

Tesis de Maestría

Cambios en las propiedades ópticas de vegetales deshidratados en función de la transición vítrea

Agudelo Laverde, Lina Marcela

2009

Tesis presentada para obtener el grado de Magister de la Universidad de Buenos Aires en el área de Bromatología y Tecnología de la Industrialización de los Alimentos de la Universidad de Buenos Aires

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

This document is part of the Master's and Doctoral Theses Collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Agudelo Laverde, Lina Marcela. (2009). Cambios en las propiedades ópticas de vegetales deshidratados en función de la transición vítrea. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n4843_AgudeloLaverde

Cita tipo Chicago:

Agudelo Laverde, Lina Marcela. "Cambios en las propiedades ópticas de vegetales deshidratados en función de la transición vítrea". Tesis de Magister. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2009. http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n4843_AgudeloLaverde

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

BIBLIOTECA CENTRAL
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS
Y NATURALES / UBA

Universidad de Buenos Aires

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Industrias



MAESTRIA

Bromat. y Tecnol. de
Industr. de Alimentos

4843

Agudelo Laverde, Lina
E1

Biblioteca Central FCEN



***"Cambios en las propiedades ópticas de vegetales
deshidratados en función de la transición vítrea"***

Autora: Ing. Lina Marcela Agudelo Laverde

*Tesis para optar al título de Magíster en "Bromatología y Tecnología de la
Industrialización de los Alimentos"*

80705

Directora: Dra. Nuria Acevedo

Co-directora: Dra. Carolina Schebor

2009

15-05-2009
487.290/2006

Agradecimientos

A la Dra. Nuria Acevedo, por dirigir mi trabajo de tesis, por su apoyo y esfuerzo en el desarrollo de mi educación científica y personal.

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

A la Dra. Pilar Buera, por su confianza y permitirme estar en su grupo de trabajo.

Al departamento de industrias de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires por permitirme la utilización de las instalaciones.

A Naty, Peggy, Silvia, Sole, Cris, Abel, Flor, Pato, Lidia, Betty mis compañeros de laboratorio quienes me han acompañado tantos momentos.

A todos los que me apoyaron emocionalmente y saben lo que ha sido llegar hasta acá:

A Arango, por su aguante y compañía en tanto buenos y malos momentos.

A Buenos Aires que me aceptó y a todas las personas que esta gran ciudad ha puesto en mi camino, Leo, Fran, Marce, Anita, que han hecho mi vida en este lugar un poco más fácil.

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

A mi hermanita por su apoyo y confianza.

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

A mis padres

1. INTRODUCCIÓN

Los estudios sobre los cambios que ocurren en alimentos deshidratados durante el procesamiento, almacenamiento y distribución son importantes debido a que alteran las características físicas, químicas y/o biológicas que afectan en mayor o menor medida la calidad de los mismos. La estabilidad de los alimentos deshidratados durante su almacenamiento está relacionada con el contenido y/o actividad de agua, y además con la movilidad de los reactivos.

1.1 PROPIEDADES FÍSICAS

1.1.1 Isotermas de sorción de agua

La presencia de agua y sus interacciones con otros componentes son factores importantes a tener en cuenta en la estabilidad de alimentos. Se ha observado que varios tipos de alimentos con el mismo contenido de agua difieren significativamente en su estabilidad microbiológica y/o química. Esta situación es atribuible a las diferencias de intensidad con la que el agua se asocia con los constituyentes no acuosos. El agua que se encuentra unida fuertemente a la matriz está menos disponible para las reacciones degradativas, tales como el crecimiento de microorganismos y las reacciones químicas hidrolíticas, que el agua que tiene asociaciones débiles. El término actividad de agua (a_w) se desarrolló para considerar la intensidad con la cual el agua se asocia con los distintos constituyentes no acuosos (Fennema, 1996). La a_w se define como:

$$a_w = \left(\frac{P}{P_0} \right)_T \quad (\text{Ecuación 1.1})$$

Donde,

a_w es la actividad de agua

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

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

Esta igualdad se basa en asumir la existencia de equilibrio termodinámico. En el equilibrio, a temperatura constante, las actividades de agua de los componentes de una mezcla son iguales, mientras que los contenidos de agua pueden no serlo. La actividad de agua está relacionada con la humedad a través de la isoterma de sorción de agua. Las isotermas de sistemas cristalinos y amorfos son significativamente diferentes, tal como se observa en la **Figura 1.1**. Un sólido cristalino adsorbe muy poca agua hasta una a_w dada, a partir de la cual comienza la disolución de los cristales. En el sistema amorfo, las moléculas se encuentran en un ordenamiento al azar, y están relativamente más libres para interactuar con el agua, por lo tanto la adsorción de agua a bajas a_w es mayor en los sistemas amorfos que en los cristalinos. Además existen materiales que a bajos contenidos de agua y bajas a_w , son amorfos, pero cristalizan con la adición de agua (**Figura 1.1**).

Las isotermas son herramientas útiles, ya que a partir de ellas se pueden obtener importantes datos sobre la estabilidad de los sistemas. Por un lado brindan información sobre el grado de cristalinidad y la movilidad de agua. Por otro lado,

también se pueden calcular los valores de humedad de monocapa y puntos de disolución (Fennema, 1996).



Figura 1.1 Isotermas modelos correspondientes a sistemas amorfos, cristalinos y a materiales amorfos que cristalizan a medida que aumenta el contenido de agua y la a_w .

El modelado de las isotermas de sorción de agua es particularmente importante para predecir la vida media de alimentos con humedad baja e intermedia (Labuza, y col., 1970; Labuza, 1980; Simatos y Karel, 1988). Las ecuaciones de Brunauer-Emmett-Teller (BET) (Brunauer y col., 1938) y Guggenheim-Anderson-de Boer (GAB) (Van Den Berg y Bruin, 1981) son modelos conocidos de isotermas de sorción que proveen el valor de humedad de monocapa. El valor de humedad de monocapa suele ser considerado como el contenido de agua óptimo para la estabilidad de alimentos de baja humedad (Labuza y col., 1970). La aplicabilidad del modelo BET se limita a valores de a_w en el rango de 0,1 a 0,5 (Labuza, 1968). La ecuación de sorción de GAB (Guggenheim, Andersen y de Boer) (Van Den Berg y Bruin, 1981) ha sido muy popular en el campo de la tecnología de alimentos. La principal razón de su uso se debe a que el rango de actividad de agua que cubre es mayor ($0,05 < a_w < 0,8 - 0,9$) que el rango cubierto por la ecuación de BET.

Además es recomendada por European Project Group COST 90 en propiedades físicas de alimentos como la ecuación fundamental para la caracterización de sorción de agua de materiales alimenticios (Timmermann, 2003).

1.1.2 Estado vítreo y transición vítrea

Un material no cristalino puede existir en el estado vítreo o en el estado líquido sobre-enfriado ("gomoso" o "rubbery") dependiendo de la temperatura y de la presencia de agua. El cambio entre estos dos estados, se conoce como transición vítrea. El término transición vítrea se refiere a la temperatura a la cual los vidrios empiezan a ablandarse y fluir (Sperling, 1986). Las propiedades físicas de los materiales cambian cuando la temperatura ambiente supera la temperatura de transición vítrea (T_g). Los cambios más importantes son un aumento en el volumen molecular libre y en la capacidad calorífica (C_p). Por debajo de la T_g , que es característica de cada sistema, el material es un sólido amorfo (vidrio). Su aspecto es el de un sólido rígido quebradizo caracterizado por una altísima viscosidad (alrededor de 10^{12} a 10^{14} Pa.s) (Sperling, 1986). Las propiedades típicas de la mayor parte de los materiales vítreos llamados frágiles son la fragilidad y la transparencia. La movilidad molecular en los vidrios está restringida a vibraciones y movimientos rotacionales de rango corto (Sperling, 1986). Distintas propiedades del sistema amorfo cambian al ocurrir la transición vítrea, por lo cual ésta puede ser detectada y estudiada por distintos métodos. Se producen cambios o discontinuidades en algunas propiedades dieléctricas, mecánicas y térmicas (White y Cakebread, 1966; Wunderlich, 1981; Sperling,

1986). Diferentes métodos pueden detectar alguno de estos cambios en función de la frecuencia de la perturbación, del tiempo o de la temperatura (Roos, 1995b).

La técnica más utilizada para determinar la temperatura de transición vítrea es la calorimetría diferencial de barrido (DSC), la cual detecta la transición vítrea en base al cambio en la capacidad calorífica (ΔC_p). La muestra se calienta a una velocidad constante en una cápsula sellada, y en general se utiliza una cápsula vacía como referencia. El instrumento registra las diferencias en el flujo de calor entregado por el equipo a la muestra y a la referencia en función de la temperatura y del tiempo. En la **Figura 1.2** se muestra un termograma típico (obtenido por DSC) de un azúcar liofilizado que muestra sus transiciones de fase y cambios de estado (adaptado de Roos, 1992). El ΔC_p en la transición vítrea de la muestra, se evidencia como un cambio en la línea de base del termograma. A temperaturas mayores que T_g , el azúcar se transforma en un líquido sobreenfriado. A medida que la temperatura y la movilidad aumentan y la viscosidad disminuye, las moléculas pueden reorientarse hasta alcanzar un estado termodinámicamente más estable como lo es la estructura cristalina.

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

Existen otras técnicas para determinar T_g , como por ejemplo análisis dinámicos mecánicos (DMA, también referidos como análisis dinámicos termomecánicos, DMTA) (Kalicevsky y col., 1992), análisis dieléctricos (DEA, también referidos

como análisis termodieléctricos, DETA) (Chan y col., 1986; Kalichevsky y col., 1992; Noel y col., 1992; Goff, 1995) y técnicas espectroscópicas como la resonancia magnética nuclear (RMN) y resonancia de espín electrónico (ESR), pero no se profundizará aquí sobre ellas.

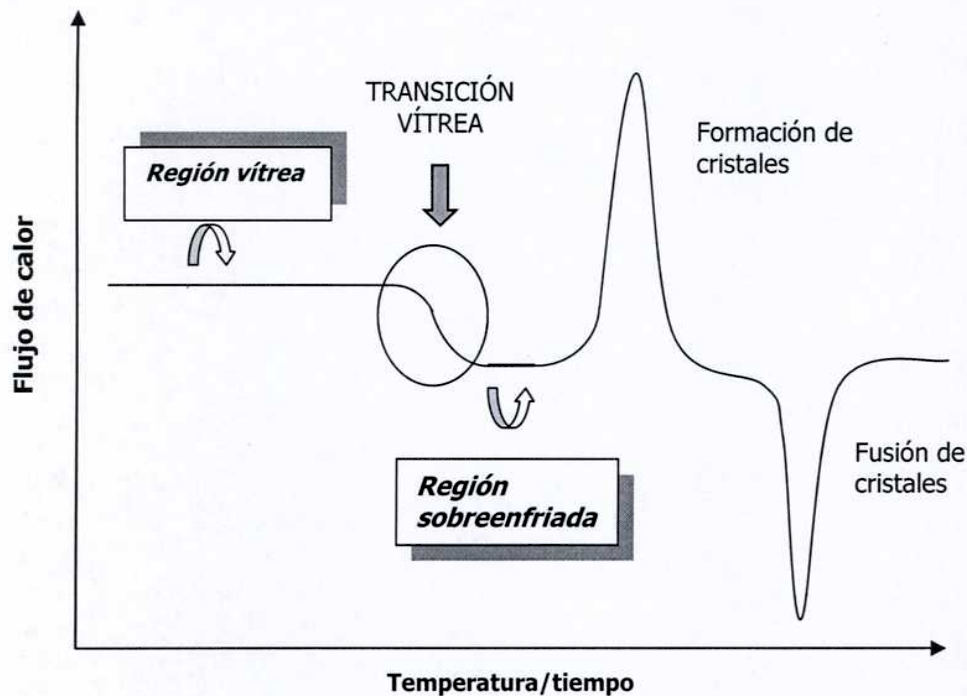


Figura 1.2 Termograma típico de un azúcar liofilizado en estado amorfo (adaptado de Roos, 1992).

1.1.2.1 Factores que afectan a la temperatura de transición vítrea

Los factores más importantes que afectan la T_g son:

1. Contenido de agua:

La movilidad molecular de un sistema amorfo puede ser afectada por la adición de un agente plastificante. Un plastificante es una sustancia que al ser

agregada a un material, aumenta su flexibilidad y extensibilidad y en general modifica sus propiedades térmicas (modifica la T_g del sistema y la posibilidad de cristalización). Para que un compuesto sea plastificante debe ser compatible con el material al que se incorpora. En los sistemas biológicos el plastificante más importante es el agua. En la **Figura 1.3** se muestra, para una matriz de azúcar, la curva de T_g en función del contenido de agua. Se puede ver, que a medida que aumenta el contenido acuoso, disminuye la T_g (Roos, 1992).

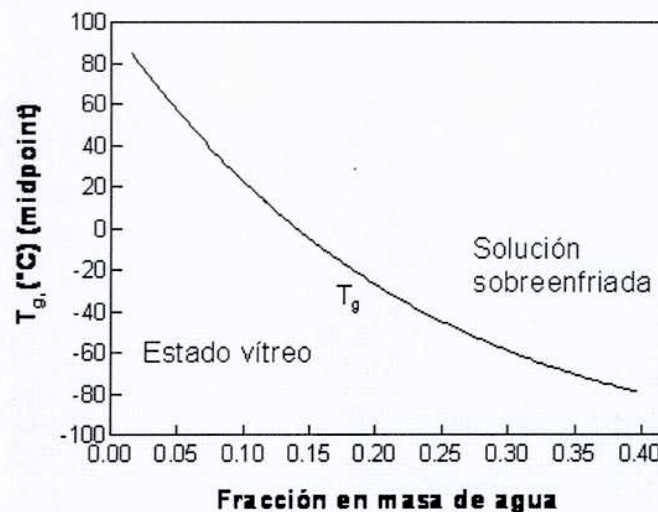


Figura 1.3 Curva de temperatura de transición vítrea en función del contenido de agua para trehalosa.

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

Roos (1993) analizó el comportamiento de distintos azúcares (pentosas, hexosas y disacáridos) con respecto a su T_g , y observó que las pentosas tienen menor T_g que las hexosas, que a su vez tienen menor T_g que los disacáridos. Además, se observó que la T_g es mayor para las formas cíclicas y que el tipo

de enlace glicosídico afecta los valores de T_g al modificar la conformación espacial de la molécula (Slade y Levine, 1991).

