



**Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza**

Trabajo Fin de Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Mejora del proceso de liofilización mediante la aplicación
de nuevas tecnologías de procesado

Use of novel technologies for improving the freeze-drying
process

Autor/es

Guillermo Auré Carrascón

Director/es

Leire Astráin Redín

Guillermo Cebrián Auré

Facultad de Veterinaria de Zaragoza

Diciembre 2022

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 El secado como proceso de conservación de alimentos.....	3
1.2 La liofilización.....	4
1.2.1 Equipo de liofilización.....	6
1.2.2 Ventajas e inconvenientes de la liofilización.....	7
1.3 Los ultrasonidos (US)	8
1.3.1 Principios básicos de la tecnología.....	8
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	12
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	13
3.1 Materia prima.....	13
3.2 Equipos de liofilización.....	14
3.3 Equipos de US.....	14
3.4 Estudio del proceso y cinética de liofilización.....	16
3.5 Intensidad de US	18
3.6 Caracterización de las propiedades tecnológicas.....	18
3.6.1 Rehidratación.....	18
3.6.2 Textura.....	19
3.6.3 Color.....	19
3.6.4 Capacidad de Retención de Agua	20
3.7 Tratamiento estadístico de los datos	20
4. RESULTADOS Y CONCLUSIONES.....	21
4.1 Efecto de la aplicación de US en el proceso de liofilización.....	21
4.1.1 Estudio de diferentes propiedades ultrasónicas.....	21
4.2 Efecto de los US en las propiedades tecnológicas de los productos liofilizados.....	23
4.2.1 Efecto de los US en la capacidad/velocidad de rehidratación de las zanahorias liofilizadas.....	23
4.2.2 Efecto de la aplicación de US en el color de las zanahorias liofilizadas.....	25
4.2.3 Efecto de la aplicación de US en la textura de las zanahorias liofilizadas.....	26
4.2.4 Efecto de la aplicación de US en las pérdidas por cocinado de las zanahorias liofilizadas.....	28
4.3 Influencia de la vibración del equipo en el proceso de liofilización.....	29
4.4 Efecto del tipo de matriz: liofilización de fresas.....	30
5. CONCLUSIONES.....	32
6. CONCLUSIONS.....	32
7. VALORACIÓN PERSONAL.....	33
8. BIBLIOGRAFÍA.....	33

RESUMEN

La aplicación de Ultrasonidos (US) por contacto directo con el alimento produce vibraciones que generan compresiones y descompresiones en la matriz del alimento produciendo canales en su interior que facilitan la transferencia de masa y energía. Esta mejora en la transferencia de masa y energía podría aumentar la velocidad de deshidratación en diferentes procesos, como por ejemplo durante la liofilización. Por ello, el objetivo de este trabajo fue estudiar el potencial de la aplicación US por contacto directo para mejorar/acerclar el proceso de liofilización, usando zanahorias como alimento modelo.

En primer lugar, se evaluó la influencia de la aplicación de diferentes intensidades de US (4%, 32% y 66%) sobre la velocidad de deshidratación y la capacidad máxima de deshidratación de zanahorias. Posteriormente, se analizó la influencia que la aplicación de US durante la liofilización tenía sobre las propiedades tecnológicas (capacidad de retención de agua y pérdida tras el cocinado) y sensoriales (textura y color) del producto final. Los resultados obtenidos indican que, en las condiciones ensayadas, la aplicación de US durante el proceso de liofilización no condujo a mejoras ni en la velocidad de deshidratación ni en las propiedades tecnológicas de las zanahorias liofilizadas.

Finalmente, y a la vista de estos resultados, se realizó un ensayo donde se estudió el efecto de la vibración del motor del equipo en el proceso de liofilización. Este ensayo reveló que dicha vibración podría suponer una mejora en la velocidad de liofilización, enmascarando así el efecto de los US. Por último, también se analizó la influencia que podía suponer el tipo de materia prima utilizada en los resultados obtenidos mediante el uso de fresas. Los resultados de este último ensayo sugieren que este factor no explicaría los resultados obtenidos en este Trabajo Fin de Grado.

ABSTRACT

The application of direct contact ultrasounds (US) to food products generates vibrations leading to a succession of compression and decompression cycles ultimately causing the appearance channels inside the food matrix and, therefore, facilitating energy and mass transfer. This improvement in the energy and mass transfer rates can, potentially, increase the drying rate in different process, such as freeze-drying. Therefore, the aim of this work was evaluate the potential of direct contact US for improving/accelerating the freeze-drying process, using carrots as a model food.

First, the influence of the application of different US intensities on the drying rate and final moisture of freeze-dried carrots was evaluated (4%, 32% and 66%). Later, the influence that US application during freeze-drying had on the technological (water retention capacity and cook loss) and sensory (texture and color) properties of the final product was analyzed. The results obtained indicate that, under the tested conditions, US application during the freeze-drying process did not lead to improvements in the drying rates or in the technological properties of the freeze-dried carrots.

Finally, and in view of these results, an experiment was set up to study the effect of the vibration of the equipment's engine on the freeze-drying process. This test showed that this vibration could lead to an improvement in the drying rate, masking the effect of the US. Finally, the influence of the type of food (vegetable) on the freeze-drying process studies was also evaluated through the use of strawberries. The results obtained in these assays suggest that this factor would not explain the results obtained in this Final Degree Project.

1.INTRODUCCIÓN

1.1 El secado como proceso de conservación de los alimentos

Las técnicas de secado se llevan aplicado desde la antigüedad como método de conservación. Se cree que el método de secado se descubrió simplemente por azar al exponer los alimentos al sol, lo que lo convertiría en el método de conservación más antiguo. Aunque el principal objetivo del secado es la conservación de los alimentos, este se usa a día de hoy también para fines tecnológicos, de logística, facilitando el transporte al disminuir su volumen, y para conseguir características sensoriales específicas (Barat y Grau, 2016).

No obstante, y a pesar de lo sencillo que parece su principio, el secado es un proceso complejo, y por ello existen diversas variables a tener en cuenta a la hora de realizarlo (Barat y Grau, 2016):

- El tipo de superficie, especialmente en frutas que presentan una piel o capa que favorece la retención de agua en el interior del alimento.
- La estructura interna de los alimentos, dependiendo de la composición del producto o si está dañado o no.
- La forma y el tamaño de los alimentos: la relación superficie volumen condiciona la velocidad de secado, cuanto mayor sea esta relación, menos tiempo será necesario para la eliminación del agua presente en el producto.
- Temperatura: a mayor temperatura mejor es el coeficiente de transferencia de masa.
- Velocidad del aire: al igual de lo que pasa con la temperatura, el coeficiente de transferencia de masa también depende de la velocidad del aire.
- Humedad relativa (HR): la HR del aire condiciona la tendencia del alimento a perder o adquirir agua.
- Tipo de alimento: una estructura concreta y la presencia de determinados componentes del alimento supondrán una mejor transferencia de masa desde el producto

Dada la baja eficacia/eficiencia de los procesos de secado al sol (que no consiguen la completa eliminación del agua del alimento, y requieren de tiempos y superficies de secado muy grandes), a lo largo de la historia el hombre ha desarrollado numerosas alternativas. Así a día de hoy existen diversos métodos de secado para eliminar el contenido en agua de un alimento, basándose en diferentes principios tanto físicos como químicos. Los más utilizados son el secado por aire caliente, la deshidratación osmótica, el secado por microondas, entre otros... Existe gran diferencia entre las características de cada uno de los métodos de secado, especialmente respecto a su capacidad de eliminar microorganismos, la cual está relacionada con el nivel de secado conseguido, donde la a_w ha de ser menor de 0,6. En algunos casos, para conseguir reducir

la a_w del alimento hasta un nivel que garantice la inocuidad se adicionan solutos cloruro sódico o sacarosa.

Por otro lado, para evitar largos tiempos de procesado se aplican altas temperaturas de secado, lo que provoca efectos indeseados como: pérdida de compuestos volátiles o efectos negativos en el color debido a oxidación de lípidos y la reacción de Maillard.

Por ello, en los últimos años se han desarrollado métodos de secado alternativos a los tradicionales con los que se consigue una mejor conservación de la calidad del producto, tales como la deshidratación a vacío o liofilización.

1.2. La liofilización

La liofilización es un método de secado basado en la eliminación del agua por sublimación o, lo que es lo mismo, el paso de hielo directamente a vapor. Esto implica, por lo tanto, que el proceso se lleva a cabo a bajas temperaturas y en ausencia de agua líquida, que lo hace un método idóneo, entre otros, para el secado de alimentos termosensibles. Además, las características propias de este proceso permiten que los alimentos conserven la calidad nutritiva y sensorial que con los sistemas tradicionales se ve afectada considerablemente. (Bermúdez et al., 2016).

Sin embargo, para llevar a cabo este proceso se requiere la aplicación de presiones de vacío y temperaturas bajas, debido a que la sublimación solo se consigue a una temperatura y una presión del hielo por debajo del punto triple del agua (es aquel en el que coexisten en equilibrio el estado sólido, el estado líquido y el estado gaseoso). En la Figura 1 se muestra el diagrama de fases del agua cuyas líneas representan las combinaciones presión-temperatura que conllevan el cambio de fases del agua y los espacios que quedan entre ellas muestran la fase estable en cada caso. Se observa que el punto triple se consigue a una temperatura de 273,16 K (0,01 °C) y una presión de 611,73 Pa.

Por ello, la liofilización es un método caro y solo se utiliza para obtener alimentos de alto valor añadido como frutas y verduras fuera de su temporada. Requiere tiempos más prolongados y altos consumo energético, tanto para congelar el producto como para mantener el vacío del sistema (Bermúdez et al., 2016).

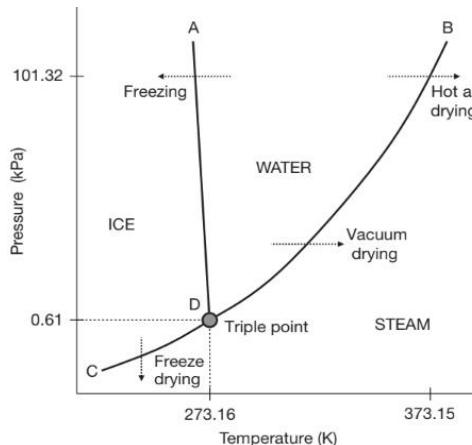


Figura 1. Punto triple del agua, relación temperatura y presión (Bermúdez-Aguirre et al., 2016).

