

OPTIMIZACIÓN EXPERIMENTAL DEL PROCESO DE LIOFILIZACIÓN DE UCHUVA ADICIONADA CON COMPONENTES ACTIVOS POR IMPREGNACIÓN AL VACÍO

EXPERIMENTAL OPTIMIZATION OF THE FREEZE DRY PROCESS OF CAPE GOOSEBERRY ADDED WITH ACTIVE COMPOUNDS BY VACUUM IMPREGNATION

Misael CORTÉS R. Ph.D.^{1*}, Edgar HERRERA H. M.Sc.² Eduardo RODRÍGUEZ S. Ph.D.³

Recibido: Septiembre 17 de 2014. Aceptado: Mayo 05 de 2015.

RESUMEN

Antecedentes: Los procesos de optimización experimental, representan una herramienta efectiva para el mejoramiento de la calidad de los productos, contribuyendo en la diversificación de productos en la cadena de uchuva, como frutos promisorios de exportación. **Objetivo:** El objetivo del estudio fue optimizar el proceso de liofilización para obtener uchuvas (*Physalis peruviana* L.) semiesféricas adicionadas con componentes activos y de excelentes atributos de calidad. **Métodos:** Las muestras semiesféricas (3 - 4 g) fueron tratadas inicialmente por impregnación al vacío con una emulsión que contenía proteína de soja, sucralosa, tensoactivos, calcio, vitamina D₃ (Colecalciferol), vitamina E (DL- α -tocoferol acetato) y vitamina B₉. La optimización experimental del proceso de liofilización se realizó con un diseño factorial 2² con el fin de determinar la condición óptima de operación, utilizando como variables independientes la velocidad de calentamiento de la placa (°C/min) y el tiempo de sostenimiento a la temperatura de la placa para cada segmento del proceso y como variables dependientes: concentración de los componentes con actividad fisiológica, actividad de agua, humedad, textura, color y tiempo total de proceso. **Resultados:** Se identificó una influencia de las condiciones del proceso sobre las variables de respuesta, donde una porción de 49 g de uchuvas liofilizadas alcanzó contenidos superiores al 20% del valor diario de referencia de vitamina D y entre el 10 y 20% del valor diario de referencia en calcio y vitaminas B₉, C y E; permitiendo identificar al producto como “Excelente fuente de vitamina D” y “Buena fuente de calcio y vitaminas B₉, C, E”, según la normativa colombiana. La condición óptima de proceso se alcanzó a una velocidad de calentamiento de placa de 0,04 °C/min y un tiempo de sostenimiento de la temperatura de la placa de 1,2 h. **Conclusiones:** La aplicación integrada de procesos de impregnación al vacío y liofilización, representan una alternativa importante en el desarrollo de alimentos funcionales en el fruto de uchuva.

Palabras clave: *Physalis peruviana* L., alimentos funcionales, impregnación al vacío, liofilización, componentes fisiológicamente activos.

¹ Grupo de investigación GAF, Departamento de Ingeniería Agrícola y Alimentos, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia.

² Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia.

³ Departamento de Ingeniería Agrícola y de Alimentos, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia.

* Autor de correspondencia: mcortesro@unal.edu.co

ABSTRACT

Introduction: Experimental optimization processes represent an effective tool for improving the quality of products, contributing to the diversification of products in the agricultural value chain of cape gooseberry, as promising export fruit. **Aim:** The aim of this study was to optimize the freeze-drying process to obtain hemispherical cape gooseberries (*Physalis peruviana* L.) with added active compounds, and with excellent quality attributes. **Methods:** The hemispherical samples (3 - 4 g) were initially treated by vacuum impregnation with an emulsion containing soybean protein, sucralose, surfactants, calcium, vitamin D₃ (cholecalciferol), vitamin E (DL- α -tocopherol acetate) and vitamin B₉. The experimental optimization of the freeze-drying was performed using a factorial design 2² to determine the optimum operating condition, using as independent variables the rate of heating plate (°C/min) and holding time at the temperature of the plate for each segment of the process and as dependent variables: concentration of physiologically active components, water activity, moisture content, texture, color and total processing time. **Results:** An influence of process conditions on the response variables was identified, where a portion of 49 g of freeze-dried gooseberries reached over 20% content of daily reference value (DRV) of vitamin D and between 10 and 20% of DRV in calcium and vitamin B₉, C and E; allowing to identify the product as “Excellent source of vitamin D” and “Good source of calcium and vitamin B₉, C, E”, according to Colombian regulations. The optimal process condition was reached at a 0.04 °C/min heating rate of plate and a 1.2 h holding time of the plate temperature. **Conclusions:** The application of the integrated processes of vacuum impregnation and freeze-drying show an important technological alternative to development of functional foods from the fruit of cape gooseberry.

Keywords: *Physalis peruviana* L., functional foods, vacuum impregnation, freeze-drying, physiologically active components

INTRODUCCIÓN

La liofilización es un proceso de secado utilizado en la industria de los alimentos, farmacéutica y biotecnológica, con el fin de estabilizar y conservar los productos (1), reduciendo las pérdidas de compuestos lábiles y aquellos responsables del sabor y aroma (2). El proceso consiste en una previa congelación y la sublimación directa del hielo a presión subatmosférica (3,4).

El análisis entre los factores del proceso como la velocidad de calentamiento de la placa (°C/min) y el tiempo de sostenimiento a la temperatura de placa para cada segmento del proceso, y las variables de respuesta asociadas a los atributos de calidad del producto liofilizado, proporcionan una base sólida para la obtención de productos con características óptimas de calidad, nutrición y vida útil. Varios autores han utilizado los estudios de optimización por el método de superficies de respuesta para obtener las mejores condiciones de productos deshidratados como en el secado de arroz, vegetales y algunos cultivos agrícolas (5, 6, 7, 8). Yeu et al. (2007) (9) analizaron el espesor y el cambio de color con el fin de determinar las condiciones óptimas de temperatura y tiempo para la liofilización de ñame (*Dioscorea spp*);

Mascarenhas et al. (1997) (10) modelaron el tiempo, la presión parcial del vapor de agua, la temperatura y las velocidades del frente de sublimación, el secado primario y secundario en dos dimensiones mediante elementos finitos; Hottot et al. (2006) (11) simularon los perfiles de temperatura y velocidades del frente de sublimación durante la liofilización de albúmina de suero de bovino; Daraoui et al. (2010) (12) y Sane y Hsu (2008) (13) desarrollaron un modelo para predecir los perfiles de temperatura del producto durante el secado primario y secundario, presión de la cámara y temperatura del condensador.