En el caso de polímeros, Zeleznak y Hosenev (1987) observaron que el grado de entrecruzamiento del polímero afecta la temperatura de transición vítrea. Fox y Flory (1950), observaron que el valor de T_g del poliestireno de distintas masas moleculares, aumentaba rápidamente al aumentar la masa molecular. Al graficar T_g en función de la inversa de la masa molecular obtuvieron una relación lineal. La **Ecuación 1.2** de Fox y Flory, ha sido aplicada para gran cantidad de polímeros sintéticos y biopolímeros, incluyendo maltodextrinas (Roos y Karel, 1991).

$$T_g = T_{g(\infty)} - \frac{K}{M} \quad \text{(Ecuación 1.2)}$$

Donde,

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

M es la masa molecular

K es una constante

La ecuación de Gordon y Taylor, **Ecuación 1.3**, es otra relación útil para predecir la T_g de un sistema (Gordon y Taylor, 1952), siendo esta una de las más difundidas. Esta ecuación relaciona la T_g de mezclas de polímeros con su fracción en peso. La ecuación de Gordon y Taylor se aplica a sistemas modelos formados por mezclas anhidras de dos componentes distintos y también a sistemas que contienen un componente sólido y agua. En general, la ecuación se emplea para calcular la T_g resultante de mezclas de polímeros con diluyentes.

$$T_{g \text{ mezcla}} = \frac{w_1 T_{g1} + K w_2 T_{g2}}{w_1 + K w_2} \quad (\text{Ecuación 1.3})$$

Donde,

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

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

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

K es una Constante

1.1.3 Colapso

Los materiales sobre-enfriados están en un estado de no equilibrio y exhiben cambios dependientes del tiempo a medida que se acercan al equilibrio. De esta forma, pueden ocurrir cambios en sus propiedades mecánicas o en la difusión de moléculas (Roos y col., 1996). Los cambios en las propiedades mecánicas pueden producir el fenómeno de colapso, que es la resultante de un cambio en la viscosidad, y provoca cambios estructurales, pegajosidad, apelmazamiento y pérdida de porosidad (White y Cakebread, 1966; Bellows y King, 1973; Tsourouflis y col., 1976; To y Flink, 1978 a y b; Flink, 1983; Levine y Slade, 1988; Slade y Levine, 1991).

El término "colapso" se utilizó para describir la pérdida de estructura, la reducción del tamaño de poros y un encogimiento volumétrico en materiales secos o semi húmedos. Los materiales muy porosos, como los preparados por liofilización son susceptibles de sufrir un colapso post-secado cuando no se mantienen las

condiciones óptimas de almacenamiento (Levi y Karel, 1995). En la literatura no hay una definición única de colapso (Bellows y King, 1973; Tsouroflis y col., 1976; To y Flink, 1978 a y b; Levine y Slade, 1986; Anglea y col., 1993; Levi y Karel, 1995), y las definiciones operacionales dependen del proceso y del procedimiento experimental usado para determinar el colapso específico de ese proceso (Levi y Karel, 1995).

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

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

- Incremento local en la velocidad de pardeamiento en sistemas vítreos atribuido a inhomogeneidades producidas por la plastificación del agua en la matriz por un cambio estructural como el colapso (Roos y Himberg, 1994).
- Promoción de la oxidación de lípidos (Gejl-Hansen y Flink, 1977).

1.1.4 Movilidad molecular

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

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear se basa en la medida de la absorción de la radiación electromagnética en la región de las radiofrecuencias, aproximadamente de 4 a 900 MHz.

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

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

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

1.1.4.1 Procesos de relajación

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

Relajación de espín – red

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

Relajación de espín – espín

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

Esta relajación generalmente es un proceso de disminución exponencial de primer orden que se caracteriza con un tiempo de relajación T_2 . Para sólidos cristalinos o

líquidos muy viscosos el fenómeno de relajación espín espín es más eficiente y los tiempos son muy pequeños (10^{-4} s). Cuanto menor es la viscosidad de la muestra más largos son estos tiempos.

En las medidas de RMN pulsada, los núcleos que están en un intenso campo magnético, se someten periódicamente a pulsos muy cortos de una intensa radiación de radiofrecuencia (durante menos de $10 \mu\text{s}$). Los núcleos excitados, al relajarse emiten una señal de radiofrecuencia en el dominio del tiempo, (Figura 1.4), que se denomina señal de caída libre de inducción (FID) y puede ser descrita por la siguiente ecuación:

$$M_{xy} = M_0 e^{-\frac{t}{T_2}} \quad (\text{Ecuación 1.4})$$

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

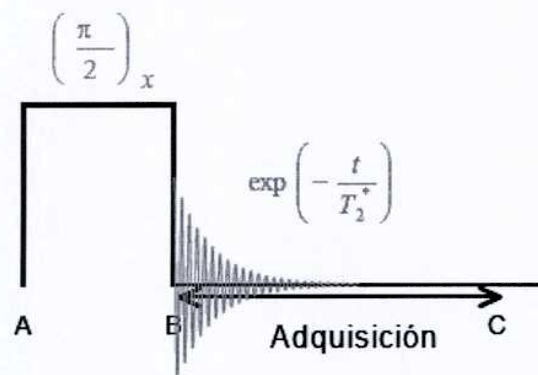


Figura 1.4 Esquema de la secuencia empleada para la detección de FID.

Si los tiempos de relajación son mayores que los microsegundos cuando se emplea un único pulso a 90° se obtienen resultados inesperados. Después de la aplicación del pulso, la magnetización neta decae más rápidamente que la predicha por la **Ecuación 1.4**. Esto puede suceder debido a inhomogeneidad del campo, difusión, etc. Para evitar el efecto de inhomogeneidad del campo, se utilizan métodos de ecos de espín que consisten en la aplicación de varios pulsos sucesivos. Carr y Purcell (1954) propusieron un método de ecos de espín que luego fue modificado (Meiboom y Gill, 1958). Este método (secuencia de pulsos CPMG), utiliza un pulso de 90° seguido de una serie de pulsos a 180° este método es el más comúnmente utilizado para la determinación de T_2 (**Figura 1.5**) en sistemas de viscosidad media o baja.

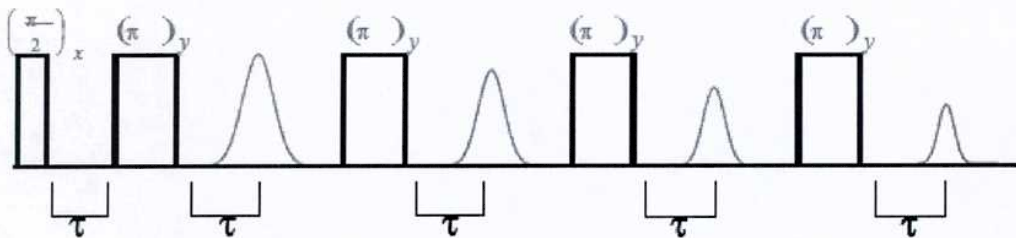


Figura 1.5 Secuencia de pulsos CPMG.

1.2. REACCIONES DE PARDEAMIENTO

Los alimentos que contienen azúcares reductores y proteínas, son especialmente sensibles a las reacciones de pardeamiento; siendo la disminución de la

solubilidad, la coloración y pérdida del valor nutricional las causas principales de deterioro asociadas al pardeamiento.

1.2.1 Pardeamiento enzimático

El pardeamiento enzimático ocurre cuando se produce la ruptura de células vegetales, cuando los tejidos son sujetos a cortes u otro tipo de daños. La principal enzima responsable del pardeamiento enzimático es la polifenoloxidasas, que cataliza reacciones diferentes de acuerdo con el sustrato, generando intermediarios inestables que posteriormente se oxidan en presencia de oxígeno molecular (O_2), y se polimerizan para dar melaninas. Estas son las responsables del color marrón indeseable que se produce por ejemplo en bananas, manzanas, papas y champiñones. También se produce insolubilización de proteínas, y pérdida del valor nutricional por interacción de los polifenoles oxidados con aminoácidos. Entre los sustratos de esta reacción se incluyen fenoles simples, derivados del ácido cinámico y flavonoides. Los tejidos tienen distinta predisposición al pardeo enzimático, y estas variaciones se deben al contenido de enzimas y al tipo y cantidad de sustratos fenólicos presentes. Otra enzima que participa indirectamente del pardeamiento enzimático es la lipoxigenasa, la cual produce la destrucción de clorofila y carotenos, y las reacciones oxidativas generan carbonilos que son precursores en las reacciones de pardeamiento no enzimático (Pourcel y col., 2007).

1.2.2 Pardeamiento no enzimático

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

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

- Producción de aromas y sabores.
- Cambios de color debidos a la producción de sustancias pardas y destrucción de pigmentos del alimento.
- Pérdida de solubilidad de proteínas, con los consiguientes cambios en la textura y alteración en el poder de reconstitución de los alimentos deshidratados.
- Pérdida del valor nutritivo al dañarse aminoácidos esenciales como la L-lisina, o vitaminas como el ácido ascórbico.
- Producción de metabolitos de acción potencialmente tóxica.
- Liberación de gas (CO₂).
- Disminución del pH.

1.2.2.1 Caramelización

Cuando se almacenan o calientan azúcares en forma anhidra o en solución, éstos se descomponen formando un pigmento pardo de naturaleza polimérica, conocido como "caramelo". Esta descomposición es catalizada por ácidos y bases. Los azúcares experimentan hidrólisis, enolización, isomerización, deshidratación, fragmentación y oxidación. De este modo, se forman compuestos carbonílicos altamente reactivos que reaccionan entre sí dando polímeros insaturados de color pardo. De las diversas rutas posibles en las que continúa la reacción, en medio ácido predomina la deshidratación y los principales intermediarios son derivados del furfural. En medio alcalino las reacciones de enolización ocurren rápidamente, generando abundantes productos de fragmentación y oxidación, y como resultado el pardeamiento es rápido (Hodge y Osman, 1976).

La reacción de caramelización es favorecida por las pequeñas cantidades de ácidos y ciertas sales. La termólisis inicial o suave provoca cambios anoméricos, alteraciones del tamaño del anillo y ruptura de los enlaces glicosídicos nuevos. En la mayor parte de los casos, sin embargo, la termólisis provoca deshidratación con formación de anillos anhidros, como el levoglucosano, o la introducción de enlaces dobles en los anillos. Estos últimos constituyen formas intermedias en la formación de anillos insaturados como los furanos. Los dobles enlaces conjugados absorben luz y poseen por lo tanto color. A menudo, en estos sistemas de anillos insaturados se producen condensaciones que dan lugar a sistemas poliméricos, los cuales poseen aroma. Los pigmentos del caramelo contienen grupos hidroxílicos de acidez variable, carbonílicos, carboxílicos, enólicos y fenólicos. El aumento de la

temperatura y del pH causa una aceleración de la velocidad de la reacción (Fennema, 1996).

1.2.2.2 Oxidación del ácido ascórbico

La oxidación y deshidratación del ácido ascórbico para formar furfural y sus productos de polimerización es catalizada por bajo pH y altas temperaturas, se acelera por la presencia del oxígeno y el pardeamiento es acompañado de la pérdida de valor nutritivo al destruirse la vitamina C (Braverman, 1963).

1.2.2.3 Reacción de Maillard

Los primeros estudios sobre la reacción de pardeamiento no enzimático fueron iniciados por Louis Camille Maillard, quien calentó aminoácidos en una solución con altos niveles de glucosa mientras investigaba la biosíntesis de proteínas en tejido cerebral (Maillard y Gautier, 1912). Años más tarde en 1951 se publicó la revisión general de la reacción de Maillard, donde se relacionaron los problemas de los alimentos con las reacciones entre azúcares y compuestos aminos (Danehy y Pigman, 1951). La reacción de Maillard continua siendo un área activa de investigación debido a su importante rol en color, flavor y calidad nutricional, además algunos de los compuestos producidos en esta reacción pueden tener importancia toxicológica (Reyes y col., 1982), y causar la pérdida de valores nutricionales y funcionales (Kawai y col., 2004).

Esta reacción produce una variedad de compuestos intermediarios y finalmente son formados pigmentos pardos (melanoidinas) (van Boekel, 1998). Los productos

de la reacción de Maillard pueden influenciar la estabilidad oxidativa y la vida útil de muchos alimentos (Morales y Jiménez, 2001).

La formación de pigmentos pardos es deseada para algunos tipos de alimentos procesados (panadería, chocolate, tostado de café, cocinado de carne), mientras es absolutamente indeseable en otras tecnologías (secado de leche, tratamiento térmico para la estabilización de leche, jugos de fruta y tomates) (Carabasa y Ibarz, 2000).

La reacción de Maillard se dividió en tres grandes etapas (Mauron, 1981; Labuza, 1994; van Boekel, 2001):

I. La primera etapa involucra la condensación entre un azúcar y un grupo amino y la consiguiente isomerización (rearreglos de Amadori/Heinz). Este paso de reacción fue muy bien descrito y en él no hay formación de pigmentos.

II. La segunda etapa incluye la reacción de los compuestos de Amadori para formar productos de deshidratación y fragmentación, y degradación de aminoácidos vía la reacción de Strecker (especialmente a altas temperaturas).

III. Por último, en la etapa final, los productos de Amadori se degradan en compuestos dicarbonílicos, que rápidamente reaccionan con grupos amino formando un entrecruzamiento intra e inter molecular estable (Brownlee y col., 1988), que es responsable de la formación de los cromóforos. La solución o producto obtenido posee un color desde pardo-rojizo a pardo muy oscuro que no se decolora por la presencia de sulfitos. En este estadio, el aroma a tostado es muy evidente, y se encuentran presentes melanoidinas coloidales e

insolubles como resultado de complejas condensaciones aldólicas y polimerizaciones.

La cascada de reacciones que le sigue a la formación de los intermediarios iniciales representa una serie de reacciones consecutivas y paralelas que ocurren en el mismo grupo de reacción y que producen una compleja matriz de reacciones. De acuerdo a Yaylayan (1997) el proceso que ocurre mientras progresan las reacciones involucra la formación e interacción de grupos químicos coexistentes (reactivos, intermediarios y productos finales). La **Figura 1.6** representa el esquema de la reacción de Maillard, basado en el esquema de Hodge (Hodge, 1953), pero incorporando el concepto de grupo o “*pool*” desarrollado por Yaylayan (1997).

El conocimiento de los mecanismos involucrados en las reacciones de pardeamiento no enzimático, puede ofrecer la oportunidad de desarrollar estrategias para el control cinético de las reacciones de deterioro (Acevedo y col., 2004).

