílicas como proteínas y carbohidratos (Sablani *et al.*, 2010). Otros plastificantes comúnmente utilizados en la industria de alimentos son el glicerol, sorbitol y azúcares de bajo peso molecular como la glucosa y fructosa, aunque sus efectos tienen menos impacto que los del agua (Jouppila & Roos, 1994). Por el contrario, una molécula de alto peso molecular aumentará la  $T_g$  de una matriz alimentaria. Para un valor de  $K=1$ , la relación de  $T_g$  en función de la fracción másica del sólido es una línea recta, mientras que con valores de  $K>1$  se obtienen relaciones cóncavas y con  $K<1$  relaciones convexas (Sablani *et al.*, 2010).

## 2.6 Modelación matemática de la curva de punto de congelación

Los modelos para la predicción del punto de congelación pueden ser clasificados en tres grupos: teóricos, empíricos y semi-empíricos. Los modelos teóricos están generalmente basados en el supuesto de que los alimentos son soluciones binarias ideales, mientras que los modelos empíricos están basados sobre mediciones experimentales a través del proceso de congelación. Aun así, uno de los modelos teóricos más utilizados para la predicción del punto de congelación es la ecuación de Clausius-Clapeyron:

$$T_m = T_w + \left(\frac{\beta}{\lambda_w}\right) \ln\left(\frac{1-X_s}{1-X_s+EX_s}\right) \quad (3)$$

No obstante, como ha sido mencionado la ecuación de Clausius-Clapeyron está limitada para soluciones ideales, es decir, soluciones altamente diluidas. Los modelos teóricos pueden ser mejorados introduciendo parámetros para comportamiento no ideal cuando la fracción del total del agua no está disponible para la formación de hielo. Chen et al., (1990) propusieron una modificación a la ecuación de Clausius-Clapeyron para evaluar la disminución del punto de congelación en función de la composición de los solutos en los alimentos tomando en cuenta el contenido de agua no congelable ( $B$ ), que puede ser definido como la relación del agua que no congela (incluso a muy baja temperatura) entre los sólidos totales, resultando la siguiente ecuación:

$$T_m = T_w + \left(\frac{\beta}{\lambda_w}\right) \ln \left(\frac{1-X_s-BX_s}{1-X_s-BX_s+EX_s}\right) \quad (4)$$

En la Ecuación (4)  $T_m$  es la temperatura de congelación de la muestra y  $T_w$  la temperatura de congelación del agua pura (0 °C);  $\beta$  es la constante molar de congelación para el agua (1860 Kg °C/mol);  $\lambda_w$  es el peso molecular del agua (18 g/mol),  $E$  es la relación entre los pesos moleculares del agua y los sólidos ( $\lambda_w/\lambda_s$ ) y  $B$  se define como la relación del agua no-congelable al total de los sólidos.

La ecuación de Chen (4) es un modelo semi-empírico, ya que requiere de una constante empírica para predecir los cambios en la disminución del punto de congelación para distintos valores de pesos moleculares, además de que, al igual que el parámetro  $E$ , esta constante ( $B$ ) debe ser determinada mediante un ajuste de los datos experimentales al modelo matemático, que comúnmente se realiza mediante una regresión no lineal (Rahman, 2004).

## **2.7 Uso de los diagramas de estado en procesamiento y conservación de alimentos**

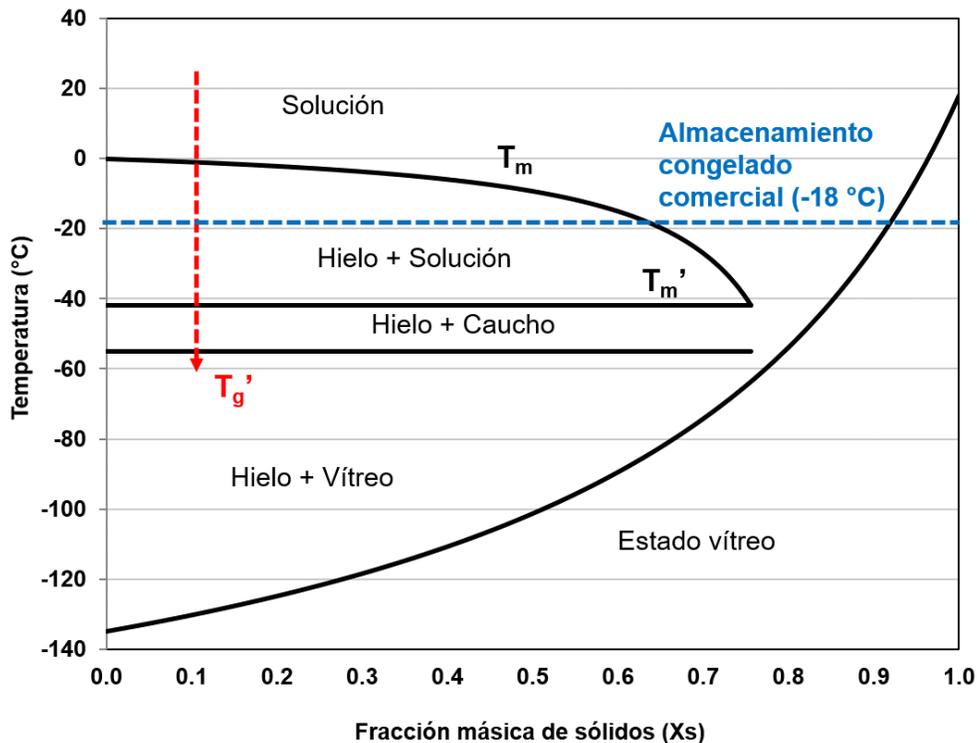
Los diagramas de estados complementados tienen gran aplicación en el procesamiento, almacenamiento y distribución de alimentos con alto contenido de humedad (agua congelable), así como alimentos con bajo contenido de humedad

(agua no congelable). Como ha sido comentado con anterioridad, es posible seleccionar, predecir y optimizar condiciones en distintos procesos, así como visualizar los estados físicos de los alimentos y sus implicaciones, lo cual es descrito en seguida.

### **2.7.1 Procesos que involucran la disminución de la temperatura**

En este tipo de procesos de conservación, la disminución de temperatura o remoción de calor provoca que la movilidad molecular en los alimentos sea disminuida y como consecuencia, aquellas reacciones químicas y procesos biológicos que tienen lugar en los mismos, sean retardados conforme la temperatura es disminuida (Berk, 2013), de tal manera que se extienda la vida de anaquel de alimentos perecederos para proveer productos alimenticios con características similares a los productos frescos (Marella y Muthukumarappan, 2013; James y James, 2014). Entre estos métodos se encuentran la refrigeración, sub-enfriamiento y almacenamiento congelado, que se diferencian entre sí según el rango de temperaturas utilizadas. La refrigeración consiste en la aplicación de un rango de temperaturas de 0 a 8 °C, particularmente, por encima del punto de congelación del alimento ( $T_m$ ), mientras que el sub-enfriamiento utiliza temperaturas ligeramente por debajo del punto de congelación del agua (típicamente de -1 a -4 °C) sin ocurrencia de congelación o formación de cristales de hielo en el alimento. Con respecto al almacenamiento de productos congelados, se suele utilizar una temperatura muy por debajo de su punto de congelación, convencionalmente establecida en -18 °C a nivel industrial (Kaale et al., 2011; Berk, 2013). En contraste a lo que ocurre durante un tratamiento térmico, la disminución de temperatura no destruye microorganismos o enzimas, si no que únicamente deprime su actividad. Entre estos métodos, el almacenamiento congelado es preferido, ya que la vida de anaquel de un alimento congelado puede ser medida en años, comparados a los días o semanas que pueden ser alcanzados en un alimento refrigerado o sub-enfriado (James y James, 2014). La estabilidad mucho más prologada de un alimento congelado se debe a la disminución de la actividad de agua como resultado de la cristalización de una parte del agua en hielo. A menudo se asume que la congelación rápida proporciona una

mejor retención de la calidad de los alimentos, ya que los cristales desarrollados por este método son mucho más pequeños y por consecuencia, se disminuyen los daños estructurales por el crecimiento de hielo. Sin embargo, comúnmente a la temperatura de almacenamiento congelado (-18 °C) aún permanece agua sin congelar, por lo que aún pueden suceder ciertos cambios, tales como reacciones químicas y enzimáticas, además de crecimiento de los cristales de hielo por recristalización. Lo anterior puede ser visualizado gráficamente en la Figura 2.3, donde se representa el procedimiento de almacenamiento congelado para jugo de tuna (Grajales-Lagunes et al., 2018).



**Figura 2.3** Diagrama de estado complementado correspondiente a jugo de tuna, donde se ilustran las temperaturas de almacenamiento congelado comercial (-18 °C) e ideal ( $T_g'$ ) (Grajales-Lagunes et al., 2018).

Como se mencionó anteriormente, el agua sin congelar en la zona por debajo de la curva  $T_m$  promueve el crecimiento de los cristales de hielo durante el almacenamiento prolongado, eliminando las ventajas de la congelación rápida, ya que el volumen específico del hielo es más grande que el del agua y, por tanto, los

cristales de hielo en expansión comprimen la matriz alimentaria, induciendo daños celulares y/o estructurales que generalmente se manifiestan con la liberación de agua, pérdida de nutrientes y cambios en la textura cuando los frutos son descongelados (Evans, 2008; Tolstorebrov et al., 2016). En este sentido, Slade & Levine (1986) propusieron que todos los alimentos deben ser almacenados a una temperatura por debajo de  $T_g'$  para evitar los fenómenos de re-cristalización de hielo y fenómenos difusivos, ya que en esta zona la movilidad molecular es drásticamente disminuida por efecto de la matriz vitrificada (Figura 2.3). Los materiales con alto peso molecular generalmente tienen una  $T_g'$  por encima de la temperatura estándar de almacenamiento congelado (Slade & Levine, 1991), sin embargo, los productos con altas cantidades de azúcares, como se aprecia en la Figura 2.3, son almacenados generalmente por encima de la temperatura de inicio de fusión del hielo  $T_m'$  (Slade & Levine, 1988; Roos & Karel, 1991).

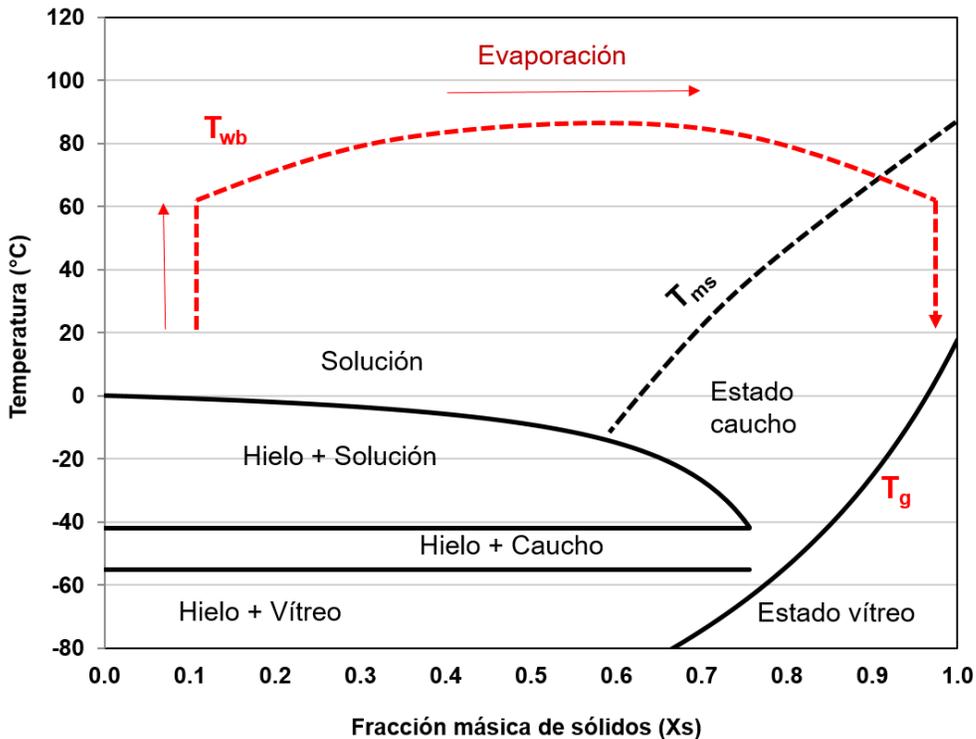
Los crioprotectores han sido propuestos como una alternativa para contrarrestar los daños por crecimiento de cristales de hielo, además de mejorar la estabilidad durante el almacenamiento de alimentos ricos en azúcares (Silva et al., 2008(b); Tanushree et al., 2018). Los mecanismos por los cuales actúan son variables y dependen del tipo de molécula; algunas sustancias previenen el daño por congelación al ralentizar y/o inhibir la velocidad de crecimiento de los cristales de hielo. Por otro lado, los crioprotectores de alto peso molecular provocan un aumento en las temperaturas  $T_g'$  y  $T_m'$ , acercándolas a la temperatura de almacenamiento congelado comercial. Compuestos como el sorbitol, sacarosa, propileno glicol, polifosfatos, trehalosa, maltodextrinas, povidona, péptidos e hidrolizados de proteínas han sido propuestos como crioprotectores efectivos en la industria de alimentos (Liu, et al., 2014; Flores-Ramírez et al., 2019; Harnkarnsujarit et al., 2014).

### **2.7.2 Procesos que involucran la reducción de la humedad**

Estos generalmente consisten en la remoción del agua contenida en un material húmedo (sólido, semi-sólido o líquido) mediante la aplicación de calor con la finalidad de obtener un producto de humedad reducida y estable a las condiciones ambientales (Mujumdar, 2007). La energía puede ser suministrada por convección

mediante secadores directos utilizando aire u otro fluido de arrastre; por conducción, donde el calor es transferido a la muestra por contacto indirecto a través de una superficie sólida (secadores indirectos), y por radiación. La deshidratación genera productos más duraderos y con una vida de anaquel más prolongada como resultado de la reducción del contenido de agua, así como de la actividad de agua a niveles que no permiten el crecimiento de microorganismos y el desarrollo de reacciones difusivas. Por otro lado, la deshidratación induce una disminución drástica de la masa y volumen del alimento, disminuyendo costos de transporte y almacenamiento (Devahastin, 2000). Uno de los métodos de deshidratación más ampliamente utilizados en la actualidad es el secado por aspersion, ya que es una tecnología industrial empleada a gran escala para secar y pulverizar alimentos líquidos que contienen componentes sensibles al calor. El objetivo general del secado por aspersion es eliminar de la manera más rápida el agua de una solución o suspensión diluida con un impacto térmico mínimo en el producto. El producto final comúnmente será un sólido en estado vítreo con un contenido de humedad del orden de 2-10% (base húmeda). Este proceso consta de 4 pasos básicos: 1) atomización, 2) contacto de las gotas con aire caliente, 3) evaporación de agua y 4) separación aire-polvo (Sagar y Suresh, 2010).

El proceso de secado por aspersion es ilustrado en la Figura 2.4, donde es aplicado a jugo de tuna. En este, una solución con alto contenido de agua (jugo) es llevada rápidamente hasta la temperatura de bulbo húmedo ( $T_{wb}$ ), donde el agua es evaporada con rapidez para obtener un material en estado amorfo. No obstante, en este ejemplo, al finalizar no se obtiene un material amorfo en estado vítreo, si no en estado caucho. Esto se debe a que la temperatura de transición vítrea del material es demasiado baja (curva  $T_g$ ), lo que dificulta o imposibilita el proceso, resultando bajos rendimientos dado el pegado del material en las paredes del secador, además de una pobre calidad por apelmazamiento o colapso estructural. Típicamente las matrices con alto contenido de azúcares simples, tienen valores en la curva  $T_g$  muy bajos (Ruiz-Cabrera et al., 2016), dificultando su procesamiento.

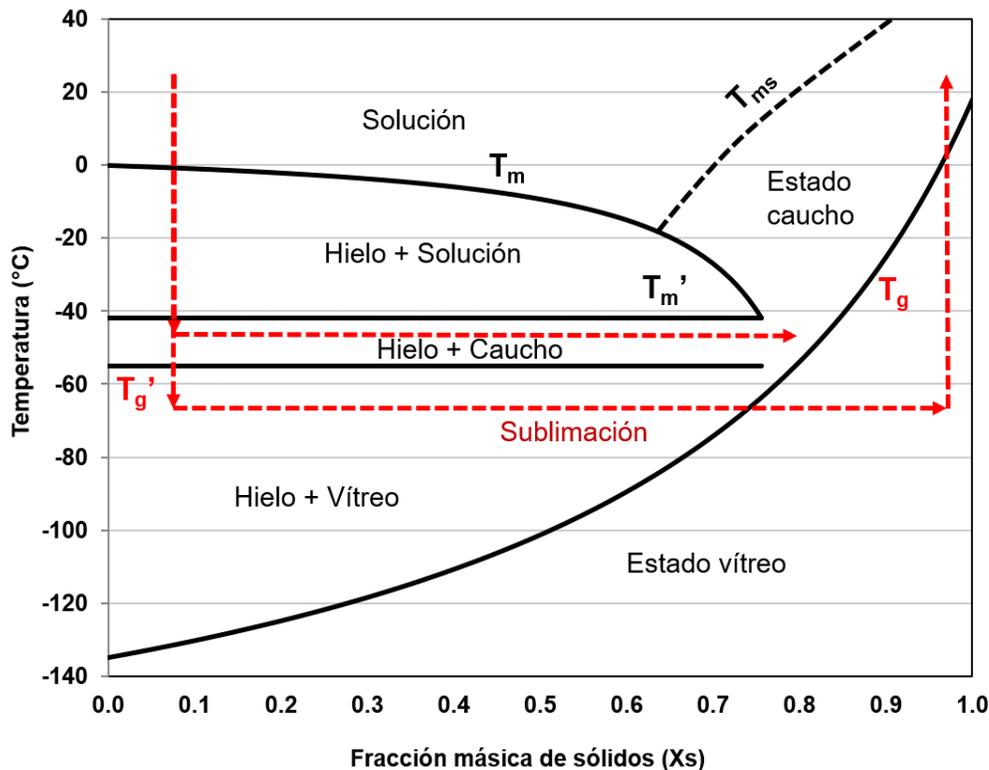


**Figura 2.4** Diagrama de estado complementado correspondiente a jugo de tuna, donde se ilustra el proceso de secado por aspersión (Grajales-Lagunes et al., 2018).