La técnica de impregnación a vacío (IV), permite la incorporación de un líquido que contiene componentes activos o componentes fisiológicamente activos (CFA) al interior de estructuras alimentarias porosas, generando un valor agregado en el producto en cuanto a su enfoque como alimento funcional, contribuyendo en la prevención de enfermedades en los consumidores (14,15). El proceso IV ha sido descrito por Fito (1994) (16) y Fito y Pastor (1994) (17), a través de la acción del mecanismo hidrodinámico (MHD), como un proceso de transporte de materia en un sistema sólido poroso-líquido y su aplicación como pretratamiento preliminar a frutas enteras o de forma geométrica definida,

ha permitido desarrollar productos deshidratados adicionados con CFA.

El objetivo de este trabajo fue optimizar el proceso de liofilización para obtener uchuvas (*Physalis peruviana* L.) semiesféricas adicionadas con calcio y vitaminas B₉, D y E, mediante la evaluación del efecto de la velocidad de calentamiento de la placa (V) (°C/min) y el tiempo de sostenimiento (t_s) a la temperatura de placa de cada segmento del proceso, maximizando los niveles de los CFA y la crujiencia del fruto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se utilizaron uchuvas (*Physalis peruviana* L.) ecotipo Colombia (3 - 4 g) de forma semiesféricas, con estado de madurez entre 3 y 5 (Norma Técnica Colombiana NTC 4580, 2004) (18), cultivadas en el municipio de La Unión (Antioquia). Se utilizaron como ingredientes en la emulsión de impregnación (EI), proteína de soja, sucralosa y tensoactivos (Tween 80 y Span 60), calcio y vitamina D₃ (Colecalciferol), E (DL- α -tocoferol acetato) y B₉ (Shandong Huachen Biochem Co., Ltd. (China), grado alimentario. La EI se desarrolló para incorporar el 20% del valor diario recomendado (VDR) de calcio, ácido fólico y vitamina D, y el 50% VDR de vitamina E, de acuerdo a la Resolución 333 de 2011 (19).

Caracterización fisicoquímica y física

Se determinó la actividad de agua (a_w) con un higrómetro de punto de rocío a 25 °C (AquaLAB Decagon serie 3TE) según la AOAC 978.18M (1996) y la humedad (X_w) según la norma AOAC 7.003-84 (1996) (20). El color de las uchuvas liofilizadas se determinó utilizando un espectrofotómetro X-Rite modelo SP64, utilizando el iluminante D65 y el observador de 10° como referencia; a partir del espectro de reflexión de las muestras, se obtuvieron las coordenadas de color CIE-L* a* b*. Se tomaron 90 mediciones de color (30 muestras y 3 lecturas/muestra) en la superficie de la película cética y la pulpa (área de corte) de las uchuvas liofilizadas adicionadas con CFA, para cada experimento de optimización. La textura se determinó a partir de ensayos mecánicos de punción, utilizando un analizador de textura (TA: XT2i, Stable Micro Systems, London, U.K), adaptándole una aguja de penetración cilíndrica de 2 mm de diámetro. Las

muestras fueron penetradas en la parte central de la película cética a una velocidad durante y después de la penetración de 2 mm/s, hasta una distancia de 7 mm (21). Durante la prueba se registraron la fuerza máxima requerida para romper la superficie de la película cética de la muestra (fuerza en el primer pico), el rango o la fuerza media en la superficie de la película cética de la uchuva y el número de picos totales en la gráfica fuerza-deformación (22, 23). Se tomaron 21 mediciones de textura para cada tratamiento del diseño experimental.

Extracción y cuantificación de CFA.

Para la extracción de las vitaminas E y D se utilizó el método descrito por Kmostak (1993) (24) modificado por Cortes (2004) (25). La extracción de la vitamina B₉ y C se basaron según las metodologías propuestas por Arcot y Shrestha (2005) (26), y por Gutiérrez *et al.* (2007) (27), respectivamente. La cuantificación de las vitaminas B₉, C, D y E se realizó por cromatografía líquida de alta resolución (Shimadzu, Prominence 20A), provisto de un detector UV/VIS con arreglo de diodos, una columna C18 RP- 5 μ m 4,0 mm x 250 mm y un flujo de 1,0 mL/min, a partir de curvas de calibración. La cuantificación de las vitaminas B₉ y C se realizó sobre el extracto acuoso usando una fase móvil de ácido Orto-Fosfórico (85%, 0.02 M, pH = 3.00), temperatura de horno: 35 °C, detección y tiempos de retención de 283 nm, 244 nm, y 7,60 \pm 0,12 y 4,48 \pm 0,06 min, respectivamente. La cuantificación de las vitaminas D y E se realizó sobre el extracto oleoso con una fase móvil, acetonitrilo: metanol (25:75), una temperatura de horno de 45 °C y una detección a 264 y 285 nm respectivamente. El calcio se determinó por espectrofotometría de absorción atómica, basado en la NTC 5151 (28).

Proceso de impregnación

El proceso IV fue realizado según la metodología descrita por Alzamora *et al.* (1997) (29). Las muestras fueron sometidas a una presión de vacío de 31,4 mm Hg durante 5 min, luego se restableció a la presión barométrica local (640 mm Hg) y se mantuvieron sumergidas por 5 min más. La respuesta a la impregnación se evaluó en términos de fracción volumétrica de impregnación en la etapa de vacío y final, X y X₁ respectivamente ($\text{m}^3_{\text{emulsión}}/\text{m}^3_{\text{uchuvas fresca}}$); y porosidad efectiva a la IV, ϵ ($\text{m}^3_{\text{gas}}/\text{m}^3_{\text{fruta fresca}}$), según la ecuación $\epsilon = X r/(r-1)$ (Ecuación 1) (25), donde r es una relación de P_{atm} sobre la P_{vacío}.