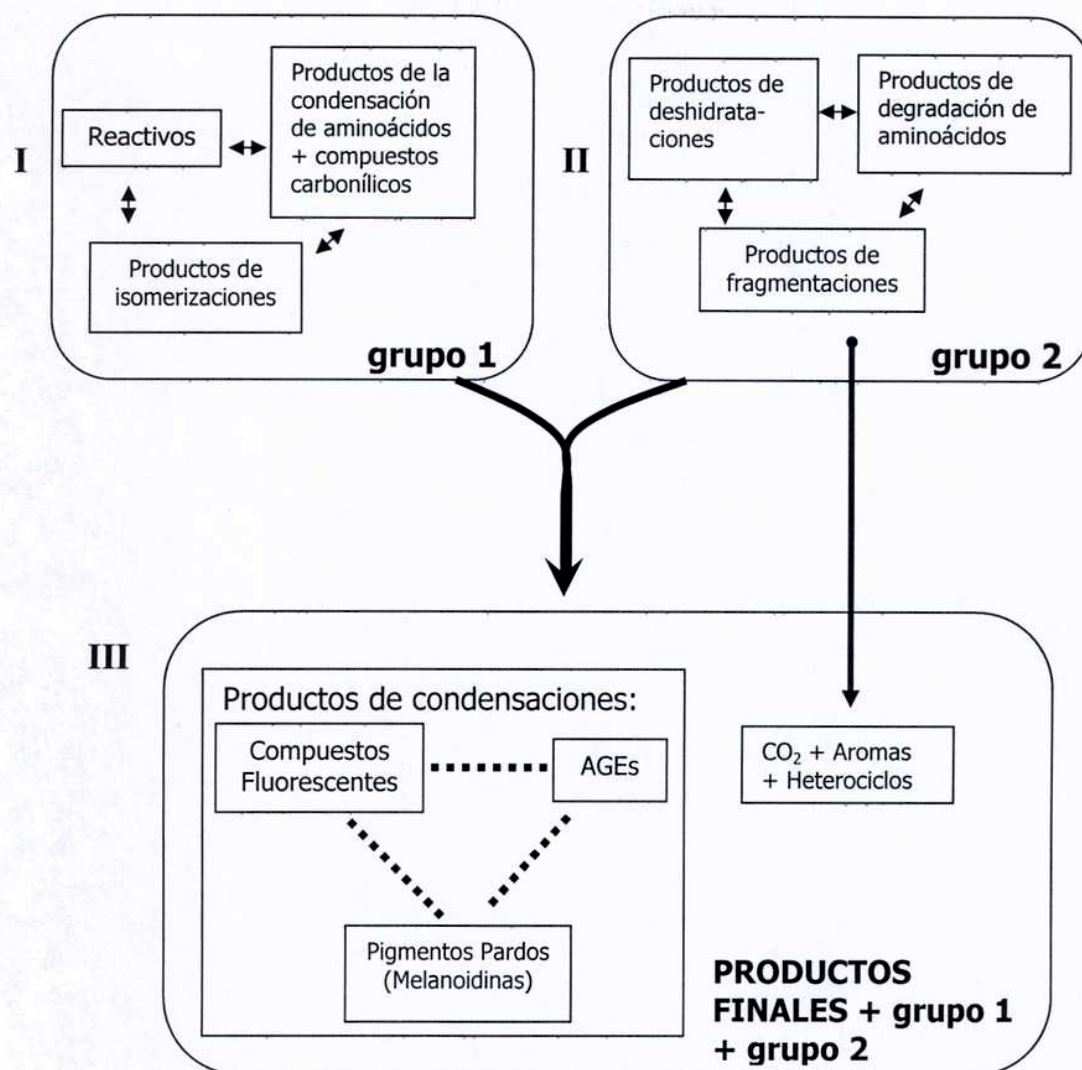


Figura 1.6 Esquema de la reacción de Maillard, adaptado de Matiacevich y col., 2005. **AGEs**: productos finales avanzados de glicosilación.

1.2.2.3.a Factores que afectan a la reacción de Maillard

La cinética de la condensación amino-carbonilo inicial y la naturaleza de los productos de la reacción de Maillard está gobernada por el entorno químico inmediato de los reactivos, definido por la composición química del sistema (contenido de agua, pH, presencia y tipo de sales) y el entorno físico definido por la temperatura y la exposición a la luz (Cerruti y col., 1985; Buera y col., 1987; Labuza y Baisier, 1993; Labuza, 1994; Bell, 1997; Ajandouz y Puigserver, 1999;

van Boekel, 2001; Matiacevich y Buera, 2006). Por lo tanto, la composición y concentración de pigmentos y sustancias que imparten olores y sabores es función de todas las variables mencionadas, y de la interrelación entre las mismas.

- Temperatura

El aumento de la temperatura tiene un efecto acelerador sobre la formación de color. Esto se debe a que el calor favorece cada una de las etapas de la reacción. Sin embargo, la velocidad de reacción no se puede obtener simplemente por extrapolación cuando ocurren cambios de fase como cristalizaciones o fusiones a temperaturas dentro del rango experimental (Pordal y Poulsen, 1981). Como en otras reacciones químicas, la dependencia de la temperatura sobre la velocidad de la reacción de Maillard ha sido modelada usando la ecuación de Arrhenius (Labuza y Baisier, 1993). La energía de activación, junto con otros datos cinéticos, es útil para la predicción de la vida útil de alimentos.

Un factor importante a tener en cuenta es que la temperatura además tiene efecto sobre otras reacciones paralelas a las de pardeamiento, en las que se pueden generar grupos reactivos que participan en las reacciones de formación de color. Por ejemplo, la oxidación de lípidos, hidrólisis de azúcares no reductores y cualquier otra reacción en la que se generen carbonilos reactivos, son reacciones que afectan la velocidad de pardeamiento.

- pH

El pH tiene un efecto muy significativo en la reacción de Maillard. Tanto el pH inicial del producto, como la capacidad amortiguadora o buffer del sistema

influyen sobre la velocidad y la dirección de la reacción (Ellis, 1959; Nursten, 1980, Bell, 1997). La velocidad de pardeamiento es baja a valores de pH ácido (inferiores a 6), y aumenta con el aumento de pH hasta un valor aproximado de pH = 10 (Wolfson y col., 1953; Ashoor y Zent, 1984; Bell, 1997). La disminución en la velocidad a valores de pH inferiores a 6 se debe a que el grupo amino se encuentra cargado positivamente y se inhibe la formación de la glicosilamina. La disminución en la velocidad de reacción a valores de pH mayores que 10 puede deberse a la deficiencia de iones H^+ que se requieren para catalizar el reordenamiento de Amadori (Isbell y Frush, 1958) y Heyns (Carson, 1955). Es importante destacar que durante la reacción, el pH del sistema disminuye debido a la desaparición de grupos básicos de los aminoácidos (Dworschak y Orsi, 1977) y a la naturaleza ácida de los intermediarios que se forman.

- Actividad de agua y contenido acuoso

En muchos estudios la velocidad de pardeamiento no enzimático se relacionó con el contenido de agua y con la actividad de agua (Labuza y col., 1970). El agua es un factor importante en la reacción de Maillard, ya que ejerce su influencia controlando la viscosidad de la fase líquida y la disolución, concentración o dilución de los reactivos (Warmbier y col., 1976; Labuza y col., 1977). Se comporta además como un agente inhibidor, ya que es un producto de la reacción (Eichner y Karel, 1972; Labuza y Saltmarch, 1981; Labuza y col., 1977). Existe por lo tanto un compromiso entre la aceleración que produce el agua al disminuir la viscosidad y el efecto inhibitorio de la misma.

En sistemas líquidos se estudió el pardeamiento en un amplio rango de a_w variando las proporciones relativas de agua y humectante (Loncin y col., 1965; Eichner y Karel, 1972). En estos casos se observó una disminución gradual de la velocidad de reacción al aumentar la proporción de agua, debido a que el agua produce dilución de los reactivos (**Figura 1.7**).

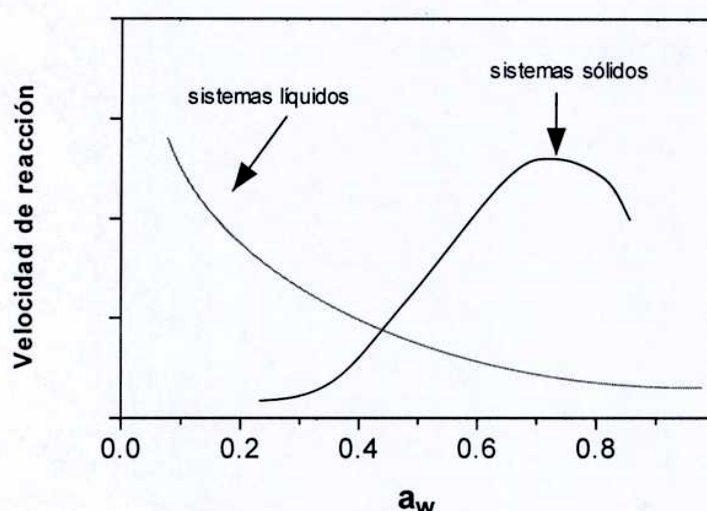


Figura 1.7 Velocidad de pardeamiento no enzimático en función de la actividad de agua para sistemas sólidos (Labuza y Saltmarch, 1981) y líquidos (Loncin, y col., 1965).

Estudios previos han demostrado que en sistemas sólidos o semisólidos, la velocidad de la reacción de pardeamiento no enzimático en función de la a_w presenta un máximo a valores de a_w entre 0,6 a 0,8 (Labuza y Saltmarch 1981). A bajas a_w el factor limitante de la reacción es la dificultad en la movilidad de los reactivos, que no pueden interactuar entre ellos, y la reacción no tiene lugar. A medida que aumenta la a_w del sistema, ocurren dos fenómenos: disminución de la viscosidad de la fase acuosa, y disolución de los reactivos en esa fase (Warmbier, y col., 1976; Labuza, 1980).

- Composición del sistema

Azúcares:

Existe una regla general y es que las pentosas son más reactivas que las hexosas y éstas son más reactivas que los disacáridos reductores (Shallenberger y Birch, 1975; Mauron, 1981). Los disacáridos no reductores primero deben hidrolizarse, y por lo tanto, se consideran menos reactivos.

Amino compuestos:

Los aminoácidos o péptidos actúan como fuente de grupos amino, que reaccionan con azúcares para formar glicosilaminas en una reacción reversible (Reynolds, 1963), y además son catalizadores, que favorecen un reordenamiento posterior (llamado de Amadori, si se trata de una aldosa, y de Heyns, si se trata de una cetosa) (Reynolds, 1970; Shallenberger y Birch, 1975). La reactividad de los distintos aminocompuestos es variable, y también depende entre otros factores, del azúcar presente.

- Estado físico y transiciones de fase

Las transiciones de fase y estado de los materiales tienen efectos significativos en sus propiedades físicas e influyen en la cinética de las reacciones que en ellos se desarrollan. Los biomateriales se presentan en la naturaleza en un estado que no siempre corresponde a su condición de estabilidad termodinámica, exhibiendo cambios dependientes del tiempo, que no son típicos de compuestos puros simples y afectan significativamente la estabilidad fisicoquímica de los mismos. El estado físico es extremadamente sensible a la humedad, la temperatura y el tiempo de observación, y las transiciones de fase o estado ocurren en función del

tiempo como consecuencia de cambios en la composición o en alguna de las variables mencionadas. La cinética de pardeamiento no enzimático es probablemente el ejemplo más estudiado en conexión con la transición vítrea, debido a que el mecanismo de reacción contiene varias etapas de condensación que requiere la difusión y colisión de los reactivos (Namiki, 1988). Algunos autores introdujeron los principios utilizados en la ciencia de los polímeros sintéticos a la ciencia de los alimentos (Levine y Slade, 1986, 1988, 1990; Franks, 1994) y consideraron la transición vítrea como uno de los cambios más importantes en el estado físico de sistemas biológicos concentrados y materiales alimenticios amorfos (Slade y Levine, 1991). En consecuencia, al ocurrir la transición vítrea, los materiales son más susceptibles a cambios físicos o químicos. Para entender y poder predecir la estabilidad de un sistema alimenticio, es crítico determinar la influencia de la transición vítrea sobre la velocidad de las reacciones químicas, la cristalización y otras reacciones controladas por la difusión. Si al pasar del estado vítreo al del líquido sobre-enfriado ocurren grandes cambios en la reactividad, que afectan la calidad del producto, se podría reformular el sistema para aumentar su estabilidad, o intentar controlar el procesamiento, la distribución y las condiciones de almacenamiento con el objeto de retrasar o prevenir dichos cambios en la calidad (Nelson, 1993). En la **Figura 1.8** se muestra una representación esquemática de las relaciones entre la velocidad de pardeamiento, la temperatura y el contenido de agua (Roos, 1995c). La velocidad de pardeamiento aumenta con el aumento de la diferencia entre la temperatura de almacenamiento (T) y la T_g ($T-T_g$), de a_w y también con el aumento de temperatura. Además se observa que

el pardeamiento puede ocurrir (a bajas velocidades) a temperaturas menores que T_g .

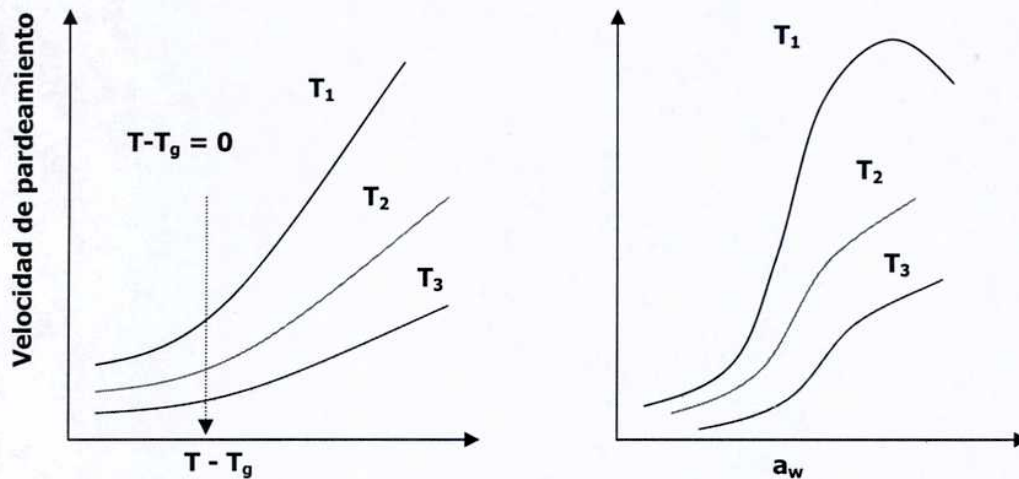


Figura 1.8 Representación esquemática del efecto de la temperatura (T), la temperatura de transición vítrea (T_g), y la actividad de agua (a_w), sobre la velocidad de pardeamiento no enzimático ($T_1 > T_2 > T_3$). (Adaptado de Roos, 1995c).

