

CAPITULO III

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1 Generalidades del aguacate.

El nombre de aguacate (*Persea americana*) deriva de la palabra nativa "aoacatl" o "ahuacatl" y recibe otros nombres como palta en Sudamérica, "avocado" en la lengua inglesa, "avocat" en francés y "abacate" en portugués. A partir de pruebas arqueológicas encontradas en Tehuacán (Puebla), con una antigüedad aproximada de 12000 años, se ha determinado concretamente que es originario de México. El aguacate en primera instancia, fue clasificado en tres grupos ecológicos o variedades: la mexicana, que es originaria de los valles de México, de regiones con altura de 1500 a 2000 metros sobre el nivel del mar (msnm); la guatemalteca originaria de Guatemala, de zonas con altura de 500 a 1 000 (msnm.); y la antillana, cuyo país de origen no ha sido precisado, en lugares con menos de 500 (msnm). A nivel mundial en 1932 comienza la explotación intensiva del aguacate, con perspectivas comerciales y de mercado inicialmente en California y Florida, y extendiéndose posteriormente a Israel, Sudáfrica Argentina etc.; es decir a regiones tropicales y subtropicales ecológicamente típicas de este cultivo (Gómez, 2000).

El fruto es generalmente ovoide, de 10 centímetros de largo, con la pulpa verdosa, suave, untuosa y casi insípida; climatérico, es decir durante su maduración manifiesta una respiración acelerada después de haber alcanzado su madurez aproximadamente a los 14 días en promedio después de haber sido cosechados. La semilla es ovoide y está protegida por una capa apergaminada (Caamal, 2000).

El aguacate Hass es una variedad comercial obtenida de una rigurosa selección a partir de la raza guatemalteca. El árbol de este aguacate es sensible al frío y la humedad ambiental, por lo que se aconseja su establecimiento en regiones libres de heladas y de vientos calurosos y secos. Es una de las variedades más cultivadas en México y de mayor importancia económica, el fruto tiene un peso entre 150 a 250 gramos, de epidermis gruesa, arrugada y quebradiza. La pulpa es cremosa con una capa externa de color verde y una interna verde amarillento es de buena calidad, no tiene fibras y posee un contenido de aceite del 20%, la semilla es de tamaño pequeño y esférica (Rodríguez, 1992).

En México se cuenta con una superficie sembrada de aguacate de aproximadamente 93,000 Ha en todo el país, de las cuales el 80% se ubica en el estado de Michoacán, seguido por los estados de Puebla, Estado de México, Morelos y Nayarit. Este producto tiene una gran importancia económica, ya que el consumo de este fruto oscila de 8 a 10 kilogramos per - capita en el país (Asociación Agrícola de Productores de Aguacate, 2002).

3.2 Producción y exportación de aguacate.

México es el principal productor mundial de aguacate y es también el exportador más importante con el 29 % del total comercializado internacionalmente. La producción nacional en el año 2000 de esta fruta fue de 907.4 mil toneladas en una superficie de 94,905 hectáreas y una superficie cosechada de 94,104 ha, con un rendimiento promedio de 9.64 ton por ha y un precio medio al productor de \$4,696 por ton. Michoacán es el gran productor nacional así como el único estado exportador (SAGARPA, 2003).

A nivel nacional, son 29 estados que se dedican a la producción del aguacate (SAGARPA 2003), sin embargo, la explotación de aguacate a nivel comercial se practica sólo en 16 Estados (Sánchez y Rubí, 1995; Martínez, 1997), entre los que participan Michoacán, Puebla, Chiapas, Estado de México, Veracruz, Jalisco, Nayarit, Morelos, Guanajuato, Guerrero, Sinaloa, entre otros.

La exportación en fresco a los Estados Unidos está creciendo en forma importante, al ampliarse las regiones exportadoras autorizadas e incrementarse los estados de ese país a los que se permite su importación. La exportación en fresco más la requerida para la producción de productos procesados de exportación (230,000 ton), representan un volumen de alrededor del 25 % de la producción nacional (Ramos, 2003).

De acuerdo a la Comisión Michoacana de Aguacate (COMA), se estima que en el año 2001, 13 empresas produjeron cerca de 75,000 ton de productos de aguacate como

guacamole, pasta, mitades congeladas y aceite crudo, que equivalen a unas 150,000 ton de aguacate fresco con un valor de 73.7 millones de US dólares.

En el mundo se produjeron en el año 2000 alrededor de 2.4 millones de ton de aguacate, volumen que creció en un 63 % desde 1980. México es el principal productor mundial de esta fruta con un 40 % del total y volúmenes que en los últimos años han variado entre las 850 y 907 mil ton. El segundo productor es EUA con el 7 % y Chile el tercero con 120 mil (5 %). Otros países productores son Indonesia, Perú y Brasil (ver figura 1) (Ramos, 2003)

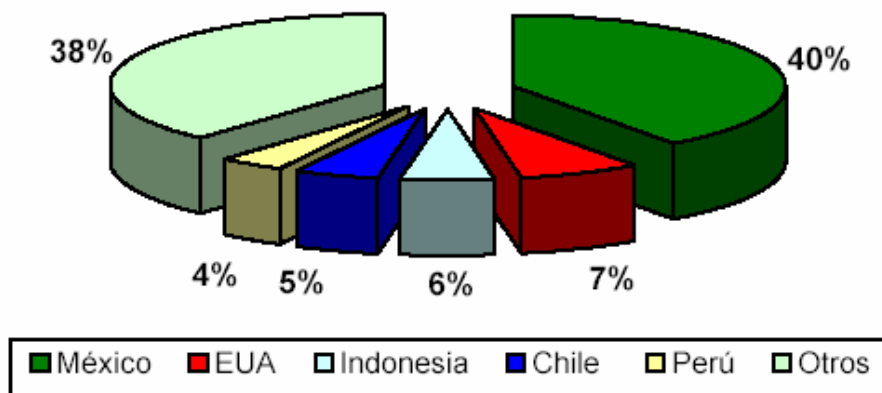


Figura 1. Principales productores mundiales de Aguacate en el 2000.

Fuente: Elaborado con datos de FAS / USDA. Circular 2002 02 FIRA / SACP José Alonso Ramos Novelo.

En la tabla I se presenta la producción nacional de aguacate en el periodo 1981 al 2001. En este período se puede observar un incremento del 42%, siendo el estado de Michoacán el que mayor incremento tuvo con un 156%, de acuerdo al último censo realizado por la Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).

Tabla I Producción de Aguacate en México .

| Años | 1992 | 1993 | 1994 | 1995 | 1996 | 1997 | 1998 | 1999 | 2000 | 2001 |
|---------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Producción (miles de Ton) | 724.5 | 709.3 | 799.9 | 790.1 | 837.8 | 762.3 | 876.6 | 879.1 | 907.4 | 940.2 |

Fuente: SAGARPA, 2003.

En el año 2001 la FAO reporta una exportación total mundial de aguacate fresco de 324 mil toneladas, con un valor de US de \$ 325 millones de dólares, México representó el 22% de este volumen, tal y como se observa en la figura 2

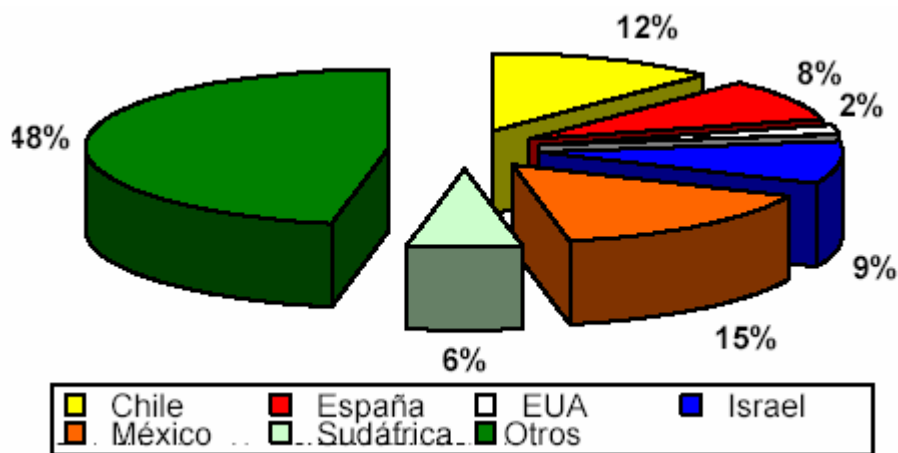


Figura 2 Principales exportadores de aguacate en el 2001.