El proceso de liofilización se realiza siguiendo una serie de etapas, en primer lugar, se realiza el acondicionamiento del producto para que la liofilización se pueda dar de la manera óptima. Esta etapa abarca procesos como la selección de la materia prima, la limpieza de esta o una disminución del tamaño cuando sea necesario. Todo este tratamiento hace que la liofilización se encarezca, y por tanto el precio del producto final una vez liofilizado tenga un valor mayor.

Por lo tanto, para llevar a cabo la liofilización es necesario una primera etapa de congelación, una etapa de secado primario o sublimación del agua congelada y una etapa de secado secundario o evaporación del agua no congelada.

1. *Congelación*, consiste en reducir la temperatura del alimento por debajo de 0 °C para conseguir que el agua presente en el alimento se encuentre en estado sólido. En esta fase se ha de tener en cuenta la velocidad de congelación, cuanto menor sea la temperatura, en menor tiempo se consigue la congelación y como consecuencia los cristales de hielo que se formen tendrán un tamaño menor, lo que repercutirá en el secado, siendo más fácil de sublimar los cristales pequeños y disminuyendo el daño que se pueda producir en el resultado final. Por el contrario, una congelación excesivamente rápida genera tensiones que pueden producir grietas en la estructura. Esta etapa se puede producir dentro de la cámara de liofilización o bien mediante métodos de congelación de manera exterior al equipo de liofilización.
2. *Secado primario*, o fase de sublimación, se elimina casi el 90% del agua perteneciente al hielo libre. Para llevar a cabo esta fase se aplican presiones bajas, de entre 130 y 260 Pa. Durante esta fase se puede producir el colapso del alimento que daña su calidad y para evitarlo la temperatura del alimento debe de permanecer por debajo de la temperatura de colapso. Este defecto se produce porque los cristales de hielo al sublimar dejan

espacios libres y el alimento fluye hacia esas zonas. En esta etapa, es necesario un pequeño aumento de la temperatura (siempre por debajo de la temperatura colapso) para aportar el calor latente necesario para producir el cambio de estado (2840 kJ de sublimación).

3. *Secado secundario*, o desorción, comienza cuando acaba el secado primario, se elimina el 10% de agua ligada restante. La duración será mayor en proporción al agua eliminada debido a que es el agua que presenta mayores fuerzas de unión, por ello la temperatura a la que se realiza esta fase es mayor, pues va desde los 20 a 60 °C, y la presión será igual o algo menor a la utilizada en la fase anterior.

Por último, se ha de tener especial cuidado en el almacenamiento, donde se busca que las condiciones sean a la menor humedad posible, pues el producto liofilizado es muy higroscópico. Existen dos opciones de almacenamiento para este tipo de productos, o bien manteniendo el vacío de la etapa de liofilización o llevándolos a una atmósfera compuesta de gases inertes. El envasado deberá ser impermeable al vapor de agua y a los gases exteriores.

1.3.1. Equipos de liofilización

Los equipos de liofilización se constituyen principalmente de una cámara de vacío, donde una vez se tiene el material congelado se lleva a cabo la fase de sublimación y la posterior desecación. En el proceso de liofilización se genera vapor de agua a partir de hielo y como consecuencia la presión de la cámara aumenta, además la temperatura de la materia prima disminuye por el calor latente utilizado en el cambio de fase, todo ello hará necesario un sistema que sea capaz de producir calor y otro encargado de producir el vacío, además, el vapor que se genera se condensa a hielo gracias a un condensador. En la Figura 2 se muestra un esquema de los principales componentes de un equipo de liofilización. El sistema de vacío se consigue mediante la utilización de dos bombas, una bomba de lóbulos que se encarga de producir la mayor cantidad de vacío, pero no la totalidad, y una bomba rotativa encargada del vacío restante. El sistema de calentamiento puede disponerse de dos placas que transportan un líquido caliente o por resistencias eléctricas en el caso de que la transferencia de dicho calor se lleve a cabo por conducción. La radiación es la otra forma de conseguir el aporte de calor, sobre todo centrándose en la superficie de la muestra, y se hace mediante la utilización de infrarrojos.

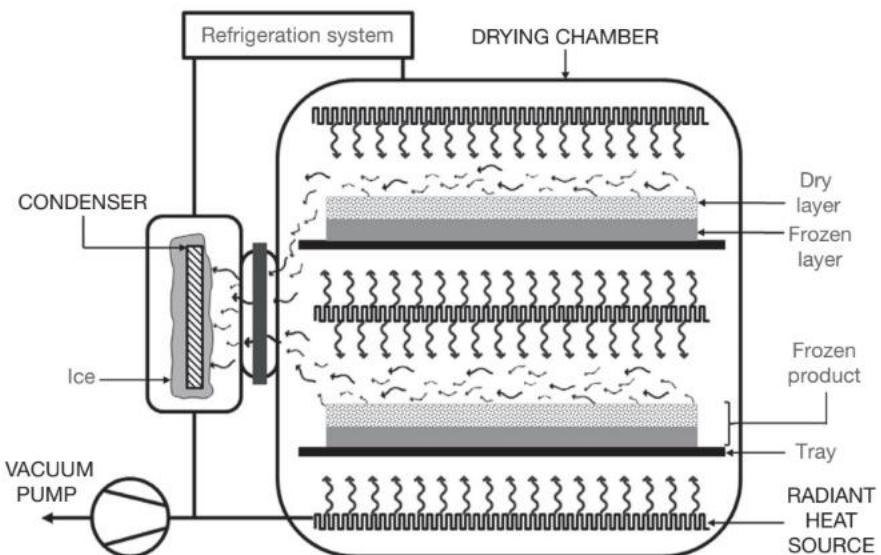


Figura 2. Componentes principales de un sistema de liofilización. (Bermúdez-Aguirre et al., 2016)

1.3.2. Ventajas e inconvenientes de la liofilización

Como se ha mencionado anteriormente, los sistemas de secado habituales y en los que se emplean altas temperaturas pueden suponer efectos indeseados en el resultado final del producto tales como la pérdida de aromas, oxidación de lípidos y vitaminas liposolubles, pueden producir daños en la estructura del alimento o afectar a la biodisponibilidad de las proteínas para el consumo humano. Además de estas pérdidas de las características naturales de la materia prima, la utilización de tratamientos térmicos excesivos puede añadir efectos adversos como compuestos derivados de la Reacción de Maillard. La liofilización y las condiciones que la componen, especialmente la utilización de bajas temperaturas, disminuyen los efectos negativos mencionados, sin embargo, existen una serie de efectos sobre los atributos sensoriales. En primer lugar, el color se puede ver afectado por la deshidratación del material, esto se debe a que al eliminar el agua los pigmentos encargados de aportar color al producto se concentran, llevando a una intensidad de color mayor que luego puede revertirse al rehidratarse el alimento en el momento de consumo. La ventaja frente a los métodos de secado por aire es evitar el oscurecimiento del producto como ocurre con estos sistemas.

La contracción del material es otro defecto que puede presentarse al aplicar la liofilización provocada por el colapso de los alimentos, resultante de una sublimación a una temperatura superior a la temperatura de transición vítreo. La transición vítreo es la temperatura máxima que se puede aplicar a una presión determinada para un alimento concreto sin que se produzca el colapso (Law et al., 2016). Por ello siempre se ha de conocer la temperatura vítreo del alimento con el que se trabaje y tener cuidado en no exceder la temperatura aplicada para la

presión determinada. La conservación de la textura inicial es consecuencia de la fase de congelación, como se ha mencionado anteriormente, cuanto mayor sea la velocidad de congelación los cristales de hielo formados serán de menor tamaño y menos afectada se verá la textura, haciendo más fácil su posterior rehidratación en el momento de la preparación para el consumo, de esta manera la retención del agua será mejor.

Por otro lado, la liofilización es un método muy costoso en cuanto a tiempo y energía. Es por ello, que se están investigando diferentes alternativas para reducir sus costes y optimizar el tratamiento. Una de estas alternativas es la aplicación de ultrasonidos (US) al proceso de liofilización con el objetivo de reducir el tiempo y la energía necesaria para completar la liofilización.

1.4. Los ultrasonidos (US)

1.4.1. Principios básicos de la tecnología.

Los US son ondas sonoras que presentan una frecuencia mayor de 20 kHz. Cuando estas ondas se propagan a través de un medio generan cavitaciones acústicas. Estas consisten en regiones de alta y baja presión en las partículas del medio, formando microburbujas, mediante ciclos de compresión y descompresión estas burbujas van creciendo hasta hacerse inestables y colapsar, lo que se traduce en una gran cantidad de liberación de energía. (Bhargava et al., 2021)

En función de su frecuencia e intensidad los US se clasifican en alta frecuencia y baja intensidad y ultrasonidos de baja frecuencia y alta intensidad.

Los US de alta frecuencia mayor a 100 kHz e intensidades inferiores a 1 W/cm² son los utilizados para la evaluación de determinadas propiedades de alimentos. Esta técnica no destructiva y no invasiva es capaz de determinar la estructura (forma o tamaño), la composición y sus propiedades.

Por otro lado, los ultrasonidos de baja frecuencia (20 kHz y 100 kHz) y alta intensidad (10 – 100 W/cm²) tienen capacidad para generar daños en las células, y provocan efectos en las propiedades físicas, bioquímicas y en la estructura del alimento, por ello son los que se han propuesto como método alternativo para la inactivación de microorganismos. Así, parecen especialmente adecuados (en combinación con otros agentes) para el tratamiento de alimentos termosensibles que no puedan soportar grandes aportes de calor debido a las consecuencias que podría tener este en las características fisicoquímicas y el valor nutricional del propio alimento (Bhargava et al., 2021).

El principal mecanismo de acción de los US de baja frecuencia es la cavitación. En este proceso, y debido a la acción de las ondas ultrasónicas, se forman burbujas de gas que se expanden contraen hasta implosionar, generando una onda de choque con presiones y temperaturas muy elevadas asociadas y que son capaces de romper las paredes celulares y/o reducir el tamaño de las partículas, razón por la que esta tecnología puede utilizarse para la inactivación microbiana, la homogeneización de la leche o para la extracción de compuestos y otras operaciones de transferencia de masa (Chemat et al., 2021).

Asimismo, debido a este fenómeno de la cavitación junto con la microvibración que generan se han propuesto para la mejora de diferentes procesos como la congelación, la filtración o la emulsión de los alimentos (Astráin-Redín, L. et al., 2019).

En el caso concreto de la liofilización los ultrasonidos tienen el potencial para mejorar diferentes fases, desde las fases de preparación previas al tratamiento como el escaldado, en el momento de la congelación o para mejorar la transferencia de masa y energía durante la propia liofilización (Ciurzynska et al., 2021).