1.2.2.3 b Evaluación del grado de pardeamiento

El progreso de la reacción de Maillard se puede monitorear en las etapas iniciales, intermedias y finales.

1. Etapas iniciales

Esta fase se caracteriza por la formación de intermediarios que no absorben ni en el espectro visible ni en el ultravioleta cercano, pero que poseen un marcado poder reductor y se puede monitorear la desaparición de los reactivos (azúcar reductor o aminoácido), o la formación de productos del reordenamiento de Amadori. Se han aplicado numerosas metodologías para la detección de estos compuestos, tales como: cromatografía en placa, métodos enzimáticos, análisis de aminoácidos, cromatografía en fase gaseosa, HPLC,

entre otros (Yaylayan y Huyghues-Despointes, 1994; Ge y Lee, 1996; Blanka y col., 2002).

2. Etapas intermedias

Generalmente los compuestos intermediarios se determinan por medición de densidad óptica en el rango ultravioleta (280 nm para furfurales), ya que en esta fase aparece un color amarillento y aumenta la absorción en la región ultravioleta cercana debido a la deshidratación del azúcar y a la formación de compuestos α -carbonílicos. Se puede medir también el desarrollo de fluorescencia, la determinación de volátiles por cromatografía gaseosa, y además la determinación de la disminución de pH que ocurre por bloqueo de los grupos aminos y por la generación de compuestos ácidos.

El desarrollo de fluorescencia durante la reacción de Maillard ha sido ampliamente comprobado en numerosos sistemas azúcar-amino (Burton y col., 1962; Adhikari, 1973; Leclere y Birlouez-Aragon, 2001).

3. Etapas finales

Los pigmentos generados tienen absorbancia en el espectro visible y para lograr una caracterización del color se desarrollaron sistemas de medida que permiten la especificación completa en un espacio tridimensional. La medida objetiva del color de un material puede obtenerse del análisis de su espectro visible (transmisión o reflexión). La variable más frecuentemente empleada para medir el desarrollo de reacciones de pardeamiento no enzimático en alimentos o sistemas modelo es la densidad óptica del sistema pardeado a una

longitud de onda particular (generalmente entre 390-500 nm) (Ellis, 1959; Lee y col., 1984). En presencia de proteínas los productos de glicosilación desarrollan un hombro de absorción a 300 nm, y fluorescencia azul a 460 nm (excitando a 370 nm).

1.3 MEDICIÓN DE COLOR

El color es una importante cualidad de los materiales y su percepción aporta datos sobre su calidad y estado de conservación, además es el primer parámetro evaluado por el consumidor y es crítico en la aceptación o rechazo de los productos (León y col., 2006).

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

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

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

Para lograr una adecuada caracterización de los colores se desarrollaron sistemas de medida que emplean "espacios de color" y "coordenadas de color" y permiten la especificación completa en el espacio tridimensional. En el espacio de color CIELab el parámetro L^* representa la luminosidad del material y su valor varía en un rango de 0 que corresponde al color negro y 100 blanco, a^* (varía de verde a rojo) y b^* (varía de azul a amarillo) con valores entre -120 y 120 para ambos casos y que representan las coordenadas cromáticas de este espacio. Usualmente el color de los alimentos ha sido medido con las coordenadas L^* , a^* , b^* del espacio de color CIELab. El espacio L^* , a^* y b^* es perceptivamente uniforme, es decir, la distancia euclidiana entre dos colores diferentes corresponde aproximadamente a la diferencia de color percibida por el ojo humano.

Existen diferentes métodos para la determinación del color, entre ellos está el fotocolorímetro triestímulo con esfera integradora que puede realizar mediciones sobre áreas muy pequeñas, que es la superficie que suele abarcar el sensor de un colorímetro, el cual limita las aplicaciones de este sistema a productos homogéneos, sin embargo se obtienen datos en forma directa de las coordenadas de color (Lozano, 1978).

Los materiales pueden clasificarse en tres grandes grupos: opacos, transparentes y translúcidos. Son opacos aquellos cuerpos que no dejan pasar radiación a través de ellos; transparentes los que no modifican mayormente la trayectoria de la radiación incidente y translúcidos los que modifican la mayor parte del flujo incidente transmitiendo o reflejándolo en direcciones distintas a la de incidencia.

Las propiedades que definen a un cuerpo son cuatro: la absorbancia, la reflectancia, la transmitancia y la difusividad. Todas estas propiedades dependen de la longitud de onda. La suma de la reflectancia, la absorbancia y transmitancia es siempre igual a uno. Estas propiedades se refieren a la relación entre el flujo externo incidente sobre el material y las propiedades de este. La difusividad indica la propiedad del material respecto a la radiación que atraviesa el mismo, en su capacidad para modificar su dirección.

La teoría de Kubelka Munk (Kubelka y Munk, 1931) ha sido aceptada por su aplicabilidad práctica, particularmente en las industrias que utilizan colorantes y fundamentalmente en las fábricas que elaboran pulpa y papel. El primer postulado de la teoría de Kubelka Munk (KM) es que la iluminación sobre el medio difusor es a su vez totalmente difusa, de extensión "infinita" (esto es: no tiene bordes).

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

Little (1964) determinó que para alimentos translúcidos la medición directa de reflectancia (realizada para alimentos opacos), no es satisfactoria debido a la gran cantidad de interacciones que ocurren entre este tipo de materiales y la luz. La

medición directa de una capa delgada de un material translúcido sobre un fondo blanco es suficiente para separar las muestras en el espacio de color y coincide con la apreciación visual. Sin embargo, Mackinney y col. (1966) y Little y Brinner (1981) encontraron que a través de los coeficientes de atenuación (K) y de dispersión (S) de Kubelka Munk mejora la separación de muestras de salsa de manzana y té, y de soluciones de café.

La practicidad de la teoría KM radica en que sólo utiliza dos variables para describir el fenómeno: el coeficiente de difusión (S) y el de absorción (K) (Lozano, 1978).

$$\frac{K}{S} = k \times C \quad \text{(Ecuación 1.5)}$$

Donde,

K es el coeficiente de atenuación o de absorción

S es el coeficiente de dispersión

C es la concentración de pigmento

k es una constante

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

$$a = \frac{1}{2} \left[R + \left(\frac{R_0 - R + R_g}{R_0 \times R_g} \right) \right] \quad \text{(Ecuación 1.6)}$$

$$b = (a^2 - 1)^{1/2} \quad \text{(Ecuación 1.7)}$$

$$R_\infty = a - b \quad \text{(Ecuación 1.8)}$$

$$K / S = \frac{(1 - R_{\infty})^2}{2 \times R_{\infty}} \quad \text{(Ecuación 1.9)}$$

$$S = \frac{1}{b} \operatorname{arctgh} \left[\frac{(1 - a \times R_0)}{b \times R_0} \right] \quad \text{(Ecuación 1.10)}$$

$$K = S(a - 1) \quad \text{(Ecuación 1.11)}$$

$$T_i = e^{-K} \quad \text{(Ecuación 1.12)}$$

Donde,

S es el coeficiente de dispersión

K es el coeficiente de atenuación

R es la reflectancia de la muestra con fondo blanco

R_0 es la reflectancia de la muestra con fondo negro

R_g es la reflectancia de la placa blanca

R_{∞} es la reflectividad a un espesor infinito

T_i es la transmitancia interna de la muestra

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

La opacidad de los materiales se puede determinar a través de los valores de luminosidad medidos sobre fondos blanco y negro, mediante la siguiente relación.

$$\text{opacidad} = \frac{L^* \text{ fondo negro}}{L^* \text{ fondo blanco}} \quad \text{(Ecuación 1.13)}$$

En los últimos años se ha puesto énfasis en nuevas técnicas basadas en sistemas de visión computarizada y análisis de imágenes para la evaluación del grado de pardeamiento y de otras propiedades relacionadas con la calidad del alimento (Aguilera y Stanley, 1999; Aguilera y Briones, 2005). Los sistemas de visión computarizada utilizan dispositivos para la adquisición de imágenes, computadoras y programas de procesamiento de las imágenes para simular el rol de los ojos y el cerebro. La visión computarizada ofrece una gran resolución espacial ya que cubre todo el objeto de interés, lo cual no es posible con los colorímetros triestímulo que requieren mediciones del objeto punto a punto y proporcionan, por lo tanto, valores de color promedios de zonas muy pequeñas. Las cámaras digitales capturan los colores mientras que las computadoras los almacenan usando el sistema RGB. En el sistema RGB cada color está representado por tres valores independientes: rojo (R), verde (G) y azul (B), ubicados a lo largo de los ejes de un sistema de coordenadas ortogonales, formando un cubo. La línea diagonal desde negro (0,0,0) hasta blanco (1,1,1), que une esquinas opuestas del cubo, representa el rango de valores de la escala de grises. Existen programas de computación que permiten determinar los valores promedio (y las desviaciones estándar) de R, G y B para el objeto de interés. El sistema RGB se puede transformar mediante fórmulas matemáticas en el sistema CIELab (Gonzalez y Woods, 1992) el cual se utiliza comúnmente para análisis de color superficial.

La toma de imágenes mediante una cámara fotográfica y su procesamiento por medio de programas adecuados se presenta como una alternativa interesante para sistemas heterogéneos, debido a que proporcionan gran cantidad de información en forma práctica (Jayas y col., 2000).

2. OBJETIVOS

Caracterizar las propiedades físicas y los cambios en las propiedades ópticas de vegetales liofilizados, luego del almacenamiento a diferentes humedades relativas:

Establecer la importancia de la transición vítrea sobre las características estructurales del sistema y sobre el desarrollo de diferentes grados de opacidad.

Implementar un sistema de visión computarizada para determinar los cambios en las propiedades ópticas de las muestras.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

Con el objetivo de analizar el efecto de las propiedades físico-químicas y estructurales de matrices de frutas deshidratadas sobre la reacción de Maillard se eligió trabajar con manzanas (variedad Granny Smith), melones (Rocío de miel) y peras (Packam`s triumph). Los alimentos utilizados fueron seleccionados, descartando aquellos que presentaron golpes o defectos en la superficie. Todas las frutas empleadas se obtuvieron en el mercado local y se almacenaron a 4°C hasta el momento de su procesamiento.

Las frutas empleadas se eligieron como ejemplos de sistemas ricos en azúcares. La elección de estos materiales permite evaluar el pardeamiento sin interferencia de los colorantes propios del medio. Además presentan características de transparencia o translucidez adecuadas para su estudio.

3.2 PREPARACIÓN DE LOS SISTEMAS

Como paso inicial las frutas fueron lavadas y cortadas en rodajas de 0,5 cm de espesor aproximadamente, luego, empleando un sacabocado se cortaron cilindros de 2 cm de diámetro. Los cilindros fueron rápidamente congelados con nitrógeno líquido y almacenados a -20°C hasta el momento de su tratamiento. Posteriormente el material se sometió a un proceso de liofilización por 48 horas, este procedimiento se realizó en un liofilizador ALPHA 1-4 LD2 (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GMBH Alemania), el cual opera a una temperatura de -84°C y una presión de 0,04 mbar (**Figura 3.1**).



Figura 3.1 Fotografía del equipo Liofilizador ALPHA 1-4 LD2.

Las muestras liofilizadas se procesaron de dos formas diferentes:

- a. *En discos*: ubicados en placas de vidrio de 15 cm de largo, 10 cm de ancho y 0,5 cm de alto, dentro de aros de goma de 2 cm de diámetro interno (**Figura 3.2**).
- b. *En polvo*: las frutas fueron molidas empleando un molinillo eléctrico para café marca Braun. Luego se distribuyó el polvo en recipientes plásticos.

Los sistemas en discos y en polvo se almacenaron en desecadores de vacío, a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ por un período de 14 días a diversas actividades de agua empleando soluciones saturadas de las siguientes sales: cloruro de litio, acetato de potasio, cloruro de magnesio, carbonato de potasio, nitrato de magnesio, cloruro de sodio, y cloruro de potasio logrando actividades de agua de 0,11, 0,22, 0,33, 0,43, 0,52, 0,75, y 0,84 respectivamente (Greenspan, 1977). Luego de la

3. Materiales y métodos

humidificación el material en polvo se distribuyó en placas de vidrio similares a las descritas anteriormente pero con aros de goma de 1,5 cm de diámetro interno y 0,5 cm de altura. Las muestras se humidificaron un día más para contrarrestar los cambios ocurridos durante la manipulación de las mismas.

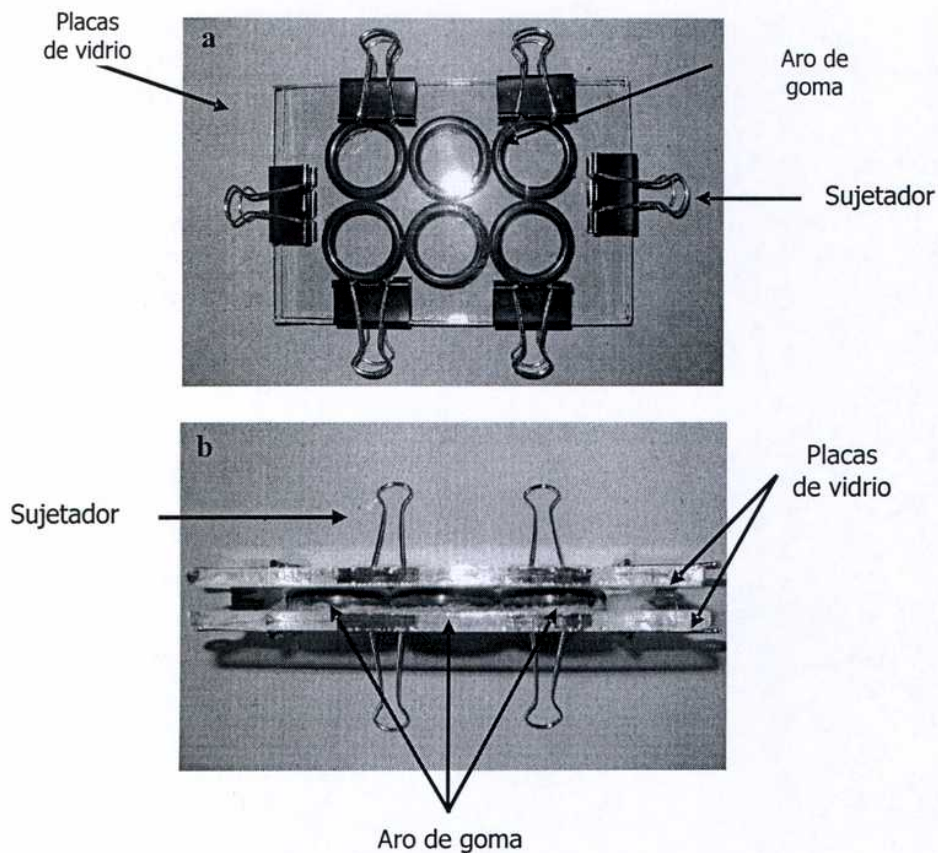


Figura 3.2 Fotografía de los dispositivos para el tratamiento térmico de los sistemas, vista superior (a) y vista lateral (b).