Fuente: FAO, 2001.

3.3 Guacamole.

El guacamole es parte de la gastronomía mexicana, se caracteriza por ser una pasta untable preparada de aguacates maduros. La pulpa es mezclada con jugo de limón, cilantro, cebolla, chile serrano, sal y pimienta al gusto, para lo cual tiene que ser consumida inmediatamente después de su preparación debido a los problemas de oscurecimiento. Esta es una de las razones principales para buscar las mejores alternativas de procesamiento de este singular producto. Desde mediados de 1960 ha ido creciendo el mercado de aguacate en forma de guacamole congelado, la estabilidad de este producto se debe al aumento de la acidez al reducir el pH hasta 4.5 con la adición de jugo de limón o de toronja (Considine y Considine, 1982).

3.4 Conservación del aguacate.

El aguacate es un fruto muy apreciado, debido a su alto poder nutritivo se han probado algunos métodos de conservación sin embargo, no se comercializa ampliamente en forma procesada por presentar un rápido oscurecimiento enzimático. Las dificultades que se presentan al tratar de elaborar productos de aguacate son las siguientes: oscurecimiento enzimático de fenoles, oxidación de lípidos, crecimiento microbiano, y desarrollo de sabor y aroma desagradable durante los tratamientos térmicos, alteración de la calidad, oscurecimiento debido a la reacción de Maillard y oxidación del ácido ascórbico (Hernández, 1999; Janovitz *et al.*, 1990).

El aguacate también se ha conservado en bolsas de polietileno selladas. La liofilización y la conservación en un polvo fino ha dado un producto aceptable. El polvo se empaca en bolsas de polietileno o aluminio laminado (Pantástico, 1975).

Se han realizado investigaciones sobre la inhibición de la enzima polifenoloxidasas, especialmente para el puré de aguacate, Soliva *et al.*,(2002) en su investigación de cinéticas de inhibición y obscurecimiento de polifenoloxidasas utilizando métodos combinados, reporta que las reacciones de obscurecimiento catalizadas por esta enzima afectan la preservación del color en la pulpa de aguacate, por lo que propone la tecnología de métodos combinados como un procedimiento potencial para la preservación del puré. En estos trabajos se concluye que el uso de EDTA añadido como agente antioxidante mantiene el color del puré de aguacate a diferencia del ácido ascórbico.

Weemaes *et al.*,(1998a, 1999) estudiaron el uso de agentes antiobscurecimiento y altas presiones en la inactivación de PPO, y encontraron que en presencia de EDTA como agente inhibidor, la enzima se sensibiliza antes de aplicar una presión de 575 MPa, y después del tratamiento retarda el obscurecimiento enzimático y como consecuencia en la preservación del puré de aguacate.

López – Malo *et al.*,(1998) reportan una disminución de la actividad enzimática hasta de 15% en puré de aguacate tratado a altas presiones hidrostáticas en niveles comprendidos entre 345 y 689 MPa.

Dorantes *et al.*,(1998) evaluaron el efecto de diversos inhibidores sobre el nivel de obscurecimiento de aguacates mínimamente procesados, y reportan que las mejores combinaciones de inhibidores son la mezcla de: pirofosfato tetrasódico al 1% y cisteína al 0.2%, en productos con una a_w de 0.80 y un pH de 5.5, ofreciendo además productos aceptables en el color, sabor y la dureza.

Palou *et al.*, (2000) investigaron el efecto de las altas presiones en guacamole, observaron una disminución residual de la actividad enzimática del 15% con respecto al fresco, después de haberle aplicado 4 ciclos de 689 MPa en 5 min.

3.5 Obscurecimiento del aguacate.

Las frutas y hortalizas como es el caso del aguacate contienen sustancias naturales que son responsables de los cambios de color. Estas sustancias corresponden a diferentes grupos de pigmentos contenidos en los alimentos como lo son los carotenos y carotenoides. Por otra parte se ha puesto especial interés en la polifenoloxidasa (PPO) responsable del obscurecimiento enzimático y su rol es relevante al obtener frutas y verduras mínimamente procesadas (Dorantes, 2000).

Los aspectos de mayor importancia del aguacate para su consideración son: el contenido de grasa, el tiempo de obscurecimiento y el porcentaje de pulpa o cantidad relativa al peso de la fruta que es aprovechable. El pardeamiento u obscurecimiento que se observa en la pulpa de aguacate es el resultado de la oxidación de los fenoles, que se producen al estar en contacto con el aire, pero también en este deterioro se puede presentar el resultado de la reacción catalizada por la polifenoloxidasa (Dorantes, 2000).

El obscurecimiento debido a la polifenoloxidasa (PPO) es inducido por un daño físico a las células en las cuales están presentes compuestos monofenólicos, que al interactuar con el oxígeno atmosférico y las enzimas endógenas (PPO) son hidrolizados a orto - di fenoles y oxidados a orto - quinonas, compuestos que pueden condensarse y reaccionar no enzimáticamente para producir pigmentos oscuros.

La prevención del oscurecimiento utiliza los mismos métodos que se aplican a la inhibición de cualquier enzima: inhibición o inactivación de la enzima, eliminación de los substratos y / o la combinación de los anteriores (Palou *et al.*, 1999; Badui, 1990). Un posible método para evitar dicho oscurecimiento en guacamole es el uso de la liofilización.

3.6 LIOFILIZACIÓN.

Los alimentos vegetales y animales están compuestos principalmente por agua; desde un 7.3% en el caso de la harina de avena, hasta un 94.7% en caso de la lechuga. Las carnes y mariscos tienen un contenido aproximado de 65% (Krokida *et al.*, 1998).

Una de las técnicas más utilizadas desde tiempos inmemoriales para la preservación de alimentos corresponde al secado; mediante la eliminación del agua de los productos, se reducen o detienen procesos metabólicos no deseables como la descomposición. Además mediante el secado se produce una reducción del peso de los productos, con sus consiguientes ventajas en transporte (Izkara y Lombraña *et al.*, 1996).

Los procesos de secado se basan principalmente en la eliminación del agua presente en los productos por evaporación. Mediante este proceso se reduce el contenido de agua obteniendo los resultados deseados de pérdida de peso y conservación. Sin

embargo, al eliminarse el agua líquida, ésta arrastra varios componentes que se encuentran disueltos en ésta como son pigmentos, vitaminas y sustancias aromáticas.

Además, la salida forzada del agua rompe estructuras a su paso, con la consiguiente pérdida de volumen. Así, el producto seco no tiene las mismas características organolépticas del producto original, y su hidratación no le permite recuperar su apariencia inicial (Lombraña *et al.*, 2001; Dantechique, 2003)

La liofilización es un proceso basado en la separación de agua por sublimación (Rothmayr, 1975). La sublimación es la transformación directa del hielo a gas sin pasar a través del estado líquido, ocurre cuando la presión de vapor y la temperatura de la superficie del hielo se encuentran por debajo del punto triple del agua (4.58 mm Hg., 0°C), tal y como se ilustra en la figura 3 (Karel, 1975a).