Proceso de liofilización

Se realizó en un liofilizador de bandejas (Labconco Corporation, Kansas City, USA). Las condiciones de la liofilización fueron: temperatura condensador: -52°C , vacío: 0,05 mbar, velocidad de congelación: $0,5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta -26°C durante 8 h y la temperatura final de secado fue entre 25 y 31°C . Se evaluaron las condiciones óptimas de liofilización utilizando un diseño factorial de 2 factores con 2 niveles aleatorizados, en el cual se emplearon tres (3) réplicas para cada condición de proceso (Tabla 1).

Tabla 1. Diseño experimental para la determinación de las condiciones óptimas del proceso de liofilización.

Proceso	Segmento	Ti ($^{\circ}\text{C}$)	Tf ($^{\circ}\text{C}$)	Factores		Tiempo de proceso (h)*
				t_s (h)	V_c ($^{\circ}\text{C}/\text{min}$)	
1	1	-26	-20	1	0,02	30
	2	-20	-14	1	0,02	
	3	-14	-8	1	0,02	
	4	-8	-2	1	0,02	
	5	-2	25	3	0,15	
2	1	-26	-20	2	0,02	34
	2	-20	-14	2	0,02	
	3	-14	-8	2	0,02	
	4	-8	-2	2	0,02	
	5	-2	25	3	0,15	
3	1	-26	-14	1	0,04	28
	2	-14	-2	1	0,04	
	3	-2	10	1	0,04	
	4	10	22	1	0,04	
	5	22	31	3	0,15	
4	1	-26	-14	2	0,04	32
	2	-14	-2	2	0,04	
	3	-2	10	2	0,04	
	4	10	22	2	0,04	
	5	22	31	3	0,15	

*No incluye las 8 h del proceso de congelación.

Los factores de proceso evaluados fueron V_c ($^{\circ}\text{C}/\text{min}$) y t_s (h) a la temperatura final de placa para cada uno de los 5 segmentos del proceso de liofilización. Los tiempos para cada segmento se dan desde una temperatura inicial (T_i) hasta una temperatura final del segmento (T_f), manteniéndose a esta temperatura durante el t_s definido en el diseño experimental. Las variables de respuesta fueron la a_w , humedad (X_w), textura, color, contenido de CFA y el tiempo total de liofilización.

Después del secado, las muestras fueron empacadas en bolsas marca Alico S.A[®], con una película multicapa laminada metalizada, con protección a la humedad de $0,29$ (g/m^2)/(24h/atm) (ASTM F1249, 38°C , 90% HR), protección al O_2 de 44,2-62,0 (cm^3/m^2)/(24h/atm), barrera a la luz y un calibre de $120\ \mu$, y colocadas en un desecador para su posterior análisis.

Análisis de datos

El análisis de varianza (ANOVA) se realizó con el paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI, utilizando el método LSD (mínimas diferencias significativas) como método de comparaciones múltiples, con un nivel de confianza del 95 % ($\alpha=0,05$). Se utilizó la técnica numérica de optimización del software Statgraphics Centurion XVI para determinar la combinación de los factores experimentales que simultáneamente optimicen las variables de respuestas (máximos o mínimos según el caso). Para la utilización del modelo matemático se usó la función de deseabilidad y la combinación con la metodología de superficie de respuesta (30, 31). El enfoque general es convertir cada respuesta y_n en una función individual de deseabilidad, donde estas varían de 0 a 1, siendo $d_n = 1$, si la respuesta está fuera de una región aceptable, y $d_n = 0$, si cada respuesta es estándar en las funciones deseadas. Para todas las funciones de deseabilidad (D), está se define por $D = (d_1, d_2, d_3, \dots, d_n)$ (Ecuación 2), e igual a la media geométrica de las funciones individuales de deseabilidad:

$$D = (d_1 \times d_2 \times d_3 \times \dots \times d_n)^{1/n} \text{ (Ecuación 3)}$$

Los valores óptimos de los factores son determinados desde valores individuales de funciones de deseabilidad que maximizan D, los valores altos de D indican las mejores funciones del sistema, por lo tanto el valor más alto de D se puede considerar como la solución óptima de este sistema.

RESULTADOS

Proceso de impregnación.

Los parámetros de impregnación en la uchuva utilizando la emulsión fortificante EI empleada fueron los siguientes:

$$X_1 = -10,62 \pm 0,05\%, \quad \gamma_1 = 0,95 \pm 0,01\%; \\ X = 24,88 \pm 0,97\%, \quad \gamma = 11,86 \pm 0,04\%, \quad \text{y} \\ \varepsilon = 2,78 \pm 0,07\%.$$

Caracterización fisicoquímica

La figura 1 presenta los valores medios y la desviación estándar de la a_w y X_w en uchuvas liofilizadas adicionadas con CFA, en función del proceso de liofilización. El ANOVA presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) en X_w debido al factor V_c , mientras que no hubo diferencias ($p > 0,05$) por efecto del factor t_s , ni por las interacciones $V_c t_s$. La X_w varió desde 6,1% hasta 12,3 % para la combinación de factores estudiados, presentándose tres grupos homogéneos (procesos 1 y 2, proceso 3 y proceso 4). Por otro lado, la a_w presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a los factores V_c y t_s , mientras que no hubo diferencias ($p > 0,05$) por efecto de las interacciones $V_c t_s$. La a_w varió en el rango 0,253 - 0,388, lo cual garantiza un producto microbiológicamente seguro. Se presentaron dos grupos homogéneos (procesos 1 y 2 y procesos 3 y 4), siendo estos últimos los de menor a_w y X_w .

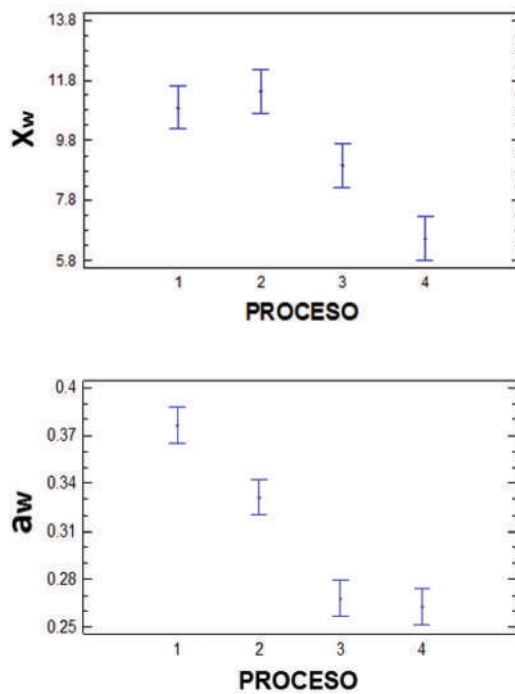


Figura 1. Valores medios con intervalos LSD (95%) de la actividad de agua y la humedad de las uchuvas liofilizadas adicionadas con CFA asociadas a los procesos de liofilización.