Alrededor del 90% de los sólidos de un jugo está constituido por azúcares de bajo peso molecular como la fructosa, glucosa y sacarosa. No obstante, el uso de sustancias de alto peso molecular para elevar los valores de  $T_g$  y mejorar las condiciones del proceso, es ampliamente utilizado en la actualidad. Este tipo de sustancias se denominan agentes acarreadores, y se pueden encontrar abundantes estudios acerca de la influencia que tienen en el secado por aspersión de jugos de frutas y otros derivados (Bhusari et al., 2014; Cano-Chauca et al., 2005; Ferrari et al., 2012; Mishra et al., 2014; Murali et al., 2014; Tonon et al., 2008; Tonon et al., 2009; Yousefi et al., 2010). Entre los efectos descritos en la literatura sobre el uso de acarreadores se encuentran: rendimientos más altos, menor higroscopicidad, efecto protector sobre moléculas termo-sensibles como polifenoles, libre flujo del polvo, bajo contenido de humedad y reducción de la pegajosidad.

### 2.7.3 Procesos que combinan la disminución en la temperatura y reducción de la humedad

La liofilización es la sublimación de la fracción de hielo donde el agua pasa del estado sólido al gaseoso. El secado por liofilización de materiales biológicos es considerado uno de los mejores métodos para la eliminación de agua, ya que permite obtener productos finales de alta calidad, es decir, con características muy similares a las de un producto fresco (Sagar y Suresh, 2010). Como ejemplo de este proceso, en la Figura 2.5 se presenta la trayectoria que sigue en un diagrama de estado correspondiente a jugo de tuna (Grajales-Lagunes et al., 2018).



**Figura 2.5** Diagrama de estado complementado correspondiente a jugo de tuna, donde se ilustra el proceso de liofilización (Grajales-Lagunes et al., 2018).

El primer paso consiste en la congelación del alimento, la cual debe de ser llevada a cabo a una temperatura igual o inferior a  $T_g'$ , con la finalidad de alcanzar la formación de una matriz vitrificada con cristales de hielo. Posteriormente los cristales de hielo son sublimados gradualmente por modificación de la presión

(vacío), hasta alcanzar un bajo contenido de humedad, donde se alcanza el estado de sólido vítreo. Idealmente la temperatura debe de permanecer constante durante la sublimación para evitar la formación de material en estado caucho; de manera similar, si la temperatura a la cual se lleva a cabo la congelación y sublimación es superior a  $T_g'$ , se propiciará la formación de material en estado caucho. Al finalizar la operación, el producto debe de permanecer como un sólido vítreo a temperatura ambiente, sin embargo, en el ejemplo de la Figura 2.5 esta condición está por encima de su temperatura de transición vítrea, alcanzando la zona de material amorfo en estado caucho. El estado caucho también se alcanza cuando este tipo de producto es almacenado a temperaturas por arriba de su  $T_g$  o expuesto a un cambio de humedad más elevado, encontrando que la máxima estabilidad de las frutas en polvo se podría conseguir almacenándolas por debajo de su temperatura de transición vítrea. Entonces, en el diagrama de estado para jugo de tuna presentado en la Figura 2.5, se observan 2 problemas principales: 1) La temperatura  $T_g'$  necesaria para garantizar la estabilidad y evitar la formación de material en estado caucho durante la sublimación es demasiado baja, del orden de  $-55\text{ }^\circ\text{C}$ , y 2) la temperatura de transición vítrea (curva  $T_g$ ) del jugo deshidratado está por debajo de la temperatura ambiente, por lo que es de esperarse el desarrollo de defectos de calidad como apelmazamiento, pegajosidad y/o colapso estructural durante el almacenamiento. Como fue mencionado en las secciones anteriores, la adición de una sustancia de elevado peso molecular como la maltodextrina, provocaría un aumento en los valores de  $T_g'$ ,  $T_m'$  y  $T_g$ , facilitando el proceso de deshidratación por sublimación y, mejorando la estabilidad del producto durante el almacenamiento.

## **2.8 Diagramas de estado en sistema reales ricos en azúcares**

Los frutos contienen agua, polisacáridos (almidón, celulosa, hemicelulosa, pectina), azúcares simples como fructosa, glucosa y sacarosa, y ácidos orgánicos (cítrico, málico, ascórbico, etc.). Se sabe que cuando el fruto alcanza su madurez, casi todo el almidón es hidrolizado mientras que la celulosa, hemicelulosa y pectinas forman parte de la pared celular y son eliminados durante la obtención del jugo. Las dificultades técnicas de procesamiento y almacenamiento de los jugos de frutas han

sido asociados con los estados físicos del agua, fructosa, glucosa, sacarosa, ácidos y mezclas de estos componentes los cuales se caracterizan por tener temperaturas de transición vítrea muy bajas (Bhandari & Howes, 1999; Jaya & Das, 2009; Ruiz-Cabrera et al., 2016; Saavedra-Leos *et al.*, 2012). Con la finalidad de comprender los complejos cambios físicos que se dan durante el procesamiento y almacenamiento, los diagramas de estado complementados para diversas frutas y sus derivados han sido construidos, tales como tuna, naranja, mango, fresa, piña, frambuesa, arándano, manzana, dátil, jarabe de dátil, grosella, toronja y camu camu (Al-Farsi et al., 2018; Bai et al., 2001; Fabra et al., 2009; Grajales-Lagunes et al., 2018; Rahman, 2004; Silva et al., 2006; Syamaladevi et al., 2009; Telis and Sobral, 2001; Vasquez et al., 2013; Zhao et al., 2015). En estos estudios se observan tendencias muy similares cuando se comparan los parámetros del diagrama de estado obtenidos. En el caso de la modelación de la curva  $T_g$  la ecuación de Gordon-Taylor (1) ha sido utilizada en todos los casos, encontrando que sus parámetros varían de 12.2 a 74.59 °C para la transición vítrea de sólidos anhidros ( $T_{gs}$ ), y de 0.21 a 5.72 para el valor de la constante  $K$ . Como se aprecia los valores para  $T_{gs}$  son en general extremadamente bajos, tomando en cuenta que la temperatura de entrada del aire en el proceso de secado por aspersion típica varía entre 100 y 200 °C. Para la modelación de la curva  $T_m$  algunos autores utilizan modelos matemáticos polinomiales (Telis y Sobral, 2001), sin embargo, la mayoría emplean la ecuación de Chen (4). Los parámetros obtenidos en este caso varían de 0.0178 a 0.238 para  $E$ , y de 0.040 a 0.165 para  $B$ . En el caso de los parámetros de máxima crio-concentración, estos varían de -58.0 a -46.4 °C para  $T_g'$ , y de -50.3 a -31.2 °C para  $T_m'$ , encontrando que en ambos casos están muy por debajo de la temperatura utilizada industrialmente en el almacenamiento congelado (-18 °C). Finalmente, el parámetro correspondiente a la fracción de sólidos en la condición de máxima crio-concentración ( $X_s'$ ) varía de 0.690 a 0.847.

Por otro lado, los crioprotectores y agentes acarreadores han sido ampliamente utilizados para contrarrestar las desventajas que presentan los parámetros anteriormente descritos, no obstante, la caracterización de las matrices frutales + aditivos mediante diagramas de estado complementados es escasa. Es común la

construcción de diagramas de estado simplificados de frutas con agentes acarreadores (Fabra et al., 2011; Mosquera et al., 2010; 2012), mientras que en el caso de diagramas de estado complementados de frutas con aditivos (acarreadores o crioprotectores), sólo se encontró 1 trabajo en la literatura (Silva et al., 2006), correspondiente a pulpa de camu camu adicionada con maltodextrina DE20. En este estudio se reportó una elevación de  $T_g'$  de -58.8 a -40.1 °C, y de  $T_{gs}$  de 74.59 a 125.45 °C, además de una disminución en la higroscopicidad del material cuando este es liofilizado. La cantidad de maltodextrina utilizada en este caso fue de 30% (p/p) sobre la pulpa, lo que corresponde a una fracción másica de sólidos aproximada de 0.8 (tomando en cuenta el contenido de sólidos solubles). Esta cantidad de maltodextrina está dentro de los rangos contemplados en el presente trabajo.

### **3. Justificación**

#### **3.1 Justificación del presente estudio**

Los parámetros térmicos referentes a la máxima estabilidad ( $T_m'$ ,  $T_g'$ ,  $T_g$ ) durante el procesamiento y almacenamiento de frutas y sus derivados, se encuentran muy por debajo de las temperaturas de operación y almacenamiento utilizadas en procesos de secado (secado por aspersión y liofilización) y conservación (congelación y almacenamiento congelado). Por ello se propone el enfoque de elevación de los valores de estos parámetros mediante la incorporación de solutos de alto peso molecular (como la maltodextrina), además, el uso de sistemas modelos con composición química controlada es utilizado como una alternativa para el análisis y elaboración de diagramas de estado representativos de productos derivados de frutas con maltodextrina adicionada.

El conocimiento generado permitirá la predicción del comportamiento de los parámetros térmicos ( $T_m$ ,  $T_m'$ ,  $T_g'$ ,  $T_g$ ) cuando se adicionan distintas cantidades de maltodextrina a sistemas ricos en azúcares como las frutas. También se contribuirá al establecimiento de estrategias de formulación y protocolos adecuados para el almacenamiento congelado y otros procesos como la liofilización, además de generar conocimiento científico básico a través de conocimiento de frontera para el diseño de congeladores para una adecuada conservación y almacenamiento de alimentos congelados.

#### **3.2 Hipótesis**

Las transiciones de estado ( $T_m'$ ,  $T_g'$ ,  $T_g$ ) y la transición de fase ( $T_m$ ), así como los estados físicos de matrices modelo y reales a base de carbohidratos, expresados en función del contenido de agua en un diagrama de estado, serán modificados y mejorados mediante la incorporación de maltodextrina.

## 4. Objetivo

### 4.1 Objetivo general

Establecer los diagramas de estado para sistemas ricos en carbohidratos con maltodextrina como aditivo, a partir de la medición experimental y análisis de sus transiciones de fase/estado mediante calorimetría diferencial de barrido.

### 4.2 Objetivos específicos

- I. Evaluar mediante calorimetría diferencial de barrido las transiciones de fase/estado ( $T_m$ ,  $T_g$ ,  $T_m'$ ,  $T_g'$ ) en diversas matrices modelo con alto contenido en carbohidratos formuladas con maltodextrina a diferentes contenidos de agua y establecer sus diagramas de estado.
- II. Desarrollar modelos matemáticos que describan los parámetros del diagrama de estado ( $K$ ,  $T_{gs}$ ,  $E$ ,  $B$ ,  $T_m'$ ,  $T_g'$ ,  $Xs'$ ) en función del tipo y fracción másica de los solutos de los sistemas.
- III. Caracterizar la composición química de sistemas reales (jugos naturales) mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
- IV. Evaluar mediante calorimetría diferencial de barrido las transiciones de fase/estado en jugos de frutas con composición química conocida.
- V. Calibrar y validar los modelos matemáticos previamente desarrollados con los sistemas modelo.

## 5. Metodología

### 5.1 Formulación y preparación de sistemas modelo anhidros

Para simular la composición de una amplia variedad de productos derivados de las frutas, la fracción másica de fructosa ( $X_F$ ), glucosa ( $X_G$ ), sacarosa ( $X_S$ ), pectina ( $X_P$ ) y ácido cítrico ( $X_A$ ) obtenidos de Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO.), fue variada y controlada durante la preparación de sistemas modelo anhidros ricos en azúcares, como fue anteriormente propuesto por Grajales-Lagunes et al., (2018). Maltodextrina DE 4 – 7 (peso molecular de 3600) grado analítico también de Sigma-Aldrich Co., fue utilizada en este estudio como aditivo a distintas fracciones de masa sólida ( $X_M$ ). La composición de cada sistema modelo anhidro fue establecida utilizando un diseño experimental completamente aleatorio D-optimal para mezclas de 6 componentes, tomando en cuenta las siguientes restricciones:  $0 \leq X_P \leq 0.15$ ,  $0 \leq X_A \leq 0.15$ ,  $0 \leq X_M \leq 0.8$  y  $\sum_{i=1}^n X_i = 1$ ; dando como resultado un total de 25 sistemas modelo anhidros, cuya composición se muestra en la Tabla 5.1

Con la finalidad de obtener mezclas perfectamente integradas y homogéneas, estas fueron disueltas en agua y luego deshidratadas de nuevo. Por consiguiente, se prepararon soluciones acuosas con un contenido de 30 – 40% de sólidos que, posteriormente fueron secadas por liofilización bajo condiciones de vacío (5 mTorr) a  $-40$  °C por 24 horas utilizando un liofilizador iShin®. Una vez deshidratados, los sistemas fueron finamente molidos en mortero y equilibrados en desecadores con Drierite® (Sulfato de calcio anhidro,  $aw \approx 0$ ) a temperatura ambiente durante 4 semanas para obtener muestras completamente secas. El contenido de humedad final de los sistemas modelo equilibrados fue determinado gravimétricamente secando 0.1g de muestra en un horno de vacío a  $60$  °C por 24 horas (AOAC, 1996).

### 5.2. Extracción, caracterización y formulación de jugos de fruta en polvo

Los jugos elaborados a partir de durazno, mango, melón, piña y yaca fueron utilizados como sistemas alimentarios reales. Los frutos fueron adquiridos en un mercado local y su jugo fue doblemente filtrado utilizando una malla para separar las fibras y pulpa, a manera de promover la presencia de los solutos contenidos

dentro de la composición usada en los sistemas alimentarios modelo. La concentración inicial de sólidos solubles (°Brix) fue medida mediante un refractómetro digital (AR 200, Leica) a temperatura ambiente.

**Tabla 5.1 Diseño experimental D-optimal para mezclas de 6 componentes**

Estándar	Corrida	Composición					
		$X_F$	$X_G$	$X_S$	$X_P$	$X_A$	$X_M$
1	15	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
2	6	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000
3	8	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000
4	4	0.000	0.000	0.000	0.150	0.050	0.800
5	1	0.283	0.283	0.283	0.075	0.075	0.000
6	7	0.450	0.000	0.000	0.150	0.000	0.400
7	21	0.000	0.450	0.000	0.150	0.000	0.400
8	2	0.000	0.000	0.450	0.150	0.000	0.400
9	23	0.500	0.000	0.500	0.000	0.000	0.000
10	22	0.000	0.500	0.500	0.000	0.000	0.000
11	18	0.500	0.500	0.000	0.000	0.000	0.000
12	24	0.145	0.145	0.145	0.059	0.150	0.355
13	20	0.700	0.000	0.000	0.150	0.150	0.000
14	5	0.000	0.700	0.000	0.150	0.150	0.000
15	11	0.000	0.000	0.700	0.150	0.150	0.000
16	25	0.327	0.327	0.077	0.035	0.035	0.198
17	19	0.327	0.077	0.327	0.035	0.035	0.198
18	12	0.077	0.327	0.327	0.035	0.035	0.198
19	3	0.177	0.077	0.077	0.035	0.035	0.598
20	9	0.502	0.077	0.077	0.035	0.110	0.198
21	13	0.077	0.540	0.077	0.035	0.073	0.198
22	14	0.077	0.077	0.577	0.035	0.035	0.198
23	10	0.350	0.350	0.000	0.150	0.150	0.000
24	17	0.350	0.000	0.350	0.150	0.150	0.000
25	16	0.000	0.350	0.350	0.150	0.150	0.000

### 5.2.1 Elaboración de jugos de fruta en polvo por liofilización

Con el propósito de obtener muestras de frutas en el rango completo de humedad (0 – 90%, base húmeda), los jugos fueron secados por liofilización hasta obtener

polvos de libre flujo. Para llevar a cabo el secado de los jugos, primeramente, estos fueron congelados a una temperatura de  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  en un congelador de laboratorio (ScienTemp Modelo 86-01A; Adrian, Michigan, USA) durante 24h. Posteriormente las muestras congeladas fueron colocadas en el liofilizador (ilShin®) y fueron protegidas con fundas de espuma de poliestireno expandido para minimizar la transferencia de calor con el medio ambiente, posteriormente fueron sometidas a un vacío de 5 mTorr a una temperatura de  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  para llevar a cabo la sublimación paulatina del hielo presente en las muestras, y de esta manera retirar el agua de los jugos. Este proceso se llevó a cabo durante un tiempo aproximado de 72h, tras el cual las muestras secas fueron retiradas y transformadas a polvo fino mediante un mortero. Posteriormente, los polvos de frutas fueron equilibrados en desecadores con Drierite® (Sulfato de calcio anhidro,  $aw\approx 0$ ) a temperatura ambiente durante 4 - 6 semanas para la eliminación de la humedad residual. Una parte del polvo de frutas fue utilizado para la determinación cuantitativa de azúcares, ácido cítrico y pectina por HPLC, mientras que la otra porción fue utilizada en los análisis calorimétricos. Esta última fue formulada con maltodextrina, en donde la fracción másica de este aditivo ( $X_M$ ) fue ajustada por diferencia, donde la fracción estandarizada de sólidos conocidos en los jugos naturales es sustraída de 1 como se muestra en la siguiente expresión:  $X_M = 1 - (X_F + X_G + X_S + X_A + X_P)$ .

### **5.2.2 Caracterización y cuantificación de azúcares, ácido cítrico y pectina**

Para determinar el tipo y cantidad de azúcares presentes en los jugos se llevaron a cabo análisis de cromatografía líquida de alta resolución, utilizando un sistema HPLC Agilent serie 1100 (Agilent Technologies, Alemania), el cual consta de sistema degasificador G1379A, bomba cuaternaria G1311A, detector de índice de refracción G1362A, y como fase estacionaria una columna de intercambio iónico Hi-Plex H (300 x 7.7 mm, Agilent Technologies, Alemania). Como fase móvil se utilizó una solución de ácido sulfúrico 8.5 mM a un flujo de 0.4 ml/min, el tiempo de corrida fue de 20 min a una temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  y el volumen de inyección fue de 20  $\mu\text{L}$ .