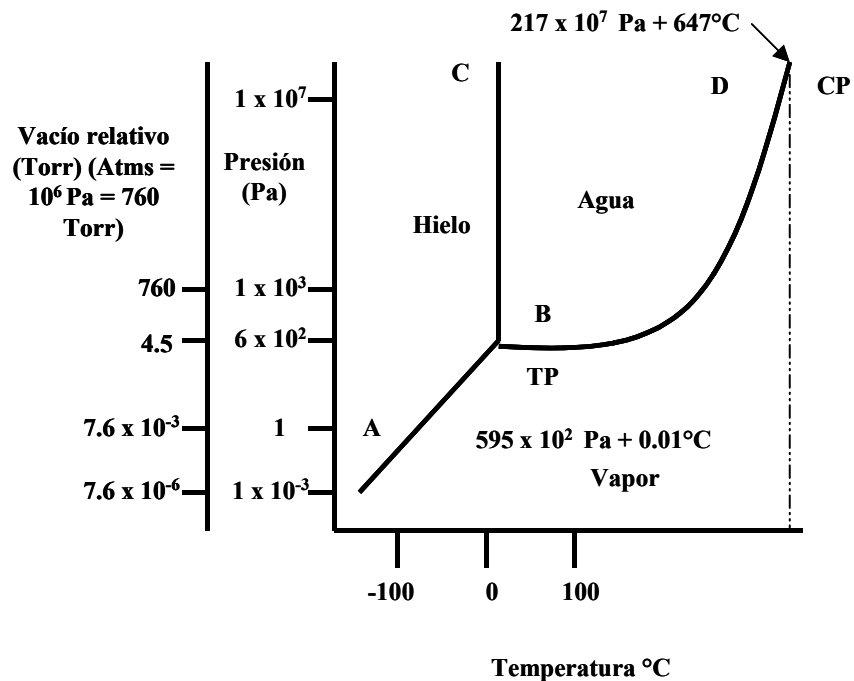


Figura 3 Diagrama de fases del agua pura

El diagrama de fases de la figura 3 está separado por líneas en tres regiones, las cuales representan el estado sólido, líquido y gaseoso del agua pura. El segmento (A – B) representa el equilibrio sólido – gas, y es la zona en donde se realizaría la liofilización, la línea (B – D) representa el equilibrio líquido – gas (evaporación), y la (B – C) representa el equilibrio líquido – sólido (fusión). El punto de intersección de las líneas TP representa el llamado Punto Triple del Agua en el cuál los tres estados se encuentran en equilibrio, y tiene un único valor para presión y temperatura siendo un punto de referencia el cual en la escala Celsius es definido (0°C) (Goff, 1992; Karel, 1975b; Emitech, 1999).

Cuando se congela una solución acuosa una serie de transformaciones físicas entran en juego, como lo es el fenómeno secundario de cristalización unido a la formación de eutécticos o eutectoides, rigidez de una parte del material en una estructura amorfa y finalmente la persistencia de una cierta cantidad de agua en forma no congelada. Precisamente en el intervalo de temperaturas denominado zona de eutexia, en el que se consigue el máximo grado de solidificación, es el que se considera adecuado para efectuar el proceso de liofilización (Wolti - Chanes, 1985).

La liofilización contrasta con los métodos más convencionales en donde el agua es eliminada por evaporación. En este proceso es de interés una verdadera y adecuada congelación, además es conveniente que el producto mantenga un adecuado estado de rigidez (Wolti - Chanes, 1985).

Tal y como se ha mencionado previamente, estas condiciones de presión y temperatura a las cuales se realiza la liofilización reducen al mínimo el arrastre de sustancias y el daño a la estructura del producto, obteniéndose la pérdida de peso y preservación de los productos deseables, pero manteniendo el contenido y distribución de los componentes en su interior, ya que un producto liofilizado tiene una alta estructura rígida, una alta capacidad de rehidratación y una baja densidad por lo que mantiene las propiedades iniciales de un alimento fresco como son: apariencia, forma, sabor y color (Wolti - Chanes *et al.*, 2004).

3.7 Descripción de un sistema de liofilización.

Un sistema de liofilización está integrado por:

- ✓ una cámara de secado múltiple, la cual consiste en un secador con bandejas en donde se colocan las muestras precongeladas.
- ✓ un sistema de vacío que ayudará a mantener el agua en forma de hielo y a su remoción por sublimación.
- ✓ una fuente de calor para suministrar energía.
- ✓ un colector de vapor de agua a baja temperatura para maximizar la diferencia de presión del vapor con respecto al producto, y para retener la humedad liberada evitando que migre hacia la bomba de vacío.

3.8 Descripción del Proceso de liofilización.

El proceso de liofilización consiste en introducir el producto congelado o sin congelar a tratar en una cámara, y aplicar vacío rápidamente. Debido a la disminución de presión, el agua contenida en el material se sublima; a continuación se comienza a calentar, manteniendo el vacío, para aumentar la velocidad de sublimación del hielo. Los niveles de vacío y de temperatura de calentamiento varían según el producto a tratar. Para obtener resultados óptimos, es muy importante tener un buen sistema de congelación, de forma de no dañar las estructuras internas de los productos durante la formación de los cristales de hielo, lo que produce pérdida de textura durante la rehidratación (Lombraña *et al.*, 2001; Dantechique, 2003).

El principio de este proceso es producir la diferencia de presión de vapor tan grande como sea posible hasta secar el material congelado. En la práctica, este proceso es de larga duración debido a baja velocidad de transferencia de la energía del producto seco (Donsi *et al.*, 2001).

3.8.1 Etapas del proceso de liofilización.

El proceso de liofilización incluye tres etapas: precongelación, secado primario, y secado secundario. El producto alimenticio debe ser congelado llegando a la máxima concentración por congelación, término que describe la redistribución del soluto de una solución acuosa con una concentración relativa de la congelación parcial del agua y la subsecuente separación del hielo (Thijssen, 1974; Karel, 1975a; Heldman y Hartel, 1997). La concentración por congelación se basa en el diagrama concentración por congelación en la Figura 4 (Noel *et al.*, 1990).

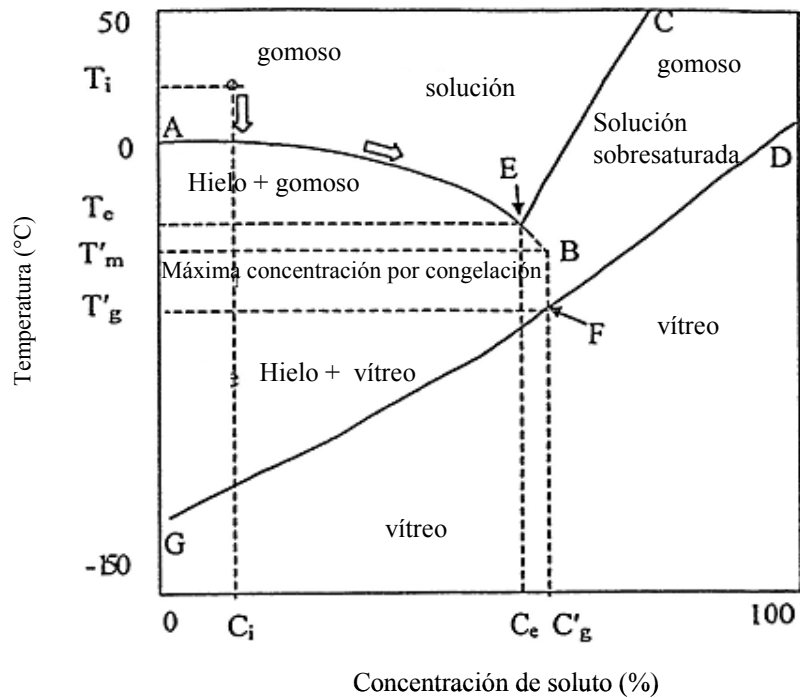


Figura 4 Diagrama típico del estado sólido – líquido de un alimento.

En la figura 4 Diagrama de fases, se identifican las diferentes fases en una mezcla. El segmento (A – B) consiste en la curva de congelación, la línea de (C – B) pertenece a la curva de solubilidad, (E) es el punto eutéctico , la curva de transición vítrea y las máximas condiciones de concentración por congelación se representan por (D-F-G) . La curva de congelación representa al equilibrio que existe de los cristales de hielo, y una solución de alta concentración y se incrementa durante el proceso de congelación. La curva de solubilidad representa el equilibrio entre la solución y la solución sobresaturada en el estado gomoso.

El punto donde intersectan las curvas de congelación y solubilidad se conoce como el punto eutéctico (E) (C_e , T_e) punto que se define como la temperatura más baja en donde la solución sobresaturada (fase líquida) puede existir un equilibrio con los cristales de hielo (fase sólida); al contenido de agua en este punto se le conoce como agua no congelable y en éste se incrementa grandemente el volumen del hielo que ha sido formado y el material no congelable tiene el menor contenido de agua (Heldman y Hartel, 1997).