La tabla 2 presenta los valores medios más la desviación estándar de los parámetros de color (L^* , a^* , b^*) de la superficie de la película cérea y la pulpa en los procesos de liofilización aplicados.

En la superficie de la película cérea, el ANOVA no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) en los parámetros L^* y b^* por efecto de los factores V_c y t_s , ni sus interacciones $V_c t_s$; mientras que el parámetro a^* presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) por efecto del factor t_s y no hubo ($p > 0,05$) por efecto de V_c , ni por la interacciones de ambos factores ($V_c t_s$).

Tabla 2. Análisis de color en la superficie de la película cérea y la pulpa de la uchuva liofilizada adicionada con CFA.

Proceso de secado	L^* (sup)	a^* (sup)	b^* (sup)	L^* (pulpa)	a^* (pulpa)	b^* (pulpa)
1	73,5±1,4	15,9±1,5	60,6±0,7	70,5±2,5	11,7±0,9	40,3±0,9
2	73,3±0,7	16,9±1,7	62,4±1,2	71,6±0,4	11,4±1,2	41,5±1,0
3	74,3±0,3	14,2±0,3	61,4±2,4	72,5±0,4	10,9±1,1	41,7±2,2
4	73,9±1,1	17,0±1,2	61,9±2,2	72,2±1,6	11,8±1,5	42,1±1,9

Para el color en el lado de la pulpa, el ANOVA no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) en L^* , a^* y b^* , por efecto de la V_c y t_s , ni por la interacción $V_c t_s$. Por otro lado, el ANOVA no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) en el parámetro de color L^* por efecto del factor zona de medición, mientras que si hubo diferencias ($p < 0,05$) en a^* y b^* , acentuándose los tonos amarillos y rojizos en la superficie de la película cérea.

Análisis de textura

La figura 2 presenta una curva típica de fuerza-deformación de uchuvas liofilizadas adicionadas con CFA, obtenidas en los diferentes procesos de liofilización, se aprecia la fuerza de ruptura en el primer pico (F_r) (punto 1), la fuerza media de la pulpa (F_p) entre los puntos 1 y 2 y el No. de picos.

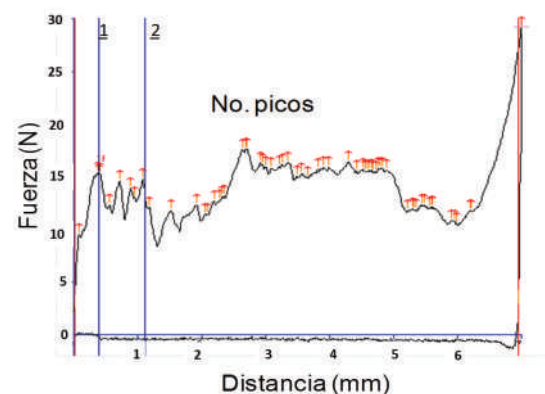


Figura 2. Curva típica de fuerza-deformación para uchuva liofilizada adicionada de CFA.

La tabla 3 presenta los valores medios más la desviación estándar de la F_r , F_p y el No. de picos para uchuvas liofilizadas adicionadas con CFA, en función del proceso de liofilización aplicado. El ANOVA presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) en F_r y F_p por efecto de los factores individuales V_c y t_s , mientras que no hubo diferencias ($p > 0,05$) por las interacciones $V_c t_s$. El No. de picos totales no presentó diferencia significativas ($p > 0,05$) por efecto de los factores individuales V_c y t_s , ni por las interacciones $V_c t_s$.

Tabla 3. Parámetros de textura de la uchuva liofilizada adicionada con CFA.

Proceso de liofilización	F_r (N)	F_p (N)	No. picos totales
1	12,5±1,1	9,5±4,3	56±6
2	15,6±1,0	13,6±1,3	57±5
3	15,4±1,5	14,0±6,0	62±4
4	15,6±1,5	15,4±0,9	67±5

Cuantificación de CFA

La Tabla 4 muestra los valores medios más las desviaciones estándar del % VDR de los CFA adicionados y de la vitamina C original en una porción de 49 g de producto liofilizado, en función de los procesos de liofilización aplicados. El ANOVA no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) en el % VDR de vitamina B₉, D y E por efecto de los factores V_c , t_s , ni por las interacciones $V_c t_s$. Para el % VDR calcio, existen diferencias significativas ($p < 0,05$) por efecto del factor V_c y por interacción $V_c t_s$; mientras que, no hubo diferencias ($p > 0,05$) por efecto del factor t_s . Estas variaciones en el calcio podrían estar más asociadas a las diferencias de niveles de impregnación del calcio que al mismo proceso de liofilización.

Tabla 4. % VDR de calcio y vitaminas B₉, C, D y E en una porción de 49 g de uchuvas liofilizadas asociadas a los procesos de liofilización evaluados.

Proceso de liofilización	Vitamina C % VDR	Vitamina D % VDR	Vitamina E % VDR	Vitamina B ₉ % VDR	Calcio % VDR
1	12,4±2,3	28,0±6,8	12,3±0,9	11,2±5,0	13,4±2,3
2	12,0±3,5	21,5±3,5	13,2±2,6	12,0±2,3	16,6±2,9
3	13,7±0,8	25,7±5,6	15,9±1,6	14,8±6,1	15,5±3,1
4	15,2±1,7	27,1±1,9	14,9±4,3	11,7±0,8	17,5±2,3

Optimización de la liofilización

Las tablas 5 y 6 presentan las condiciones óptimas de liofilización que proporcionan los mejores atributos de calidad en la uchuva liofilizada, y los resultados de las atributos de calidad a la condición óptima de proceso, frente a los resultados reportados por el software Statgraphics Centurion XVI, maximizando los contenidos de CFA, textura, color y minimizando la a_w y X_w (valores máximos y mínimos de las variables de respuesta).