Para la separación de azúcares y ácido cítrico, se utilizó el método propuesto por Michel-Cuello et al. (2012), en el que las muestras en polvo son diluidas y filtradas a través de una membrana de nylon (0.45  $\mu\text{m}$ ) antes de ser inyectadas al sistema HPLC. Por otro lado, el contenido de pectina fue cuantificado indirectamente como ácido galacturónico después de un tratamiento de hidrólisis ácida como fue propuesto por Pérez-Martínez et al. (2013). En este, 100 mg de la muestra fueron dispersados en 5 ml de solución de ácido tricloroacético 0.3M e incubados a 80 °C por 24 h. Posteriormente el pH fue ajustado de 5 a 7 usando  $\text{NH}_3\text{OH}$  14M, luego la solución fue filtrada con membrana de nylon (0.45  $\mu\text{m}$ ) y finalmente inyectada al cromatógrafo.

Para procesar los cromatogramas obtenidos, el software Agilent 1100 online fue utilizado.

### **5.3 Acondicionamiento de muestras a distintos contenidos de humedad**

Los sistemas modelo anhidros y jugos en polvo previamente obtenidos, fueron subsecuentemente utilizados para la preparación de muestras que abarcaran el rango completo de humedad, incluyendo muestras con agua congelable y no-congelable. La metodología propuesta por Ruiz-Cabrera et al. (2016) fue utilizada para la obtención de muestras con bajo contenido de humedad (< 50%, base húmeda), en la cual muestras anhidras de 3-5 mg fueron pesadas directamente en celdillas de aluminio (TA instruments) y posteriormente expuestas a un ambiente de 100% de humedad relativa dentro de una cámara con agua destilada. Las celdillas fueron mantenidas dentro de la cámara y pesadas a intervalos regulares hasta alcanzar la humedad deseada, la cual fue estimada por diferencia de peso. Después las celdillas fueron herméticamente selladas y almacenadas a temperatura ambiente durante 24 h para equilibrar la humedad, después de lo cual se calculó la humedad exacta final según la ganancia de peso. En el caso de muestras con contenido de humedad mayor o igual a 50% (base húmeda), cantidades pre-calculadas de agua destilada fueron añadidas directamente a las muestras contenidas en tubos de micro-centrífuga (Eppendorf®), y sometidas a agitación constante en vortex hasta obtener soluciones perfectamente homogéneas.

Ulteriormente, los tubos fueron almacenados a 4°C durante 24 horas para garantizar el equilibrio de humedad. Luego, alícuotas en el orden de 5-10 mg fueron tomadas de los tubos, colocadas en celdillas de aluminio (TA instruments) y selladas herméticamente. Todas las muestras, una vez en celdillas selladas, fueron mantenidas a temperatura ambiente por 24 h para verificar que no existiera pérdida de peso.

En el caso de muestras anhidras, se pesaron de 3 – 5 mg de los polvos equilibrados (completamente secos) directamente en celdillas de aluminio no herméticas e inmediatamente después analizados por calorimetría.

#### **5.4 Análisis por calorimetría diferencial de barrido**

Los análisis térmicos de todas las muestras preparadas a distintos contenidos de humedad fueron llevados a cabo por calorimetría diferencial de barrido (DSC) usando un calorímetro Q2000 (TA Instruments, Lukens Drive, New Castle, Delaware, 19720, Estados Unidos) equipado con un sistema de enfriamiento RCS90. Los experimentos fueron realizados en una atmósfera inerte usando nitrógeno (ultra puro, grado 5.0, 99.99% de pureza) como gas de purga a un flujo de 50 ml/min; además una celdilla DSC vacía fue utilizada como referencia para cada experimento. Los protocolos calorimétricos utilizados están en función de la cantidad de humedad de la muestra, empleando 3 protocolos distintos correspondientes a los dominios de humedad baja, intermedia y alta, como se detalla a continuación.

##### **5.4.1 Protocolo convencional lineal**

En el caso de las muestras con alto contenido de humedad (> 45%) se utilizó el protocolo convencional lineal como es recomendado por Rahman (2004), Zhao et al., (2015) y Grajales-Lagunes et al. (2018), el cual consiste en enfriar la muestra desde temperatura ambiente hasta -90 °C a una velocidad de 20 °C/min, manteniendo isotérmicamente en ese punto por 5 min. Posteriormente se realiza un calentamiento hasta 20 °C a una velocidad de 10 °C/min. Esta metodología es

empleada para la determinación del punto de congelación ( $T_m$ ), el punto final de la congelación ( $T_m'$ ) y la temperatura de transición vítrea de la matriz máximamente crio-concentrada ( $T_g'$ ) en muestras con agua congelable.

#### **5.4.2 Procedimiento de annealing**

Para el caso de muestras con un contenido de humedad intermedio (30 – 45%) se llevó a cabo un procedimiento de annealing a  $T_m'-1$  °C durante 30 min. como es recomendado por diversos autores (Rahman, 2004; Zhao et al., 2015; Grajales-Lagunes et al., 2018), esto con la finalidad de eliminar el pico de recristalización que se observa durante el recalentamiento y que impide la correcta visualización de  $T_g'$  y  $T_m'$ . En este método la temperatura de  $T_m'-1$  °C empleada fue determinada a partir de experimentos previos (protocolo convencional lineal). En este caso la muestra es enfriada hasta -90 °C donde se mantiene isotérmicamente por 1 min, luego se calienta hasta la temperatura determinada de  $T_m'-1$  °C donde se realiza una isoterma de 30 min, y posteriormente se vuelve a enfriar a -90 °C (todos los pasos anteriores se realizaron a una velocidad de 20 °C/min). Finalmente, la muestra es recalentada hasta 20 °C a una velocidad de 10 °C/min, lo que permite la visualización adecuada de  $T_g'$ ,  $T_m'$ , y  $T_m$ , y por tanto su correcta determinación.

#### **5.4.3 Protocolo melt-quenching**

El protocolo melt-quenching recomendado para muestras con estructura cristalina o parcialmente amorfa (Saavedra-Leos et al., 2012; Ruiz-Cabrera and Schmidt, 2015) fue utilizado para la determinación de la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) en muestras con agua no-congelable (< 30%). En este procedimiento primeramente se lleva a cabo un calentamiento a 5 °C/min hasta una temperatura que garantice que todos los componentes del sistema se han fundido. Esta temperatura depende de la composición del sistema y su contenido de humedad (Ruiz-Cabrera and Schmidt, 2015) y es determinada a partir de un escaneo previo de cada muestra anhidra. Este escaneo consiste de un solo calentamiento a 5 °C/min hasta 200 °C o hasta que la muestra presente descomposición térmica. Subsecuentemente la muestra es enfriada rápidamente mediante un equilibrio a -70 °C para promover la formación

de una matriz completamente amorfa, después se realiza un recalentamiento a 10 °C/min hasta la misma temperatura del primer calentamiento, en el cual se visualiza la  $T_g$  global de la mezcla y también se verifica que no haya indicios de cristales remanentes.

#### 5.4.4 Determinación de parámetros térmicos

Todos los parámetros térmicos fueron determinados a partir de los termogramas obtenidos por DSC usando el software TA Universal Analysis 2000© versión 4.5A. El punto de congelación  $T_m$  fue determinado como la temperatura del pico de la endoterma de fusión, mientras que los parámetros  $T_g'$ ,  $T_m'$  y  $T_g$  fueron detectados como un cambio en la pendiente de la línea base y determinados por el método de altura media, donde únicamente se tomó en cuenta el valor central de la transición.

#### 5.5 Desarrollo de diagramas de estado

Para la construcción de diagramas de estado se utilizaron los datos experimentales de parámetros térmicos (obtenidos de los termogramas) graficados en función del contenido de sólidos de cada muestra. Para modelar las curvas de transición vítrea ( $T_g$  vs  $X_s$ ) y punto de congelación ( $T_m$  vs  $X_s$ ) se utilizaron las ecuaciones de Gordon-Taylor (1) y Chen (2) respectivamente, las cuales son descritas en detalle en las Secciones 2.5 y 2.6.

$$T_{gm} = \frac{X_s T_{gs} + K(1-X_s) T_{gw}}{X_s + K(1-X_s)} \quad (1)$$

$$T_m = T_w + \left( \frac{\beta}{\lambda_w} \right) \ln \left( \frac{1-X_s - B X_s}{1-X_s - B X_s + E X_s} \right) \quad (4)$$

En ambos casos se realizó una regresión no lineal utilizando Microsoft Excel (2016) para ajustar los datos experimentales a los modelos correspondientes, donde la bondad de ajuste fue evaluada mediante el coeficiente de determinación  $R^2$ . A partir

de la regresión realizada con los datos de  $T_g$  se obtuvieron los parámetros constantes  $T_{gs}$  y  $K$ , mientras que, a partir de la regresión con los datos de  $T_m$ , los parámetros constantes  $E$  y  $B$  fueron obtenidos.

Para la obtención de las líneas  $T_g'$  y  $T_m'$ , se utiliza el procedimiento realizado en estudios anteriores (Ruiz-Cabrera et al., 2016; Grajales-Lagunes et al., 2018) donde se calcula el promedio para cada sistema modelo tomando en cuenta que existe una pequeña variación en los valores experimentales de ambos parámetros. El valor de la fracción sólida en la condición de máxima crio-concentración ( $X_s'$ ) fue estimado mediante la intersección de la línea  $T_m'$  con la curva  $T_m$  como ha sido propuesto anteriormente por Rahman (2004); Zhao et al. (2015) y Ruiz-Cabrera et al. (2016).

## 5.6 Análisis estadístico de los datos

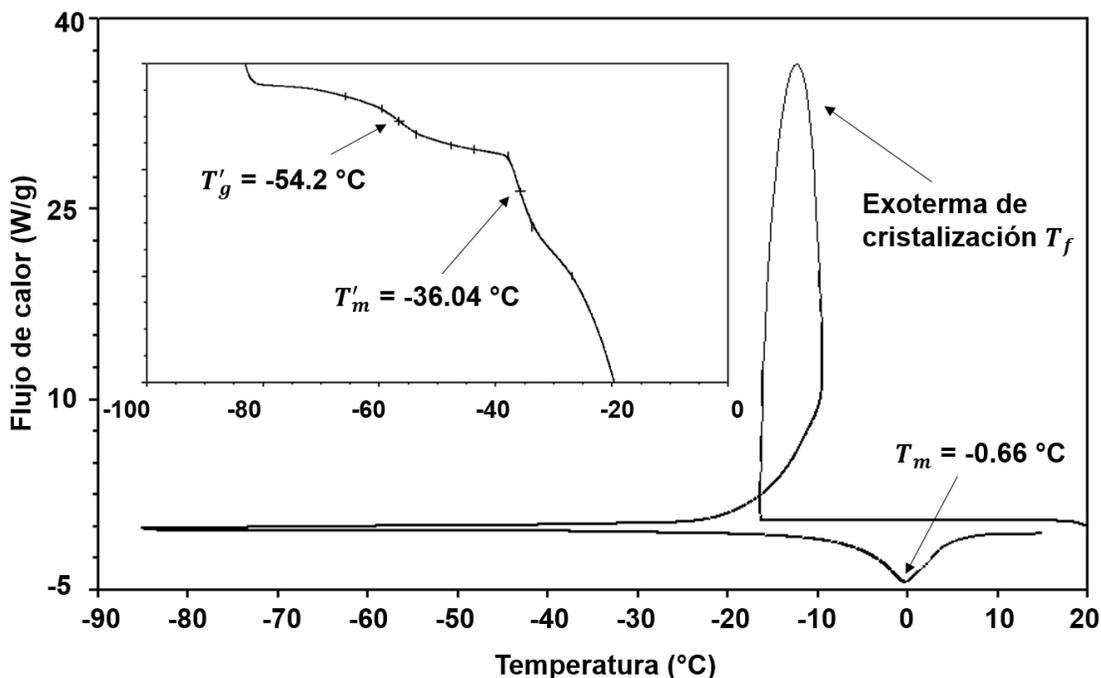
El análisis de la varianza (ANOVA) se realizó con un nivel de confianza del 95% ( $\alpha=0.05$ ) usando un software estadístico de diseño experimental. Con la finalidad de evaluar el efecto de la composición de soluto de los sistemas modelo en los parámetros estimados ( $T_{gs}$ ,  $K$ ,  $E$ ,  $B$ ,  $T_m'$ ,  $T_g'$ ,  $X_s'$ ), se desarrollaron modelos matemáticos jerárquicos a partir del modelo cuadrático de Scheffe (5), donde los coeficientes no significativos ( $p>0.10$ ) fueron eliminados.

$$\begin{aligned}
 y = & a_1X_F + a_2X_G + a_3X_S + a_4X_P + a_5X_A + a_6X_M + a_7X_FX_G + a_8X_FX_S \\
 & + a_9X_FX_P + a_{10}X_FX_A + a_{11}X_FX_M + a_{12}X_GX_S + a_{13}X_GX_P + a_{14}X_GX_A \\
 & + a_{15}X_GX_M + a_{16}X_SX_P + a_{17}X_SX_A + a_{18}X_SX_M + a_{19}X_PX_A + a_{20}X_PX_M \\
 & + a_{21}X_AX_M
 \end{aligned} \tag{5}$$

## 6. Resultados y discusión

### 6.1 Determinación de transiciones térmicas en sistemas modelo

Para ejemplificar la determinación experimental de  $T_g'$ ,  $T_m'$  y  $T_m$  en sistemas con alto contenido de humedad, en la Figura 6.1 se muestra un termograma típico obtenido mediante DSC para el sistema modelo 16 (Tabla 5.1) con 80% de humedad. En este aparece una exoterma de cristalización durante el enfriamiento a  $-90\text{ }^\circ\text{C}$ , que corresponde a una temperatura inferior a la determinada para la endoterma de fusión, teniendo en cuenta que se requiere un mayor gasto energético para la formación de una estructura altamente ordenada y estable. No obstante, en este estudio la temperatura del punto de congelación ( $T_m$ ) se calcula en la endoterma de fusión que es visualizada durante el calentamiento, y corresponde a un valor de  $-0.66\text{ }^\circ\text{C}$  par este experimento.

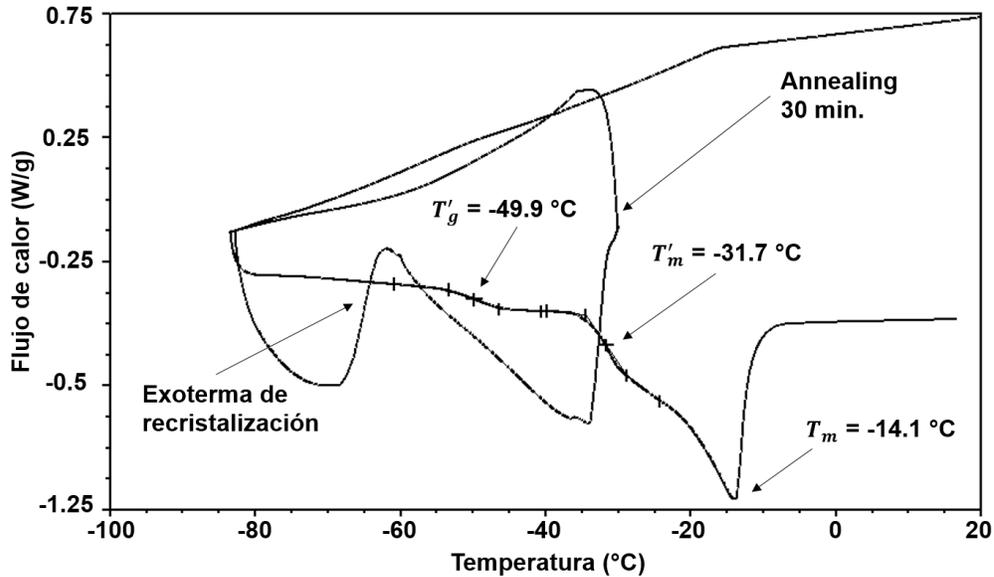


**Figura 6.1** Termograma típico obtenido experimentalmente para la determinación de  $T_g'$ ,  $T_m'$  y  $T_m$  en el sistema modelo 16 (0.327F, 0.327G, 0.077S, 0.035P, 0.035A, 0.198M) acondicionado a 80% de humedad (base húmeda). En el recuadro se resalta una sección del calentamiento para una mejor visualización de  $T_g'$  y  $T_m'$ .

También durante el calentamiento y antes del pico de fusión ( $T_m$ ) se puede observar la aparición de dos fenómenos asociados a transiciones de estado, el primero de los cuales es comúnmente caracterizado como la temperatura de transición vítrea de la matriz máximamente crio-concentrada ( $T_g'$ ), mientras que el segundo es identificado como el inicio de la fusión de hielo o el punto final de la cristalización ( $T_m'$ ); en este caso presentan valores de  $-54.2\text{ °C}$  y  $-36.04\text{ °C}$  respectivamente. Las transiciones de estado se dan a lo largo de cierto rango de temperatura, por lo que en el presente trabajo se tomó el punto medio como el valor de la transición.