Luego de la humidificación tanto las muestras en discos como en polvo fueron selladas herméticamente colocando otra placa de vidrio en la parte superior y sujetadas de forma que no varíe la humedad adquirida (**Figura 3.2**).

3. Materiales y métodos

Para las determinaciones calorimétricas, de RMN y de contenido de agua se emplearon muestras en discos, que se cortaron en trozos pequeños y se distribuyeron en viales de 5 mL.

3.3 METODOLOGIA

3.3.1 Medición del contenido de agua

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

$$\%H_2O = \frac{P_i - P_f}{P_f - P_r} \times 100 \quad \text{(Ecuación 3.1)}$$

Donde,

P_i es el peso de la muestra antes del tratamiento

P_f es el peso de la muestra después del tratamiento

P_r es el peso del vial de 5 mL correspondiente vacío

3.3.2 Tratamiento térmico

Las placas selladas herméticamente se almacenaron en una estufa de corriente de aire a $45\pm 1^{\circ}\text{C}$. A determinados intervalos de tiempo las muestras fueron retiradas de la estufa para realizar las distintas determinaciones, y luego se almacenaron nuevamente para continuar el tratamiento térmico.

3.3.3 Medición del grado de colapso

Se determinó el colapso cuantitativamente midiendo el diámetro de los discos, y se expresó como el porcentaje de encogimiento radial respecto de un disco control sin encogimiento.

3.3.4 Medición del grado de pardeamiento

La determinación de pardeamiento de las muestras se realizó a través de la toma de imágenes usando un sistema de visión computarizada (**Figura 3.3**). Este sistema consta de una caja color gris estándar ($L= 50$ en escala CIELab) de dimensiones internas de 48 cm de ancho, 62 cm de largo y 48 cm de alto. El interior de la caja cuenta con un sistema patrón de iluminación (iluminante D_{65}) ubicado en la parte superior de la misma, y una cámara digital (Power Shot A70, Canon, USA) ubicada de manera de formar un ángulo de 45° con el plano de la muestra a una distancia de lente de 36 cm. Se fijaron los siguientes parámetros: velocidad de obturación 1/8 segundos (sin zoom, ni flash), modo macro enfocado, apertura de $f=8$ y sensibilidad ISO 50. Las imágenes fueron obtenidas con una resolución de 2048 x 1536 píxeles, y guardadas en formato

3. Materiales y métodos

JPG. El sistema de adquisición de imágenes se encuentra conectado a una computadora (Pentium II, 30 GB, 300 MHz), y emplea un programa de captura remota de imágenes (Canon Zoombrowser, Canon Inc., USA).

Se tomaron imágenes de las muestras sobre fondos blanco y negro. Las fotografías obtenidas se digitalizaron en píxeles de 24 bits formados por niveles de los colores primarios: rojo, verde y azul (RGB), estos datos fueron convertidos al sistema CIELab (1974) (L^* , a^* y b^*) mediante la aplicación de las ecuaciones descritas por Papadakis y col., (2000).

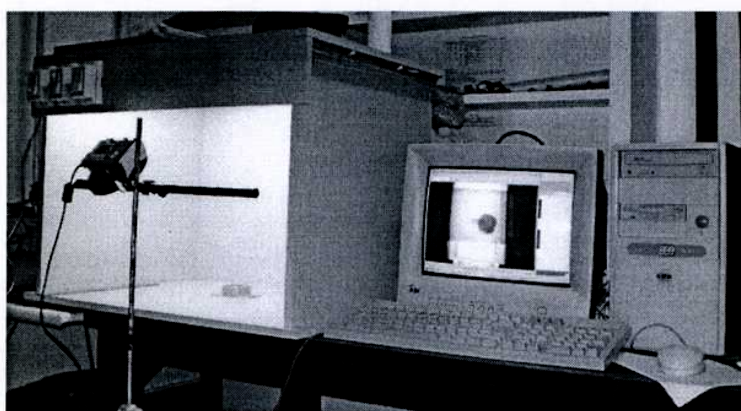


Figura 3.3 Sistema de visión computarizada para la adquisición de imágenes.

Para evaluar las reacciones de pardeamiento en los discos se utilizó la función " $L_0^* - L^*$ ", que es la más adecuada en muestras opacas, donde L_0^* es el valor de luminosidad obtenido de los diferentes sistemas antes de comenzar el tratamiento térmico y L^* corresponde al valor obtenido a cada tiempo.

Para las muestras translúcidas, (alimentos en polvo) luego de realizar las mediciones sobre fondo negro y blanco se aplicó la teoría de Kubelka Munk (**Ecuaciones 1.5 a 1.12**) de tal manera de obtener los parámetros adecuados (variable K/S) para la determinación del grado de pardeamiento.

3.3.5 Medición de la opacidad

El grado de opacidad de las muestras (discos y polvos) se calculó mediante la **Ecuación 1.13**. El valor de opacidad igual a 1 corresponde a muestras opacas, valores menores corresponden a diferentes grados de translucidez.

3.3.6 Evaluación de las constantes cinéticas de pardeamiento

Se calcularon las velocidades de pardeamiento para todos los sistemas analizados como la pendiente de la región lineal de la curva de pardeamiento en función del tiempo de almacenamiento y corresponden a una cinética de orden cero.

$$(L_0 - L) = k \times t \quad \text{(Ecuación 3.2)}$$

$$(K / S - K_0 / S_0) = k \times t \quad \text{(Ecuación 3.3)}$$

Donde,

k es una constante

t es el tiempo.

El modelado de los datos experimentales y las regresiones presentadas en este trabajo se realizaron mediante el empleo del programa GraphPad Prism V 4,02 a través de la correlación lineal.

3.3.7 Medición de transiciones térmicas

La temperatura de transición vítrea (T_g) fue determinada utilizando un calorímetro diferencial de barrido (DSC) Mettler Toledo 822^e y evaluadas

empleando un software para análisis térmico Star^e (**Figura 3.4**). El instrumento se calibró con indio (punto de fusión 156,6°C), plomo (punto de fusión 327,5°C) y zinc (punto de fusión 419,6°C). Las determinaciones se realizaron a una velocidad de calentamiento constante de 10°C/min. en un rango de temperatura comprendido entre -100 y 90°C. Todas las mediciones se realizaron en cápsulas de aluminio de 40 μ l selladas herméticamente y utilizando una cápsula vacía y perforada como referencia. Se utilizó una corriente continua de nitrógeno gaseoso de 200 mL/min medida con un caudalímetro para evitar la condensación de agua sobre las cápsulas y sobre el sensor.



Figura 3.4 Fotografía del equipo de calorimetría diferencial de barrido.

Las temperaturas de transición vítrea (T_g) de los sistemas estudiados se determinaron en forma dinámica (velocidad de calentamiento a 10°C/min) a partir de las discontinuidades detectadas en las curvas de flujo de calor en función de la temperatura. La T_g se consideró como la temperatura a la cual comienza el cambio en el calor específico (valor "onset") que se detecta en el

termograma como un corrimiento endotérmico en la línea de base (**Figura 3.5**).

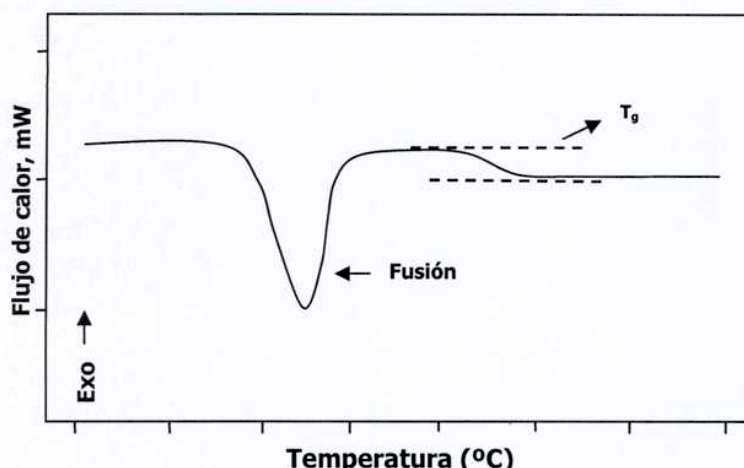


Figura 3.5 Termograma obtenido por calorimetría diferencial de barrido donde se muestran el pico de fusión del agua y la temperatura de transición vítrea.

3.3.8 Medición de los tiempos de relajación

En este trabajo se utilizó la técnica de resonancia magnética nuclear (^1H -NMR) resuelta en el tiempo, con el objetivo de estimar la movilidad molecular de los sólidos y el agua de las muestras. Se midieron los tiempos de relajación espín-espín (T_2). Se empleó un equipo Bruker Minispec mq20 (20 MHz) (Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, Alemania) (**Figura 3.6**).

Las muestras se colocaron en tubos específicos para el equipo empleado, de 10 mm de diámetro y 20 cm de altura, con la ayuda de un sacabocado, hasta una altura de 3 cm aproximadamente, tratando que las paredes del tubo no fueran tocadas por la muestra, de manera de evitar errores en la lectura.

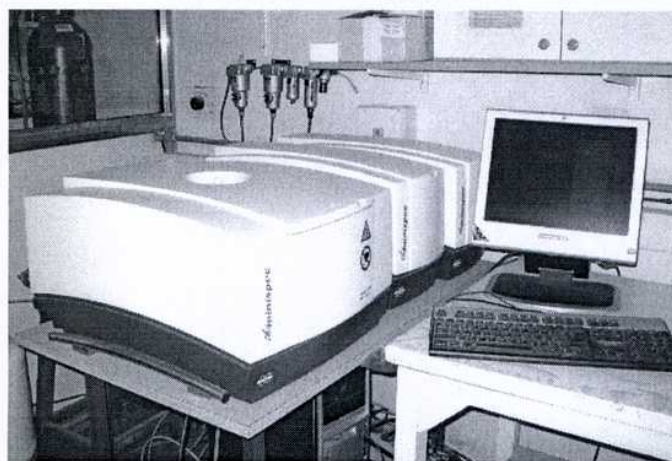


Figura 3.6 Fotografía del equipo de resonancia magnética nuclear.

El tiempo de relajación T_2 se estimó mediante dos métodos: el método FID (Free Induction Decay) que consiste en la aplicación de un pulso de 90° y la medición del decaimiento exponencial de la señal. El método CPMG (Carr, Purcell, Meiboon y Gill) consiste en la aplicación de una secuencia de pulsos ($90^\circ - \tau - 180^\circ - \tau - 180^\circ - \dots$) y la medición del decaimiento exponencial. Para determinar las constantes de decaimiento y los tiempos de relajación se aplicaron ecuaciones mono o bi-exponenciales empleando el programa Origin 7,0. Antes de realizar la medición las muestras se equilibraron durante 15 minutos a diferentes temperaturas en un rango entre 20 y 65°C en un baño termostático (Haake Phoenix II C35P). El RMN se calibró para las determinaciones de T_2 para el método FID con patrones provistos por Bruker. Para el método CPMG el equipo se calibró empleando una muestra de polivinilpirrolidona a actividad de agua 0,52, que se comprobó que es adecuada para representar el tipo de muestras analizadas en este trabajo.

4. RESULTADOS

4.1 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

Con el objetivo de caracterizar los sistemas deshidratados de manzana, melón y pera empleados en este trabajo, en esta sección se analizaron las propiedades fisicoquímicas de los mismos: propiedades de sorción de agua, propiedades térmicas y movilidad molecular.

4.1.1 Isotermas de sorción de agua

El conocimiento y entendimiento de las isothermas de sorción de agua es de gran importancia en la ciencia y tecnología de alimentos, ya que son indispensables para el estudio de la estabilidad química y microbiológica de los productos alimenticios, además de serlo para el desarrollo y optimización de procesos, ingeniería de alimentos y control de calidad industrial (Kaymak y Sultanoglu, 2001; Delgado y Sun, 2002; Sun, 1998; 1999).

En este trabajo se emplearon frutas deshidratadas por liofilización. Durante el proceso de congelamiento rápido, se generan un gran número de cristales de hielo pequeños en los espacios extra e intracelulares (Delgado y Rubiolo, 2005). Como consecuencia, luego de la liofilización se obtienen matrices con distintas características que determinan su capacidad para adsorber agua, en este caso se genera un material con una gran cantidad de poros pequeños, y por lo tanto una relación superficie/volumen elevada, lo cual conduce a una alta capacidad de adsorción de agua. Pequeños incrementos en la actividad de agua durante el almacenamiento de los productos pueden tener un amplio efecto plastificante y

como consecuencia pueden causar pérdida de estabilidad, en particular debido a cambios físicos y cambios químicos que dependen de la actividad de agua (Labuza 1968; Roos, 1995c).

La **Figura 4.1** muestra las isotermas de sorción de agua a 20°C de los diferentes alimentos en discos (manzana, melón y pera) liofilizados y el correspondiente ajuste según la ecuación GAB (Van den Berg y Bruin, 1981). Se empleó la ecuación GAB debido a que el rango de actividades de agua en el cual este modelo es válido es muy amplio y ha sido recomendada por la European Project Group COST 90 en propiedades físicas de alimentos como la ecuación fundamental para la caracterización de sorción de agua de los materiales alimenticios (Timmermann, 2003).

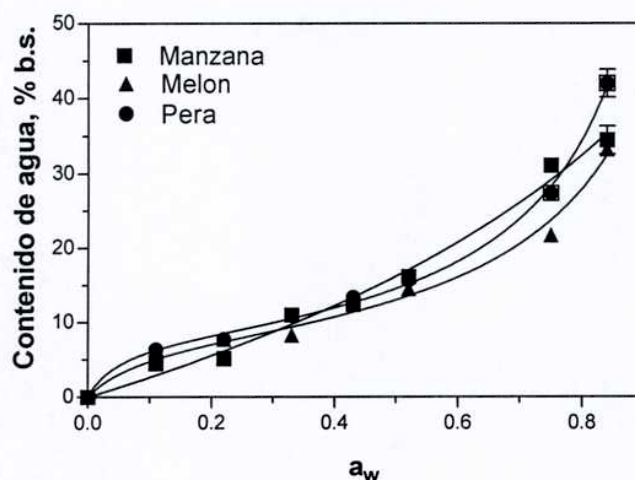


Figura 4.1 Isotermas de sorción de agua a 20°C de frutas liofilizadas. Los símbolos representan el promedio de los valores experimentales obtenidos y las líneas corresponden al ajuste según la ecuación de GAB.