El punto F (C_g , T_g) es menor que B (C_g , T_m) y representa la transición característica del diagrama de estado. La curva de transición vítrea (D - F – G) representa la transición vítrea de una mezcla soluto – agua, definida en función de la concentración del soluto y su temperatura, por encima de la curva (D - F – G), las

soluciones son gomosas e inestables o bien se encuentran en estado líquido, por debajo de la curva (D - F – G) las soluciones se transforman en estado gomoso (sólido amorfo) (Goff, 1992; Bai *et al.*, 2001; Heldman y Hartel, 1997).

3.8.2 Precongelación.

La liofilización es un cambio de estado de la fase sólida a la fase gaseosa. Para que el material sea liofilizado debe ser primeramente congelado. El método de congelación y temperatura final del alimento congelado pueden afectar la calidad del material liofilizado (Welti *et al.*, 2004, James y Datta, 2002; Chevalier *et al.*, 2000; Sun y Zhu, 1999; Irzyniec *et al.*, 1995).

Tradicionalmente se ha utilizado sumergir alimentos sólidos en nitrógeno líquido o expuestos a CO₂ como técnicas de enfriamiento rápido, favoreciendo un sistema homogéneo y uniforme obteniendo pequeños cristales de hielo los cuales preservaran la estructura del producto, a diferencia de los enfriamientos lentos resultando largos cristales de hielos y menos restricciones hacia la matriz del producto durante el proceso de secado.

En la sublimación, los espacios grandes y pequeños formados durante la congelación, facilitarán la difusión del agua, en alimentos sólidos y alimentos que tengan estructura como gel o celular, los cristales individuales son separados de otros ocasionando que no se forme una estructura porosa. Estos espacios funcionan como

difusores de vapor en el alimento seco, pero pueden llegar a atenuar la influencia negativa en las características finales del producto (Heldman y Hartel, 1997; Gruda y Postolski, 1986; Hermann, 1976).

El proceso de congelación es una parte importante de la liofilización ya que los pequeños espacios del material no congelado repercuten en la estabilidad de la estructura del producto liofilizado, además de poder afectar los subsecuentes pasos y la calidad final del producto, (Heldman y Hartel, 1997; Labconco, 2003).

La forma de congelar un alimento depende de: la estructura del alimento y los niveles de temperatura para formar un estado vítreo durante el proceso de congelamiento. Con respecto a su estructura, los alimentos a ser liofilizados deben tener un porcentaje alrededor del 70% , que en este caso el agua es el solvente y los materiales disueltos el agua son los solutos. La mayoría de las muestras a ser liofilizadas se deben de encontrar por debajo del punto eutéctico, en este momento el agua al cambiar a su estado sólido en el proceso de congelación se separa de los solutos creando áreas de mayor concentración de sólidos. Los solutos tendrán un menor punto de congelación menor que el del agua, sin embargo un alimento no se considerará completamente congelado hasta que todas las mezclas de solutos lleguen a la temperatura eutéctica que es la temperatura en la cual el alimento se encuentra completamente congelado (Sahagian y Douglas, 1996)

El segundo aspecto de congelación a considerar es: a qué temperatura se logra la formación del estado vítreo durante el proceso, al irse congelando la suspensión llega a aumentar su viscosidad a la vez que su temperatura es disminuida, para que finalmente el producto congelado en la temperatura de transición vítrea forme un sólido vítreo (Blond y Le Meste, 2004; Sahagian y Douglas, 1996). Este estado sólido vítreo es el más adecuado para asegurar que la eliminación del agua en la liofilización se logre por sublimación.

3. 8. 3 Secado Primario.

Después de la congelación del producto, se deben establecer la condiciones de presión y temperatura a las cuales se removerá el hielo por sublimación. La velocidad de sublimación del hielo en el producto congelado, depende sobre todo, de la diferencia existente entre el vapor de presión del producto y la presión de vapor del condensador (serpentin), las moléculas migran desde una mayor presión de vapor de agua hacia el menor del condensador lo que ocasiona la sublimación del hielo, normalmente se han utilizado presiones de 1 a 2 mmHg para liofilizar un alimento (Heldman y Hartel, 1997; Irzyniec *et al.*, 1995).

Una vez que el producto congelado se introduce a la cámara del liofilizador es calentado bajo condiciones de vacío, para remover el hielo por sublimación, tratando de conservar al producto a lo largo del proceso por debajo de su temperatura eutectica (Heldman y Hartel, 1997; Okos *et al.*, 1992).

El proceso de desorción en la capa seca afecta la cantidad de calor que llega en la interfase de la sublimación, además de repercutir en la velocidad del proceso. El vapor de agua producido por la sublimación del agua congelada, y por la desorción de humedad en la capa seca durante el secado primario, es transportado por difusión o flujo convectivo a través de la estructura porosa del material seco (Liapis *et al.*, 1996).

La duración del secado primario depende varios factores como la temperatura de las placas calefactoras, características del sistema de refrigeración, espesor del producto, humedad del producto y otros, todos los factores se deben manejar de tal forma que se pueda minimizar el tiempo de duración del proceso y maximizar la velocidad de sublimación en la interfase de la capa seca. Un buen manejo de dichos factores permitirá un proceso de secado constante, obteniendo un producto de calidad óptima (Izkara y Lombraña, 1996; Liapis *et al.*, 1996).

3.8.4 Secado Secundario.

Durante el secado secundario, el agua es removida completamente por lo que la humedad residual ligada al material sólido es extraída dejando un producto seco, en esta etapa se lleva a cabo la difusión de las moléculas del agua en el material seco hacia el exterior del alimento (Izkara y Lombraña, 1996; Ratti, 2001).

El secado secundario incluye la remoción de la humedad desde la capa seca del producto es decir, el agua que no está congelada. El agua no congelada es absorbida en la superficie por los solutos cristalinos, ocasionando una hidratación de ellos, y por consiguiente los solutos disuelven las partículas sólidas amorfas, las características antes mencionadas caracterizan al secado secundario como etapa final del secado primario. Los objetivos a cumplir en esta etapa son: 1) minimizar el tiempo de duración del secado sin perder la estructura y estabilidad química del alimento a liofilizar, 2) proveer una estabilidad al producto seco durante su almacenamiento (Liapis *et al.*, 1996).

En el secado secundario el calor se transfiere desde las placas calefactoras al producto tanto por radiación como por conducción, produciendo la sublimación del hielo presente en el producto. El vapor de agua es captado por un sistema de refrigeración que lo elimina del sistema, a una presión de 0,4 a 0,6 mbar y una temperatura de sublimación de -25.5 a -29.5 C.

El sistema de refrigeración produce una solidificación del vapor sobre el intercambiador de calor. En una etapa posterior, se funde el hielo para eliminar finalmente el agua (Izkara y Lombraña, 1996; Liapis *et al.*, 1996).

También es importante conocer los mecanismos que controlan la velocidad de transferencia de masa en el secado secundario como son: 1) la difusión del sólido a través de las partículas amorfas, 2) la difusión de la humedad a través de los poros secos del material liofilizado, 3) la desorción de humedad en la interfase vapor – sólido por medio de los poros secos, 4) la transferencia de masa y vapor de agua por convección en la capa seca (Liapis *et al.*, 1996).

3. 9 Beneficios de la Liofilización.

El secado convencional hace que el material se encoja o contraiga, dañando las células. Sin embargo, en el proceso de liofilización, los componentes sólidos son retenidos en su lugar por el hielo rígido. La sublimación del hielo deja espacios vacíos, preservando así la integridad de las actividades y estructura biológica y químicas del producto, ofreciendo una mejor retención de sabor y protege la estructura primaria del producto (Irzyniec *et al.*, 1995).

Debido a sus cualidades, la liofilización tiene mucho y variados usos en el laboratorio y en la industria de alimentos. Se usa para lograr la estabilidad en almacenamiento a largo plazo de los materiales biológicos, en la preparación de muestras tisulares para la microscopía electrónica.