Como se mencionó en la Sección 5.5.2, en las muestras con un contenido de humedad intermedio (30 – 45% aprox.) aparece un pico de recristalización durante el calentamiento ( $-90$  a  $20\text{ °C}$ ) que impide la visualización de  $T_g'$  y  $T_m'$ , por lo que es recomendado un procedimiento de annealing a  $T_m'-1\text{ °C}$ . Para ejemplificar este procedimiento, en la Figura 6.2 se muestra un termograma típico obtenido para el sistema modelo 22 (Tabla 5.1) acondicionado a 40% de humedad. En este se observa que no aparece el pico de cristalización durante el enfriamiento a  $-90\text{ °C}$ , cuya visualización en muestras con alto contenido de humedad fue anteriormente mencionada. Como se puede apreciar en la Figura 6.2, este pico identificado como una exoterma de recristalización aparece durante el calentamiento, el cual ha sido asociado a velocidades elevadas de enfriamiento que no permiten la cristalización durante el enfriamiento. Sin embargo, ha sido mencionado en la literatura (Grajales-Lagunes et al., 2018) que este pico persiste durante el calentamiento cuando se emplean velocidades de enfriamiento de  $10\text{ °C/min}$ ; de manera similar en este estudio se probaron velocidades de  $5\text{ °C/min}$  observando el mismo fenómeno, por lo que la velocidad de enfriamiento no parece ser un factor clave en la aparición de esta exoterma de recristalización. Teniendo en cuenta que la transferencia de masa juega un papel importante durante la cristalización, es posible que, dada la moderada cantidad de agua congelable y la viscosidad de la matriz, sólo se formen algunos núcleos de cristalización durante el enfriamiento, los cuales, debido a su alta energía libre, inducen una cristalización mayor al recalentar la matriz. En el termograma se aprecia que después del proceso de 30 min. de annealing a una temperatura de  $-30\text{ °C}$  es posible visualizar perfectamente los fenómenos  $T_g'$  y  $T_m'$ , que tienen valores de

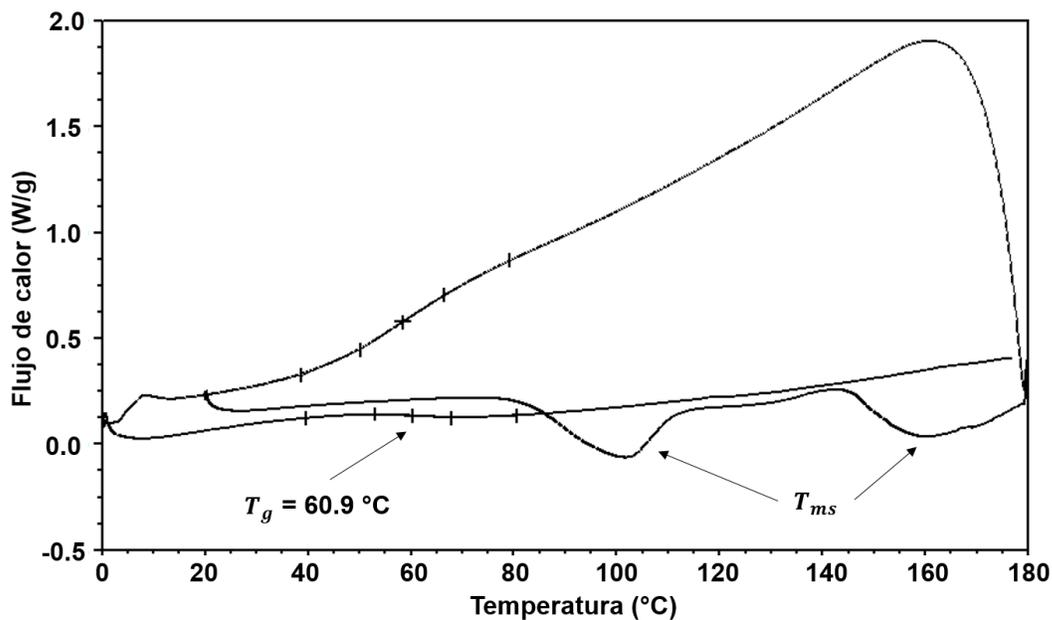
-49.9 °C y -31.7 °C respectivamente, mientras que el punto de congelación identificado en la endoterma de fusión tiene un valor de -14.1 °C.



**Figura 6.2** Termograma típico obtenido experimentalmente para la determinación de  $T_g'$ ,  $T_m'$  y  $T_m$  en el sistema modelo 22 (0.077F, 0.077G, 0.577S, 0.035P, 0.035A, 0.198M) acondicionado a 40% de humedad (base húmeda), donde se muestra el proceso de annealing a  $T_m'-1$  °C.

En la Figura 6.3 se muestra el termograma del sistema modelo 17 (Tabla 5.1) con 2.3% de humedad como ejemplo representativo de las muestras con agua no-congelable (típicamente una humedad < 30%). En este caso se realiza primeramente un calentamiento hasta 180 °C, en el cual se observan 2 endotermas de fusión de sólidos ( $T_{ms}$ ) a 103 °C y 160 °C, la primera de las cuales está asociada a la fusión de fructosa y la segunda a la fusión de sacarosa, tomando en cuenta que estos son los componentes mayoritarios de la mezcla (0.327 en ambos casos). Estos valores son inferiores a los valores de 135.3 °C (fructosa) y 193.8 °C (sacarosa) previamente reportados por Saavedra-Leos et al. (2012), sin embargo, es sabido que la velocidad de calentamiento puede afectar la temperatura a la cual aparecen ciertos eventos térmicos, siendo que a velocidades menores los eventos se desplazan hacia temperaturas más bajas, lo que coincide con el hecho de que en este estudio se utilizó una velocidad de 5 °C/min para el primer calentamiento, mientras que en el trabajo

mencionado (Saavedra-Leos et al., 2012) se utilizó una velocidad de 20 °C/min. Es importante mencionar que los componentes que se encuentran en menor proporción como la glucosa (0.077) y el ácido cítrico (0.035) pueden quedar absorbidos dentro de las endotermas más grandes, modificando las temperaturas a las cuales aparecen. Además, en este tipo de sistemas se observó que los componentes de elevado peso molecular (pectina y maltodextrina) no presentan picos de fusión, lo cual fue corroborado mediante un escaneo previo de la muestra donde se llevó hasta 250 °C (aparición de degradación térmica) para descartar la aparición de otros eventos térmicos a temperaturas más elevadas. Posteriormente en el recalentamiento se observa la aparición de una sola transición vítrea global bien definida a 60.9 °C, lo que indica una buena integración de todos los componentes; además no se observó ningún pico de fusión posterior, corroborando que la muestra estaba en estado completamente amorfo.

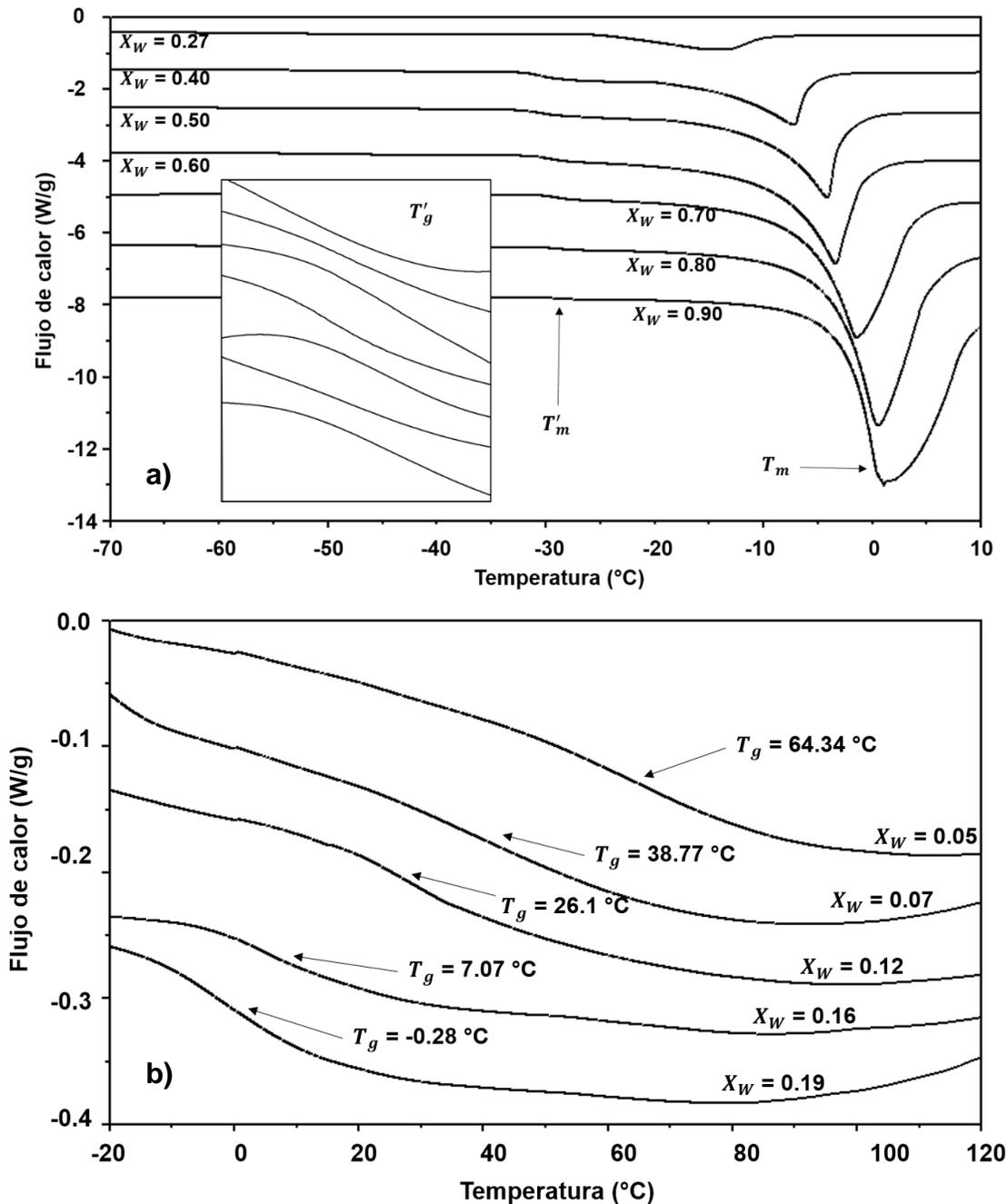


**Figura 6.3** Termograma típico obtenido experimentalmente para la determinación de  $T_g$  en el sistema modelo 17 (0.327F, 0.077G, 0.327S, 0.035P, 0.035A, 0.198M) con 2.3% de humedad (base húmeda).

Hay que mencionar que durante el enfriamiento también es posible observar la transición vítrea (comúnmente denominada  $T_{gc}$ ), no obstante, en este estudio la transición vítrea se calculó en el recalentamiento en todos los casos y, al igual que  $T_g'$  y  $T_m'$  se toma el valor central de la transición.

## 6.2 Efecto del contenido de agua en las transiciones térmicas

En la Figura 6.4a se observa la sección de los termogramas correspondiente al último calentamiento para el sistema modelo 6 (Tabla 5.1) acondicionado a diversos contenidos de humedad dentro del rango de agua congelable ( $\geq 27\%$  base húmeda). El primer punto a resaltar es el contenido de humedad en el cual aún hay presencia de agua congelable, ya que en los sistemas modelo sin maltodextrina este límite se encuentra por encima de 30% en todos los casos, mientras que en el sistema modelo 6 (0.4 maltodextrina) hay presencia de agua congelable a un contenido más bajo de humedad, ya que a 27% se observa un pico de fusión a  $-14.27\text{ }^\circ\text{C}$ , indicativo de presencia de cristales de hielo. Por otro lado, se puede observar que los picos de fusión se recorren hacia la derecha (temperaturas mayores) a mayor contenido de agua, ya que a 40% de humedad se tiene un valor de  $T_m = -7.3$ , hasta llegar a 90% de humedad con un valor de  $T_m = 1.37$ , lo que corresponde a una de las propiedades coligativas más conocidas del agua: la depresión del punto de congelación por la adición de solutos no volátiles, lo que significa que entre mayor sea el contenido de sólidos en una solución, esta tendrá un punto de congelación más bajo. Teniendo en cuenta la definición del punto de congelación, que es la temperatura a la cual la fase líquida y sólida del agua a una presión dada están en equilibrio, este fenómeno se debe a que la presencia de solutos reduce la presión parcial del agua y, por lo tanto, el equilibrio entre las dos fases (hielo-agua) solamente puede alcanzarse a través de una reducción de la temperatura, además de que la presencia de solutos en un medio acuoso aumenta la complejidad de la cristalización.



**Figura 6.4** a) Sección del calentamiento en termogramas obtenidos a distintas humedades en el rango de agua congelable para el sistema modelo 6 ( $0.45F$ ,  $0.15P$ ,  $0.4M$ ). En el recuadro se resalta la visualización de  $T'_g$ . b) Recalentamiento a distintos contenidos de humedad en termogramas obtenidos en el rango de agua no-congelable para el sistema modelo 8 ( $0.45S$ ,  $0.15P$ ,  $0.4M$ ).

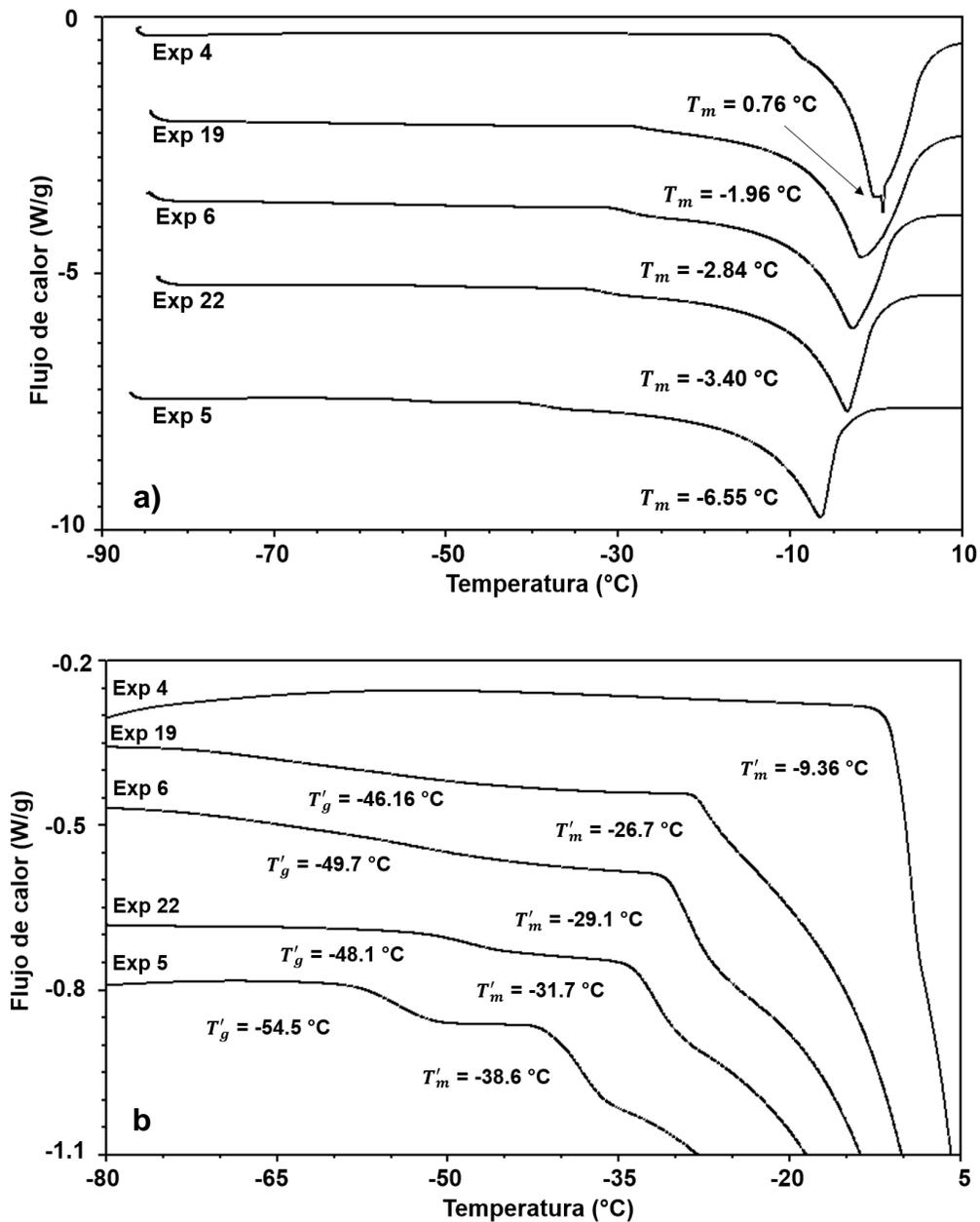
En el caso del parámetro  $T_m'$ , este presenta valores de -30.2, -30.6, -29.3, -29.7, -28.6 y -28.3 °C (Fig. 6.4a partiendo de 40% hasta 90% de humedad, ya que a 27% no se observó esta transición), exhibiendo una ligera variación, lo que coincide con lo establecido por varios autores (Orlien et al., 2003; Roos, 2010; Slade & Levine, 1989; 1991) que han encontrado que el valor de  $T_m'$  típicamente no depende del contenido de agua de un sistema (con agua congelable). Por lo anterior, en este estudio se toma como valor de  $T_m'$  el promedio de los valores obtenidos experimentalmente, siendo para este caso (Exp 6) un valor de -29.6 °C. Al igual que  $T_m'$ , comúnmente se considera que también el valor de  $T_g'$  permanece constante a través de todo el rango de agua congelable, obteniendo en este caso valores de  $T_g'$  de -44.1, -47.8, -42.2, -48.2, -44.9, -45.4 y -44.2 °C (Fig. 6.4a de 27% a 90% de humedad), con un valor final de  $T_g' = -46.5$  °C.

Por otra parte, en la Figura 6.4b se muestra una sección del recalentamiento en termogramas obtenidos para el sistema modelo 8 (Tabla 5.1) acondicionado a distintos contenidos de humedad dentro del rango de agua no-congelable. En esta Figura se aprecia que la muestra con 5% de humedad (base húmeda) presenta una temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) de 64.34 °C y, a medida que la cantidad de agua aumenta la  $T_g$  comienza a disminuir, pasando por 38.77 °C (7% humedad), 26.1 °C (12% humedad), 7.07 °C (16% humedad), hasta llegar a -0.28 (19% humedad); lo que corresponde con una plastificación por efecto del agua, que principalmente está relacionado con su valor de  $T_g$  extremadamente bajo (-135 °C).