Las curvas de sorción de agua de los tres sistemas analizados presentaron una forma sigmoidea, que es característica para la mayoría de los productos biológicos y corresponde a una curva tipo II de acuerdo a la clasificación de Brunauer, Deming y Teller (Brunauer y col, 1940). Se observó que los tejidos vegetales no presentaron discontinuidades en la curva de sorción de agua. Se obtuvieron curvas típicas de productos con alto contenido de azúcar que adsorben cantidades relativamente pequeñas de agua a bajas actividades de agua y a altas a_w muestran un incremento en la cantidad de agua adsorbida (Telis y Sobral, 2001). Los resultados obtenidos concuerdan con los reportados en otros trabajos realizados para manzana en trozos en un rango de actividades de agua de 0,1 a 0,9 (Martínez-Monzó y col., 1998; del Valle y col., 1998; Sá y col.; 1999; Acevedo y col., 2007; Kaya y col., 2007; Venir y col., 2007) y para manzana en polvo, en un rango de actividad de agua de 0,33 a 0,75 (Acevedo y col., 2008). En el caso del sistema de pera se realizaron estudios en rodajas, en un rango de actividad de agua entre 0,8 a 1 (Nguyen y col., 2004) y entre 0,1 a 0,9 (Guiné y Castro, 2002), con resultados similares a los obtenidos en este trabajo. No se han encontrado antecedentes en la bibliografía sobre isothermas de sorción de agua de melón deshidratado.

4.1.2 Transiciones térmicas

La técnica de calorimetría diferencial de barrido (DSC) se empleó para evaluar las transiciones térmicas en función de la actividad de agua en los diferentes sistemas analizados. En la **Figura 4.2** se muestran los termogramas obtenidos para los

sistemas liofilizados de manzana (**a**), melón (**b**) y pera (**c**) en discos en un amplio rango de actividades de agua.

Se observaron transiciones vítreas muy definidas y con un claro descenso de la temperatura de transición vítrea (T_g) con el aumento de la actividad de agua (**Figura 4.2**). En el caso de los sistemas de melón se observó la presencia de un pico endotérmico, correspondiente a la fusión de agua congelable cuando se alcanzó una actividad de agua de 0,84. Los valores de T_g para el sistema de manzana liofilizado fueron inferiores (en un rango entre 1 y 12°C) a los informados anteriormente a bajas actividades de agua y similares a a_w mayores (Karmas y col., 1992; Aguilera y col., 1998; del Valle y col., 1998; Sá y col., 1999; Bai y col., 2001; Acevedo y col., 2006; Venir y col., 2007). Estas diferencias podrían deberse a las distintas variedades de manzana empleadas. Los valores de T_g obtenidos en trabajos previos para rodajas de pera deshidratada en corriente de aire y equilibrada entre 0,23 y 0,88 de a_w (Ling y col., 2004) fueron similares a los informados en el presente trabajo. Hasta el momento no se ha encontrado bibliografía sobre transiciones vítreas de melón deshidratado.

Se puede observar que los tres sistemas presentaron valores de T_g relativamente bajos y que se encuentran en estado sobre-enfriado a temperatura ambiente a todas las actividades de agua estudiadas (**Figura 4.2**).

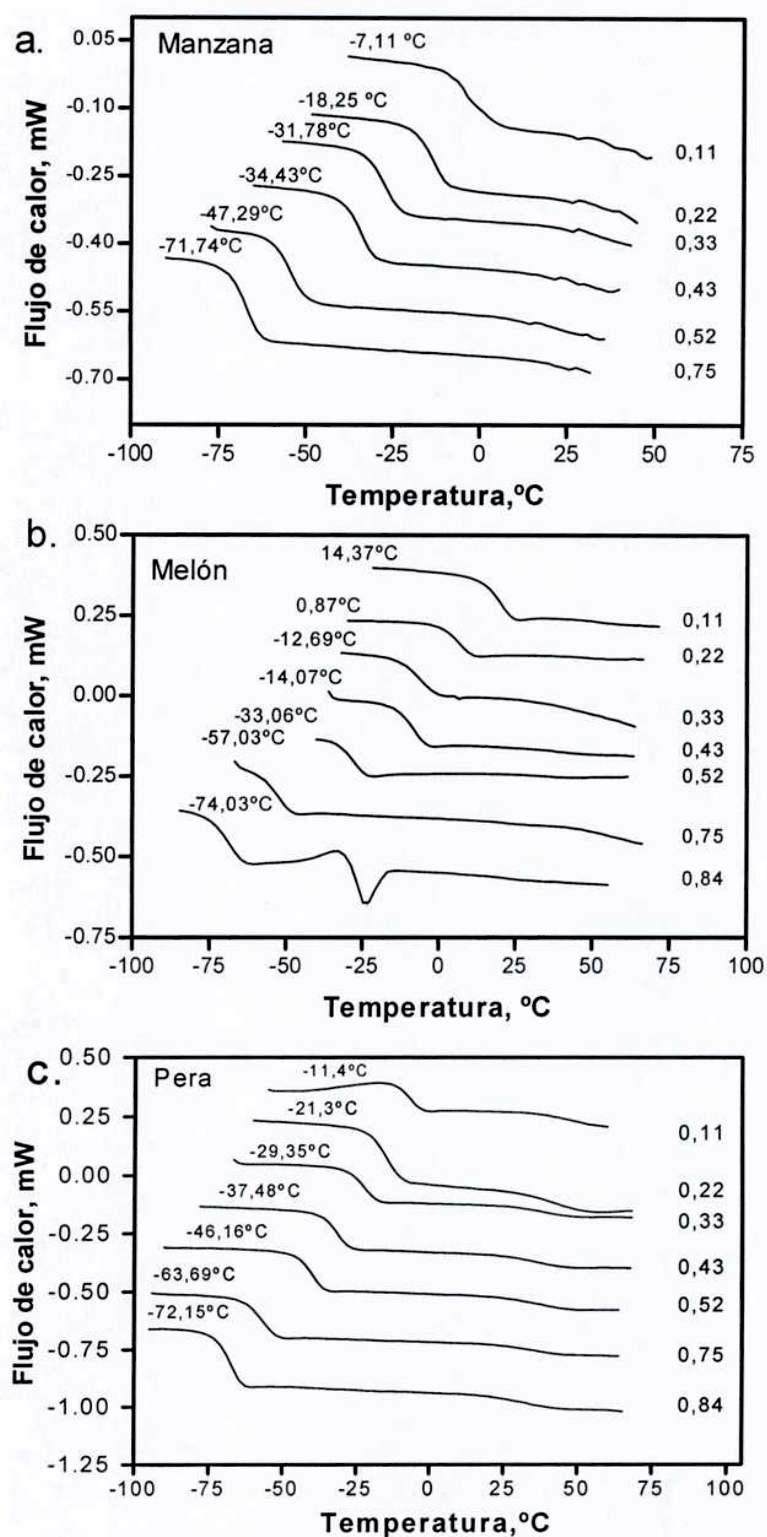


Figura 4.2 Termogramas obtenidos por DSC para sistemas en discos de manzana (a), melón (b) y pera (c), humidificados a diferentes actividades de agua. El valor "onset" de T_g está indicado sobre cada curva.

4.1.3 Colapso

Son muchos los cambios que se producen en los materiales alimenticios cuando se exponen a diferentes actividades de agua. Estos cambios físicos y cambios químicos pueden alterar la apariencia del producto.

La **Figura 4.3** muestra fotografías de melón (**a**) y de pera (**b**) en discos, obtenidas luego de la humidificación de las muestras a diferentes actividades de agua durante 14 días a 20°C. La dimensión de los discos estudiados (antes del proceso de equilibración) fue de 2 cm de diámetro y 0,5 cm de espesor. Se puede observar que durante el almacenamiento a 20°C se produjeron cambios en la apariencia de los discos. Uno de esos cambios corresponde al oscurecimiento de las muestras, que podría deberse al desarrollo de pardeamiento.

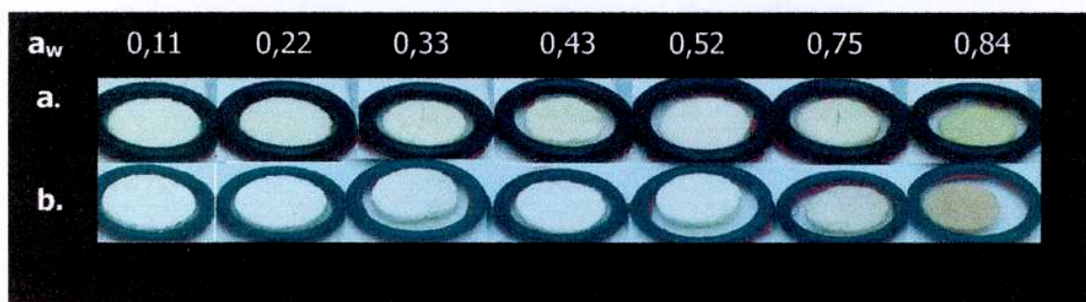


Figura 4.3 Fotografías de melón (**a**) y pera en discos (**b**) luego de humidificar las muestras durante 14 días a 20°C en un rango de actividades de agua entre 0,11 y 0,84.

Además del oscurecimiento se observó un notable encogimiento radial que alcanzó hasta un 45% del tamaño inicial de los discos. Si bien todas las muestras se encontraban en estado sobre-enfriado a 20°C, el encogimiento sólo se presentó a partir de a_w 0,33 (**Figura 4.4**). Este hecho podría deberse a que los valores de (T-

T_g) a partir de esta actividad de agua son suficientemente altos como para que se produzcan cambios físicos en el tiempo de observación (14 días). Es bien sabido que el colapso en un material amorfo depende del valor de $(T-T_g)$ y del tiempo (Levi y Karel, 1995; Bonelli y col., 1997). Es interesante notar que las características estructurales y de composición de cada tejido vegetal influyeron de manera considerable a la ocurrencia del colapso, dado que los valores de $(T-T_g)$ requeridos para observar colapso en pera fueron mucho mayores que para melón.

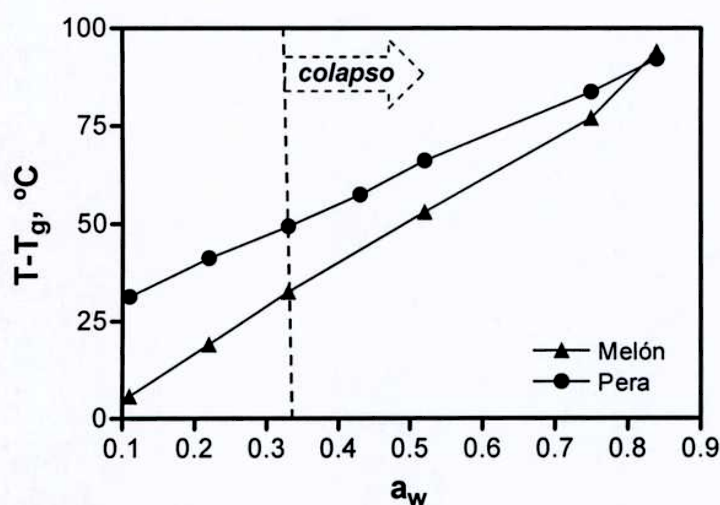


Figura 4.4 Valores de $(T-T_g)$ a 20°C para melón y pera en discos en función de la actividad de agua.

4.1.4 Movilidad molecular

Con la finalidad de estimar la movilidad molecular de los sólidos y del agua presentes en las muestras a diferentes actividades de agua, se determinó el tiempo de relajación transversal (espín – espín) T_2 a través de la técnica de resonancia magnética nuclear (^1H – RMN) resuelta en el tiempo.

La **Figura 4.5** muestra los tiempos de relajación (T_2) de los sistemas de manzana (a), melón (b) y pera (c) en un rango de temperatura entre 20 y 65°C.

Los valores de tiempo de relajación T_2 calculados a partir del método FID fueron menores que 0,03 ms y no se observaron cambios en T_2 con el aumento de la temperatura. Además los valores de T_2 fueron similares para los tres sistemas analizados. La dependencia de los tiempos de relajación T_2 con la temperatura presenta un quiebre a valores próximos a la T_g . En el caso de los materiales analizados esto no se observó debido a que los valores de T_g para todos los sistemas fueron menores a los valores de temperatura analizados.

El método CPMG permitió diferenciar dos poblaciones bien definidas con distinto nivel de movilidad dado por dos tiempos de relajación (T_{2-1} y T_{2-2}). Se observó un incremento de T_2 al aumentar la temperatura y la actividad de agua. Este método sólo se utilizó para la medición de sistemas con altas a_w , donde el agua se presenta en multicapas y libre. Los tiempos de relajación presentaron valores para T_{2-1} en el rango entre 5 y 20 ms y entre 10 y 106 ms para T_{2-2} (**Figura 4.5**). Los valores de T_{2-1} fueron similares para las tres frutas mientras que se observaron diferencias para los valores de T_{2-2} , siendo el sistema de pera el que presentó los valores de T_{2-2} mayores.

Analizando la influencia de la temperatura sobre los tiempos de relajación, se observó que fue más importante para las poblaciones representadas por T_{2-2} . En este caso se presentó un incremento de 3 a 6 veces (entre los valores obtenidos a 20°C y 65°C), mientras que los valores de T_{2-1} sólo aumentaron entre 2 y 3 veces en el mismo rango de temperatura.

Hasta el momento no se ha encontrado bibliografía disponible sobre tiempos de relajación de frutas deshidratadas medidos por RMN resuelta en el tiempo.