El uso de pretratamientos se utiliza para reducir el contenido de agua inicial y acelerar el proceso de secado, lo que conlleva a una mejor calidad en el secado final. Esto puede deberse o bien a la inactivación de enzimas y microorganismos, lo que controlará las posibles oxidaciones o alteraciones posteriores, o a la modificación de la estructura del material. En el momento del pretratamiento se ha visto que, al colocar materias primas en un medio líquido, si se conecta a un generador de ultrasonidos aumenta la difusión del agua durante el secado y como consecuencia el tiempo será menor, llevando a un coste también menor. (Duarte et al., 2016) Según Kejing An et al., (2020), esto se debe a una serie de compresiones rápidas y alternativas de expansión similares a una “esponja”. De esta forma, la tensión que generan los US forma microcanales que son beneficiosos para eliminar el agua adherida a los capilares.

La primera fase de la liofilización es la congelación del agua presente en el alimento. El objetivo de esa fase es conseguir cristales de pequeño tamaño para así evitar la destrucción de la estructura inicial del alimento. Este tipo de cristales se consiguen cuando la congelación se produce de forma muy rápida. Se ha observado como los US permiten reducir los tiempos de congelación y obtener muchos cristales de pequeño tamaño. Esto es debido a que las ondas producen una gran cantidad de sitios de nucleación donde se han producido las burbujas de la cavitación. Además, estas fuerzas de cavitación rompen los cristales ya formados en otros más pequeños (Chuan et al., 2011).

Según un estudio llevado a cabo por Nachun Luo y Haijin Shu (2017), se consigue optimizar la transferencia de masa y energía mediante la aplicación de diversos parámetros. En primer lugar, el grosor del alimento condiciona el porcentaje de agua que podamos encontrar antes de someter la muestra al secado. Además, a menor grosor, mejor transferencia de vapor habrá. En el estudio se observó que el tratamiento con ultrasonidos da como resultado una estructura más porosa que facilita la transmisión de vapor al sublimar el agua.

Para conseguir la sinergia de la liofilización junto al tratamiento por US, se acoplan transductores de US a las bandejas donde se encuentra el material en el momento de la liofilización. Los US permiten disminuir la temperatura a la que se produce la liofilización en el momento de la transferencia de energía para llevar a cabo la sublimación. Jäger et al., (2012), indican que los US pueden ser favorables cuando los productos se deben secar por debajo de su punto de congelación en el caso de realizarse en intervalos. El uso de US de manera continua podría ser beneficioso en la fase de desorción. La aplicación de US no solo consigue disminuir la temperatura, si no que optimizaría el tiempo que tarde en conseguirse el secado del producto. Por tanto, se deduce que la aplicación de US será beneficiosa para la transferencia de calor en el momento del secado, disminuyendo el tiempo, el cual puede durar hasta días, y también la temperatura necesaria para conseguir la sublimación. También se aprecian otros aspectos beneficiosos respecto a las características del producto final, tanto la conservación del color y su estructura inicial, así como evitar las pérdidas de componentes volátiles presentes en la composición del alimento.

Los US en seco son una gran alternativa a la conservación de dichas características, esto se debe a que las vibraciones provocan compresiones y descompresión en la matriz del alimento y se producen canales en el interior que facilitan la transferencia de energía y masa. De esta manera, el aumento de la transferencia de energía y masa provoca una menor pérdida de compuestos debido a la reducción del tiempo de secado. Por el contrario, los US en seco se producen por contacto directo, lo que debido a la vibración directa en el producto puede provocar un aumento de la temperatura debido a las altas intensidades, lo que tiene efectos en las características del alimento, especialmente en los compuestos termosensibles. Por ello, aplicar los US en discontinuo mediante un método ON/OFF, es una buena opción para contrarrestar la continua vibración de las partículas y por consiguiente el aumento de temperatura.

Los sistemas de generación de US disponen de 3 componentes esenciales (Astráin-Redín, L. et al., 2019):

- Generador eléctrico: Es la fuente de energía del sistema, transforma la señal eléctrica captada de la red en una señal a una frecuencia deseada.
- Transductor: Es un cuerpo que vibra y es el medio que consigue convertir la señal eléctrica de alta frecuencia en vibraciones. Existen dos tipos, los transductores magnetostrictivos y los piezoelectricos.
- Emisor: es el encargado de transmitir al medio la energía vibratoria generada por el transductor. En la industria alimentaria podemos distinguir entre dos.

En la industria alimentaria coexisten dos tipos de equipos para aplicar US, variando en el medio por el que se transfiere la energía acústica. Los baños de agua son más baratos y su mantenimiento es menos costoso. A través de un tanque se conectan transductores en las paredes y las ondas se propagan a través del agua donde se encuentra sumergido el alimento. Son tratamientos de baja intensidad ($0,1\text{-}1 \text{ W/cm}^2$) y son menos homogéneos.

Por otro lado, en los US aplicados en seco, el alimento está en contacto con el generador de US. A diferencia del baño, este método permite aplicar mayores intensidades ($\geq 5 \text{ W/cm}^2$) pero son más caros.

Los US dependen de diferentes parámetros, siendo los que mayor relevancia tienen la amplitud y la frecuencia. Sin embargo, existen otros a tener en cuenta. (Ciudad Hidalgo, 2018).

- La frecuencia es el número de vibraciones de una onda completa por unidad de tiempo, determina el tamaño de las burbujas y por ende la intensidad de la implosión.
- La amplitud de onda es el máximo desplazamiento de la partícula desde la posición de equilibrio, se relaciona con la cantidad de energía que se suministra y con la intensidad lumínica. Cuanto mayor es la amplitud, mayor es la implosión.
- La velocidad acústica, es la velocidad de propagación de la onda. Depende del medio de propagación y se puede considerar constante para un medio determinado.
- La potencia acústica es la energía total irradiada por la fuente de ultrasonidos por unidad de tiempo.
- La intensidad acústica es la energía transmitida por unidad de tiempo a través de unidad de área perpendicular a la dirección de propagación.
- Mayor intensidad y amplitud no siempre es mejor, dependerá del objetivo y las condiciones deseadas. Una mayor intensidad puede provocar un aumento de temperatura y por ello no ser favorable en un proceso de liofilización donde la muestra se encuentra congelada.

2.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La liofilización es un método de secado más caro que los convencionales debido a su alto gasto de tiempo y energía. Este método se usa en productos de gran valor comercial. Por ello, la aplicación de US puede resultar beneficiosa en el desarrollo de dicho tratamiento, buscando disminuir los tiempos de secado y por ende el gasto de energía. Durante la liofilización el producto sufre un secado que puede verse potenciado por los US mediante la formación de canales en la estructura de este. Además, los US pueden presentar distintos beneficios en características tecnológicas finales del producto, haciendo que estas sean las más parecidas a la muestra inicial y por tanto conseguir una mejor calidad última del producto, con lo que esto se vería reflejado en el valor final.

A la vista del potencial de esta tecnología (US) para la mejora del proceso de liofilización se planteó el siguiente objetivo general para este trabajo. “Evaluar el efecto de la aplicación de ultrasonidos en el tratamiento de liofilización.”

Para su consecución se definieron los siguientes objetivos parciales:

1. Determinar la influencia de la aplicación de US en la velocidad del tratamiento de liofilización.
2. Estudiar la capacidad máxima de liofilización tras la aplicación de un tratamiento con US.
3. Valoración de las características tecnológicas finales del producto.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo se dividió en dos partes, en primer lugar, una primera fase en la que se estudió la influencia del tratamiento de US en la velocidad de liofilización y la capacidad máxima de deshidratación. Por otro lado, una segunda fase donde se observó la influencia de la aplicación de los US en las características tecnológicas finales del producto.

3.1 Materia prima

El estudio se elaboró utilizando zanahoria de variedad Nantesa adquirido en un supermercado local. La materia se almacenaba en una cámara de refrigeración a 4 °C para su óptima conservación hasta el momento de su uso. Con objeto de poder establecer comparaciones significativas entre ensayos, a partir de dichas zanahorias se obtuvieron cilindros de 2 x 2 cm (diámetro x altura), y un peso medio de entre 7 ± 1 gramos por muestra, como las que se pueden observar en la Figura 3. Dichas muestras se obtuvieron utilizando un sacabocados en forma de cilindro de 2 cm de diámetro y dos hojas de cíter integradas en una pieza de policarbonato separadas por una distancia de 2 cm. Dado que en cada ensayo se realizaron triplicados (réplicas) técnicos, cada una de las 3 muestras que se introducían en cada matraz, fue marcada mediante el uso de trozos de palillos de madera.



Figura 3. Muestras control y US en forma de cilindro identificadas mediante palillos.

Posteriormente, se llevaron a cabo ensayos cuyo objeto fue comprobar si los resultados obtenidos para la zanahoria eran extrapolables a otras materias primas (vegetales) se utilizaron también fresas de la variedad Prize. Al contrario que las zanahorias, la preparación de estas no supuso modificar su forma o tamaño, simplemente se procedió a congelar (y posteriormente liofilizar) el producto entero.

La congelación de las muestras previas a su introducción en el liofilizador se llevó a cabo mediante un congelador estático (RZ32M7535WW, Samsung, Dublín) para llevar las muestras a -20 °C durante 24 horas, necesario para llevar a cabo el proceso de liofilización.

3.2 Equipo de liofilización

El equipo de liofilización que se usó en esta investigación es un modelo al que se adaptó un árbol con 8 conectores dotados de llaves de paso independientes donde conectar los matraces en los que se depositaba previamente las muestras. Este sistema permitía extraer las muestras en diferentes momentos sin detener el equipo ni condicionar el proceso de liofilización del resto de muestras (Figura 4).

Si bien este equipo permite introducir las muestras sin congelar y congelarlas de manera previa a su liofilización, en nuestro caso, como se ha comentado anteriormente, se utilizó un congelador convencional, introduciendo las muestras ya congeladas al equipo.



Figura 4. Equipo de liofilización junto al generador de ultrasonidos.

3.3 Equipo de US.

El equipo de generación de ultrasonidos (Green Technologies Modelo XXX) está formado por 2 componentes principales: el módulo de generación y aplicación de US y el módulo de control. El módulo de generación y aplicación de US se compone de 4 transductores de 40 kHz y 50 W cada

uno. Los cuatro transductores se encuentran bajo una placa común (Figura 5) en la cual se introducían cuatros soportes donde se colocaron los matraces con las muestras a liofilizar (Figura 6). Por otra parte, el equipo de control permite diseñar el protocolo de trabajo de US, seleccionando los transductores con los que se pretende trabajar y regulando la activación y desactivación de cada uno de estos, el tiempo de encendido y apagado y los ciclos de repetición.