### **6.3 Efecto del contenido de maltodextrina en las transiciones térmicas**

En la Figura 6.5 se pueden observar varios termogramas correspondientes a los sistemas modelo 4, 19, 6, 22, 5 (Tabla 5.1) acondicionados a 60% de humedad, los cuales difieren principalmente en su contenido de maltodextrina, siendo el sistema 4 el más alto con 0.8 (fracción másica), seguido por los sistemas 19 (0.598), 6 (0.4), 22 (0.198) y 5 que no contiene maltodextrina. Como es posible apreciar en la Figura 6.5a, el valor más alto obtenido para  $T_m$  es de 0.76 °C que corresponde al sistema 4, seguido del sistema 19 con  $T_m = -1.96$  °C, el sistema 6 con  $T_m = -2.84$ , el sistema 22 con  $T_m = -3.4$  y al final el sistema 5 con  $T_m = -6.55$ , lo que muestra una clara tendencia a un

valor más alto de  $T_m$  en cuanto mayor es la cantidad de maltodextrina presente en los sistemas modelo.



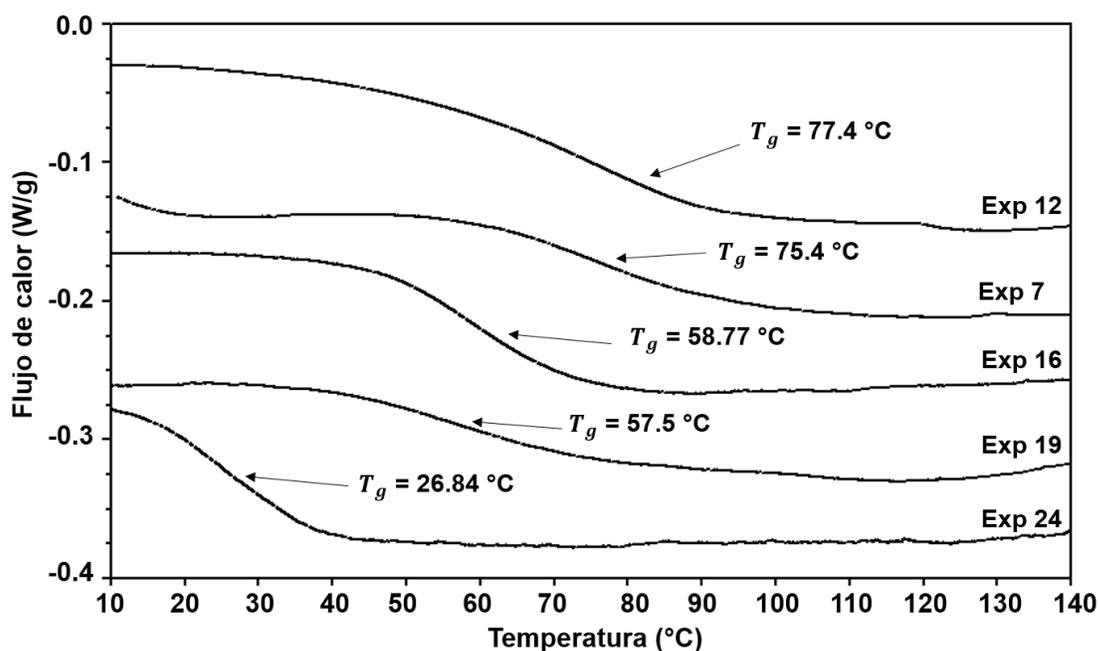
**Figura 6.5 a)** Sección del calentamiento en termogramas de los sistemas modelo 4, 19, 6, 22, 5 acondicionados a 60% de humedad. **b)** Acercamiento a la sección del calentamiento en termogramas de los sistemas modelo 4, 19, 6, 22, 5 acondicionados a 60% de humedad para la mejor visualización de  $T'_g$  y  $T'_m$ .

Está establecido que las propiedades coligativas de las soluciones son aquellas que no dependen de la naturaleza del soluto si no de la concentración del mismo en la solución o, dicho de otra manera, de la cantidad de moléculas de soluto presentes en la solución. Desde esta perspectiva, una sustancia de alto peso molecular tendrá menor número de moléculas por gramo que una de bajo peso molecular, por lo que su impacto en el punto de congelación ( $T_m$ ) será mucho menor, de ahí que la depresión en el punto de congelación es menor a mayores cantidades de maltodextrina.

En el caso del parámetro  $T_m'$  se puede apreciar que sigue la misma tendencia que  $T_m$ , ya que el valor más alto de  $T_m' = -9.36$  °C aparece en el sistema 4 con la cantidad más elevada de maltodextrina (0.8), mientras que el valor más bajo de  $T_m' = -38.6$  se observa en el sistema 5 que no contiene maltodextrina (Figura 6.5b). Esta tendencia es de esperarse teniendo en cuenta que  $T_m'$  representa el punto final de la congelación. En el caso de  $T_g'$  la tendencia es similar a los casos anteriores, sin embargo,  $T_g'$  del sistema modelo 22 (-48.1 °C) es ligeramente mayor a la del sistema 6 (-49.7 °C), siendo que éste último tiene una cantidad de maltodextrina mayor, lo que indica que en este parámetro influyen de manera importante los otros componentes del sistema, principalmente la composición de azúcares, ya que el componente mayoritario del sistema 22 es sacarosa (0.577, Tabla 3.1), mientras que en el sistema 6 es la fructosa (0.45, Tabla 5.1) y, como se puede observar en la Tabla 6.1 la sacarosa en estado puro tiene un valor de  $T_{gs}'$  mayor que la fructosa (-43.11 °C y -55.85 °C, respectivamente). También es remarcable el hecho de que en el sistema modelo 4 (contenido de maltodextrina más elevado) no fue posible la visualización de  $T_g'$ , lo que coincide con los hallazgos de Flores-Ramírez et al. (2019) donde tampoco fue posible observar  $T_g'$  en soluciones acuosas con alto contenido de maltodextrina.

En el caso del efecto que tiene la maltodextrina en muestras con contenido de humedad no-congelable, en la Figura 6.6 se muestran como ejemplo una serie de termogramas correspondientes al recalentamiento de sistemas modelo anhidros (equilibrados en Drierite® por 4 semanas). De manera general se puede establecer que todos los sistemas modelo con maltodextrina (12, 7, 16, 19, Tabla 5.1) presentan valores de  $T_g$  más altos que el sistema sin maltodextrina (24, Tabla 5.1), lo que está relacionado principalmente con la elevada  $T_g$  de la maltodextrina (170 – 180 °C). En

cuanto a la cantidad de maltodextrina de los sistemas y su  $T_g$  no hay una tendencia clara, ya que la  $T_g$  más alta (77.4 °C) la presenta el sistema modelo 12 (0.355 fracción másica de maltodextrina), luego el sistema 7 (0.4 maltodextrina) con  $T_g = 75.4$  °C, el sistema 16 (0.198 maltodextrina) con  $T_g = 58.77$  °C, el sistema 19 (0.598 maltodextrina) con  $T_g = 57.5$  °C, y finalmente el sistema 24 (sin maltodextrina) con  $T_g = 26.84$  °C. En este caso se observa que también existe una influencia de los demás componentes, ya que el sistema 19 tiene fructosa en mayor proporción (0.177, Tabla 5.1) y es el que presenta una  $T_g$  más baja (entre los que contienen maltodextrina) siendo que tiene el mayor contenido de maltodextrina (0.598), mientras que el sistema 12 que presenta la  $T_g$  más alta, tiene cantidades iguales para todos los azúcares (0.145).



**Figura 6.6** Recalentamiento en los *termogramas* de los sistemas modelo 12, 7, 16, 19, 24 obtenidos experimentalmente para muestras anhidras.

#### 6.4 Parámetros de diagrama de estado para sistemas modelo

Los parámetros obtenidos mediante los modelos de Gordon-Taylor ( $T_{gs}$ ,  $K$ ) y Chen ( $E$ ,  $B$ ) se muestran en la Tabla 6.1, así como los parámetros característicos de congelación máxima ( $T_g'$ ,  $T_m'$ ,  $X_s'$ ) para cada sistema modelo. La bondad del ajuste de los datos experimentales a los modelos está descrita por el coeficiente de determinación  $R^2$ , el cual presenta valores de 0.808 a 0.994 para el caso del modelo de Gordon-Taylor, y de 0.929 a 0.991 en el caso del modelo de Chen. El parámetro de temperatura de transición vítrea de sólidos anhidros ( $T_{gs}$ ) presenta valores que van de 10.41 hasta 157.29 °C, el parámetro  $k$  presenta valores de 2.9 a 10.32, el parámetro  $E$  varía de 0.0085 a 0.1103, el parámetro  $B$  presenta valores de 0.0557 a 0.297,  $T_g'$  varía de -57.1 a -9.47 °C,  $T_m'$  oscila entre -42.81 y -9.47 °C y  $X_s'$  va de 0.702 hasta 0.824.

En el estudio realizado por Grajales-Lagunes et al. (2018), se reportan valores de  $T_{gs}$  de 5 a 66.9 °C,  $k$  de 2.61 a 4.75,  $E$  de 0.0399 a 0.1103,  $B$  de 0.0557 a 0.2778,  $T_g'$  de -57.5 a -43.1 °C,  $T_m'$  de -42.8 a -31.3 °C y  $X_s'$  de 0.704 a 0.801 para una serie de sistemas modelo conformados por fructosa, glucosa, sacarosa, pectina y ácido cítrico. Además, como se muestra en la Tabla 6.2, en diversos estudios realizados que involucran la construcción de diagramas de estado para varios frutos (tuna, naranja, mango, fresa, piña, grosella, frambuesa, arándano, manzana, dátil, camu-camu, toronja) se observan valores de  $T_{gs}$  de 12.2 a 74.59 °C,  $K$  de 3.02 a 5.72,  $E$  de 0.0178 a 0.238,  $B$  de 0.04 a 0.1657,  $T_g'$  de -58.8 a -46.4 °C,  $T_m'$  de -50.3 a -31.2 °C y  $X_s'$  de 0.69 a 0.847. Como puede observarse, los límites superiores para los parámetros  $T_{gs}$  y  $K$  obtenidos en este estudio están muy por encima de los reportados en los estudios mencionados, mientras que el límite inferior del parámetro  $E$  está por debajo de lo reportado. De manera similar, los límites superiores de los valores de  $T_g'$  y  $T_m'$  están muy por encima de los valores reportados para sistemas modelo y reales. Todas estas diferencias, como se profundizará más adelante, están directamente relacionadas con la presencia de maltodextrina en los sistemas.

**Tabla 6.1 Parámetros de diagrama de estado estimados para los sistemas modelo**

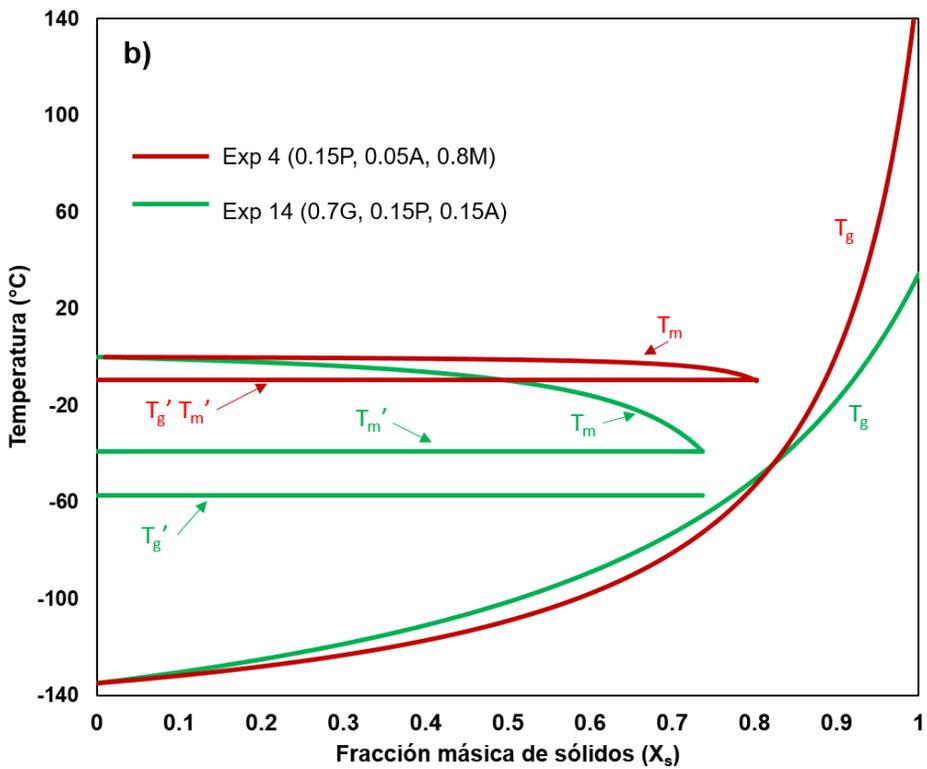
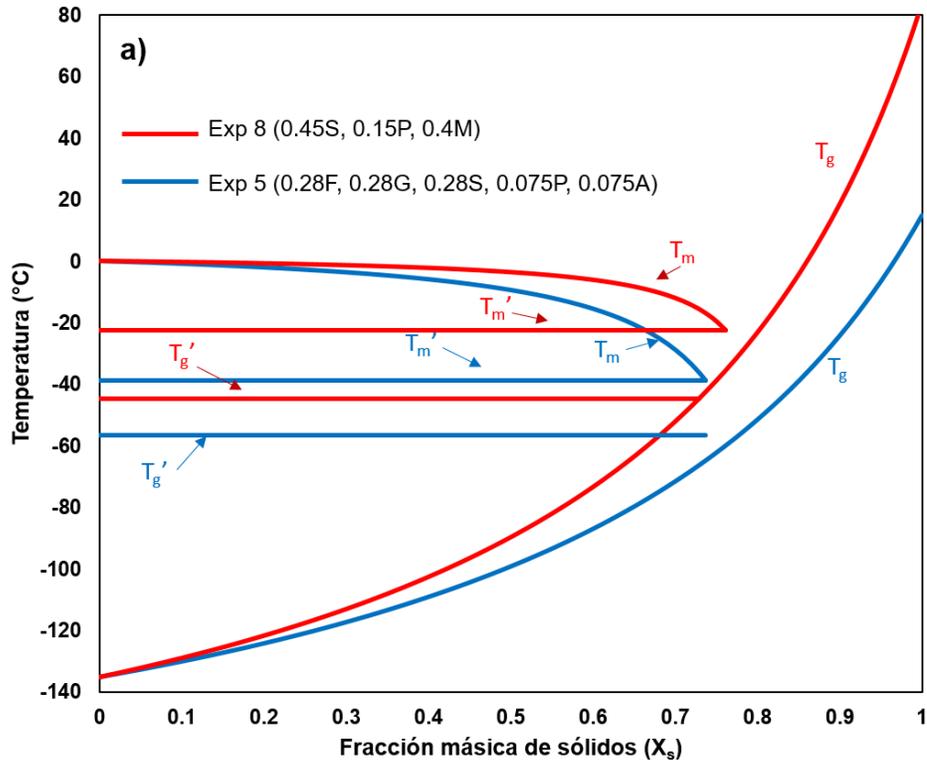
Exp		Parámetros de la Ec. (1)			Parámetros de la Ec. (4)			Condición de máxima crio-concentración		
Std	Corr	T <sub>gs</sub> (°C)	k	R <sup>2</sup>	E	B	R <sup>2</sup>	T <sub>g</sub> ' (°C)	T <sub>m</sub> ' (°C)	X <sub>s</sub> '
1	15	10.41	2.90	0.986	0.0954	0.1668	0.991	-55.85	-42.81	0.739
2	6	31.84	3.79	0.994	0.1103	0.0557	0.968	-55.66	-41.75	0.783
3	8	65.16	4.68	0.975	0.0584	0.0980	0.964	-43.11	-32.45	0.796
4	4	157.29	10.32	0.808	0.0085	0.1595	0.929	-9.47	-9.47	0.801
5	1	25.58	3.33	0.990	0.0781	0.2178	0.991	-56.42	-38.69	0.716
6	7	60.33	5.59	0.983	0.0371	0.1280	0.971	-46.55	-29.61	0.807
7	21	61.62	5.75	0.964	0.0535	0.0741	0.974	-54.80	-30.22	0.812
8	2	107.00	4.09	0.970	0.0256	0.2442	0.975	-44.64	-22.33	0.741
9	23	24.74	3.53	0.981	0.0877	0.0697	0.950	-50.16	-38.39	0.791
10	22	41.00	3.85	0.984	0.0786	0.1076	0.971	-52.01	-38.83	0.781
11	18	19.14	3.52	0.976	0.0956	0.0936	0.972	-54.58	-42.59	0.781
12	24	63.97	6.12	0.876	0.0517	0.1399	0.969	-52.00	-32.02	0.780
13	20	16.38	3.73	0.954	0.0734	0.1958	0.987	-56.91	-39.26	0.738
14	5	34.42	4.04	0.987	0.0806	0.1805	0.987	-57.10	-39.02	0.737
15	11	46.62	4.16	0.951	0.0673	0.1340	0.974	-50.40	-34.73	0.768
16	25	37.74	4.18	0.899	0.0706	0.1770	0.983	-55.89	-36.94	0.746
17	19	65.95	5.44	0.904	0.0552	0.1953	0.966	-51.62	-34.83	0.750
18	12	73.50	6.41	0.890	0.0553	0.2107	0.988	-52.34	-34.37	0.740
19	3	47.57	5.06	0.884	0.0385	0.0770	0.967	-47.43	-25.53	0.824
20	9	52.41	4.43	0.963	0.0529	0.2970	0.986	-55.48	-36.06	0.702
21	13	67.12	6.09	0.886	0.0700	0.1644	0.985	-55.42	-36.46	0.752
22	14	92.40	6.90	0.971	0.0408	0.2569	0.981	-48.91	-31.60	0.730
23	10	18.77	3.75	0.949	0.0841	0.1467	0.985	-56.37	-38.60	0.751
24	17	36.60	3.43	0.976	0.0583	0.2462	0.984	-53.53	-35.14	0.719
25	16	54.17	4.78	0.965	0.0801	0.0865	0.977	-55.84	-35.33	0.780