Tabla 5. Condiciones óptimas de liofilización.

Segmento	Ti	Tf	t_s (h)	V_c (°C/min)
1	-26	-14	1,2	0,04
2	-14	-2	1,2	0,04
3	-2	10	1,2	0,04
4	10	22	1,2	0,04
5	22	31	3,0	0,15

Tabla 6. Resultados de las variables de respuesta obtenidas experimentalmente frente a los resultados del software a la condición óptima de liofilización.

Variables dependientes		Resultados experimentales	Resultados software
Superficie cérica	L*	77,0±1,9	74,1
	a*	12,4±1,7	15,8
	b*	65,8±3,4	62,5
Pulpa	L*	74,0±2,8	72,4
	a*	8,8±1,7	11,9
	b*	46,1±4,6	42,7
F_r (N)		14,7±3,0	17,7
F_p (N)		12,3±3,9	16,1
X_w (%)		6,5±0,6	8,0
a_w		0,260±0,011	0,273
Vitamina C (%VDR)		17,3±2,1	13,3
Vitamina D (%VDR)		25,7±1,7	25,5
Vitamina E (%VDR)		14,1±2,9	16,1
Vitamina B ₉ (% VDR)		12,5±2,6	13,5
Calcio (%VDR)		14,2±2,3	13,0
# Picos totales		62±6	60

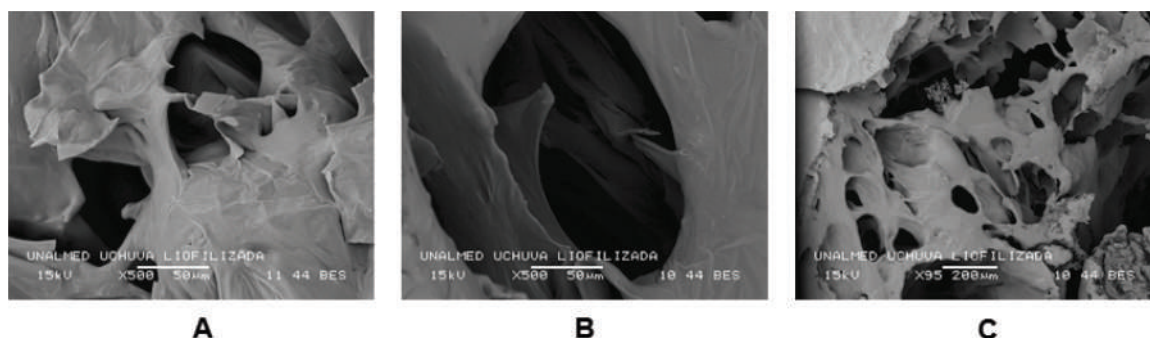


Figura 3. Micrografías por SEM de las uchucas liofilizadas obtenidas a la condición óptima de liofilización.

Análisis estructural

La figura 3 presenta diversas micrografías por SEM tomadas en diferentes zonas del interior de la uchuva liofilizada adicionadas con CFA en la condición óptima de proceso y con diferentes aumentos.

DISCUSIÓN

Los resultados del proceso IV permiten identificar a la matriz de uchuva semiesférica como adecuada para la incorporación de los CFA, debido al valor alto de X y a la porosidad (ϵ) mostrada. Los valores negativos de X_1 indican una salida de líquido nativo del interior del fruto, mientras que la estructura experimenta una deformación volumétrica (expansión) en ambas etapas, debido al acoplamiento del mecanismo hidrodinámico y al fenómeno deformación relajación, inducido por los cambios de presión durante el proceso IV. Esta situación a sido encontrada por diversos autores (14, 15, 25).

Dentro de las propiedades de la uchuva liofilizada adicionada con CFA, se encontraron los menores valores de X_w y a_w para el procesos 3 ($V_c = 0,04$ °C/min, $t_s = 1$ h) y 4 ($V_c = 0,04$ °C/min, $t_s = 2$ h), debido a la influencia de la temperatura final de proceso (31 °C), ya que las porciones remanentes de agua no congelada, que no subliman en el secado primario, lo hacen por evaporación y desorción en el secado secundario. Al aumentar la temperatura en el secado secundario se aumenta la evaporación y desorción del agua libre, hasta poder alcanzar niveles de humedad correspondiente a la humedad de la monocapa, garantizando su máxima estabilidad. Como en este punto no existe agua libre, la temperatura de las bandejas puede subir sin riesgo de que se produzca fusión, sin embargo, debe tenerse cuidado de no superar en el secado secundario la temperatura de transición vítrea (T_g) (32).

El proceso de liofilización permitió obtener valores bajos de X_w y a_w en la uchuva liofilizada adicionada con CFA, considerándolo un producto con excelente estabilidad microbiológica, debido a que la a_w es un factor primordial en el crecimiento microbiano y sobre las reacciones enzimáticas y no enzimáticas (33). La mayoría de los microorganismos no pueden crecer por debajo de una actividad de agua de 0,60 (34).

El color representa una propiedad física en los alimentos muy importante y la influencia de los procesos es relevante. Considerando los parámetros L^* , a^* y b^* obtenidos en la película cética para la uchuva fresca ($70,59 \pm 2,36$, $23,61 \pm 1,47$ y $58,48 \pm 3,76$) y la uchuva impregnada ($46,73 \pm 2,38$, $15,10 \pm 1,81$, $37,13 \pm 3,54$) respectivamente, y los obtenidos en las uchucas liofilizadas adicionadas con CFA, se observa que el proceso IV infiere una tendencia a que las muestras se vean más oscuras ($<L^*$), debido a la incorporación del líquido de impregnación en los pequeños poros de la superficie cética que genera una mayor absorción de luz; mientras que las muestras liofilizadas se ven más claras ($>L^*$) debido al incremento de la luz reflejada y la menor absorción de luz (25). Por otro lado, los cambios en el plano cromático a^*b^* , hace de las muestras presenten tonalidades más amarillas y menos rojizas.