Figura 5. Transductores. Parte inferior superior.



Figura 6. Transductores. Parte

Como puede observarse en la Figura 4, para llevar a cabo la liofilización de manera que se apliquen simultáneamente US, los matraces han de estar conectados a los conectores del árbol y mantenerse en contacto con la placa del equipo de US, por ello, se hizo uso de mangueras que conectasen los conectores del árbol con los matraces que se encontraban sujetos en la placa, haciendo vacío a través de estas mangueras. De esta manera, las muestras control y las muestras en las que se aplicaron tratamientos ultrasónicos se liofilizaron en el mismo liofilizador al mismo tiempo.

Por otro lado, y como se describirá en resultados y discusión, en un momento dado se realizó un ensayo en el que se estudió la influencia que puede tener la vibración del propio equipo en el proceso de liofilización. Para ello, los matraces se colocaron en un soporte (figura 5) separado físicamente del equipo de liofilización y acolchado, sobre el cual se apoyaron 4 matraces. De esta manera, el soporte ofreció una amortiguación a la vibración que producía el motor del equipo.



Figura 7. Soporte con amortiguación a la vibración del motor del equipo.

Este ensayo de amortiguación de la vibración del equipo se realizó con el fin de observar un tratamiento de liofilización lo más similar posible a un equipo convencional, donde normalmente el motor se encuentra de manera separada a la zona donde se produce la liofilización. De esta manera, no se producen vibraciones durante la liofilización que puedan influir en el tratamiento.

Dado que el equipo de US utilizado en este estudio es de frecuencia (40 kHz) y amplitud constante (100%), para aplicar diferentes intensidades de sonicación se optó por la aplicación de los US de forma discontinua. Así se utilizaron 4 protocolos:

- 4" de marcha y 90" de parada (4" ON/ 90" OFF), equivalente a un 4% de tiempo efectivo de sonicación.
- 5" ON/ 25" OFF (17% de tiempo efectivo de sonicación).
- 10" ON/ 20" OFF (33% de tiempo efectivo en sonicación).
- 20" ON/ 10" OFF (66% de tiempo efectivo en sonicación).

La base de la aplicación de estos tiempos fue incrementar siempre la misma proporción de intensidad para poder ser comparable.

3.4 Estudio del proceso y cinética de liofilización

El proceso de liofilización se monitorizó a través de la medida de la pérdida de peso a lo largo del tiempo de liofilización. Para ello, en primer lugar, previamente a la congelación de las muestras, se pesaron para posteriormente introducirla en los matraces donde se iban a liofilizar. Una vez iniciado el proceso de liofilización, se extrajeron muestras a tiempos preestablecidos

del liofilizador y se pesaron utilizando una balanza analítica (Kern). Las muestras no se reintrodujeron en el liofilizador por lo que cada una de las medidas experimentales que se mostrarán en la sección de resultados corresponde a una muestra diferente.

La pérdida de peso como consecuencia del proceso de liofilización se expresó como el porcentaje de peso en relación con el peso inicial calculándose a través de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ peso} = \frac{P_i}{P_t} \times 100 \quad (\text{ec 1}).$$

Siendo Pi el peso inicial (g) de la muestra al comenzar la liofilización y Pt (g) tras un tiempo t de liofilización. Con estos valores se construyeron las gráficas deshidratación/liofilización que se modelizaron utilizando el programa PRISMA y utilizando la ecuación de Fick (ec 2). La ecuación de Fick describe matemáticamente proceso de difusión de materia.

$$y = X_e + (X_i - X_e) \cdot 2,718281^{(-k * x)} \quad (\text{ec 2}).$$

Donde Xe hace referencia al % de peso en el equilibrio; Xi al % peso inicial, siendo igual a 100; k representa la velocidad de deshidratación ($^{\circ}\text{C}/\text{h}$); y finalmente, x equivale al tiempo (horas).

En el proceso de liofilización de este estudio se tuvieron en cuenta dos factores. En primer lugar, la capacidad máxima de deshidratación de la muestra, y, en segundo lugar, la cinética de deshidratación. Para ello se aplicó un tratamiento de liofilización a diferentes tiempos. Se comenzó midiendo esta capacidad de liofilización cada 2 horas, estudiando el % de peso de la muestra. De esta manera, se determinó el tiempo necesario para alcanzar la máxima liofilización.

Una vez se conoció a qué horas la liofilización había alcanzado su pico máximo, se aplicó US a el proceso de liofilización. Este método consiste en aplicar a la vez una liofilización convencional en 4 vértices del árbol, y de manera simultánea, en los 4 vértices restantes se colocan los otros 4 matraces conectados a la placa de US. Seguidamente se establecen los tiempos a los que tomar medidas, y cada matraz de liofilización convencional va correspondido con un matraz de liofilización por US para poder comparar la capacidad de liofilización del método convencional con aquella a la que se aplica US. La manera de analizar los resultados es similar a la descrita en el ensayo anterior. La ecuación utilizada fue la misma y se comparó la velocidad de liofilización y las diferencias entre la capacidad máxima de esta.

La ecuación de Fick ayuda a describir la difusión de materia que se produce en el alimento en el momento de la deshidratación.

3.5 Intensidad de US

La intensidad de ultrasonidos del estudio, como se ha comentado anteriormente, varió durante el desarrollo de este. En primer lugar, el protocolo de aplicación fue en discontinuo con 4" de marcha y 90" de parada (4" ON/90" OFF) a lo largo de toda la liofilización, consiguiendo de esta manera una intensidad del 4%. La intensidad resultante de los tiempos de aplicación se calculó mediante la fórmula (Astráin-Redín, L. et al., 2021b):

$$\% \text{ intensidad US} = \frac{ton}{ton+toff} \quad (\text{ec 3.})$$

Siendo t_{on} el tiempo de encendido de US y t_{off} el tiempo de apagado.

Posteriormente, se aumentó la intensidad a 16% con tiempos de aplicación 5" ON/ 25" OFF. Por último, las intensidades probadas fueron del 33% con tiempos de 10" ON/ 20" OFF y del 66% con 20" ON/ 10" OFF. La base de la aplicación de este tiempo fue incrementar siempre la misma proporción de intensidad para poder ser comparable.

3.6 Caracterización de las propiedades tecnológicas

La caracterización de las propiedades tecnológicas del producto una vez liofilizado tiene como fin estudiar los efectos del tratamiento independientemente de cuál haya sido su cinética de deshidratación. Se estudiaron 4 parámetros: capacidad de rehidratación, color, capacidad de retención de agua (CRA) y textura. Todas las pruebas se realizaron con el fin de comparar las muestras control y las muestras tratadas mediante US.

3.6.1 Rehidratación

El estudio de la rehidratación se realizó una vez el producto había alcanzado el punto máximo de liofilización a las 24 horas. Posteriormente, se estudió la rehidratación tras 30 minutos, 1 hora y 3 horas. El método consistió en sumergir las muestras de zanahorias liofilizadas en vasos de plástico llenos de agua consiguiendo que las muestras estuviesen totalmente sumergidas.

Tras pesar las muestras, estas se sumergieron de manera completa en agua y se sacaron a los tiempos mencionados anteriormente. Para asegurar que las condiciones fuesen lo más similares, se sacaban todas las muestras al mismo tiempo y se iba retirando el agua superficial de cada una con papel, una vez todas fuesen pesadas se volvían a sumergir. Durante el tiempo de secado y pesado de las muestras el reloj se ponía en pausa para que el tiempo que influyese fuese únicamente el tiempo en el que las muestras se encontraban sumergidas en agua.



Figura 6. Muestras sumergidas en agua. Prueba de rehidratación.

3.6.2 Color

Se evaluó el color mediante el espacio de color CIELAB, el cual nos da tres coordenadas: la L (luminosidad), la a (coordenadas rojo-verde) y la b (coordenadas amarillo-azul). En nuestro caso se tuvo en cuenta el valor L (luminosidad) y a (rojo-verde).

Las muestras empleadas para este análisis fueron las resultantes del tratamiento de rehidratación tras 24 horas de liofilización. El equipo utilizado fue un colorímetro CIELAB, con el que se tomaban 3 medidas por cada una de las muestras medidas.

3.6.3 Textura

Se llevó a cabo un análisis físico-químico midiendo dos aspectos de la textura del producto. En primer lugar, se obtuvieron datos de la firmeza de las muestras con un Análisis de Perfil de Textura (TPA) en el texturómetro (TA-XT2i. Aname España). Esta prueba simula un proceso de masticación y ofrece una medición objetiva de diferentes valores. En este caso, se tuvo en cuenta la dureza de estas correspondiente al primer pico de la gráfica, siendo representada en fuerza (g).

Por otro lado, se realizó un test de corte por cizalla con la sonda “Warner-Bratzler”. El valor del test de corte mide la resistencia de la muestra a ser cortada. Esta resistencia se expresa en “fuerza de corte” en kilogramos/fuerza.

En ambos casos las muestras utilizadas fueron las obtenidas tras el proceso de rehidratación aplicado tras la liofilización.

3.6.4 Capacidad de retención de agua (CRA)

Este método de caracterización del producto se hizo con el objetivo de estudiar la pérdida de peso que se produce en la muestra tras haber sido cocinado. Para ello, se pesaron las muestras y estas se introdujeron en tubos de ensayos, sumergiéndose en agua hirviendo durante 30 minutos. Una vez transcurridos los 30 minutos, se sacaron las muestras de los tubos de ensayo y se eliminó el agua superficial con la ayuda de un papel. Por último, las muestras fueron pesadas para compararlas con el peso inicial y así poder calcular la capacidad de retención de agua.

La ecuación utilizada para calcular la CRA fue la siguiente:

$$CRA = 100 - \left(\frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 \right) \quad (\text{ec 4}).$$

siendo P_i el peso inicial y P_f el peso final de la muestra.