**Tabla 6.2 Parámetros de diagrama de estado para sistemas reales en la literatura**

Fruto	$T_{gs}$ (°C)	k	E	B	$T_g'$ (°C)	$T_m'$ (°C)	$X_s'$	Referencia
Tuna	18.0	3.55	0.0178	0.1657	-55.1	-41.8	0.757	Grajales-Lagunes et al., 2018
Naranja	23.5	3.32	0.0735	0.1139	-52.4	-35.3	0.773	
Mango	40.8	4.93	0.0811	0.1003	-50.5	-35.9	0.772	
Fresa	22.0	3.02	0.0834	0.0862	-53.2	-32.5	0.762	
Piña	17.5	3.29	0.0972	0.1287	-54.2	-39.9	0.749	
Frambuesa	42.6	4.73	0.064	0.141	-47.0	-38.0	0.780	Syamaladevi et al., 2009
Arándano	48.38	4.62	0.23	0.04	-54.86	-45.45	0.690	Vasquez et al., 2013
Manzana	41.3	3.59	0.238	-	-57.8	-50.3	0.736	Bai et al., 2001
Dátil	63.8	4.0	0.129	0.053	-46.4	-43.6	0.762	Rahaman 2004
Grosella	23.2	5.72	0.101	-	-57.2	-41.8	0.847	Wang et al., 2008
Piña	57.75	0.21	-	-	-51.6	-	0.700	Telis and Sobral, 2001
Mango	12.2	4.487	0.0695	-	-54.6	-33.0	0.840	Zhao et al., 2015
Camu camu	74.59	3.92	-	-	-58.8	-	0.730	Silva et al., 2006
Toronja	34.53	4.11	-	-	-50.0	-31.2	0.810	Fabra et al., 2009

### 6.5 Efecto de la maltodextrina en los diagramas de estado de los sistemas modelo

En la Figura 6.7a se presentan a manera de ejemplo 2 diagramas de estado obtenidos experimentalmente para los sistemas modelo 5 (sin maltodextrina) y 8 (0.4 fracción másica de maltodextrina). En esta figura se puede apreciar la elevación en la temperatura de todos los parámetros en el sistema modelo con maltodextrina, ya que tanto  $T_g'$  como  $T_m'$  presentan valores significativamente más altos en comparación con el sistema modelo sin maltodextrina, de manera que la temperatura a la cual se alcanza la máxima estabilidad en productos congelados se acerca más a la temperatura utilizada en el almacenamiento congelado comercial (-18 °C). En el caso de la curva  $T_g$ , en ambos casos se observa el comportamiento típico de plastificación por efecto del agua, sin embargo, se puede observar que los valores son más altos para el sistema 8 no solo a bajos contenidos de humedad, si no a lo largo de todo el rango de humedad, lo que permite trabajar en procesos de secado sin la formación de



**Figura 6.7** Comparativo entre diagramas de estado de sistemas modelo con maltodextrina y sin maltodextrina. **a)** Exp 5 vs Exp 8. **b)** Exp 4 vs Exp 14.

material en estado caucho, además de obtener productos más estables durante el almacenamiento. Por otro lado, la curva  $T_m$  en el sistema modelo 8 presenta una depresión del punto de congelación mucho menos pronunciada cuando se compara con el sistema modelo 5 que, como fue mencionado en la Sección 6.3, se debe al alto peso molecular de la maltodextrina. Este efecto es deseable cuando se utilizan métodos de conservación a corto plazo como el sub-enfriamiento ( $-4\text{ }^\circ\text{C}$ ), donde la depresión moderada del punto de congelación permite la formación de cristales de hielo, disminuyendo la actividad de agua y la movilidad molecular, efectos necesarios para asegurar la conservación de un alimento por este método.

En la Figura 6.7b se observa la comparación de un sistema modelo sin maltodextrina (14) con el sistema modelo 4 (0.8 maltodextrina), siendo este último el experimento que presentó mayor elevación en los parámetros térmicos. En este experimento no se logró visualizar  $T_g'$ , hecho que concuerda con lo observado por Flores-Ramírez et al., (2019), donde no se observó la aparición de esta transición en una solución acuosa al 60% de maltodextrina (DE 4 – 7). Es posible que, en este tipo de sistemas donde predomina un elevado peso molecular, las transiciones  $T_g'$  y  $T_m'$  sucedan con muy poca diferencia de temperatura, o incluso, sean eventos traslapados. Roos y Karel (1991) reportaron en un estudio que entre más alto sea el peso molecular de la maltodextrina, la diferencia entre los eventos térmicos  $T_g'$  y  $T_m'$  es menor, no obstante, también han sido asociados otros factores como la alta viscosidad de la matriz, el tipo de interacciones agua-maltodextrina y la cantidad de agua no-congelable. Tomando en cuenta lo anterior, para este experimento se considera que los dos eventos suceden a la misma temperatura ( $-9.47\text{ }^\circ\text{C}$ ), la cual está muy por encima de la temperatura de almacenamiento congelado comercial ( $-18\text{ }^\circ\text{C}$ ), y se debe principalmente a que la maltodextrina presenta valores elevados para estos parámetros cuando se encuentra en estado puro ( $-7.3$  a  $-6.3\text{ }^\circ\text{C}$ , Flores-Ramírez et al., 2019). También se puede apreciar que la depresión del punto de congelación ( $T_m$ ) del sistema 4 es muy poco pronunciada cuando se compara con la curva  $T_m$  del experimento 14 (Figura 6.7b), en lo que influye la elevada cantidad de maltodextrina que está presente en la matriz, pero, sobre todo su alto peso molecular. Este comportamiento coincide con el valor de la constante  $E$  del modelo de Chen para esta

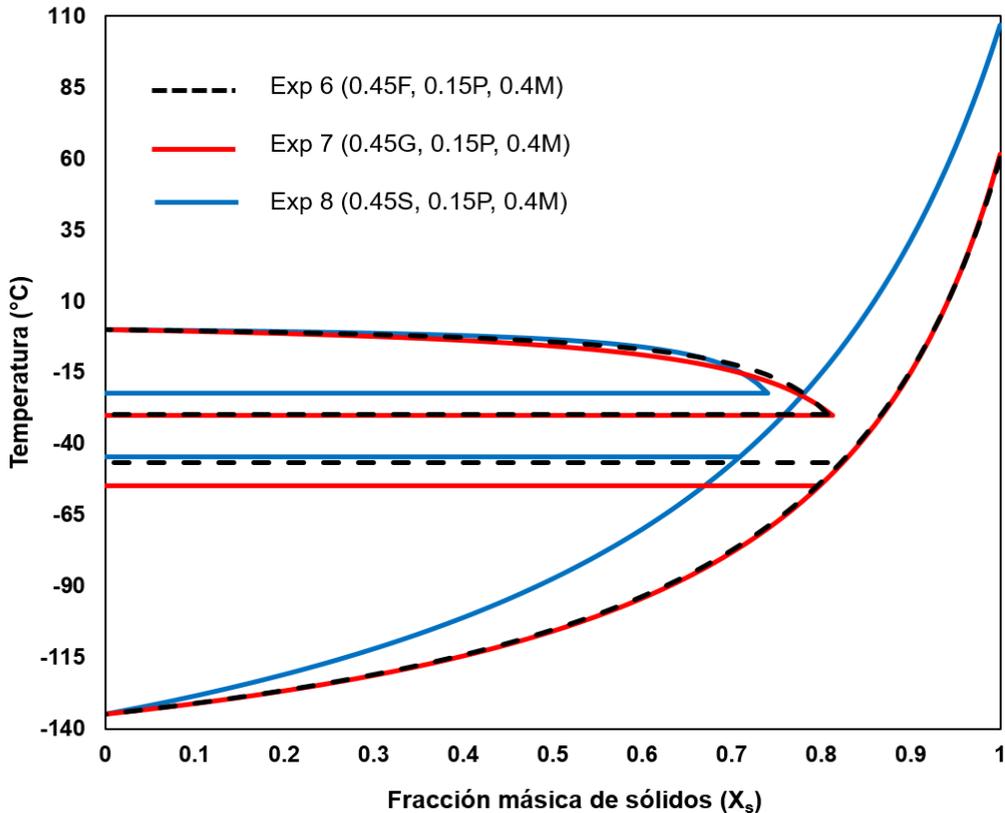
matriz ( $E = 0.0085$ , Tabla 4.1), que es el más bajo de todos los sistemas modelo, ya que este parámetro relaciona el peso molecular del agua con el peso molecular de los solutos ( $\lambda_w/\lambda_s$ ), por ello, entre más alto sea el peso molecular global de los solutos, la constante  $E$  será más baja y la depresión del punto de congelación será menos pronunciada.

Por otro lado, en la curva de transición vítrea del sistema modelo 4 se observa que el valor alcanzado para  $T_{gs}$  es muy alto ( $157.29\text{ }^\circ\text{C}$ ), siendo muy cercano a lo reportado para la maltodextrina (DE 5) pura en estado anhidro ( $188\text{ }^\circ\text{C}$ , Roos y Karel, 1991). Los valores de la curva  $T_g$  del sistema 4 se mantienen muy por encima de la curva  $T_g$  del sistema 14 en la región de agua no-congelable, sin embargo, al entrar en la región de agua congelable la pendiente extremadamente pronunciada de esta curva provoca que cruce por debajo de la curva  $T_g$  del sistema 14, exhibiendo valores más bajos a lo largo de esta zona (Figura 6.7b). Este comportamiento es consistente con el valor elevado de  $K = 10.32$  (Tabla 6.1) que se obtiene para este sistema, ya que entre más alto sea el valor de la constante  $K$  mayor es el efecto plastificante del agua en la matriz. Pese a ello, la zona de la curva  $T_g$  en la región de agua congelable no es de interés para el procesamiento de alimentos, dado que de manera general (sin importar la composición de la matriz) esta presenta valores incluso más bajos que  $T_g'$ .

Pese a que la maltodextrina tiene un fuerte efecto sobre los parámetros de estado, también es importante mencionar que el grado en que esta puede afectar a una matriz depende fuertemente de la cantidad en la que está presente y de la composición de la matriz. De esta manera, en la Figura 6.8 se ejemplifica el efecto que tiene una composición distinta de azúcares cuando la cantidad de maltodextrina es constante.

Para ello, se muestran los diagramas de estado de los sistemas modelo 6, 7 y 8 (Tabla 5.1), que tienen la particularidad de tener la misma fracción másica de maltodextrina (0.4), pectina (0.15) y un azúcar (0.45), variando únicamente el tipo de azúcar, siendo fructosa, glucosa y sacarosa respectivamente. En los diagramas de estado se observa que los parámetros  $T_g'$ ,  $T_m'$  y curva  $T_g$  con valores más altos los presenta el sistema 8, cuyo componente principal es la sacarosa. Para los sistemas con fructosa y glucosa las curvas  $T_m$  y  $T_g$  siguen prácticamente el mismo comportamiento, al igual que la línea  $T_m'$ , siendo la única diferencia el valor para la

línea  $T_g'$  que, en el caso del sistema con fructosa (Exp 6) es mayor y cercano a  $T_g'$  del sistema 8 (-46.55 y -44.64 °C respectivamente, Tabla 6.1), quedando el sistema con glucosa (Exp 7) con el valor de  $T_g'$  más bajo (-54.8 °C, Tabla 6.1).

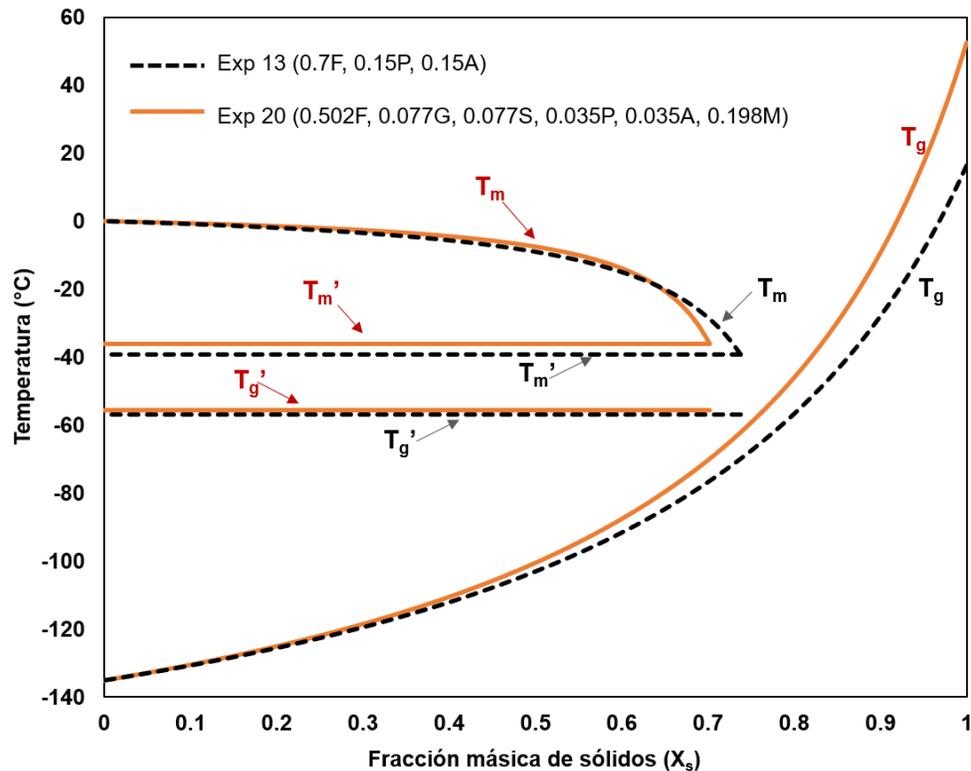


**Figura 6.8** Efecto del tipo de azúcar en diagramas de estado de sistemas modelo con la misma cantidad de maltodextrina. Comparativo entre los experimentos 6, 7 y 8.

Estas diferencias se pueden relacionar directamente con el peso molecular de los azúcares, ya que la glucosa y fructosa son monosacáridos que, por ser isómeros presentan el mismo peso molecular de 180.16 g/mol, mientras que la sacarosa es un disacárido (resultante de la unión de una molécula de glucosa y una de fructosa) con un peso molecular de 342.3 g/mol.

Como se mencionó anteriormente, también la cantidad de maltodextrina presente en una matriz rica en azúcares es un factor importante para la modificación de sus parámetros de estado. Para ilustrar este caso se muestra en la Figura 6.9 la comparación entre dos sistemas modelo que tienen como componente principal la

fructosa, mientras que uno de ellos contiene además 0.198 (fracción másica) de maltodextrina. En este caso se observa que ambos sistemas (13 y 20) presentan diagramas de estado con valores muy similares, tanto en  $T_g'$  y  $T_m'$  como en la curva  $T_m$ . Únicamente el sistema modelo 20 (0.198 maltodextrina) exhibe valores de  $T_g$  visiblemente más altos en la región de agua no-congelable cuando se compara con la curva  $T_g$  del sistema 13 (sin maltodextrina).



**Figura 6.9** Efecto de cantidades moderadas de maltodextrina en diagramas de estado de sistemas modelo ricos en azúcares. Comparativo entre los experimentos 13 y 20.

De esta manera, se tiene que, para lograr un incremento en los valores de transición vítrea en productos con baja humedad (curva  $T_g$  en zona de agua no-congelable) es suficiente una cantidad de maltodextrina del orden de 0.198 en fracción másica de sólidos, pero para lograr un incremento significativo en los parámetros de máxima crioconcentración ( $T_g'$  y  $T_m'$ ) en productos con alto contenido de humedad, se requieren cantidades de maltodextrina del orden de 0.4 en fracción másica de sólidos.

## 6.6 Análisis de varianza y desarrollo de modelos matemáticos

En la Tabla 6.3 se presentan los modelos matemáticos obtenidos a partir del modelo cuadrático de Scheffe (Ecuación 5) y el análisis de varianza llevado a cabo con un nivel de confianza del 95%. Todos los modelos son afectados linealmente por los componentes individuales de los sistemas ( $X_F$ ,  $X_G$ ,  $X_S$ ,  $X_A$ ,  $X_P$ ,  $X_M$ ), mientras que también existen interacciones binarias importantes en todos los casos, siendo los parámetros  $T_g'$  y  $X_s'$  los más afectados por estas. De manera general y, tomando en cuenta los coeficientes de regresión de los modelos, se puede apreciar que la pectina ( $X_P$ ) y el ácido cítrico ( $X_A$ ) son de las variables más importantes que afectan los valores de todos los parámetros, mientras que las interacciones de maltodextrina con los demás componentes tienen un papel importante en  $T_m'$ , y las interacciones de maltodextrina y pectina con otros componentes en el parámetro  $B$ . También, es de destacar que en el caso de los parámetros  $T_g'$  y  $X_s'$ , todas las interacciones binarias posibles tienen efecto.

Con respecto al análisis de varianza, se puede observar (Tabla 6.3) que todos los modelos son significativos ( $P(F > F_0)$ ), a excepción del parámetro  $X_s'$ . Este modelo es no-significativo con respecto al ruido, es decir, hay una alta probabilidad de que otros factores no incluidos en el modelo (ruido) afecten a la variable de respuesta. Con respecto al coeficiente de determinación  $R^2$  de los modelos obtenidos, este varía de 0.833 a 0.999, indicando que existe un buen control en la realización de los experimentos y la determinación de cada parámetro. Por otro lado, los coeficientes de variación mostrados en la Tabla 6.3 indican de manera general que hay homogeneidad entre los datos.