Algunos autores han encontrado que los productos liofilizados son más claros y brillantes y, este fenómeno es mayor a mayor velocidad de congelación (35). Estudios realizados por Krokida y Maroulis, (2000) (36), Hammami y René, (1997) (37) y Yeu *et al.* (2007) (9) reportan cambios mínimos de color atribuidos al proceso de liofilización. Duangmal *et al.* (2008) (38) evaluaron el color de extracto de Jamaica liofilizado, determinando que la degradación de los pigmentos está altamente correlacionado con

los cambios en croma (C^*) y luminosidad (L^*). El cambio de color en las frutas deshidratadas puede ser causado por acción de enzimas que tendrá lugar en las primeras etapas del procesamiento, previamente a la inactivación de la polifenoloxidasas o por reacciones de Maillard, reacciones de pardeamiento no enzimático, durante el secado.

El comportamiento de la textura de la uchuva liofilizada adicionada con CFA, le confiere unas características irregulares en zona de la pulpa, debida a la anisotropía del medio y a la existencia de semillas, donde la porosidad obtenida le confiere las características crujientes del producto. Los productos crujientes al romper generan numerosas fracturas, una tras otra, reflejándose gráficamente en cierta cantidad de picos (39, 40), por lo tanto al disminuir la crujencia, el número de fracturas y de picos disminuye, aumentando el ancho de los picos (23). La influencia del proceso de liofilización sobre la textura de la uchuva semiesférica, se observa en los mayores niveles de crujencia ($>> F_p$, F_p y No. de picos), con el incremento de la V_c y el t_s , siendo aún mayor con el incremento del tiempo total de proceso. Esta situación es coherente con los menores niveles de a_w y X_w alcanzados en los procesos 3 y 4. Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con los reportados por Yun y Zhao (2008) (21), Nath y Chattopadhyay (2007) (22), Konopacka et al. (2002) (40), Van Hecke et al. (1998) (23), enmarcados dentro del rango de valores asociados a productos crujientes. Los valores de textura cobran particular relevancia dentro del modelo de optimización, dado que hoy en día los consumidores muestran un gran interés hacia los alimentos con características crujientes (41, 42).

Desde el punto de vista nutricional, los niveles alcanzados en calcio y vitaminas B_9 , C, E en una porción de 49 g se encuentran entre el 10-20% VDR, mientras que para la vitamina D alcanzó valores superiores al 20% VDR, lo cual permite identificar a la uchuva liofilizada con el descriptor “Excelente fuente de vitamina D” y “Buena fuente de calcio y vitaminas B_9 , C y E”, de acuerdo a la Resolución 333 de febrero 10 de 2011 del Ministerio de Protección Social, Colombia (19). Se considera que el proceso de liofilización, genera mínimos cambios composicionales desde el punto de vista nutricional, comparado con los cambios ocurridos en métodos de secado convencionales, esto debido a las bajas temperaturas y presiones parciales de O_2 en las que ocurre el proceso. Estudios realizados por Venir et al.

(2007) (43) en manzana liofilizada y por Marques et al. (2007) (44) en acerola liofilizada, indican que componentes nutricionales como la vitamina C se conservan aún después del secado. Para huevo de gallina entero liofilizado almacenado durante un periodo de 4 años, no se encontraron cambios significativos en las propiedades funcionales y sensoriales, y las fracciones más importantes de proteína mostraron una tendencia general a disminuir levemente durante el almacenamiento (45).

Teniendo en cuenta los %VDR para el calcio y vitaminas B_9 y C de $16,41 \pm 3,30\%$, $12,13 \pm 1,19\%$ y $15,08 \pm 1,70$ respectivamente, en una porción de 248 g de uchuva impregnada, en comparación con los valores obtenidos durante los procesos de liofilización (Tabla 4), se puede observar una leve disminución de los %VDR por efectos del proceso de liofilización.

Para el proceso de optimización experimental, la combinación de los factores que maximiza la función de deseabilidad se alcanzó a $V_c = 0,04$ °C/min y t_s de 1,2 h a la temperatura de la placa para cada segmento del proceso de liofilización, con un valor óptimo de deseabilidad = 0,6. La técnica de optimización permitió obtener en algunos casos valores muy similares a los encontrados experimentalmente, por lo tanto la metodología utilizada representa un aporte importante para el proceso, el cual permite describir el producto como un producto seguro microbiológicamente, de características crujientes, de color atractivo para el consumidor y además con contenidos de CFA (calcio y vitaminas B_9 , C, D y E) que lo posibilita ser rotulado con los descriptores anteriormente mencionados.

En el proceso de liofilización, la temperatura es un parámetro muy importante, que debe ser cuidadosamente controlado durante las etapas de secado primario y secundario (12). La uchuva (*Physalis peruviana* L.) liofilizada presentó una excelente estabilidad estructural y conservación de los CFA, esto se debe a que la temperatura de la capa congelada durante el secado primario del proceso de liofilización se mantuvo por debajo de la temperatura de fusión, evitando que se presentara puffing (contracción o colapso del producto). El valor máximo de temperatura en la capa congelada durante la etapa de secado primario debe ser tal que el proceso de secado se lleve a cabo sin pérdida de propiedades del producto. Durante el secado secundario la cantidad de calor suministrado al producto se aumentó moderadamente, de manera tal que la humedad y

la estabilidad de la uchuva fueran adecuadas (32). Hammami y René, (1997) (37) evaluaron las condiciones óptimas de proceso para producir fresas liofilizadas de alta calidad mediante el método de superficies de respuesta (modelo cuadrático), determinando que la presión de trabajo ($P = 30$ Pa), la temperatura final de calentamiento del plato ($T = 50$ °C) y el tiempo de liofilización (60 – 65 h) fueron los factores más importantes, los cuales afectan los criterios de calidad del producto final (aspecto/forma, color, textura, rehidratación). Yeu *et al.* (2007) (9) mediante el método de superficies de respuesta determinaron las condiciones óptimas de temperatura (34–37 °C) y espesor (7–8 mm) para la liofilización de ñame (*Dioscorea spp.*). Ghio *et al.* (2000) (46) evaluaron diferentes frutas y hortalizas: albaricoques, ciruelas, tunas, plátanos, tomates cherry, champiñones y manzanas, concluyendo que la velocidad de congelación afecta el tamaño de los cristales y la porosidad final del producto seco; por lo tanto, entre mayor sea el diámetro del poro en la matriz alimentaria, el agua se puede eliminar más fácilmente y por lo tanto tiempos más cortos en el proceso de liofilización.