Además, la liofilización tiene aplicaciones en el análisis químico donde es muy conveniente tener la muestra en forma seca o donde la concentración de la muestra aumenta la sensibilidad del análisis. Es ideal en estas instancias porque los componentes de la muestra permanecen estables y no cambian su composición química (Labconco, 2003).

Los alimentos liofilizados conservan su color, sabor, textura y otros atributos originales, lo que no se logra con los otros métodos de secado. Además con este método de conservación se detiene toda posibilidad de desarrollo bacteriano y no se producen modificaciones debidas a acción enzimática u oxidativa, provocadas por el oxígeno disuelto o atmosférico (Ratti, 2001; Brennan *et al.*, 1998).

4. ISOTERMAS DE SORCION.

Evidentemente la utilidad e importancia de las isotermas de sorción de humedad en la deshidratación, empacado y almacenamiento de los alimentos, y en problemas de mezclas de ingredientes y otros que involucren transferencia de humedad. En la mayoría de los casos los datos de sorción se obtienen a una temperatura normal de almacenamiento. Para poder realizar los análisis termodinámicos de sorción y modelar los procesos de deshidratación, rehidratación y estabilidad durante el almacenamiento, es necesario conocer las propiedades de sorción en un intervalo amplio de temperaturas, y así calcular los calores isotérmicos netos de sorción (Argaíz y López – Malo, 1994).

Las propiedades termodinámicas involucradas en el fenómeno de sorción de agua en los alimentos son importantes en la deshidratación por diferentes razones: primero, las propiedades termodinámicas del alimento relacionan la concentración de agua en los alimentos con la presión parcial, lo que resulta muy importante para el análisis de los fenómenos de transporte de masa y calor durante la deshidratación. Segundo, determina el punto final al que deben ser llevados los productos a deshidratar para obtener un producto estable con un contenido óptimo de humedad. Tercero, la entalpía de desorción indica la cantidad teórica mínima requerida de energía para eliminar un cantidad de agua en el alimento.

El conocer las propiedades termodinámicas también puede ayudar al conocimiento de la microestructura asociada con un alimento, así como de una interpretación teórica de los fenómenos físicos que ocurren en las interfases agua – alimento (Lopes *et al.*, 2002; Ortuño, 1997).

La relación entre el contenido total de humedad y su correspondiente a_w de un alimento en un rango de valores correspondientes a una temperatura constante, producen un isoterma de sorción de humedad cuando se expresa en forma gráfica (Rizvi, 1995).

Los isotermas de sorción han sido clasificadas en 5 tipos generales de acuerdo con Brunauer *et al.*, (1940) (figura 5). El tipo I es conocido como el de Langmuir, el tipo II es del tipo sigmoideal o isoterma de adsorción con forma de S. No existen nombres específicos para los otros tipos, los tipos I y II están muy relacionados con los tipos IV y V, excepto que su adsorción máxima ocurre a una presión menor que la presión de vapor del gas. En la mayor parte de los alimentos las isotermas de sorción no presentan forma lineal, generalmente tienen una forma sigmoidea y han sido clasificadas con el tipo I y II.

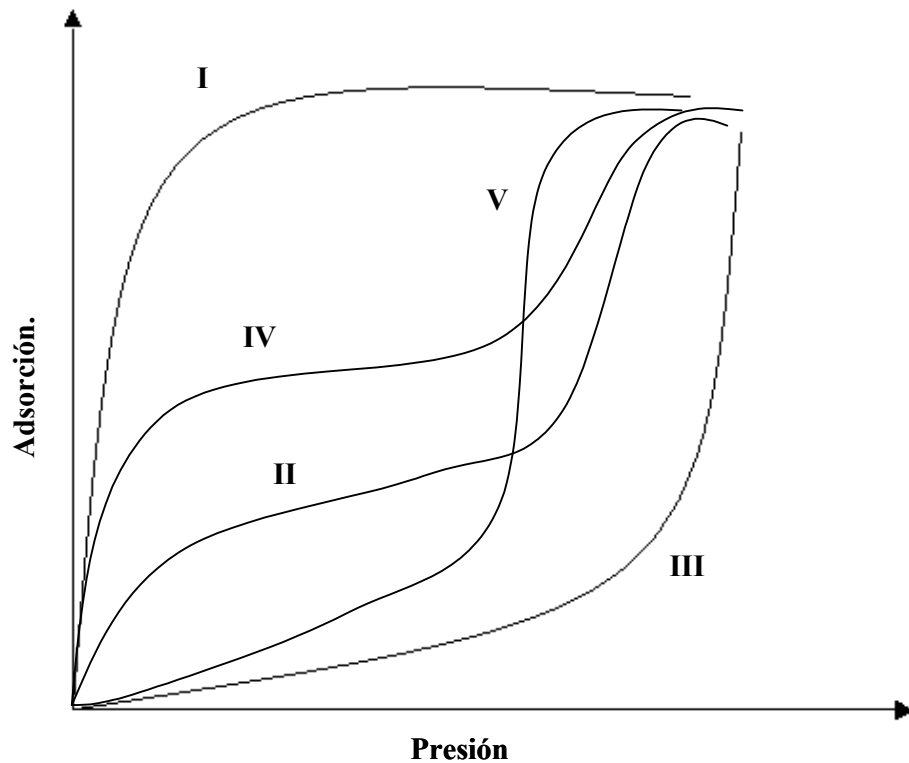


Figura 5. Clasificación de las isothermas de sorción.

Fuente: Roos, 1995a.

El contenido de humedad de equilibrio de un material higroscópico, en determinadas condiciones de temperatura y humedad relativa de equilibrio, depende del camino que se siga para alcanzar el equilibrio. Así, para una misma humedad relativa, puede haber dos isothermas, denominadas isothermas de adsorción y de desorción, obtenidas en función de las condiciones experimentales iniciales. Esto, porque el material puede presentar un contenido de humedad menor o mayor que la humedad de equilibrio para las condiciones del ambiente, este fenómeno se llama histéresis (Roos, 1995a).

Se puede decir, además, que el material está en equilibrio higroscópico con el ambiente en que se encuentra cuando la presión de vapor de agua correspondiente a la humedad del material es igual a la presión de vapor de agua del aire ambiente. Para cada especie o variedad de material, la presión de vapor tiene un valor característico acorde con la temperatura y el contenido de humedad del material.(Chen, 2003; Trujillo, 2003; Giovanelli *et al.*, 2002; Bianco *et al.*,2001)

Dada la importancia de este concepto, por sus innumerables aplicaciones en el secado, almacenamiento y manejo de los alimentos, se han desplegado esfuerzos para obtener ecuaciones que expresen el contenido de humedad de equilibrio respecto de cada producto, en función de la humedad relativa y la temperatura del aire.

Algunos de los modelos empleados para caracterizar isotermas de sorción se presentan en la tabla II.

Tabla II. Modelos de sorción empleados para describir las isotermas de alimentos.

| Isoterma | Rango de a_w | Modelo |
|-------------------------------|---------------------|---|
| Bradley (1936)* | a_w 0.06 – 0.495 | $M = A + B \ln(-\ln a_w)$ |
| BET (1938)** | $a_w < 0.5$ | $M = \frac{ABa_w}{(1-a_w)[1+(B-1)a_w]}$ A = monocapa (m_0) |
| Oswin (1946)* | $a_w < 0.57$ | $M = \exp(A + B \ln[a_w/(1 - a_w)])$ |
| Smith (1947)* | $0.5 < a_w < 0.95$ | $M = A - B \ln(1 - a_w)$ |
| Halsey (1948)*** | $0.10 < a_w < 0.80$ | $M = \left(\frac{-A}{\ln a_w}\right)^{1/B}$ |
| Herdenson (1952)** | $0.5 < a_w < 0.95$ | $M = \left(-\frac{\ln(1 - a_w)}{A}\right)^{1/B}$ |
| Khun (1964)** | $a_w < 0.89$ | $M = A \frac{1}{\ln a_w} + B$ |
| Chung y Pfof (1967)** | $0.20 < a_w < 0.90$ | $M = -\frac{1}{B} \ln\left(\frac{-\ln a_w}{A}\right)$ |
| Iglesias y Chirife (1977)**** | $0.06 < a_w < 0.81$ | $\ln(M + \sqrt{M^2 + M^{0.5}}) = Aa_w + B$ |

Fuente: * Castillo *et al.*, 2003, **Sandoval y Barreiro, 2002, ***López *et al.*, 2000, ****Delgado y Sun, 2002.