**Tabla 6.3 Modelos matemáticos para la predicción de parámetros de estado en función del contenido de sólidos y análisis de varianza (ANOVA) con  $p < 0.05$**

**Modelos matemáticos**

$$T_{gs} = 8.31X_F + 29.98X_G + 58.68X_S + 1295.36X_P - 885.31X_A + 10.52X_M - 2139.92X_FX_P + 1653.18X_FX_A - 2555.95X_GX_P + 2109.04X_GX_A + 122.3X_GX_M - 3002.49X_SX_P + 2526.09X_SX_A + 468.11X_SX_M$$

$$K = 2.9X_F + 3.76X_G + 4.48X_S - 130.1X_P + 119.4X_A + 3.59X_M + 109.55X_FX_P - 106.31X_FX_A + 72.36X_GX_P - 67.19X_GX_A + 12.55X_GX_M + 28.65X_SX_M + 119.8X_PX_A + 249.97X_PX_M - 248.14X_AX_M$$

$$E = 0.946X_F + 0.1019X_G + 0.0617X_S + 0.0543X_P + 0.0648X_A - 0.0003X_M - 0.1471X_FX_P - 0.0719X_SX_M$$

$$B = 0.1413X_F + 0.0645X_G + 0.0956X_S - 9.0225X_P + 3.9767X_A - 0.0164X_M + 8.3373X_FX_P + 8.0965X_GX_P + 7.8839X_SX_P + 1.0128X_SX_M + 14.3016X_PX_M - 9.8217X_AX_M$$

$$T'_g = -55.95X_F - 55.56X_G - 43.16X_S - 788.39X_P + 1081.43X_A - 25.58X_M + 4.43X_FX_G - 1.41X_FX_S + 774.71X_FX_P - 1249.55X_FX_A - 23.35X_FX_M - 11.19X_GX_S + 649.96X_GX_P - 1130.07X_GX_A - 22.25X_GX_M + 668.59X_SX_P - 1169.78X_SX_A - 4.93X_SX_M - 518.07X_PX_A + 983.83X_PX_M - 1689.13X_AX_M$$

$$T'_m = -42.92X_F - 42.31X_G - 33.39X_S - 72.78X_P + 13.8X_A - 10.8X_M - 17.99X_FX_M - 21.09X_GX_M - 15.8X_SX_A + 134.61X_PX_M - 172.4X_AX_M$$

$$X'_S = 0.75X_F + 0.78X_G + 0.80X_S + 51.35X_P - 36.73X_A + 0.72X_M + 0.08X_FX_G + 0.03X_FX_S - 53.72X_FX_P + 39.01X_FX_A + 0.05X_FX_M + 0.02X_GX_S - 52.92X_GX_P + 38.22X_GX_A - 0.30X_GX_M - 53.85X_SX_P + 39.16X_SX_A - 0.40X_SX_M - 19.73X_PX_A - 65.01X_PX_M + 57.76X_AX_M$$

Modelo	ANOVA			
	P(F>F <sub>0</sub> )	R <sup>2</sup>	Desv. Std.	C.V. (%)
<i>T<sub>gs</sub></i>	<0.0001	0.983	6.22	11.86
<i>K</i>	<0.0001	0.984	0.31	6.42
<i>E</i>	<0.0001	0.940	6.82x10 <sup>-3</sup>	10.61
<i>B</i>	0.0018	0.833	0.04	23.25
<i>T'<sub>g</sub></i>	<0.0001	0.999	0.61	1.20
<i>T'<sub>m</sub></i>	<0.0001	0.994	0.69	2.02
<i>X'<sub>S</sub></i>	0.2143	0.921	0.02	2.94

Nota: P(F>F<sub>0</sub>) (probabilidad de Fisher), R<sup>2</sup> (coeficiente de determinación), Desv. Std. (desviación estándar), C.V. (coeficiente de variación).

## 6.7 Composición de la fracción sólida de jugos de frutas

En la Figura 6.10 se muestran los cromatogramas obtenidos mediante HPLC para la separación, caracterización y cuantificación de los azúcares y ácido cítrico en las muestras de jugos. Utilizando una columna Hi-Plex H (300 x 7.7 mm, Agilent Technologies, Alemania) fue posible separar sacarosa, ácido cítrico, glucosa y fructosa con tiempos de retención de 13.2, 14.4, 15.0 y 16.2 min respectivamente, que corresponden con los picos identificados en los cromatogramas (S, A, G, F, respectivamente). Además, fueron visualizados otros picos en tiempos de retención de 11.3 y 16.6 min, indicando la presencia de componentes desconocidos (D), particularmente el primero (11.3 min) aparece de manera recurrente en todas las muestras de frutas, lo que indica que se trata de una sustancia común en este tipo de sistemas y, por lo tanto, un componente importante a tener en consideración en futuros estudios. En la Tabla 6.4 se muestra la composición obtenida para los jugos en función de su fracción sólida, donde la sumatoria total de los componentes identificados es inferior a 1. Esto se debe a la presencia de componentes desconocidos, además de otras sustancias que no pudieron ser cuantificadas por esta técnica (HPLC).

**Tabla 6.4 Composición de la fracción sólida de los jugos de fruta expresada en términos de fracción másica**

Jugo de fruta	Fracción másica de sólidos				Total	
	° Brix	$X_F$	$X_G$	$X_S$	$X_A$	$\sum_{i=1}^n X_i$
<b>Durazno</b>	12.75	0.113	0.075	0.409	0.020	0.616
<b>Mango</b>	18.28	0.112	0.015	0.702	0.020	0.849
<b>Melón</b>	8.90	0.125	0.063	0.454	0.028	0.670
<b>Piña</b>	13.28	0.095	0.033	0.553	0.034	0.715
<b>Yaca</b>	19.26	0.210	0.194	0.352	0.018	0.774

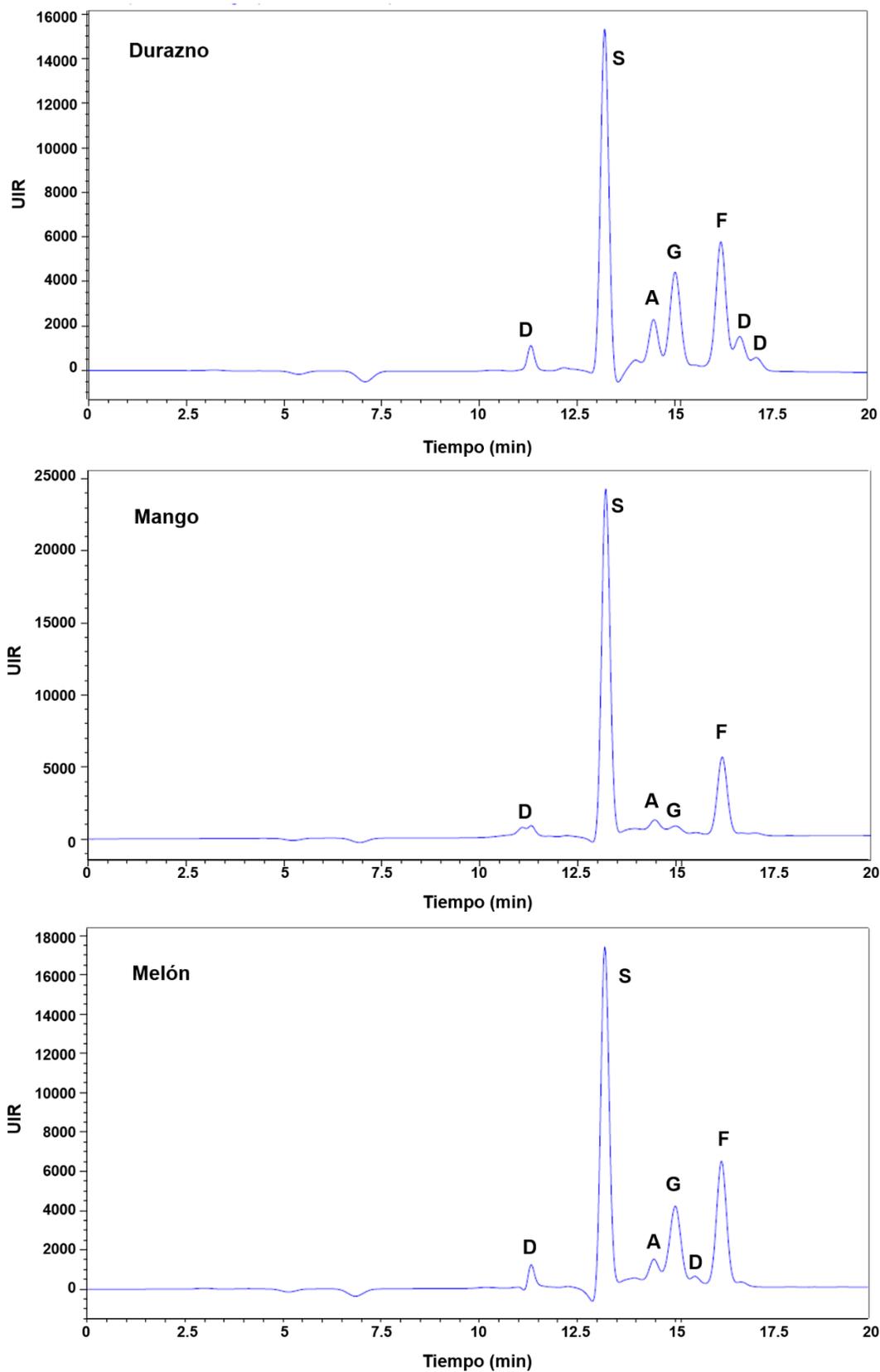
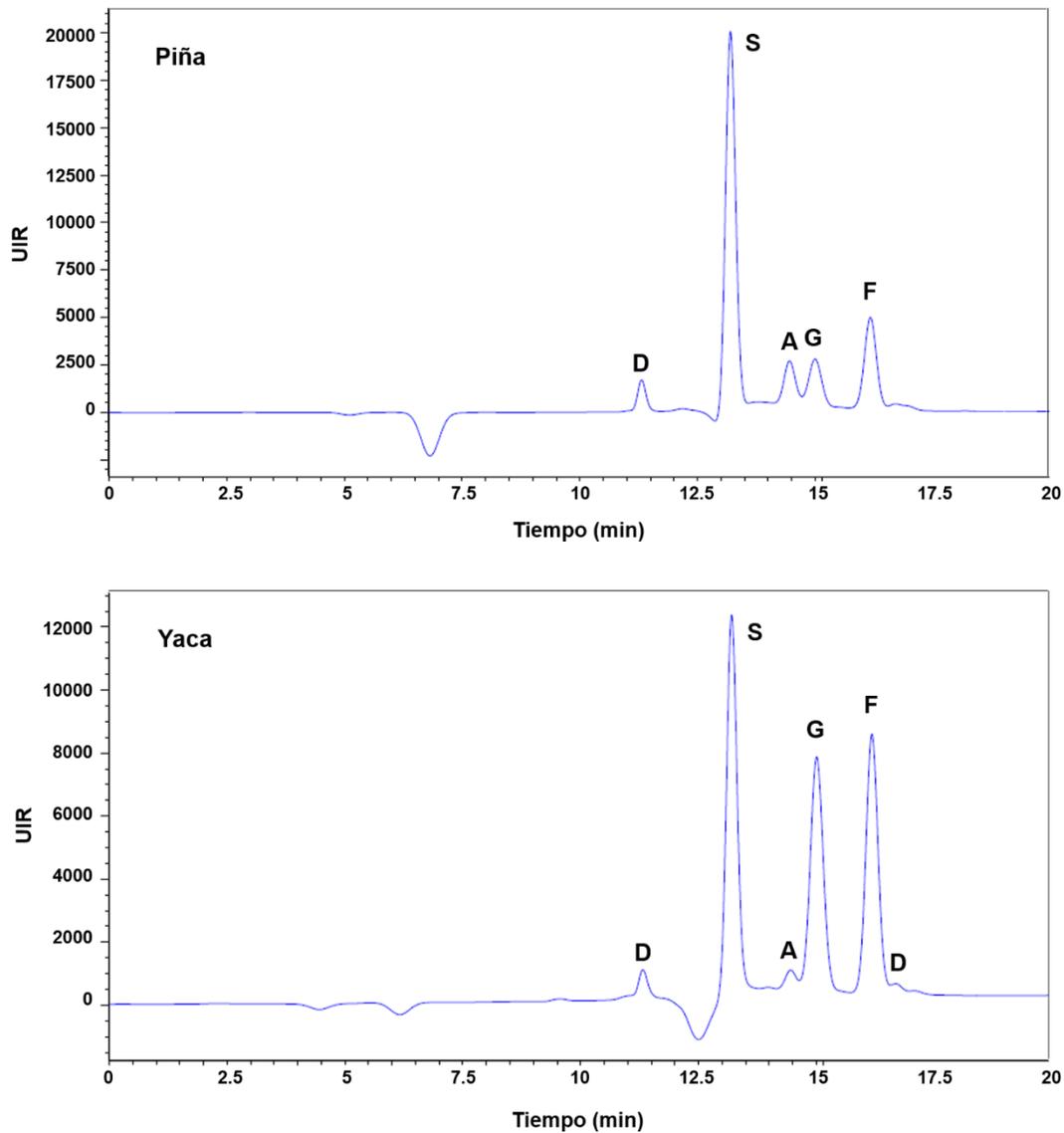


Figura 6.10 Cromatogramas de jugos de frutas obtenidos mediante HPLC (continúa).



**Figura 6.10 continuación.** Cromatogramas de jugos de frutas obtenidos mediante HPLC donde se muestra la separación de los azúcares y ácido cítrico para su cuantificación: S (sacarosa), A (ácido cítrico), G (glucosa), F (fructosa), D (Desconocido).

No obstante, se puede apreciar que en la mayoría de los casos los azúcares son los componentes principales en los jugos frutales, particularmente la sacarosa, que es el azúcar con mayor presencia en todos los jugos analizados. Por ejemplo, en el mango la sacarosa alcanza más del 70% del total de los sólidos solubles (Tabla 6.4), quedando en segundo lugar la fructosa con 11.2% y la glucosa con una mínima

cantidad; lo cual es acorde con lo encontrado por Grajales-Lagunes et al. (2018), donde la sacarosa y fructosa están presentes en 52.8% y 21.3% del total de sólidos solubles. En el caso de la piña, se aprecia que la sacarosa conforma poco más de la mitad de los sólidos solubles, mientras que la fructosa y glucosa están presentes en cantidades muy inferiores, estando en razonable concordancia con lo reportado por Telis y Sobral (2001), donde la sacarosa representa el 65% del total de azúcares encontrados en la piña. Sin embargo, lo anterior está en discrepancia con lo reportado por Grajales-Lagunes et al. (2018), donde se reportan contenidos superiores para fructosa y glucosa, quedando la sacarosa en tercer término (0.296, 0.281, 0.183, fracciones másicas respectivas). Esto es reflejo de la variabilidad existente en la composición para una misma fruta debido a factores como la maduración, variedad, condiciones climáticas, etc., lo que apoya el uso de sistemas modelo para la eliminación de estas variaciones. En lo que respecta al ácido cítrico, su fracción másica de sólidos varía de 0.012 a 0.025 (Tabla 6.4), siendo el jugo de piña el que tiene mayor contenido y el jugo de durazno el que presenta menor cantidad. Es importante señalar, que, como es citado en la literatura, además de ácido cítrico hay una gran variedad de ácidos orgánicos que pueden estar presentes en las frutas, como son el ácido málico, tartárico, fumárico, oxálico y ascórbico (Nisperos-Carriedo et al., 1992; Flores et al., 2012, Scherer et al., 2012), los cuales podrían formar parte de los componentes desconocidos en las matrices alimentarias de este estudio.

### **6.8 Perspectivas del presente estudio.**

Dado que la determinación de pectina no pudo llevarse a cabo por HPLC, es recomendable la implementación de otro método, como el método gravimétrico (AOAC). Con la cuantificación de este componente, y utilizando los modelos matemáticos obtenidos, es posible construir los diagramas de estado para cada uno de los jugos de fruta caracterizados. Adicionalmente, estos diagramas de estado podrán ser validados por comparación con los mismos diagramas obtenidos experimentalmente mediante DSC.

## 7. Conclusiones

La temperatura de transición vítrea de una serie de sistemas modelo formulados con maltodextrina determinada experimentalmente por calorimetría diferencial de barrido a distintos contenidos de humedad, fue ajustada adecuadamente al modelo de Gordon-Taylor ( $R^2 > 0.808$ ) y el efecto plastificante del agua fue correctamente descrito para la modelación de la curva de transición vítrea  $T_g$ . El parámetro de transición vítrea para sólidos anhidros  $T_{gs}$  aumenta con la adición de maltodextrina, el valor más bajo para este parámetro es de 10.41 °C correspondiente a un sistema modelo sin maltodextrina (fructosa pura), mientras que el valor más alto de 157.29 °C corresponde al sistema modelo con 0.8 (fracción másica) de maltodextrina. También se eleva el valor de la constante  $K$ , que alcanza un valor de 10.32 con 0.8 de maltodextrina, siendo que los valores típicos se encuentran en el rango de 2.9 a 6.9.

El punto de congelación de los sistemas modelo formulados con maltodextrina fue determinado experimentalmente mediante DSC y ajustado de manera adecuada al modelo de Chen ( $R^2 > 0.929$ ), describiendo correctamente la depresión del punto de congelación. En los diagramas de estado la depresión de  $T_m$  es menor con la adición de maltodextrina del orden de  $X_M \geq 0.355$ .

Para el punto final de la congelación  $T_m'$  y la transición vítrea de la matriz máximamente crio-concentrada  $T_g'$ , se obtuvieron valores que van de -42.8 a -32.4 °C y de -57.1 a -43.1 respectivamente en el caso de sistemas modelo sin maltodextrina. Cuando la maltodextrina está presente en la formulación de los sistemas modelo los valores de  $T_m'$  y  $T_g'$  van de -36.94 a -9.47 °C y de -55.89 a -9.47 °C respectivamente. En el caso de los diagramas de estado obtenidos con los sistemas modelo, se determinó que para observar un incremento en los valores de la curva  $T_g$  en la zona de agua no-congelable es necesaria una cantidad de maltodextrina  $X_M \geq 0.198$  en fracción másica de sólidos. En sistemas con agua congelable se requiere una cantidad de maltodextrina  $X_M \geq 0.4$  (fracción másica de sólidos) para observar un aumento en los parámetros  $T_g'$  y  $T_m'$ . Los valores experimentales más elevados para estos últimos son de -9.47 °C en ambos casos, quedando por encima de la temperatura de almacenamiento congelado estándar (-18 °C).