3.7 Tratamiento estadístico de los datos

El número de muestras por punto de liofilización fue de 3 y por ello nos interesaba saber la variabilidad de los resultados. Por ello, en las curvas de deshidratación de las muestras de zanahorias del control frente a las tratadas con US, se determinó el coeficiente de determinación (R^2). El valor de R^2 aporta información sobre la variabilidad del modelo que hemos elegido para analizar nuestras muestras, es decir, cuan cerca están los valores de la línea de regresión, todo ello con la utilización del programa GraphPad PRISM. Este programa también se utilizó para aplicar la ecuación de Fick, ecuación utilizada para modelizar la curva de deshidratación y transferencia de masa, pudiendo así determinar la pérdida de peso de las muestras.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se ha descrito en Justificación y Objetivos, el objetivo principal de este trabajo fue estudiar y evaluar el efecto que tiene la aplicación de US por contacto directo sobre un proceso convencional de liofilización. Para alcanzar este objetivo, en primer lugar, se estudió el efecto de la aplicación de diferentes intensidades ultrasónicas en la velocidad de deshidratación, para, posteriormente, evaluar el impacto de las modificaciones en este parámetro en las propiedades tecnológicas y en la calidad final del producto.

4.1. Efecto de la aplicación de US en el proceso de liofilización.

Si bien son numerosos los estudios en los que se demuestra que la aplicación de los US en la industria alimentaria mejora los procesos de transferencia de masa y energía (Astráin-Redín, L. et al., 2019) en la mayoría de ellos los US se aplican a través de un medio líquido o gaseoso (aire) a través del que se transmiten las ondas ultrasónicas. Las potenciales ventajas de la aplicación de US en seco ya se han presentado/discutido en la introducción y, por ello, en este estudio se evaluó la aplicación de US durante la liofilización de zanahorias sin el empleo de ningún medio de transmisión (líquido o sólido). No obstante, dadas las características del equipo de liofilización y del generador y transductores ultrasónicos utilizados en este estudio, la aplicación de los US no fue por contacto “directo” entre el transductor y el alimento en el sentido estricto, sino que se estableció a través de la pared de los frascos de vidrio en los que se llevaba a cabo la liofilización.

4.1.1. Estudio de diferentes intensidades ultrasónicas

En primer lugar, se evaluó el efecto de la aplicación de 3 intensidades ultrasónicas (4%, 32% y 66% de tiempo efectivo de sonicación) en la velocidad de liofilización y el contenido en agua final del producto. En paralelo se estudió el efecto sobre una muestra a la que no se aplicaron US que se empleó como “control”. Las gráficas de deshidratación en las que se representa el % de peso (en relación al paseo inicial) a lo largo del tiempo se muestran en la Figura 7. Las muestras de zanahoria que recibieron tratamiento por US se muestran de color gris y las muestras de zanahoria que se encontraban directamente conectadas al liofilizador sin ningún contacto con los US, es decir, las muestras control, en color negro. Señalar que, como se ha indicado en material y métodos, ambas muestras se liofilizaron en el mismo liofilizador al mismo tiempo. Una vez obtenidas las gráficas de liofilización/deshidrataciones estas se modelizaron con la Ecuación de Fick (Ecuación 2), obteniendo los resultados mostrados en la tabla 1. En todos los casos el coeficiente de regresión (R^2) fue superior a 0, (0,9294) lo que indicaba la bondad del ajuste de las curvas a los datos experimentales.

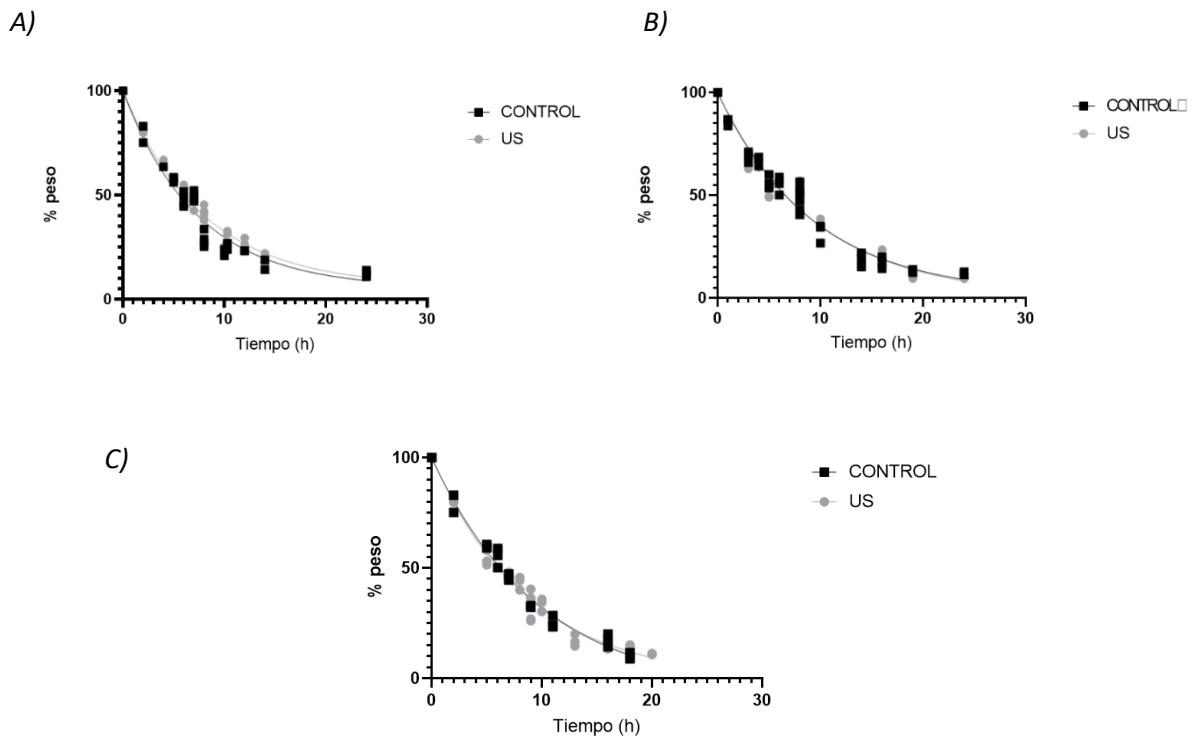


Figura 9. Efecto de la aplicación de US durante en proceso de liofilización en la pérdida de peso (deshidratación) de las muestras de zanahoria. Las gráficas también incluyen los datos obtenidos para las muestras control (sin US). Los datos corresponden a diferentes ensayos realizados en días independientes. A) Intensidad de US: 4%. B) Intensidad de US: 32%. C) Intensidad de US: 66%.

Tabla 1. Velocidad de deshidratación (k) y contenido en agua final de la muestra (P_{final}) porcentaje de peso final de la muestra (P_{final}) determinados tras el ajuste con la Ecuación de Fick en las diferentes condiciones ensayadas. La tabla incluye los parámetros determinados para los controles (no US) en cada ensayo. Se incluyen, entre paréntesis, las desviaciones estándar.

Intensidad ultrasónica	Control		US	
	k	$P_{final} (%)$	k	$P_{final} (%)$
4%	0,136 (0,02)	12,42 (1,45)	0,127 (0,01)	11,57 (1,08)
32%	0,108 (0,01)	11,89 (0,74)	0,105 (0,02)	10,30 (1,22)
66%	0,101 (0,01)	10,10 (1,14)	0,113 (0,01)	11,09 (0,31)

La primera intensidad estudiada fue la de 4 %, que correspondía a ciclos de 4 segundos de aplicación de US frente a 90 segundos de parada (Figura 9A). Como se puede observar, la aplicación de los US no mejoró significativamente ($p>0,05$) la velocidad de liofilización. De hecho, en la Tabla 1 dónde se muestran los parámetros obtenidos tras modelizar, para las

muestras control, la velocidad de liofilización fue de 0,136 (0,02) mientras que para las muestras con US fue de 0,127 (0,01). Es más, la velocidad de deshidratación (k) de las muestras control se encontraron incluso ligeramente (en promedio) por debajo de las US lo que podría ser atribuido sencillamente a la variabilidad biológica entre muestras. Dado que esta ausencia de diferencias podría ser debida a que la intensidad ultrasónica aplicada era demasiado baja (además hay que tener en cuenta que entre el transductor y la muestra de zanahoria se encontraba la pared de vidrio). Por ello, se continuó el estudio investigando la aplicación de ultrasonidos con una intensidad del 32% -aplicando ciclos de 10 segundos de US seguidos de 20 segundos de parada- (Figura 9B) y del 66% -aplicando ciclos de 20 segundos de US seguidos de 10 segundos de apagado- (Figura 9C). Como puede deducirse de los resultados de las gráficas tampoco ninguna de estas intensidades ultrasónicas condujo a incrementos significativos ($p=0,05$) en la velocidad de deshidratación en comparación con sus respectivas muestras control.

De estos datos se deduce que ninguna de las intensidades ultrasónicas aplicadas condujo a una reducción significativa en la velocidad de deshidratación. De forma similar, y como se puede observar en la tabla 1, la humedad/contenido en agua final de las muestras tampoco fue significativamente diferente entre las muestras tratadas por US y las muestras control. Dicho de otra forma, se puede concluir que el tratamiento de US, aplicado en nuestras condiciones no ofrecería mejoras en cuanto a la velocidad de liofilización de la zanahoria.

4.2. Efecto de los US en las propiedades tecnológicas de los productos liofilizados

Sin bien el principal objetivo inicial del estudio era estudiar el efecto de los US en la velocidad de liofilización, dado que la liofilización es un proceso de deshidratación que se usa en alimentos de alto valor añadido y por ende de gran calidad final (Bermúdez et al., 2016), y que se han documentado que la aplicación de determinados tratamientos previos (como los Pulsos Eléctricos de Alto Voltaje) puede conducir a una mejora de las propiedades sensoriales y tecnológicas de los alimentos sin mejoras en la velocidad del proceso (Ade-Omowaye et al., 2020), a continuación se evaluó el impacto que la aplicación de US tendría en algunas de las propiedades tecnológicas más relevantes y relacionadas con la calidad de un producto liofilizado.

4.2.1. Efecto de los US en la capacidad/velocidad de rehidratación de las zanahorias liofilizadas

La rehidratación es una característica importante a la hora del consumo de alimentos que han sido deshidratados. Como se ha mencionado anteriormente en la introducción, la aplicación de US provoca (o puede provocar) cambios en la estructura interna de los alimentos, dando lugar a pequeños poros en el interior de estos que consiguen una mejor difusión de materia (Bhargava

et al., 2021). Por ello, se evaluó si la aplicación de US (y la consecuente formación de dichos poros) en las muestras de zanahoria mejoraría la capacidad de rehidratación.

La rehidratación de las muestras se llevó a cabo de manera que estas quedasen totalmente sumergidas en el agua destilada. Posteriormente se pesaron las muestras tras diferentes tiempos de contacto para así determinar la capacidad que presentaban las muestras de absorber agua (de rehidratación).