M: Contenido de humedad en equilibrio en base seca g agua / g sólidos secos.

A, B: Constantes.

a_w : Actividad de agua.

La utilidad de las ecuaciones representadas en la tabla II son múltiples. En las investigaciones relativas al almacenamiento, frecuentemente es preciso calcular los cambios de humedad del producto por medio de dichas ecuaciones; en las variaciones continuas de temperatura y humedad del aire en contacto con los productos almacenados, en los cálculos de secado independientemente del sistema de secado que se ocupe, los valores de contenido de humedad de equilibrio se calculan incontables veces y es importante conocer las ecuaciones de equilibrio higroscópico para calcular la entalpía de vaporización del agua de los productos biológicos en los procesos de secado.

El grado en que el agua interactúa con los componentes contribuye a la estabilidad de un alimento y se determina por la cantidad en la que se encuentra presente en un alimento y se define por la actividad de agua y su estado termodinámico (Labuza, 1984).

Los valores del contenido de humedad de equilibrio de los productos biológicos dependen, principalmente, de la temperatura y de la humedad relativa del aire, de la especie o variedad del producto. La madurez fisiológica y la historia del producto, junto con la manera en que se obtuvo el equilibrio (adsorción o desorción), también influyen en la humedad de equilibrio (Lahsasni *et al.*, 2002).

5. TEMPERATURA DE TRANSICIÓN VÍTREA (T_g).

Para explicar el comportamiento de los componentes de un alimento durante su procesamiento y almacenamiento hay que considerar a un alimento como un sistema natural plastificado debido a su contenido de agua. (Slade y Levine, 1991; Ross, 1995a; Sá *et al.*, 1999; Welti – Chanes *et al.*, 1999). Esta interpretación provee una forma de caracterizar físicamente al sistema y permite determinar las condiciones de almacenamiento seguro para cada alimento.

Los alimentos son sistemas multicomponentes, y en la mayoría de los casos, multifásicos. Sus componentes pueden experimentar cambios de fase en el intervalo de temperaturas o presiones bajo las cuales son procesados, almacenados o consumidos. Estos cambios de fase afectan de manera importante su calidad y estabilidad y pueden ser determinantes para las condiciones de procesado (Grattard *et al.*, 2002; Martínez *et al.*, 1998).

5.1 Conceptos generales.

Los estados básicos en que pueden encontrarse la materia son sólido, líquido o gas. Sin embargo, la estructura de los sólidos pueden variar de formas muy simples a formas muy complejas, cristalina o amorfa, de acuerdo a las condiciones geométricas impuestas por las uniones o empaquetamiento de los átomos o moléculas en el espacio.

El cambio de sólido cristalino a líquido ocurre en una temperatura determinada (temperatura de fusión), e implica que los componentes pasen de un estado ordenado a uno desordenado en un estado líquido, es decir, aumenta enormemente la movilidad de las moléculas originando una transición de primer orden, especialmente en alimentos deshidratados que tengan un bajo contenido de humedad, y en alimentos congelados los cuales se encuentran en un estado metaestable, siendo muy sensibles a cambios en el contenido de humedad y temperatura (Sá et al.,1999; Roos 1995a).

Existen componentes que a temperaturas por debajo del punto de congelación no forman redes totalmente ordenadas, entonces tendremos sólidos amorfos, que podrían estar en un estado vítreo o gomoso dependiendo de la temperatura. En el estado vítreo, las moléculas presentan un grado de movilidad similar al de los sólidos cristalinos, y en un estado gomoso la movilidad molecular aumenta drásticamente y el material adquiere propiedades viscoelásticas (Cnossen *et al.*,2001; Martínez *et al.*, 1998), entre transiciones de segundo orden se encuentra la transición vítrea, en donde ocurre el paso de vítreo a gomoso, o bien podrá pasar de gomoso a líquido a la correspondiente temperatura de fusión, estas características son de importancia para entender aspectos como: estabilidad del alimento (Roos, 1995a; Delgado y Sun, 2002).

Los estados vítreo y gomoso son estados de no equilibrio, lo que significa que es posible que evolucionen con el tiempo, por lo que se puede considerar que la máxima estabilidad se refiere a la velocidad con la que se ocurren determinadas reacciones de deterioro de los alimentos, y se consigue manteniendo el producto por debajo de su temperatura de transición vítrea (Khalloufi y Ratti, 2003; Ross, 1995a, 1995b).

Los métodos normales para producir materiales amorfos incluyen: la eliminación rápida del disolvente o el enfriamiento rápido a temperaturas inferiores a la temperatura de fusión, en este caso la transición vítrea se genera en alimentos cuando son congelados, ocasionando la remoción del líquido por la concentración del agua por congelación especialmente este fenómeno se ve presente en alimentos con alto contenido de humedad (Walstra, 2003, Martínez *et al.*, 1998).

Como se ha mencionado antes, la consecuencia de las transiciones de fase, es el cambio en la movilidad molecular, lo que está relacionado con cambios en algunas propiedades físicas del sistemas como: las propiedades mecánicas y las difusionales. Las primeras están relacionadas con el comportamiento del producto frente a determinados esfuerzos o deformaciones, mientras que los cambios en las propiedades difusionales afectan a la velocidad con que se producen las reacciones de deterioro como son: el obscurecimiento no enzimático, la pérdida y oxidación de lípidos o aromas encapsuladas, reacciones enzimáticas etc, (Martínez *et al.*, 1998).

La fuerza impulsora para que se produzca una transición de fase es el potencial químico (μ), si el potencial químico de un componente difiere entre dos fases, se produce un cambio espontáneo desde la fase con mayor (μ) hacia la fase con menor (μ) hasta que se alcance el equilibrio.

En un sistema que consiste en un solo componente (puro) el potencial químico es igual a la energía molar de Gibbs (Roos, 1995a), siendo un proceso a presión constante, la variación de la energía libre (G) con la temperatura es igual al valor negativo de la entropía (S) (ecuación 1), dado que la entropía es una función termodinámica relacionada con el desorden molecular, entonces S será menor en estado sólido que en el estado líquido y en éste es menor que en la fase gas (figura 6) (Martínez *et al.*, 1998; Roos, 1995a).

$$\left(\frac{dG}{dT}\right)_p = -S \quad (1)$$

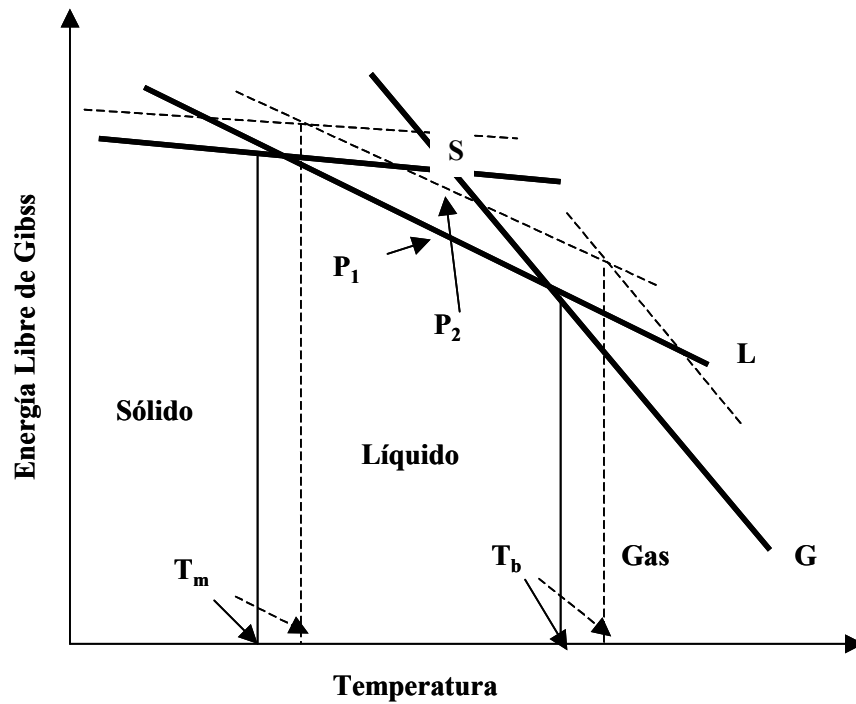


Figura 6. Representación esquemática de la variación de la energía de Gibbs de un componente puro en las distintas fases en función de la temperatura a presión constante (T_m = temperatura de fusión; T_b = temperatura de ebullición).