El análisis de varianza (ANOVA) muestra que los parámetros del diagrama de estado ( $T_{gs}$ ,  $K$ ,  $E$ ,  $B$ ,  $T_g'$ ,  $T_m'$ ) fueron significativamente afectados ( $p < 0.05$ ) por la composición química de los sistemas modelo, a excepción del parámetro  $X_s'$ . Además, los modelos matemáticos obtenidos para la predicción de los parámetros del diagrama de estado exhibieron un buen ajuste con respecto a los datos experimentales ( $R^2 > 0.921$ ). Estos modelos permiten estimar el valor de los parámetros de estado en función de la composición sólida de las frutas (y productos derivados), por lo que es posible construir su diagrama de estado y predecir el efecto que tendrá la adición de maltodextrina a partir del conocimiento de su composición.

El aumento observado en los parámetros  $T_g'$ ,  $T_m'$  y  $T_g$ , por la adición de maltodextrina acerca estos valores a los rangos de temperatura utilizados en procesos de congelación, almacenamiento congelado y deshidratación, con lo que se mejora la estabilidad y calidad de productos ricos en azúcares.

## 8. Referencias bibliográficas

- Al-Farsi, K.A., Al-Habsi N. A., Rahman M.S., 2018. State Diagram of Crystallized Date-Syrup: Freezing Curve, Glass Transition, Crystals-Melting and Maximal-Freeze-Concentration Condition. *Thermochim. Acta* 666,166–173.
- AOAC, 1996. *Official Methods of Analysis*, sixteenth ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, USA.
- Artés, F., Allende, A., 2005. *Minimal Fresh Processing of Vegetables, Fruits and Juices*. Emerging technologies for food processing, Academic Press. Pp. 677 – 716.
- Aschenbrenner, M., Kulozik, U., Foerst, P., 2011. In situ determination of the physical state of biological samples during freeze drying. *Drying Technol.* 29, 461–471.
- Bai, Y., Rahman, M.S., Perera, C.O., Smith, B., Melton, L.D., 2001. State diagram of apple slices: glass transition and freezing curves. *Food Res. Int.* 34, 89–95.
- Berk, Z., 2013. *Food process engineering and technology*. Academic Press, San Diego, CA. pp. 439-460.
- Bhandari, B.R., Howes, T. 1999. Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods. *J. Food Eng.* 40, 71-79.
- Bhandari, B.R., Datta, N., Howes, T., 1997. Problems associated with spray drying of sugar-rich foods. *Drying Technol.* 15 (2), 671-684.
- Bhusari, S.N., Muzaffar, K., Kumar, P., 2014. Effect of carrier agents on physical and microstructural properties of spray dried tamarind pulp powder. *Powder Technol.* 266, 354–364.
- 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.* 83 (8), 1567 – 1617.

- Cano-Chauca, M., Stringheta, P.C., Ramos, A.M., Cal-Vidal, J., 2005. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 6, 420 – 428.
- Celli, G.B., Ghanem, A., Brooks, M.S.L., 2016. Influence of freezing process and frozen storage on the quality of fruits and fruit products. *Food Rev. Int.* 32 (3), 280 – 304.
- Chen, C.S., Nguyen, T.K., Braddock R.J., 1990. Relationship between freezing point depression and solute composition of fruit juice systems. *Journal of Food Science* 55, 566-567, 569.
- Chen, Q., Bi, Y., Bi, J., Zhou, L., Wu, X., Zhou, M., 2017. Glass transition and state diagram for jujube powders with and without maltodextrin addition. *Food Bioprocess Technol.* 10, 1606–1614.
- Collares, F.P., Kieckbusch, T.G., Finzer, J.R.D., 2002. Review: glass transition in food products. *Braz J Food Tech.* 5, 117-130.
- Devahastin, S., 2000. Mujumdar's practical guide to industrial drying: principles, equipment and new developments. Editorial Mc Gill, University Montreal, Canada.
- Evans, J.A., 2008. *Frozen food science and technology*. (1er edition). Blackwell publishing.
- Fabra, M.J., Talens, P., Moraga, G., Martínez-Navarrete, N., 2009. Sorption isotherm and state diagram of grapefruit as a tool to improve product processing and stability. *J. Food Eng.* 93, 52–58.
- Fabra, M.J., Márquez, E., Castro, D., Chiralt, A., 2011. Effect of maltodextrins in the water-content–water activity–glass transition relationships of noni (*Morinda citrifolia* L.) pulp powder. *J. Food Eng.* 103, 47–51.
- Ferrari, C.C., Marconi-Germer, S.P., Dutra-Alvim, I., Zaratini-Vissotto, F., De Aguirre, J.M., 2012. Influence of carrier agents on the physicochemical

- properties of blackberry powder produced by spray drying. *Int. J. Food Sci. Technol.* 47, 1237–1245.
- Flores, P., Hellín, P., Fenoll, J., 2012. Determination of organic acids in fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem-mass spectrometry. *Food Chemistry* 132, 1049–1054.
- Flores-Ramírez, A.J., García-Coronado, P., Grajales-Lagunes, A., González-García, R., Abud-Archila, M., Ruiz-Cabrera, M.A., 2019. Freeze-Concentrated Phase and State Transition Temperatures of Mixtures of Low and High Molecular Weight Cryoprotectants. *Adv. Polym. Tech.* 2019, 1 – 11.
- Grajales-Lagunes, A., Rivera-Bautista, C., Loredó-García, I.O., González-García, R., González-Chávez, M.M., Schmidt, S.J., Ruiz-Cabrera, M.A., 2018. Using model food systems to develop mathematical models for construction of state diagrams of fruit products. *J. Food Eng.* 230, 72 – 81.
- Goula, A.M., Karapantsios, T.D., Achilias, D.S., Adamopoulos, K.G., 2008. Water sorption isotherms and glass transition temperature of spray dried tomato pulp. *Journal of Food Engineering* 85, 73-83.
- Harnkarnsujarit, N., Nakajima, M., Kawai, K., Watanabe, M., Suzuki, T., 2014. Thermal properties of freeze-concentrated sugar phosphate solutions. *Food Biophys.* 9, 213–218.
- James, S.J., James, C., 2014. *Food safety management. A practical guide for the food industry.* Academic Press, Bilthoven, the Netherlands. pp. 481-510.
- Jaya, S. and Das, H., 2009. Glass transition and sticky point temperatures and stability/mobility diagram of fruit powders. *Food and Bioprocess Technology* 2, 89-85.
- Jouppila, K., Roos, Y.H., 1994. Glass transition and crystallization in milk powders. *J Dairy Sci.* 77, 2907-2915.
- Kaale, L.D., Eikevik, T. M., Rustard, T., Kolsaker, K., 2011. Superchilling of foods: a review. *Journal of Food Engineering* 148, 74-79.

- Kasapis, S., 2006. Definition and applications of the network glass transition temperature. *Food Hydrocolloids* 20, 218-228.
- Katkov, I.I. and Levine, F., 2004. Prediction of the glass transition temperature of water solutions: comparison of different models. *Cryobiology* 49, 62-82.
- Khalloufi, S., El-Maslouhi, Y., Ratti, C., 2000. Mathematical model for prediction of glass transition temperature of fruit powders. *Journal of Food Science* 65, 842-848.
- Liu, J., 2006. Physical characterization of pharmaceutical formulations in frozen and freeze-dried solid states: Techniques and applications in freeze-drying development. *Pharmaceutical Development and Technology* 11 (1), 3–28.
- Marella, C., Muthukumarappan, K., 2013. Handbook of farm, dairy and food machinery engineering. Academic Press, Delmar New York. pp. 355-378.
- Michel-Cuello C., Ortiz-Cerda I., Moreno-Vilet L., Grajales-Lagunes A., Moscosa-Santillán M, Bonnin J., González-Chávez M. M., Ruiz-Cabrera M.A., 2012. Study of Enzymatic Hydrolysis of Fructans from Agave salmiana Characterization and Kinetic Assessment. *The Scientific World Journal* 2012, 1 – 10.
- Mishra, P., Mishra, S., Mahanta, C.L., 2014. Effect of maltodextrin concentration and inlet temperature during spray drying on physicochemical and antioxidant properties of amla (*Emblica officinalis*) juice powder. *Food Bioprod. Process.* 92, 252–258.
- Moraga, G., Martinez-Navarrete, N., Chiralt, A., 2004. Water sorption isotherms and glass transition in strawberries: influence of pretreatment. *Journal of Food Engineering* 62, 315-321.
- Moraga, G., Martinez-Navarrete, N., Chiralt, A., 2006. Water sorption isotherms and phase transitions in kiwifruit. *Journal of Food Engineering* 72, 147-156.
- Moraga, G., Talens, P., Moraga, M.J., Martinez-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., Fernandez-de Córdoba, P., Martínez-Navarrete, N., 2010. Water content-water activity-glass transition temperature relationships of spray dried borojón as related to changes in color and mechanical properties. *Food Biophysics* 6, 397-406.
- Mosquera, L.H., Moraga, G., Martínez-Navarrete, N., 2012. Critical water activity and critical water content of freeze-dried strawberry powder as affected by maltodextrin and arabic gum. *Food Res. Int.* 47, 201–206.
- Mujumdar, A.S., 2007. *Handbook of industrial drying*. (3rd Edition). Editorial CRC Press, USA.
- Murali, S., Kar, A., Mohapatra, D., Kalia, P., 2014. Encapsulation of black carrot juice using spray and freeze drying. *Food Sci. Technol. Int.* 21(8), 604–612.
- Nisperos-Carriedo, M. O., Buslig B. S., Shaw P. E., 1992. Simultaneous Detection of Dehydroascorbic, Ascorbic, and Some Organic Acids in Fruits and Vegetables by HPLC. *J. Agric. FoodChem.* 40, 1127-1130.
- Normand, V., Subramaniam, A., Donnelly, J., Bouquerand, P.E., 2013. Spray drying: Thermodynamics and Operating Conditions. *Carbohydr. Polym.* 97, 489– 495.
- Orlien, V., Risbo, J., Andersen, M.L., 2003. The question of high- or low-temperature glass transition in frozen fish. Construction of the supplemented state diagram for tuna muscle by differential scanning calorimetry. *J Agr Food Chem.* 51, 211-217.
- Patel, S.M., Nail, S.L., Pikal, M.J., Geidobler, R., Winter, G., Hawe, A., Davagnino, J. Gupta, S.R., 2017. Lyophilized drug product cake appearance: What is acceptable? *J. Pharm. Sci.* 106, 1706-1721.
- Pérez-Martínez, J. D., Sánchez-Becerril, M., Ornelas-Paz, J. J., González-Chávez, M. M., Ibarra-Junquera, V., Escalante-Minakata, P., 2013. The Effect of Extraction Conditions on the Chemical Characteristics of Pectin from *Opuntia ficus indica* Cladode Flour. *J. Polym. Environ.* 21, 1040–1051.

- Rahman, M.S., 2004. State diagram of date flesh using differential scanning calorimetry (DSC). *Int. J. Food Prop.* 7 (3), 407–428
- Rahman M.S., 2006. State diagram of foods: Its potential use in food processing and product stability. *Food Science and Technology*, 17, 129-141.
- Rahman, M.S., 2007. Glass transition and state diagrams of food, *Handbook of Food Properties*. CRC Press, USA, pp. 337-340.
- Rahman, M.S., 2010. Food stability determination by macro-micro region concept in the state diagram and by defining a critical temperature. *J. Food Eng.* 99 (4), 402 – 416.
- Ribeiro, C., Zimeri, J.E., Yildiz, E., y Kokini, J.L., 2003. Estimation of effective diffusivities and glass transition temperature of polydextrose as a function of moisture content. *Carbohydrate Polymer* 51, 273-280.
- Roos, Y., Karel, M., 1991. Water and molecular weight effects on glass transitions in amorphous carbohydrates and carbohydrate solutions. *J. Food Sci.* 56 (6), 1676–1681.
- Roos, Y. H., 2010. Glass transition temperature and its relevance in food processing. *Food Science and Technology* 1, 469-496.
- Ruiz-Cabrera, M.A., Rivera-Bautista, C., Grajales-Lagunes, A., González-García, R., Schmidt, S.J., 2016. State diagram for mixtures of low molecular weight carbohydrates. *J. Food Eng.* 171, 185 – 193.
- Ruiz-Cabrera, M.A., Schmidt, S.J., 2015. Determination of glass transition temperatures during cooling and heating of low-moisture amorphous sugar mixtures. *J. Food Eng.* 146, 36 – 43.
- Sá, M.M., Sereno, A.M., 1994. Glass transitions and state diagrams for typical natural fruits and vegetables. *Thermochim. acta* 46, 285-297.
- Saavedra-Leos, M.Z., Álvarez-Salas, C., Esneider-Alcalá, M.A., Toxqui-Terán, A., Pérez-García, S.A., Ruiz-Cabrera, M.A., 2012. Toward an improved

- calorimetric methodology for glass transition temperature determination in amorphous sugars. *CyTA – J. Food* 10 (4), 258 – 267.
- Sablani, S.S., Syamaladevi, R.M., Swanson, B.G., 2010. A review of methods, data and applications of state diagrams of food systems. *Food Eng. Rev.* 2,168-203.
- Sagar, V.R., Suresh, K. P., 2010. Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: a review. *J. Food Sci. Technol.* 47(1), 15–26.
- Santivarangkna, C., Aschenbrenner, M., Kulozik, U., y Foerst, P., 2011. Role of glassy state on stabilities of freeze-dried probiotics. *Journal of Food Science* 76 (8), 152-156.
- Scherer, R., Poloni-Rybka, A. C., Augusto-Ballus, C., Dillenburg-Meinhardt, A., Teixeira-Filho, J., Teixeira-Godoy, E., 2012. Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices. *Food Chemistry* 135, 150–154.
- Silva, C.L.M., Goncalves, E.M., Brandao, T.R.S., 2008 (a). Freezing of fruits and vegetables. In: Evans, J.A. (Ed.), *Frozen Food Science and Technology*. Blackwell Publishing, Singapore, pp. 165 – 183.
- Silva, M.A., Sobral, P.J.A., Kieckbusch, T.G., 2006. State diagrams of freeze-dried camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) Mc Vaugh) pulp with and without maltodextrin addition. *J. Food Eng.* 77, 426–432.
- Silva, M.A., Sobral, P.J.A., Kieckbusch, T.G., 2008 (b). Phase Transitions of Frozen Camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) Pulp: Effect of Cryostabilizer Addition. *Food Biophys.* 3, 312–317.
- Singh, K.J, Roos, Y.H., 2006. State transitions and freeze concentration in trehalose–protein–cornstarch mixtures. *LWT* 39, 930–938.
- Slade, L., Levine, H., 1986. A polymer physicochemical approach to the study of commercial starch hydrolysis products (SHPS). *Carbohydr Polym.* 6, 213-244.
- Slade, L., Levine, H., 1988. Non-equilibrium behavior of small carbohydrate-water systems. *Pure Appl Chem.*60, 1841-1864.

- Slade, L., Levine, H., 1989. Polymer physicochemical characterization of oligosaccharides. Papers American Chemical Society 198, 70-CARB.
- Slade, L., Levine, H., 1991. Polymer physicochemical characterization of oligosaccharides. Acs Symposium Series 458, 219-260.
- Soliva-Fortuny, R.C., Martín-Belloso, O., 2003. New advances in extending the shelf life of fresh-cut fruits: a review. Trends Food Sci. Technol. 14, 341–353.
- Syamaladevi, R.M., Sablani, S.S., Tang, J., Powers, J., Swanson, B.G., 2009. State diagram and water adsorption isotherm of raspberry (*Rubus idaeus*). J. Food Eng. 91, 460e467.
- Syamaladevi, R.M., Manahiloh, K.N., Muhunthan, B., Sablani, S.S., 2012. Understanding the influence of state/phase transitions on ice recrystallization in atlantic salmon (*salmo salar*) during frozen storage. Food Biophys. 7(1), 57–71.
- Tanushree, M., Alok, S., Raju, P.S., 2018. Use of hydrocolloids as cryoprotectant for frozen foods. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 58(3), 420-435.
- Telis, V. R. N., & Sobral, P. J. A., 2001. Glass Transitions and State Diagram for Freeze-dried Pineapple. Lebensm. Wiss. Technol. 34, 199 – 205.
- Tolstorebrov, I., Eikevik, T.M., Bantle, M., 2016. Effect of low and ultra-low temperature applications during freezing and frozen storage on quality parameters for fish. International Journal of Refrigeration 63, 37-47.
- Tonon, R.V., Brabet, C., Hubinger, M.D., 2008. Influence of process conditions on the physicochemical properties of acai (*Euterpe oleraceae Mart.*) powder produced by spray drying. J. Food Eng. 88, 411–418.
- Tonon, R. V., Brabet, C., Pallet, D., Brat, P., Hubinger, M.D., 2009. Physicochemical and morphological characterization of acai (*Euterpe oleraceae Mart.*) powder produced with different carrier agents. Int. J. Food Sci. Technol. 44, 1950–1958.

- Vasquez, C., Díaz-Calderon, P., Enrione, J., Matiacevich, S., 2013. State diagram, sorption isotherm and color of blueberries as a function of water content. *Thermochim. Acta* 570, 8-15.
- Wang, H., Zhang, S., Chen, G., 2008. Glass transition and state diagram for fresh and freeze-dried Chinese gooseberry. *J. Food Eng.* 84, 307 – 3012.
- Welti-Chanes, J., Guerrero, J.A., Barcenas, M.E., Aguilera, J.M., Vergara, F., Barbosa-Cánovas, G.V., 1999. Glass transition temperature (T<sub>g</sub>) and water activity (a<sub>w</sub>) of dehydrated Apple products. *Journal of Food Process Engineering* 22, 91-101.
- Yousefi, S., Emam-Djomeh, Z., Mousavi, S. M., 2011. Effect of carrier type and spray drying on the physicochemical properties of powdered and reconstituted pomegranate juice (*Punica Granatum L.*). *J. Food Sci. Technol.* 48(6), 677–684.
- Zhao, J.H., Liu, F., Wen, X., Xiao, H.W., Ni, Y.Y., 2015. State diagram for freeze-dried mango: Freezing curve, glass transition line and maximal-freeze-concentration condition. *J. Food Eng.* 157, 49–56.