En primer lugar, se estudió el proceso de rehidratación de las muestras tratadas a una intensidad (tiempo efectivo de exposición) de US del 32%. Como se puede aprecia en la Figura 10, las muestras que habían sido sometidas a esta intensidad ultrasónica mostraron un aumento de peso ligeramente superior en promedio (aunque no estadísticamente significativo) a las muestras control, mostradas en color gris.

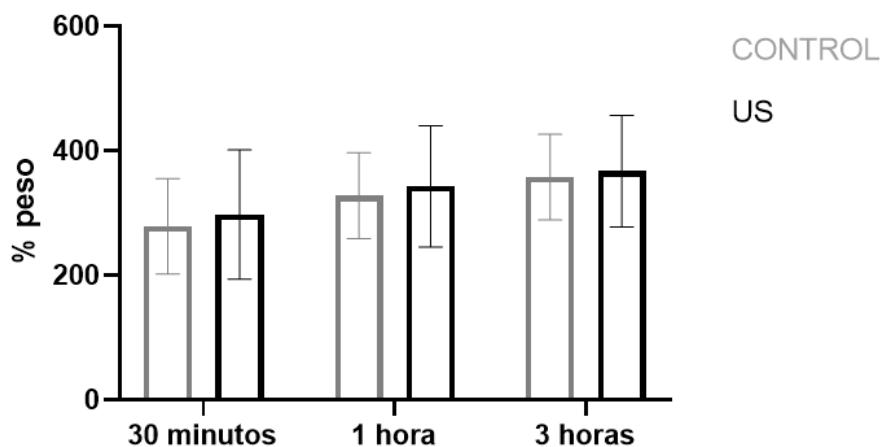


Figura 10. Influencia de la aplicación de ultrasonidos durante la liofilización (32% de tiempo efectivo) en la capacidad de rehidratación de muestras de zanahoria. Las barras de error indican la desviación estándar.

A la vista de estos resultados, se realizó un segundo ensayo de rehidratación, pero con muestras tratadas durante un 66% del tiempo. En la Figura 11 se observa como una mayor intensidad tampoco condujo a una mayor capacidad de rehidratación. Es más, aunque las diferencias de nuevo no fueron significativas los resultados sugieren que en este caso incluso la aplicación de US durante la liofilización podría ser contraproducente.

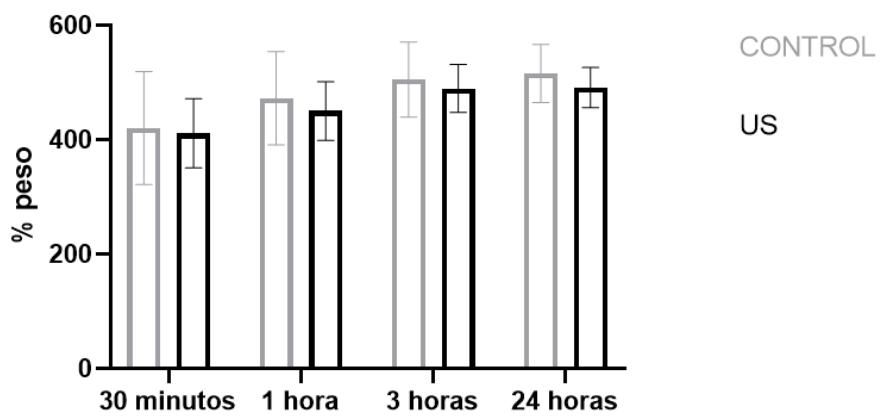


Figura 11. Influencia de la aplicación de US durante la liofilización (66% de tiempo efectivo) en la capacidad de rehidratación de muestras de zanahoria. Las barras de error indican la desviación estándar.

En resumen, y a pesar de la variabilidad en los resultados obtenidos, se puede concluir que la aplicación de US, a las intensidades estudiadas, tampoco mejoraría la capacidad ni velocidad de rehidratación de las muestras, aunque, en promedio, ambos parámetros sí que mejoraron ligeramente cuando las muestras se trataron a una intensidad del 32 %. Este resultado contrasta ciertos estudios donde se menciona que una mayor porosidad en la estructura (generada por la aplicación de US) da lugar a una mejor rehidratación (Law et al., 2016). Sin embargo, también en la bibliografía se ha documentado que no siempre aplicar US supone una mejor rehidratación, por lo que no puede descartarse que aplicar otras intensidades sí que conduzca a una mejora en este proceso.

4.2.2. Efecto de la aplicación de US en el color de las zanahorias liofilizadas

El color es otra de las propiedades tecnológicas que se evaluaron en la muestra final debido a que dicho parámetro es muy relevante en los estudios de liofilización, ya que como indica la literatura científica, la liofilización conduce a un menor oscurecimiento de los alimentos en comparación con el secado convencional mediante aire (Law et al., 2016).

Por ello, y para estudiar el efecto de la aplicación de US se determinaron las coordenadas Cielab de las muestras control y de las muestras tratadas por US a la máxima intensidad estudiada (66% de tiempo/intensidad). Como puede observarse en la figura 10 y la tabla 2, la aplicación de US tampoco condujo a diferencias significativas en ninguno de los tres parámetros del espacio (L, a y b).

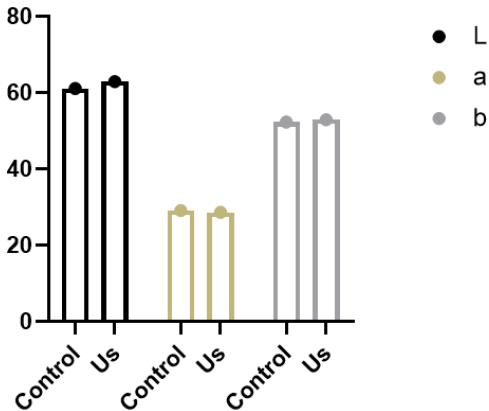


Figura 12. Influencia de la aplicación de US (66% del tiempo) durante la liofilización en los parámetros *L*, *a* y *b* de las muestras de zanahoria tras la liofilización.

Tabla 2. Coordenadas Cielab determinadas para las muestras de zanahoria (liofilizadas) control y las tratadas por ultrasonidos (66% de tiempo de aplicación).

	Control	US
L*	61,08 (1,54)	62,89 (1,44)
a*	29,10 (0,98)	28,61 (0,88)
b*	52,57 (1,51)	52,92 (0,56)

Por ello, se puede concluir que la aplicación de US no afectó de forma negativa al color de zanahorias liofilizadas, mismos resultados que ofrecen Abatzoglou y Zhang, (2020), donde la presencia de US en el secado no provocó cambios significativos en diferentes atributos de calidad, entre ellos el color. Sin embargo, estos resultados difieren de los obtenidos por An et al., 2020), donde en ensayos realizados con fresas, las muestras control presentaban una mayor luminosidad que las que habían sido sometidas a un tratamiento ultrasónico, donde el valor *L** disminuyó. Esto puede ser debido a las diferencias en estructura y composición de las fresas y la zanahoria, pero también en el tratamiento ultrasónico aplicado (y la forma de hacerlo). En la última sección de esta sección se discutirá en más detalle este punto.

4.2.3. Efecto de la aplicación de US en la textura de las zanahorias liofilizadas

Otro aspecto importante en la calidad de los alimentos liofilizados es su textura, que en el caso de los alimentos liofilizados se determina tras su rehidratación. Para ello, se realizó un test TPA y un test de corte en muestras de zanahorias liofilizadas con ayuda de US a dos intensidades: 32% y 66%.

La figura 11, muestra los resultados en unidades de Fuerza (g) determinados con el test TPA (una sola fase) para zanahorias liofilizadas sin (control) y con la aplicación de ultrasonidos a dos intensidades 32 % (Figura 13A) y 66 % de tiempo efectivo (Figura 13B). Este tipo de test se usa para determinar la dureza de las muestras/resistencia a la penetración de la sonda. Como puede observarse no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la fuerza obtenida, lo que indicaría la ausencia de diferencias entre las muestras, aunque, por otra parte, las gráficas también evidencian la notable variabilidad en los resultados obtenidos, lo que podría estar enmascarando la existencia de dichas diferencias. En cualquier caso, de existir diferencias los resultados sugieren que el aumentar el tiempo de exposición a los ultrasonidos hasta un 66% de tiempo efectivo conduciría a una pérdida de dureza de las muestras.

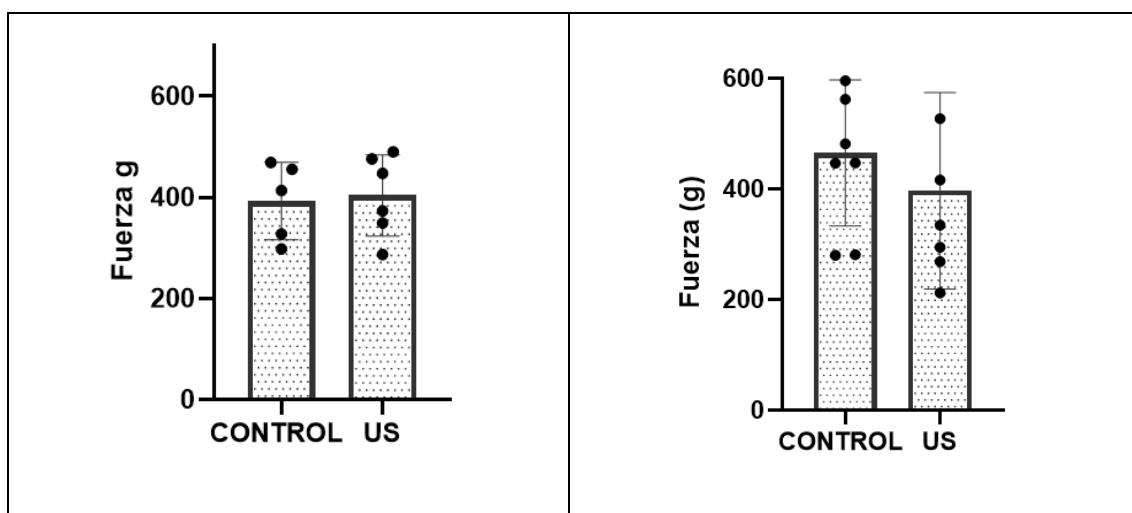


Figura 13. Fuerza (g) determinada mediante el test TPA para las muestras de zanahoria liofilizadas sin (control) y con la aplicación de US a dos intensidades. A: 32 % de tiempo efectivo y B: 66 % de tiempo efectivo. Las barras de error indican la desviación estándar.