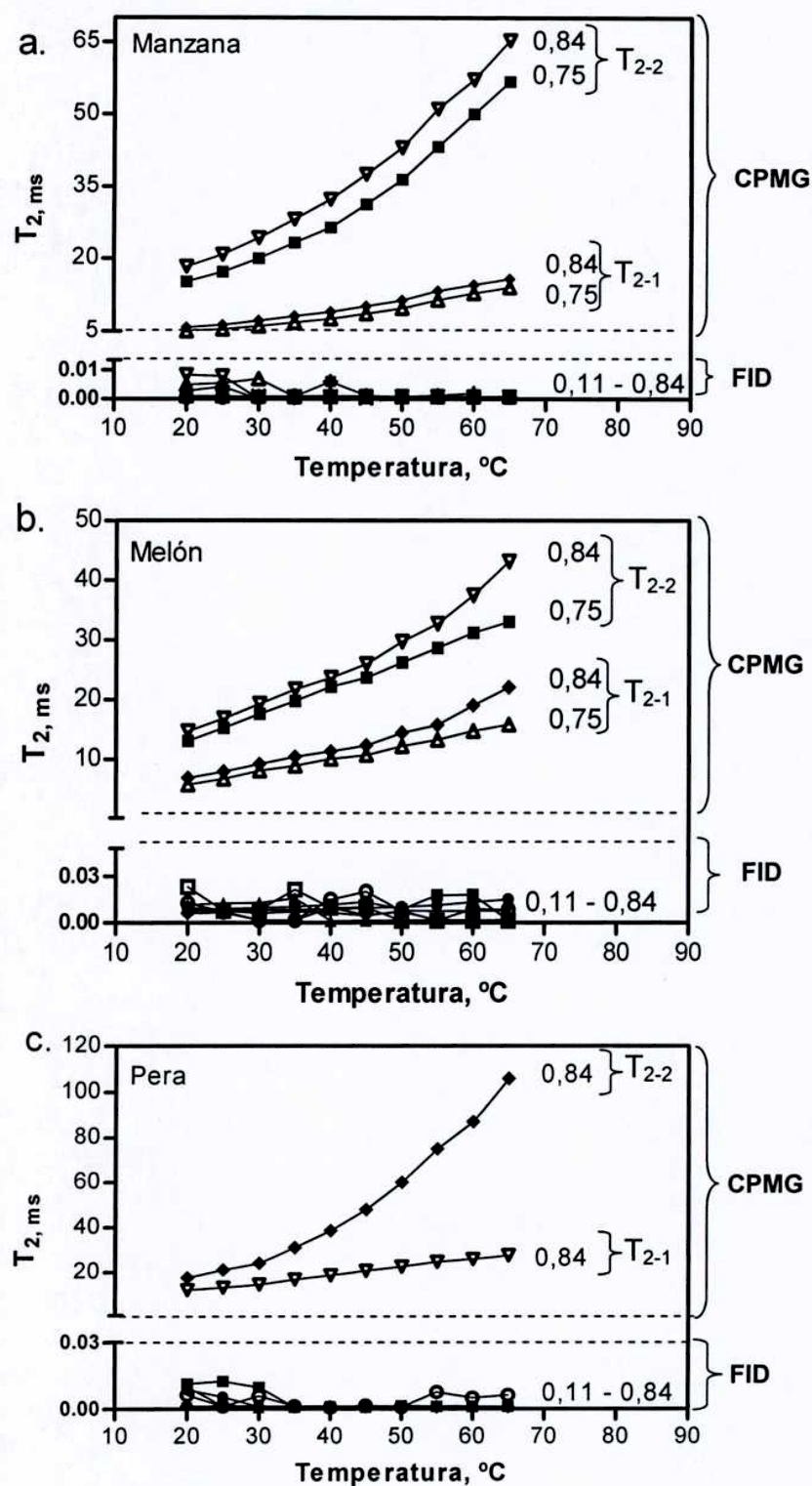


Figura 4.5 Tiempos de relajación T_2 obtenidos por ^1H RMN en función de la temperatura para manzanita (a), melón (b) y pera (c) equilibrados a actividades de agua entre 0,11 y 0,84.

4.2 PROPIEDADES ÓPTICAS

En esta sección se evaluaron las propiedades ópticas de las frutas deshidratadas considerando tanto los cambios que se producen durante la humidificación a diferentes actividades de agua, como los cambios causados por un tratamiento térmico a 45°C.

4.2.1 Muestras en discos

Para la determinación de oscurecimiento de las muestras en discos de melón y pera se utilizó el parámetro de luminosidad (L^* en el espacio CIELab).

4.2.1.1 Desarrollo de pardeamiento

Se analizó la evolución de la reacción de pardeamiento durante la humidificación y el almacenamiento a 45°C en función de la actividad de agua. Se abarcaron los siguientes aspectos:

1. Análisis del grado de oscurecimiento alcanzado en función de la actividad de agua y del tiempo de almacenamiento.
2. Análisis de la cinética de la reacción a 45°C.

En la **Figura 4.6** se muestran fotografías de los cambios de oscurecimiento producidos en discos de melón (**a**) y pera (**b**) humidificados a distintas actividades de agua luego de 0 y 9 días de almacenamiento a 45°C. Se eligió analizar los datos obtenidos a los 9 días de almacenamiento, ya que fue el tiempo máximo analizado para las muestras de melón.

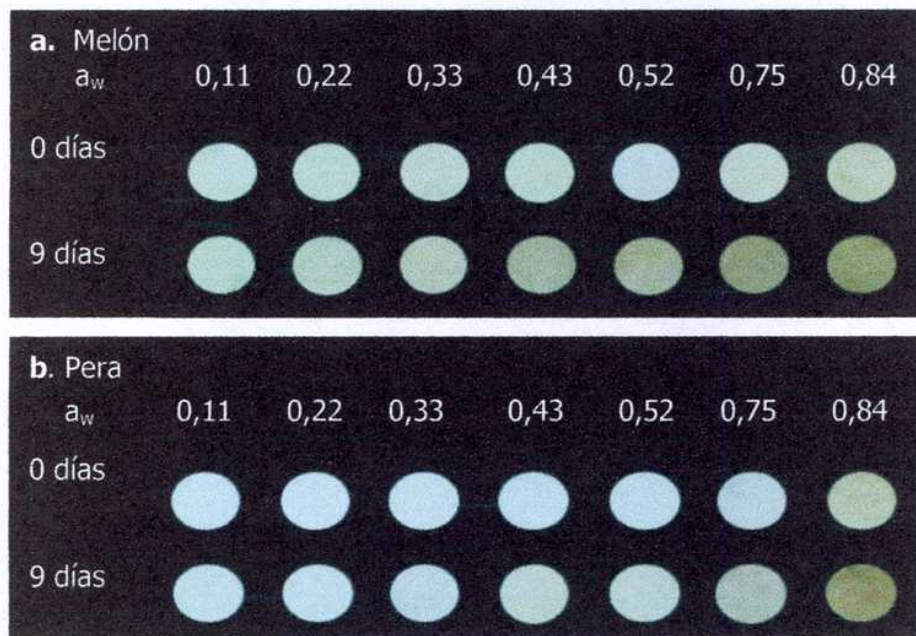


Figura 4.6 Fotografías de discos de melón (a) y pera (b) a diferentes actividades de agua y después de 0 y 9 días de almacenamiento a 45°C.

Se observó un aumento progresivo del oscurecimiento de las muestras a medida que aumentó la a_w , tanto durante la humidificación a 20°C como en el almacenamiento a 45°C. Con la finalidad de comparar la contribución al pardeamiento ocurrida durante la humidificación y el tratamiento térmico se calcularon los porcentajes de pardeamiento (calculado a través de la variable L^*) a 0 y 9 días de almacenamiento a 45°C (**Figura 4.7**). El desarrollo de pardeamiento se vio afectado por la actividad de agua de diferente manera a 20°C que a 45°C. En el caso del melón al cabo de la humidificación (a 20°C) se desarrollaron bajos niveles de pardeo hasta a_w 0,52 y a partir de esta actividad de agua el pardeamiento fue mayor. Para los sistemas de pera el comportamiento fue similar y se alcanzaron valores mayores de pardeo (14%) a a_w 0,84 mientras que el melón sólo alcanzó 9% de pardeo a esa actividad de agua. El oscurecimiento

ocurrido a 20°C podría atribuirse en parte a la contribución del pardeamiento enzimático que sería más importante a partir de a_w 0,75. Por otro lado el oscurecimiento producido durante el tratamiento térmico a 45°C mostró un máximo entre actividad de agua 0,52 y 0,75 para melón. Para los sistemas de pera los valores de pardeo alcanzados fueron mucho menores y no se presentó un máximo.

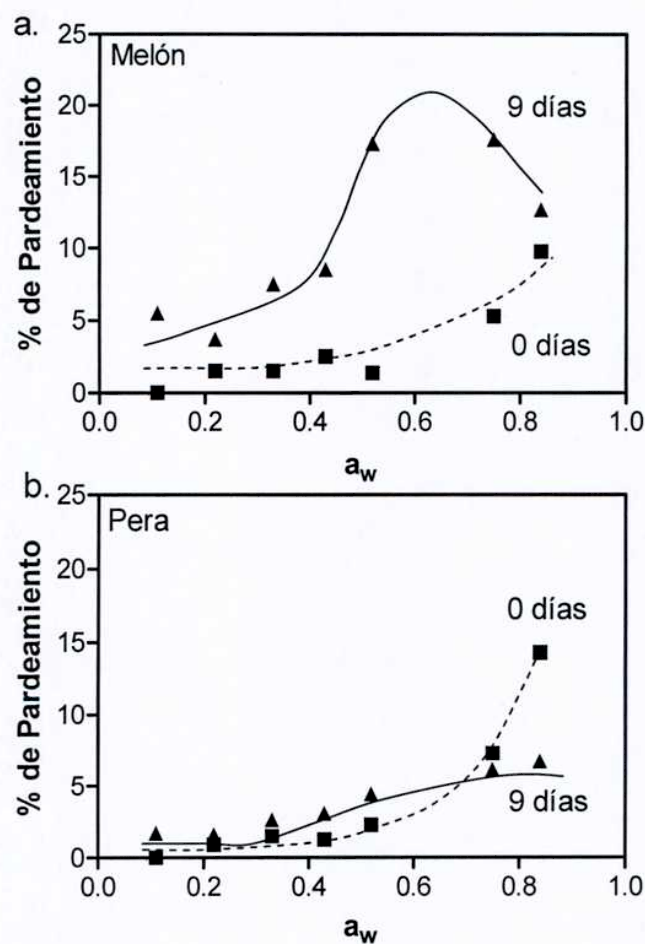


Figura 4.7 Porcentaje de pardeamiento (calculado a través de la variable L^*) desarrollado durante la humidificación a 20°C y luego de 9 días de almacenamiento a 45°C para los sistemas de melón (a) y pera (b) en discos en función de la a_w .

El seguimiento del desarrollo de pardeamiento durante el tiempo de almacenamiento a 45°C se expresó mediante la variable $L_0^* - L^*$, siendo L_0^* el valor de luminosidad a tiempo cero y L^* el valor de luminosidad a cada tiempo analizado. La determinación del parámetro $L_0^* - L^*$ se hace con la finalidad de identificar el grado de oscurecimiento de la muestra sin tener en cuenta el cambio de pardeamiento que sufre el material en la humidificación. En la **Figura 4.8** se muestra el análisis cuantitativo del grado de pardeamiento a distintas actividades de agua en función del tiempo de almacenamiento a 45°C.

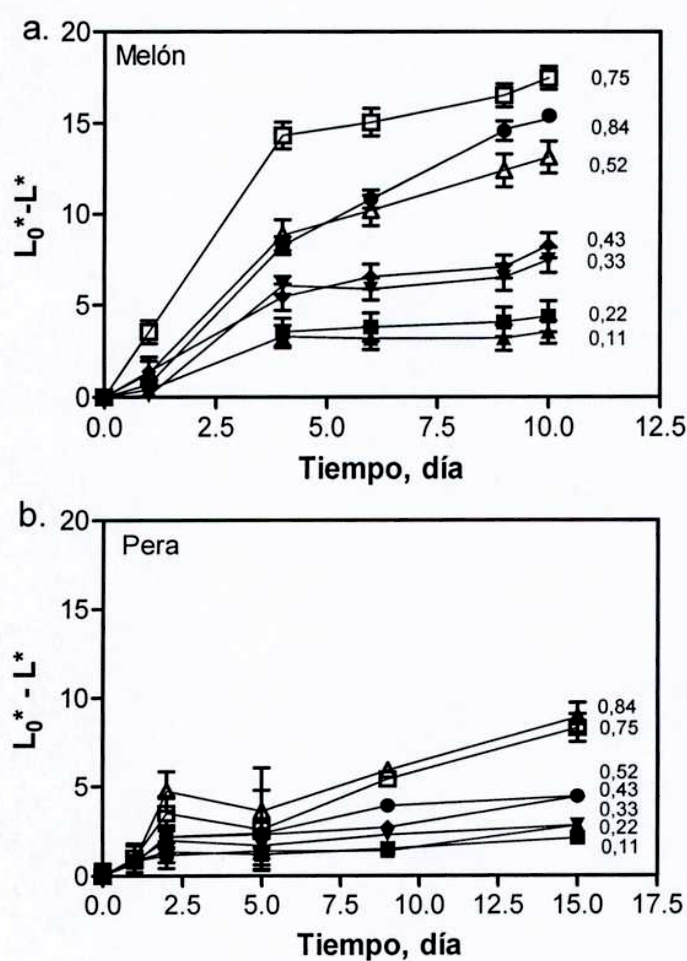


Figura 4.8 Desarrollo de pardeamiento de melón (a) y pera (b) en discos en función del tiempo de almacenamiento a 45°C.

En este gráfico se puede observar que se produjo un aumento en el grado de pardeamiento al aumentar la actividad de agua en ambas frutas. En el caso del melón el máximo oscurecimiento desarrollado se presentó a a_w 0,75. Además en todo el rango de actividades de agua analizado las muestras de melón desarrollaron mayor grado de pardeamiento que las de pera. Hasta el momento para melón y pera liofilizados no se ha encontrado información publicada sobre pardeamiento.

4.2.1.2 Constantes cinéticas de pardeamiento

En esta sección se analizaron las constantes cinéticas de pardeamiento para los sistemas en discos equilibrados a diferentes actividades de agua y almacenados a 45°C. Las velocidades de pardeamiento se calcularon a partir de la pendiente de la zona lineal de la curva de pardeamiento versus tiempo de almacenamiento (**Figura 4.8**), a través del análisis de correlación lineal de datos, de la misma manera que lo reportado en trabajos anteriores (Burin y col., 2000; Acevedo y col., 2008).

En la **Figura 4.9** se muestra la velocidad de pardeamiento de los sistemas de melón y pera en función de la actividad de agua durante el almacenamiento a 45°C.

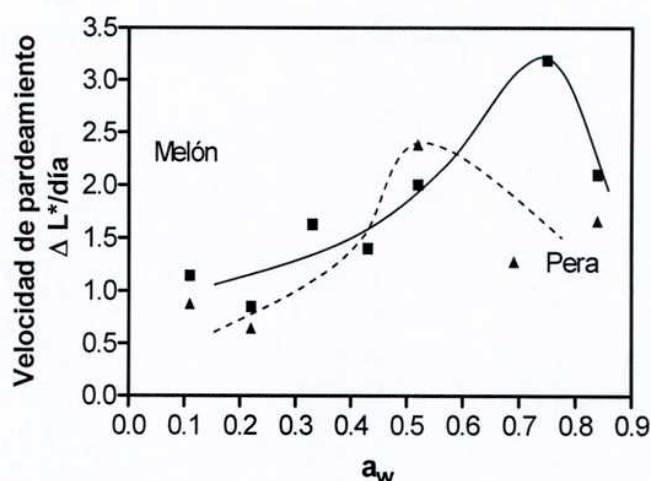


Figura 4.9 Velocidad de pardeamiento a 45°C de melón (■) y pera (▲) en función de la actividad de agua.