Los puntos de corte de las rectas corresponden a temperaturas en las cuales se igualan la G (o el μ) de dos estados, lo que definen una situación de equilibrio entre esas dos fases. A una presión diferente, la situación cambia, de manera que al aumentar la presión, aumenta G y también las temperaturas de cambio de fase. El efecto es más notable sobre la temperatura de ebullición, debido al mayor volumen molar de la fase gas. El cambio de G con la presión a temperatura constante viene descrito por la ecuación 2 (Roos, 1995a; Martínez *et al.*, 1998).

$$\left(\frac{dG}{dP}\right)_T = V \quad (2)$$

5.2 Clasificación de las transiciones de fase.

En las clasificaciones de transferencia de fase es importante establecer un criterio para definir los principios generales que las gobiernan. La energía de Gibbs o el potencial químico se utilizan para su clasificación en: transiciones de primer orden, segundo orden y de orden superior. Esta clasificación se basa en la observación discontinua que presentan distintas funciones de estado a la temperatura de transición (Ross, 1995a).

5.2.1 Transiciones de primer orden.

Se favorece este tipo de transición de acuerdo a una determinada temperatura (T) o presión (P) ocasionando la primera derivada del potencial respecto a P o T de la función de la energía libre (G) (Figura 7), conforme en la ecuación 1 y 2 describen la relación que existe entre la entalpía, entropía, energía de gibbs y temperatura a presión constante, por ejemplo un sólido – líquido, líquido – vapor tienen diferentes entalpías y entropías por lo que tendrán dos fases diferentes. Los cambios de entalpía, entropía y

volumen son transiciones típicas de primer orden. Dentro de las técnicas utilizadas para la determinación de este tipo de transiciones se aplica un análisis calorimétrico basado en la determinación del cambio de entalpía o volumen respectivamente (Roos, 1995a).

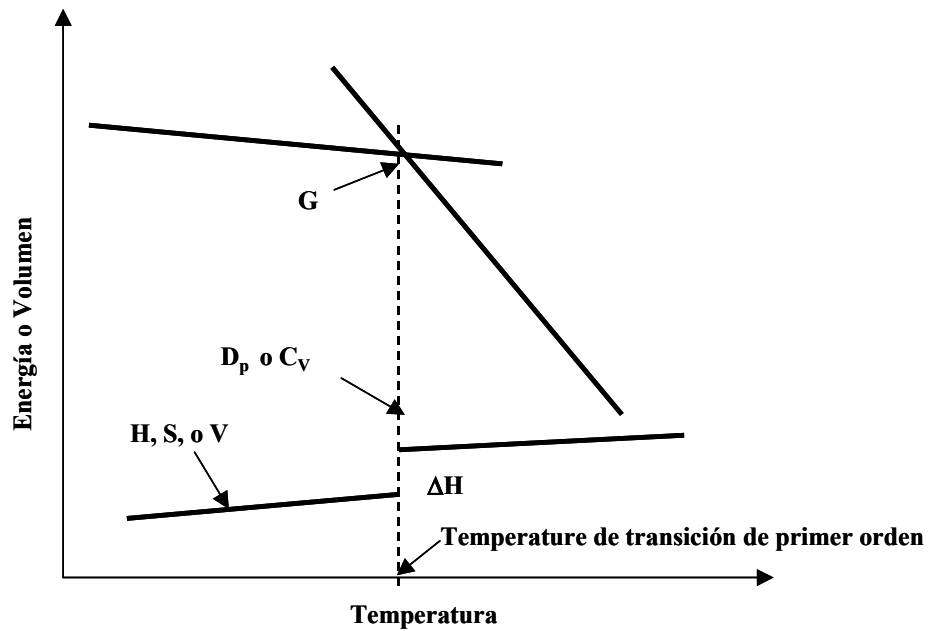


Figura 7. Cambios en las propiedades termodinámicas como consecuencia de una transición de primer orden, G = energía libre de Gibbs, H = entalpía, S = entropía, V = volumen C_p o C_v tiene un valor infinito en las transiciones de primer orden.

5.2.2 Transiciones de segundo orden.

Las transiciones de fase de segundo orden en la temperatura de transición vítrea son de importancia para entender aspectos con estabilidad y procesamiento (Delgado y Sun, 2002; Sá, 1999), son un tipo de transiciones en las cuales la segunda derivada del potencial químico (μ) y la energía de Gibbs (G) presenta una discontinuidad en el cambio de la temperatura de transición, y a la vez no presenta una discontinuidad en la primera derivada con respecto a la energía de Gibbs (G). Los efectos en las transiciones de segundo orden, se dan sobre la entalpía, entropía, energía de Gibbs, capacidad calorífica y en el volumen como se ilustra en la figura 8 (Rahman *et al.*, 2003; Roos, 1995a, 1995b).

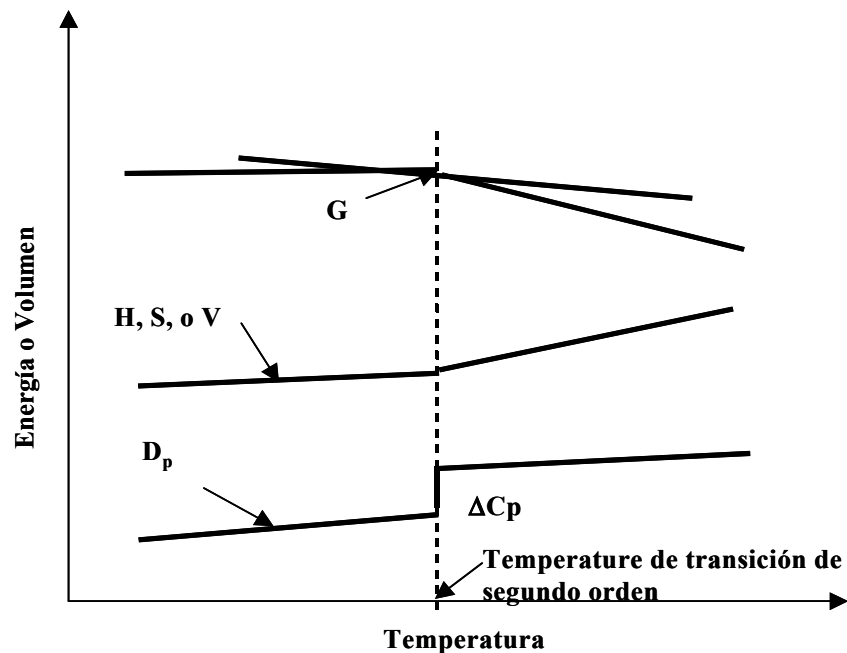


Figura 8. Cambios en las propiedades termodinámicas como consecuencia de una transición de segundo orden, H = entalpía, S = entropía, G = energía de Gibbs, V = volumen de las dos fases en la misma temperatura de transición vítrea.

Las transiciones de segundo orden no presentan calor latente, ni cambios netos en el volumen del sistema, pero si presentan un calor específico discontinuo. La capacidad calorífica es diferente en las dos fases, pero no es infinita en la temperatura de transición de vítrea, lo cual ocurre en las transiciones de primer orden, como un ejemplo relevante en este tipo de transición en alimentos, es el que rige el paso del estado vítreo a gomoso: llamado transición vítrea (Roos, 1995; Martínez *et al.*, 1998).

5.3 Efecto de la actividad de agua (a_w) en la temperatura de transición vítrea (T_g).

La actividad de agua a_w se ha utilizado para caracterizar el agua en un sistema en equilibrio que es igual a un equilibrio relativo de la presión de vapor (RVP). La definición asume el fenómeno de la dependencia del tiempo el cual afecta la a_w . (Roos, 1995b).