Por su parte, en la Figura 14 se muestran los resultados obtenidos del test de corte. De nuevo, y como en el test TPA, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras control y tratadas por US. No obstante, sí que se observa una tendencia inversa a la observada al test TPA para las muestras liofilizadas tras la aplicación de US durante un tiempo efectivo del 66 %.

En resumen, los resultados de los test de textura revelaron que no existían diferencias estadísticamente significativas entre las muestras control y las muestras tratadas por US. Esto es consistente con los resultados de los ensayos de rehidratación, que indicaban que ambas muestras tenían una capacidad de rehidratación similar, ya que mayores valores de fuerza (g) se suelen relacionar con el contenido en agua (Song, Hu & Zhang, 2016), que por otra parte ya se había observado que era similar.

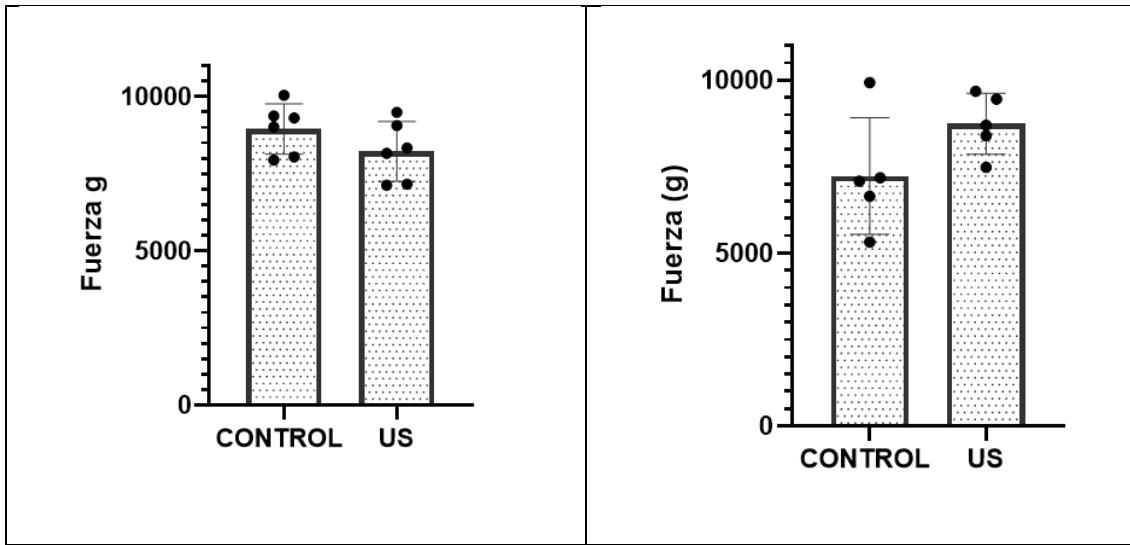


Figura 14. Fuerza (g) determinada mediante el test de corte para las muestras de zanahoria liofilizadas sin (control) y con la aplicación de US a dos intensidades. A: 32 % de tiempo efectivo y B: 66 % de tiempo efectivo. Las barras de error indican la desviación estándar.

4.2.4. Efecto de la aplicación de US en las pérdidas por cocinado de las zanahorias liofilizadas

Finalmente, mediante el método de las pérdidas por cocinado (Cook Loss) se estudió la capacidad de retención de agua de las muestras de zanahoria tras su cocinado. Este método aporta la información acera de la Capacidad de Retención de Agua (CRA) ya que mide la cantidad de agua que se pierde durante el proceso de cocinado. En este sentido, los alimentos que han sido sometidos a los ultrasonidos US pueden haber sufrido modificaciones a nivel estructural lo que podría conducir a cambios en la capacidad de rehidratación (que en este caso no se observaron) pero también en la forma en la que esta agua queda unida a los diferentes componentes/estructuras. y esto provoca una mayor difusión de masa.

Como se aprecia en la Figura 15, en la que se representa el porcentaje de perdida de agua de ambas muestras tras su cocinado, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras control y la liofilizada.

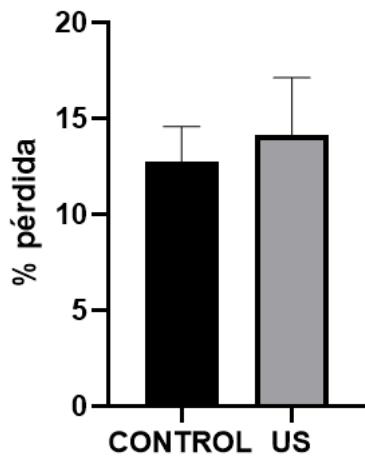


Figura 15. Capacidad de retención de agua de las muestras de zanahoria liofilizadas tras su rehidratación (180 minutos). Zanahorias Control y liofilizadas con la aplicación simultánea de ultrasonidos (66% de tiempo efectivo de sonicación). Las barras de error indican la desviación estándar.

En resumen, todos los resultados obtenidos en este trabajo fin de grado indican que la aplicación de US, en el modelo experimental estudiado, no mejorarían ni los tiempos necesarios para la liofilización del producto ni sus características físico-químicas y/o propiedades tecnológicas. En este punto es conveniente señalar que son varias las posibles causas de las diferencias entre nuestros resultados y los obtenidos por otros investigadores (Jäger et al., 2012). Así, en primer lugar, hay que señalar que la cantidad de producto con la que se ha trabajado es bastante pequeña (del orden de decenas de gramos) por lo que la retirada de agua por parte del equipo de liofilización empleado sería bastante eficiente, enmascarando el efecto de los US y/o haciendo muy difícil de mejorar el proceso. En segundo lugar, en algunos de estos estudios las muestras estaban en contacto directo con el transductor (o separados por una superficie metálica). Por otra parte, también es importante indicar que, al menos en algunos de los otros estudios, las muestras que se liofilizan no están expuestas a la vibración del equipo, sin embargo, en nuestro caso, por la configuración del equipo en el que el árbol donde se sitúan los matraces está dispuesto sobre el motor. Por ello se planteó la hipótesis de que, de alguna manera, la vibración generada por el motor del equipo podría estar afectando al proceso de liofilización, tal vez enmascarando el efecto de los US.

4.3. Influencia de la vibración del equipo en el proceso de liofilización

Para evaluar la influencia de la vibración del equipo sobre las muestras control, se realizó un ensayo donde se intentó amortiguar la vibración procedente del motor del equipo hacia las muestras. Dicho ensayo de amortiguación simuló un ensayo donde al igual que en un equipo

convencional las muestras se encontrasen alejadas/separadas del motor y por lo tanto su proceso de deshidratación no se viera afectado por las vibraciones de este (ver material y métodos).

En la Figura 16A se muestran las gráficas de deshidratación, obtenidas en paralelo, de muestras sometidas al proceso de liofilización en matrices amortiguados (gris) y sin amortiguación (negro). Como puede observarse en dicha gráfica las muestras liofilizadas con amortiguación pierden peso a una velocidad ligeramente menor que las muestras liofilizadas en el árbol del equipo. Esto es especialmente evidente entre las 5 y las 16 horas de ensayo, como puede observarse en la Figura 16B. Si bien no se puede descartar que haya otros factores implicados estos resultados podrían explicar, al menos parcialmente, por qué al contrario de lo reportado en la bibliografía en nuestro caso no se observó un efecto positivo de la aplicación de US en la velocidad de liofilización.

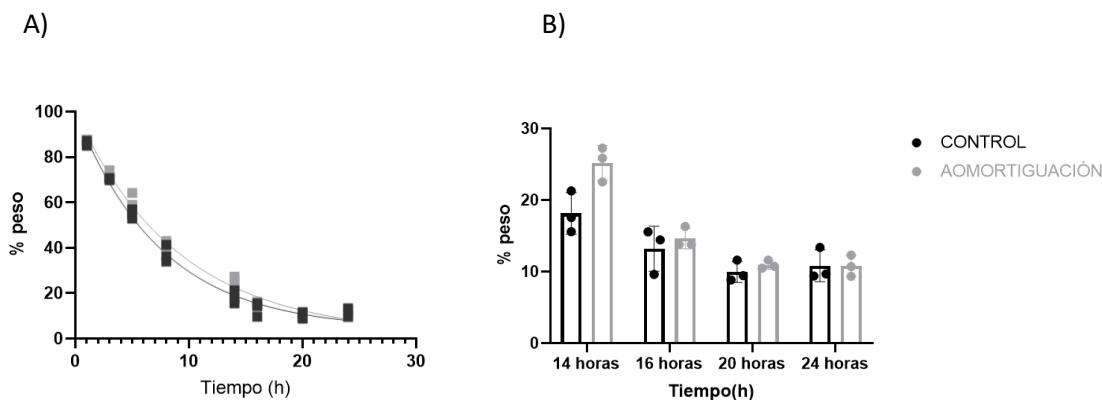


Figura 16. Influencia de la amortiguación de la vibración del equipo en la velocidad de liofilización/deshidratación de muestras de zanahoria. A: Curvas de deshidratación. B: % de agua en peso tras diferentes tiempos de deshidratación con y sin amortiguación.

4.4. Efecto del tipo de matriz: liofilización de fresas

Finalmente, y dado que la estructura celular y tisular varía notablemente entre los alimentos estudiados en los diferentes trabajos acerca del uso de los US para la mejora del proceso de liofilización también se valoró si esa podría ser una de las causas de las diferencias entre nuestros resultados y los reportados por otros investigadores. Por ello se llevaron a cabo una serie de ensayos con fresas para verificar esta última hipótesis.

En la Figura 17, se muestran, a modo de ejemplo, los resultados del porcentaje de peso perdido tras 24 horas de liofilización.

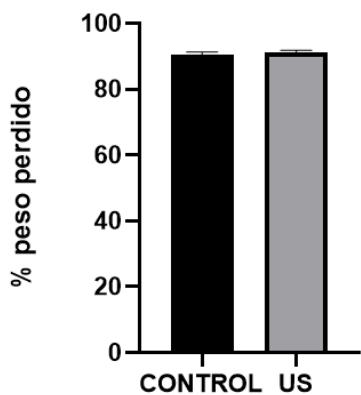


Figura 17. Porcentaje de peso perdido de fresas sometidas a liofilización durante 24 horas. Comparación de control y US.