Las micrografías A, B y C ilustran una estructura muy porosa (50 – 200 μ) e irregular al interior de la matriz, lo cual le confiere la crujencia observada en los ensayos de textura, siendo coherente el No. de picos encontrado con rupturas de láminas irregulares en su interior. Yun y Zhao, (2008) (21) afirman que el grado de porosidad influye en la textura y la capacidad de rehidratación de los productos liofilizados. Barret y Peleg, (1992) (47) describen la existencia de una relación inversa entre la resistencia mecánica y la cantidad de espacios de aire en el material poroso, entre más grande sea el espacio de aire, menor será la resistencia del material. Por lo tanto espacios más porosos en muestras liofilizadas tienen como resultado una textura más suave y mayor capacidad de rehidratación.

Acevedo *et al.* (2008) (48) analizaron por SEM manzana liofilizada con diferentes velocidades de congelación, confirmando como un factor responsable de los cambios en los tejidos (49). En general, las velocidades de congelación rápidas generan productos con mejor calidad y estructura (50), pero generar mayor cantidad de poros con más sitios efectivos para la adsorción de agua. La velocidad de congelación lenta produce cambios graves en la microestructura del producto, como la ruptura de superficies, debidos a los mayores cristales de hielo

formados durante la congelación (48). Esto se debe a la tensión mecánica, resultante de la formación extracelular del hielo que produce la ruptura de membranas y el fenómeno de crioconcentración, promoviendo la desnaturalización y degradación de la pared celular. La liofilización representa una alternativa tecnológica con aplicaciones novedosas en la industria de alimentos y farmacéutica, encontrando en este último sector, aplicaciones efectivas en sistemas de micro y nanopartículas en la liberación controlada de moléculas, proteínas o péptidos (51).

CONCLUSIONES

La técnica numérica de optimización utilizada, se encontró adecuada para la determinación de la combinación de factores experimentales, que simultáneamente optimizaron las variables de respuestas. La integración de los procesos IV y liofilización, permitió obtener un producto deshidratado de uchuva con excelentes atributos de calidad y con un valor agregado que permite ser rotulado en la etiqueta como “Excelente fuente de vitamina D” y “Buena fuente de calcio y vitaminas B₉, C y E”, en una porción de 49g,

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses en esta investigación.

Limitaciones del estudio

Debido a la interacción del producto liofilizado con el entorno, se recomienda hacer un estudio termodinámico de sorción y de transiciones de fases.

REFERENCIAS

1. Rey L, May JC. Freeze drying/ Liophilization of pharmaceutical and biological products, second edition. New York, USA: Marcel Dekker Inc.; 2004. 580 p.
2. Okos MR, *et al.* Food dehydration, In Handbook of Food Engineering by D.R. Helman y D.B. Lund, pp 257 Marcel Dekker, New York, USA; 1992.
3. Barbosa-Canovas G, Vega-Mercado H. Deshidratación de Alimentos, 1ª edición. Zaragoza, España: Editorial Acirbia, España; 2000. 314 p.
4. Orrego, C, Congelación y liofilización de alimentos, 1ª edición. Manizales, Colombia: Artes gráficas Tizan Ltda.; 2008. 169 p.
5. Das I, Das SK, Bal S. Specific energy and quality aspects of infrared (IR) dried parboiled rice. J Food Eng. 2004; 62(1), 9–14.
6. Elbert G, Tolaba MP, Suárez C. Effects of drying conditions on head rice yield and browning index of parboiled rice. J Food Eng. 2001; 47(1): 37–41.
7. Madamba PS. The response surface methodology: an application to optimize dehydration operations of selected agricultural crops. Lebensm Wiss Technol. 2002; 35(7): 584–592.