En la composición de los alimentos, están presentes una gran cantidad de compuestos solubles, los cuales pueden concentrarse conforme se remueve el agua, afectando algunas propiedades fisicoquímicas, el cambio del estado físico de estos solutos y ciertos fenómenos son dependientes del contenido de humedad, por lo que la actividad de agua es un concepto necesario para la preservación de un alimento, pero la aplicación se limita en el comportamiento no equilibrado para componentes amorfos metaestables en bajos contenidos de humedad, un material amorfo puede existir en dos formas: sólido (vítreo), y un material viscoelástico o un fluido viscoso enfriado (goma).

Al remover agua del alimento rápidamente por: evaporación, deshidratación, extrusión, congelación y otros métodos que resultan de la sobresaturación de los componentes solubles trae como consecuencia la formación de sólidos solubles, los cuales pueden existir como material amorfo, el estado físico de estos componentes dependen de la temperatura de transición desde un estado vítreo a un estado gomoso originando una transición de fase de segundo orden, es decir, ocurre este fenómeno cuando se sobrepasa su temperatura de transición vítrea, por lo que incrementa su movilidad molecular. La temperatura de transición vítrea usualmente se da en las temperaturas iniciales e intermedias en un rango de temperatura, ocasionando cambios en sus propiedades térmicas, mecánicas y dieléctricas al encontrarse por encima de la T_g (Cnossen *et al.*, 2001; Welte - Chanes *et al.*, 1999; Roos, 1995a, 1995b).

El agua en los alimentos, se comporta como agente plastificante, por lo que puede llegar a disminuir la T_g de los componentes anhidros en el alimento, influyendo en el estado físico de los biopolímeros amorfos presentes, investigaciones anteriores sugieren el uso de isotermas de sorción para el estudio del efecto plastificante del agua cuando se encuentra a temperatura constante y presión relativa, con el objetivo de evaluar las mejores condiciones durante su almacenamiento (Roos, 1995b).

5.4 Calorimetría diferencial de barrido (DSC).

La calorimetría diferencial de barrido es la técnica más común para determinar transiciones de fase en compuestos inorgánicos, polímeros y alimentos. El método consiste en proporcionar un flujo de calor, a velocidad constante, a la muestra y a un material de referencia de composición conocida que se sabe que no sufre cambios en el intervalo de temperaturas en que se van a hacerse las determinaciones (Blond y Le Meste, 2004; Cnossen *et al.*, 2001; Sá *et al.*, 1999; Martínez *et al.*, 1998; Roos 1995a).

Es muy importante que el contenido en agua de las muestras permanezca constante durante la determinación de la transición, puesto que la cantidad de agua tiene una gran influencia sobre la temperatura a la cual se producen (Roos 1995a).

Las mediciones en el análisis calorimétrico registran la diferencia de energía administrada entre la muestra y la de referencia manteniendo la misma temperatura en ambas, por lo que genera cambios endotérmicos o exotérmicos durante mediciones dinámicas en función de la temperatura o isotérmicas en función del tiempo (Kolbe *et al.*, 1999; Roos 1995a; Martínez *et al.*, 1998).

En la figura 9 representa un transición de primer orden en donde se reproducen picos. El calor latente de transición es obtenido por la integración de picos, teniendo en cuenta el flujo de calor y cantidad de muestra analizada (Blond y Le Meste, 2004; Roos, 1995a).

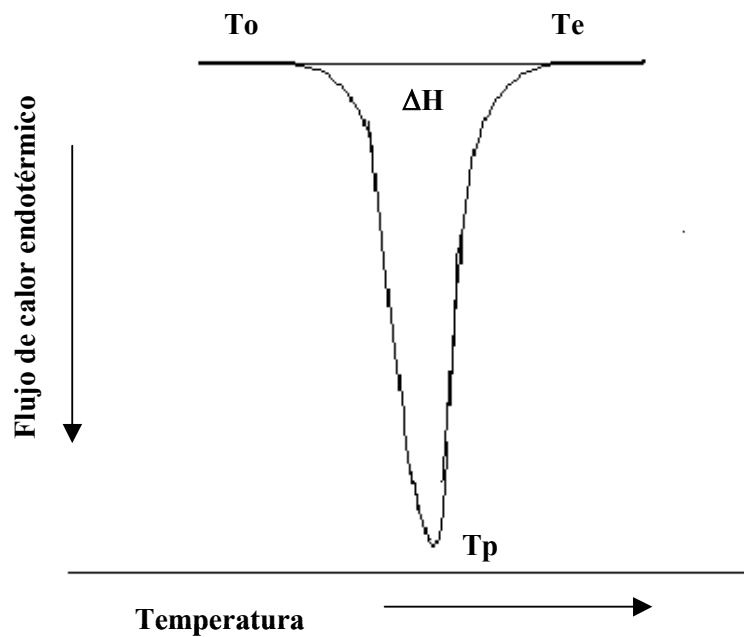


Figura. 9. Representación esquemática de un termograma, mostrando un endotermo correspondiente a una transición de primer orden como la fusión: T_o = temperatura de inicio de la transición, T_p = temperatura del pico endotérmico, T_e = temperatura final de la transición.

En la figura 10 se ilustra una transición de segundo orden, originando saltos conforme el flujo de calor y temperatura, además se representa la forma de obtener la temperatura de transición vítrea y el cambio en la capacidad calorífica. Normalmente, la temperatura a la que empieza la transición o la temperatura en el punto medio, son las que se utilizan para cuantificar la T_g (Roos, 1995a).

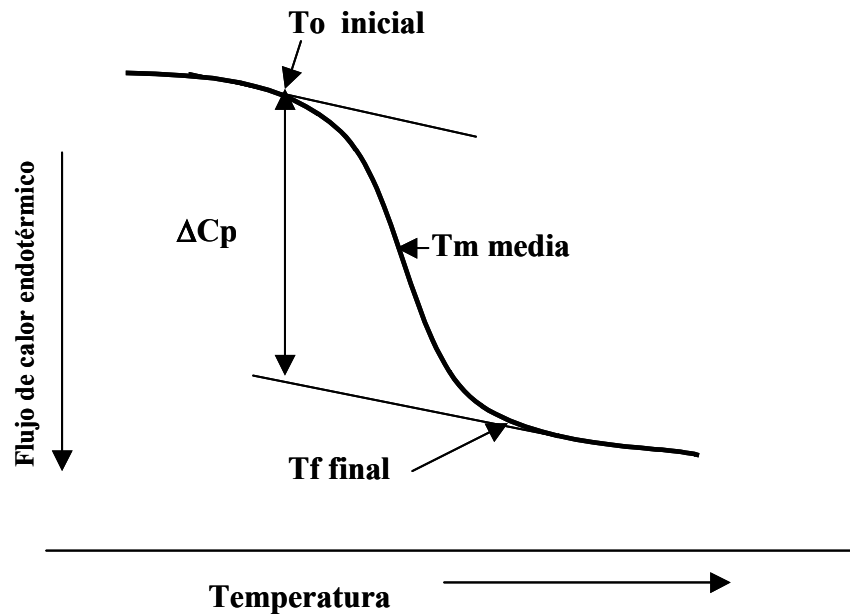


Figura 10. Representación esquemática de un termograma correspondiente a una transición de segundo orden como la transición vítrea: T_o = temperatura de inicio de la transición vítrea, T_m = temperatura del punto medio, T_f = temperatura final de la transición.

La velocidad a la que se realiza el barrido de temperaturas es importante, puesto que las transiciones de fase suponen cambios en la movilidad y ordenación molecular y, por lo tanto los barridos programados han de permitir que se produzcan los cambios deseados, por ejemplo en un proceso de congelación, debido al enfriamiento rápido, puede no dar tiempo a que se produzca la ordenación de las moléculas que caracteriza a los cristales (Martínez *et al.*, 1998; Roos, 1995a).

Las aplicaciones del análisis calorimétrico diferencial en la determinación de las transiciones de fase en alimentos se incluyen: cambios de primer orden como la cristalización y fusión del agua, lípidos y otros compuestos, desnaturalización de proteínas, gelatinización y retrodegradación del almidón (Roos, 1995a).