Como puede observarse no se encontraron diferencias significativas en el nivel de deshidratación. Se obtuvieron resultados similares para el resto de tiempos ensayados. Estos resultados sugieren que el tipo de materia prima no sería la causa de las diferencias entre nuestros resultados y los obtenidos por otros investigadores o, dicho de otra forma, que el tipo de materia prima no condicionaría el efecto de los US en el proceso de liofilización (al menos en nuestras condiciones experimentales). Además, como se puede observar en la figura 18, el aspecto de las fresas tras el proceso de liofilización fue similar para las muestras independientemente de si habían sido sometidas a US o no.



Figura 18. Influencia de la aplicación de US (66%) sobre el aspecto de las fresas tras 24 horas de liofilización.

Estos resultados nos resultan muy interesantes pues es bien conocido que el proceso de liofilización tiende a deteriorar notablemente el aspecto externo de las fresas (Lammerskitten et al., 2020) mientras que en nuestro caso las fresas control presentaron un aspecto muy similar al de las fresas frescas, sin apenas colapso de la estructura. Esto sugiere que las condiciones de

liofilización ensayadas en este TFG (como se ha discutido anteriormente) podrían estar cerca de las óptimas, lo que también podría haber limitado/enmascarado el efecto de los ultrasonidos en el proceso.

De forma conjunta, todos los resultados obtenidos en este TFG indican que, en nuestras condiciones experimentales el efecto de la aplicación de US en la velocidad de liofilización de la zanahoria sería marginal, y probablemente, de existir, se vería enmascarado por el efecto de la vibración. O, dicho de otra forma, que las mejoras que la aplicación de US en el proceso serían debidas probablemente a la vibración/micro-vibración que los US generarían (y que mejorarían los procesos de transferencia de masa) pero que generando esa vibración por otros medios se podía conseguir el mismo beneficio (en términos de velocidad de proceso). Además, los datos obtenidos con la fresa sugieren que estas conclusiones serán extrapolables a vegetales con estructuras celulares/tisulares diversas.

5. CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos indican que la aplicación de US por contacto directo (independientemente de la intensidad aplicada) en las condiciones estudiadas y con el equipamiento empleado en este Trabajo Fin de Grado no resultaría en diferencias significativas ni en la velocidad de liofilización ni en la humedad final de la zanahoria.
- De la misma forma, la aplicación simultánea de US durante el proceso de liofilización no produciría cambios significativos en las propiedades tecnológicas (capacidad de rehidratación, pérdidas por cocinado), o sensoriales (textura y color) de la zanahoria.
- En las condiciones ensayadas la vibración del motor del equipo podría estar enmascarando el efecto de los ultrasonidos ya que, al amortiguarse, la velocidad de deshidratación/liofilización se ve disminuida. Sería interesante llevar a cabo nuevos estudios para verificar si, en estas nuevas condiciones, los ultrasonidos son capaces de mejorar la velocidad de liofilización y/o las características del producto final.
- Al igual que para la zanahoria tampoco se observaron mejoras en la velocidad de liofilización/deshidratación de las fresas lo que sugiere que las conclusiones obtenidas en este estudio podrían ser extrapolables a otros alimentos/tipos de tejidos

6. CONCLUSIONS.

- The results obtained indicate that under the conditions studied in this End Degree Project (treatments intensities and equipment used) application of direct contact US during carrot freeze-drying would not results in significant differences in the drying speed or the final moisture of the carrot.

- Similarly, the simultaneous application of US during the freeze-drying process would not induce significant changes in the technological proprieties (retention capacity, cook loss) or sensorial proprieties (texture and color) of the carrot samples.
- Under the conditions tested the vibration generated by the engine of the equipment might be hiding the effect of US since this vibration seems to increase the the dehydration/lyophilization rates. It would be interesting to carry out new experiments to verify if when engine vibration is cushioned, US are able to improve the freeze-drying rates and/or the product final proprieties.
- As for the carrots, no improvements were observed in the freeze-drying/dehydration rates of strawberries, which suggest that the conclusions obtained in this study could be extrapolated to other foods/tissue types.

7. VALORACIÓN PERSONAL

La realización de este Trabajo de Fin de Grado me ha permitido, en primer lugar, aumentar mi conocimiento en cuanto a literatura científica y la búsqueda de esta, así como la selección de información conveniente a la hora de redactar dicho trabajo. Este aspecto lo veo de gran importancia en un futuro laboral cuando necesite revisar información y datos de un determinado tema y contrastarlos con los propios.

En cuanto al área más práctica, la realización de los diferentes ensayos ha hecho que pudiese conocer tecnología y equipos con los que nunca había tenido la oportunidad de trabajar, ampliando así mi visión y conocimiento en la tecnología de los alimentos. Experimentar como es el día a día de en el sector de la investigación y enfrentarme a diferentes situaciones que me ha tocado resolver de manera autónoma ha hecho que pudiese mejorar mis capacidades a la hora de resolver problemas e interpretar diferentes datos y situaciones.

Por último, el tema tratado en este Trabajo de Fin de Grado respecto a una tecnología menos común como es la liofilización asistida por US me ha permitido conocer un campo diferente del sector el cual creo que es muy interesante y que puede tener una gran aplicación en el desarrollo de alimentos.

8. BIBLIOGRAFÍA

Abatzoglou, N. y Zhang, Y., (2020); “Review: Fundamentals, applications and potentials of ultrasound-assisted drying”, *Chemical Engineering Research and Design*, 154, pp. 21-46. DOI: 10.1016/j.cherd.2019.11.025.

Ade-Omowaye B. I., Angersbach, A., Eshtiaghi, N. M. y Knorr, D. (2000): "Impact of high intensity electric field pulses on cell permeabilization and as pre-processing step in coconut processing", *Innovative Food Science and Technologies*, 1, pp: 203-209.

Astráin-Redín, L., Alejandre, M., Álvarez, I., Cebrián, G. y Raso, J., (2021a) "Direct Contact Ultrasound in Food Processing: Impact on Food Quality", *Frontiers in Nutrition*. DOI: 10.3389/FNUT.2021.633070.

Astráin-Redín, L., Abad, J., Rieder, A., Kirhus, B., Raso, J., Cebrián, G., y Álvarez, I., (2021b): "Direct contact ultrasound assisted freezing of chicken breast samples", *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105319. DOI: 10.1016/j.ulsonch.2020.105319.

Astráin-Redín, L., Ciudad-Hidalgo, S., Raso, J., Condón, S., Cebrián, G. y Álvarez, I., (2019): "Application of High-Power Ultrasound in the Food Industry", en *Sonochemical Reactions*. DOI: 10.5772/intechopen.9044.

An, K., Hu, J., Liao, L., Shi, D., Qiao, Y., Wang, C. y Zhang, L., (2020): "Effects of ultrahigh pressure and ultrasound pretreatments on properties of strawberry chips prepared by vacuum-freeze drying", *Food Chemistry*, 303. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125386.

Barat, JM. Y Grau, R., (2016): "Drying: Principles and Types", en *Encyclopedia of Food and Health* Pp. 456-461. DOI: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00240-3.

Bermudez-Aguirre, D., García Amezquita, LE., Vergara-Baldera, FT., y Welti-Chanes, J., (2016): "Freeze-drying: The Basic Process", en *Encyclopedia of Food and Health*, pp. 104-109. DOI: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00328-7.

Bhargava, N., Kumar, K., S Mor, R. y Singh Sharanagat, V., (2021): "Advances in application of ultrasound in food processing: A review", *Ultrasonics – Sonochemistry*, 70. DOI: 10.1016/j.ulsonch.2020.105293.

Casp, A. (2003). Procesos de conservación de alimentos. (2a ed.) Madrid: Mundi-Prensa, pp. 385-398.

Chemat, F., Fabiano-Tixier, A.S., Khadhraoui, B., Tiwari, B.K. y Ummat, V., (2021) "Review of ultrasound combinations with hybrid and innovative techniques for extraction and processing of food and natural products", *Ultrasonic Sonochemistry*, 76. DOI: 10.1016/J.ulsonch.2021.105625.

Chen, HH., Law, CL. Y Mujumdar, AS. (2014): "Drying", *Food Technologies*, pp. 156-167. DOI: 10.1016/B978-0-12-378612-8.00268-7.

Ciudad-Hidalgo, S. (2018). *Aplicación de ultrasonidos en el cocinado de alimentos*. Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza, pp.1–96.

Cjurzynska, A., Domian, E., Falacinska, J., Galus, S., Kowalska, J. y Marzec, A., (2021), “The Effect of Pre-Treatment (Blanching, Ultrasound and Freezing) on Quality of Freeze-Dried Red Beets”, *Foods*, 10, 132. DOI: 10.3390/foods10010132.

Duarte Augusto, P.E., Lindsay Rojas, M., Miano, A.C., Ricce, C. y Siche, R., (2016): “Ultrasound pretreatment enhances the carrot drying and rehydration”, *Food Rest Int*, 89 (1), pp. 701-708. DOI: 10.1016/j.foodres.2016.09.030.

Gondek, E., Lammerskitten, A., Mykhailyk, V., Parniakov, O., Samborska, K., Toepfl, S., Wiktor, A. y Witrowa-Rajchert, D., (2020): “Pulsed electric field pre-treatment improves microstructure and crunchiness of freeze-dried plant material: Case of strawberry”, *LWT*, 134, DOI: 10.1016/j.lwt.2020.110266.

Hu, H., Song, X. y Zhang, B., (2018): “Drying characteristics of Chinese Yam (*Dioscorea opposita* Thunb.) by far-infrared radiation and heat pump”, *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17 (3), pp. 290-296. DOI: 10.1016/J.JSSAS.2016.05.008.

Jäger, H., Schössler, K. y Knorr, D., (2012): “Novel contact ultrasound system for the accelerated freeze-drying of vegetables”, *Innovate Food Science and Emerging Technologies*, 16, pp. 113-120. DOI: 10.1016/j.ifset.2012.05.010.

Kebitsamang, M.J., Nsor-Atindana, J., Yu-Chuan, W. y Zhang, M., (2011): “Use of Ultrasound Pretreatment in Drying of Fruits: Drying Rates, Quality Attributes and Shelf Life Extension”, *Drying Technology*, 29 (14), pp. 1611-1621. DOI: 10.1080/07373937.2011.602576.

Law, CL., Mujumdar, AS. Y Woo, MW., (2016): “Freeze Drying: Effects on Sensory and Nutritional Properties”, *Encyclopedia of Food and Health*, pp. 99-103. DOI: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00327-5.

Luo, N. y Shu, H., (2017): “Analysis of Energy Saving during Food Freeze Drying”, *Procedia Engineering*, 205, pp. 3763-3768. DOI: 10.1016/j.proeng.2017.10.330.