8. Madamba PS, Yabes RP. Determination of the optimum intermittent drying conditions for rough rice (*Oryza sativa*, L.). *Lebensm Wiss Technol.* 2005; 38(2): 157–165.
9. Yeu P, Lee TY, Tsen JH, King VA. Dehydration of yam slices using FIR-assisted freeze drying. *J Food Eng.* 2007; 79(4): 1295–1301.
10. Mascarenhas WJ, Akay HU, Pikal MJ. A computational model for finite element analysis of the freeze-drying process. *Comput Method Appl M.* 1997; 148(1-2): 105–124.
11. Hottot A, Daoussi R, Andrieu J. Thermophysical properties of aqueous and frozen states of BSA/water/Tris systems. *Int J Biol Macromol.* 2006; 38(3-5): 225–231.
12. Daraoui N, Dufour P, Hammouri H, Hottot A. Model predictive control during the primary drying stage of lyophilisation. *Control Eng Pract* 2010; 18(5):483–494.
13. Sane SU, Hsu CC. Mathematical model for a large-scale freeze-drying process: A tool for efficient process development and routine production, Proceedings of the 16th international drying symposium, pp. 680 – 688, Hyderabad, India 9-12 of November 2008.
14. Restrepo AM, Cortés M, Marqués CJ. Uchuvas (*Physalis peruviana* L.) Mínimamente Procesadas Fortificadas con Vitamina E. *Vitae.* 2009; 16(1):19–30.
15. Marín ZT, Cortés M, Montoya OI. Frutos de Uchuva (*Physalis peruviana* L.) Ecotipo ‘Colombia’ Mínimamente Procesados, Adicionados con Microorganismos Probióticos Utilizando la Ingeniería de Matrices. *Rev. Fac. Nal. Agr.* 2010; 63(1): 5395–5407.
16. Fito P. Modelling of vacuum osmotic dehydration of foods. *J. Food Eng.* 1994; 22(1-4): 313–328.
17. Fito P, Pastor R. Non-diffusional mechanisms occurring during vacuum osmotic dehydration. *J Food Eng.* 1994; 21(4): 513–519.
18. ICONTEC NTC 4580: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (Colombia), Frutas frescas. Uchuva. Especificaciones, Bogotá – Colombia; 2004.
19. Ministerio de la Protección Social. Resolución 333 de 2011, Diario Oficial No. 46.894 de febrero de 2011. Ministerio de la Protección Social Colombia, Bogotá.
20. AOAC 978.18M; AOAC 7.003-84: Official methods of analysis of AOAC international, Basic calculations for chemical and biological analyses. 16th ed., AOAC International. Gaithersburg, M.D; 1996.
21. Yun D, Zhao Y. Effect of pulsed vacuum and ultrasound osmopretreatments on glass transition temperature, texture, microstructure and calcium penetration of dried apples (Fuji). *LWT Food Sci Technol.* 2008; 41(9): 1575–1585.
22. Nath A, Chattopadhyay P. Optimization of oven toasting for improving crispness and other quality attributes of ready to eat potato-soy snack using response surface methodology. *J. Food Eng.* 2007; 80(4):1282–1292.
23. Van Hecke E, Allaf K, Bouvier JM. Texture and structure of crispy-puffed food products II: mechanical properties in puncture. *J. Texture Stud.* 1998; 29 (6): 617–632.
24. Kmostak S, Kurtz D. Rapid Determination of Supplemental Vitamin E acetate in Feed Premixes by Capillary Gas Chromatography. *J. AOAC Int.* 1993. 76(4): 735–741.
25. Cortés M. Desarrollo de productos de manzana deshidratados enriquecidos con vitamina E. [Tesis de Doctorado] [Valencia, España]; Universidad Politécnica de Valencia: 2004. 54 p.
26. Arcot J, Shrestha A. Folate: methods of analysis. *Trends Food Sci Tech.* 2005; 16 (6-7): 253–266.
27. Gutiérrez T, Hoyos O. Páez M. Determinación del contenido de ácido ascórbico en uchuva (*Physalis peruviana* L.), por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). *Rev. Fac. Nal. Agr.* 2007; 5 (1): 70–79.
28. ICONTEC NTC 5151: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (Colombia), Alimentos para animales. Determinación de los contenidos de calcio, cobre, hierro, magnesio, manganeso, potasio, sodio y zinc. Método usando espectrometría de absorción atómica, Bogotá – Colombia; 2003.
29. Alzamora SM, Gerschenson LN. Effect of water activity depression on textural characteristics of minimally processed fruit, In *New Frontier in Food Engineering, Proceedings of the 5th Conference of Food Engineering by G.V Barbosa-Canovas., S. Lombardo, G. Narsimhan y M.R Okos*, pp 72-75 AICHE, New York, USA; 1997.
30. Derringer G, C. Balancing act: Optimizing a product’s properties. *Quality Progress.* 1994; 26 (6): 51–58.
31. Sundaram RA. First course in optimization theory. London: Cambridge University Press; 1996.
32. Liapis A, Bruttini R. Freeze Drying. In *Handbook of Industrial Drying by A. Mujumdar*, pp 256–281, Lavoisier S.A.S, 3a edición, Francia; 2000.
33. Ratti C. Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review, *J. Food Eng.* 2001; 49(4): 311–319.
34. Bhandari BR, Howes T. Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods. *J. Food Eng.* 1999; 40(1-2): 71–79.
35. Ceballos AM, Giraldo GI, Orrego CE. Effect of freezing rate on quality parameters of freeze dried soursop fruit pulp. *J. Food Eng.* 2012; 111 (2): 360–365
36. Krokida MK, Maroulis ZB. The effect of drying methods on viscoelastic behavior of dehydrated fruits and vegetables. *Int J Food Sci Tech.* 2000; 35(4): 391–400.
37. Hammami C, René F. Determination of Freeze-drying Process Variables for Strawberries. *J. Food Eng.* 1997; 32 (2): 133–154.
38. Duangmal K, Saicheua B, Sueprasnan S. Colour evaluation of freeze-dried roselle extract as a natural food colorant in a model system of a drink. *LWT. Food Sci Tech.* 2008; 41 (8): 1437–1445.
39. Vincent JFV. The quantification of crispness. *J. Sci. Food Agric.* 1998; 78 (2): 162– 168 (1998).
40. Varela P, Chen J, Fiszman S, Povey M. Crispness assessment of roasted almonds by an integrated approach to texture description: texture, acoustics, sensory and structure. *J. Chemometr.* 2006; 20(6-7): 311–320.
41. Konopacka D, Plochanski W, Beveridge T. Water Sorption and Crispness of Fat-Free Apple Chips, *J. Food Sci.* 2002; 67(1): 87–92.
42. Roudaut G, Dacremont C, Pamies B, Colas B, Le Meste M. Crispness: a critical review on sensory and material science approaches. *Trends in Food Sci Tech.* 2002; 13(6-7): 217–227.
43. Venir E, Munari M, Tonizzo A, Maltini E. Structure related changes during moistening of freeze dried apple tissue. *J. Food Eng.* 2007; 81(1): 27–32.
44. Marques L, Ferreira MC, Freire J. Freeze-drying of acerola (*Malpighia glabra* L.). *Chem Eng Process.* 2007; 4(5):451–457.
45. Bakalivanov S, Tsvetkova E, Bakalivanova T, Tsvetkov T, et al. Characterization of freeze-dried egg melange long stored after irradiation. *Radiat Phys Chem.* 2008; 77(1): 58–63.
46. Ghio S, Barresi A, Rovero G. A comparison of evaporative and conventional freezing prior to freeze-drying of fruits and vegetables. *Food Biopro Process.* 2000; 78(4): 187–192.
47. Barret AH, Peleg M. Extruded cell structure-texture relationships. *J. Food Sci.* 1992; 57(5): 1253–1257.
48. Acevedo NC, Briones V, Buera P, Aguilera J. Microstructure affects the rate of chemical, physical and color changes during storage of dried apple discs. *J. Food Eng.* 2008; 85(2): 222–231.
49. Fuchigami M, Kato N, Teramoto A. High-pressure-freezing effects on textural quality of carrots. *J. Food Sci.* 1997; 62 (4):804–808.
50. Liu L, Miyawaki O, Nakamura K. Progressive Freeze-Concentration of Model Liquid Food. *Food Sci Tech Int.* 1997; 3(4): 348–352.
51. Kasper JC, Winter G, Friess W. Recent advances and further challenges in lyophilization. *Eur J Pharm Biopharm.* 2013; 85 (2): 162–169.