Se pudo observar que a actividades de agua bajas hay una velocidad de desarrollo de pardeamiento más lenta que para a_w altas, y se presentó un máximo de velocidad a a_w 0,52 para pera y 0,75 para melón. De acuerdo con Labuza y col. (1970), existe un máximo de velocidad de pardeamiento no enzimático en sistemas sólidos, en un rango de actividades de agua entre 0,6 y 0,8. Los sistemas con componentes estructurales, como biopolímeros insolubles de los tejidos vegetales, muestran un máximo de velocidad de pardeamiento no enzimático a elevadas actividades de agua. Acevedo y col. (2006) observaron un máximo de pardeo a a_w 0,75 en manzana en discos almacenados a 70°C. Los sistemas de melón y pera en discos presentaron máximos de velocidad de la reacción aproximadamente dentro del rango sugerido de a_w .

Las curvas resultantes de la velocidad de pardeamiento presentaron forma de campana. A bajas a_w el factor limitante es la dificultad en la movilidad de los reactivos, que no pueden interactuar entre ellos, y la reacción tiene lugar a velocidades muy bajas. A medida que aumenta la a_w del sistema, ocurren dos

fenómenos: disminución de la viscosidad de la fase acuosa, y disolución de los reactivos en esa fase (Warmbier y col., 1976; Labuza, 1980). Como consecuencia, se va produciendo un cambio gradual de la concentración de los reactivos y un aumento de su velocidad de difusión en la fase acuosa, lo cual se traduce en un aumento sostenido de la velocidad de reacción al aumentar a_w . Llega un momento en que la fase acuosa se satura y un aumento del contenido acuoso no altera la concentración de reactivos, sino hasta el momento en que cesa la disponibilidad de los mismos para disolverse, y un aumento de a_w solo produce dilución. Este efecto, sumado al hecho de que el agua, por ser producto de la reacción tiene una acción inhibitoria sobre la misma, ocasiona una disminución de la velocidad de reacción (Eichner y Karel, 1972; Labuza y Saltmarch, 1981; Labuza y col., 1977).

4.2.2 Muestras en polvo

En esta sección se evaluaron las propiedades ópticas de las frutas deshidratadas en polvo (manzana, melón y pera) con el objetivo de evaluar la influencia de la estructura sobre estas propiedades.

Al cabo del proceso de liofilización tanto las muestras en discos como en polvo se presentaron como materiales opacos. Los sistemas en discos permanecieron opacos luego de la humidificación y el tratamiento térmico, sin embargo, las muestras en polvo presentaron características de materiales translúcidos a medida que aumentó la actividad de agua, lo cual se evidenció por la presencia de diferentes grados de opacidad. Por lo tanto, se determinó el grado de opacidad de los sistemas según la **Ecuación 1.13**. En la **Figura 4.10** se muestran los

cambios en la opacidad desarrollados durante la humidificación de los sistemas de melón en discos y en polvo en función de la actividad de agua.

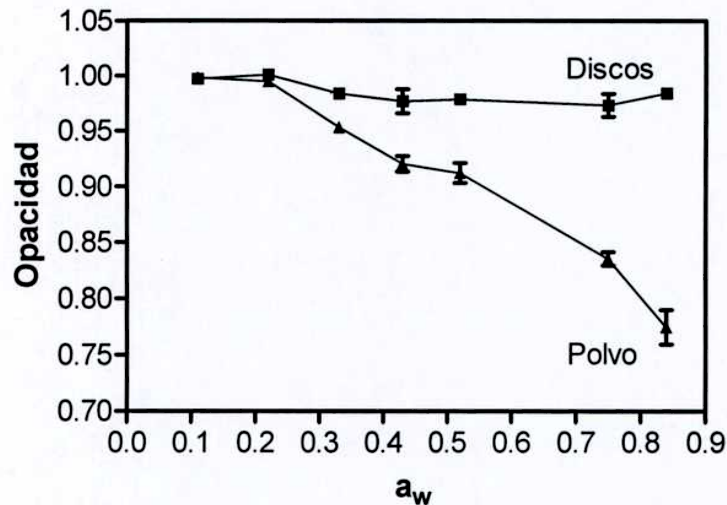


Figura 4.10 Grado de opacidad para melón en discos y en polvo con respecto a la actividad de agua, luego de humidificar las muestras durante 14 días a 20°C.

Los sistemas de melón en discos mostraron un grado de opacidad cercano a 1 (material opaco) a las diferentes actividades de agua estudiadas. Los sistemas de melón en polvo presentaron una disminución del grado de opacidad con el aumento de la actividad de agua a partir de 0,22, indicando la translucidez de las muestras. Este comportamiento fue similar al ocurrido en los sistemas de manzana y pera.

Durante la liofilización se producen pequeños poros, los cuales quedan llenos de aire y aportan un grado de opacidad a las muestras, durante la humidificación el agua ocupa parte de los poros (Lana y col., 2006 y Talens y col., 2002). En el caso de los tejidos íntegros (discos) la presencia de la estructura celular puede conservar la opacidad del material. Por el contrario, en los polvos, en los que la

estructura no conserva el aire, a partir de un cierto contenido de agua, ésta produce cambios en la apariencia del material y disminuye la opacidad.

En la **Figura 4.11** se muestran las fotografías de manzana (**a**), melón (**b**) y pera (**c**) en polvo, obtenidas luego de la humidificación de las muestras a diferentes actividades de agua durante 14 días a 20°C. Los sistemas en polvo se encontraban contenidos dentro de un aro de goma de un diámetro interno de 1,5 cm y un espesor de 0,5 cm aproximadamente. De manera similar a lo sucedido con las muestras en discos, los cambios de la color pudieron deberse al desarrollo de pardeamiento enzimático y no enzimático durante el almacenamiento.

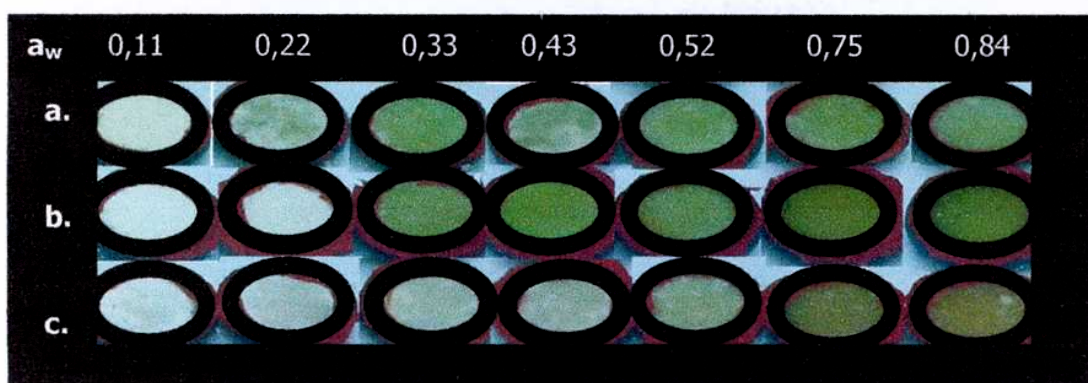


Figura 4.11 Fotografías de manzana (**a**), melón (**b**) y pera (**c**) en polvo, luego de humidificar las muestras durante 14 días a 20° C en un rango de actividades de agua entre 0,11 y 0,84.

Como se ve en la **Figura 4.11** es notorio el oscurecimiento de los sistemas al aumentar la a_w , particularmente a partir de a_w 0,33. Estos resultados coincidieron con los estudios de pardeamiento determinado a través de análisis de imagen realizados por Acevedo y col., (2008) en polvos de manzana liofilizados y Fernández y col., (2005) en discos de manzana secados con corriente de aire.

Debido a que los sistemas en polvo utilizados en este trabajo presentaron características de translucidez, se decidió analizar que variable sería más apropiada para evaluar el pardeamiento. Para ello se midió la variable L^* empleando un fondo blanco y uno negro. Además se calculó la variable K/S (Ecuación 1.5) de la teoría de Kubelka–Munk que suele utilizarse para determinar el oscurecimiento de materiales translúcidos (Kubelka y Munk, 1931). Para evaluar cuál parámetro era más adecuado en la determinación del grado de oscurecimiento de estos materiales translúcidos, se graficaron los valores de K/S en función de L^* (con fondo blanco) obtenidos luego de un tratamiento térmico a 45°C a diferentes actividades de agua (**Figura 4.12**). Se pudo observar que para muestras hasta a_w 0,22 (muestras opacas debajo de la línea punteada), la variación de los valores de K/S fue muy pequeña, sin embargo, a medida que aumentó la actividad de agua y los sistemas presentaron translucidez, estas variaciones aumentaron y fueron mayores que los cambios en L^* . Se calcularon las pendientes correspondientes a las curvas obtenidas a diferentes a_w de manera de comparar la sensibilidad de las variables K/S y L^* . Se observó que para a_w bajas (hasta 0,33) las pendientes eran pequeñas del orden de 10^{-3} , pero a medida que aumentó la actividad de agua se presentó un incremento alcanzando valores en el orden de 10^{-2} . Por lo tanto, a bajas a_w la función L^* fue mucho más sensible que K/S para revelar los cambios de oscurecimiento, y lo opuesto ocurrió a actividades de agua más altas. Teniendo en cuenta que la mayoría de las muestras en polvo presentaron translucidez, se consideró que la variable K/S era más adecuada para evaluar el desarrollo de pardeamiento, aunque no fue la más apropiada en el rango de a_w entre 0,11 y 0,33.

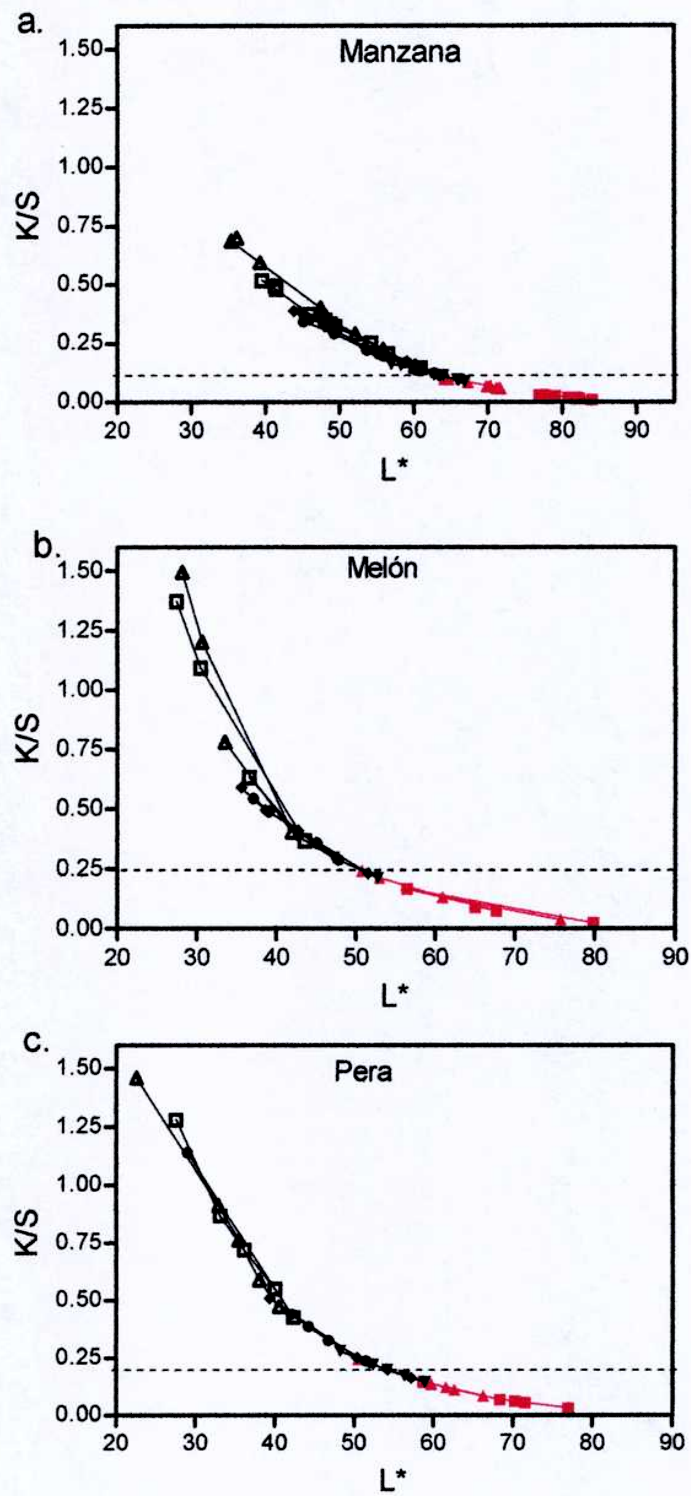


Figura 4.12 Relación K/S en función del parámetro luminosidad a diferentes tiempos de tratamiento a 45°C para manzana (a), melón (b) y pera (c) en polvo liofilizados y humidificados a a_w 0,11 (■), 0,22 (▲), 0,33 (▼), 0,43 (◆), 0,52 (●), 0,75 (□) y 0,84 (Δ). La línea de puntos divide la zona de muestras opacas y translúcidas.

La teoría de Kubelka – Munk ha sido más frecuentemente aplicada en el área de los pigmentos y las pinturas, y hasta el momento son pocos los estudios que se pueden encontrar con la aplicación de esta teoría en los alimentos. Estudios previos reportaron que la función K/S fue adecuada para describir cambios de color durante el pardeamiento de muestras translúcidas de concentrado de suero de queso hidrolizado (Buera y Resnik, 1989), dulce de leche (Hough y col., 1991) y polvo de manzana (Acevedo y col., 2006).

4.2.2.1 Desarrollo de pardeamiento

Para los sistemas en polvo, se realizó el análisis de pardeamiento teniendo en cuenta el proceso de humidificación a 20°C y de almacenamiento a 45°C como se describió anteriormente en la **sección 4.2.1.1**, pero en este caso utilizando la variable K/S .

En la **Figura 4.13** se muestran los valores de K/S obtenidos luego de la humidificación de las muestras en polvo a temperatura ambiente para todos los sistemas estudiados. Se puede observar el desarrollo progresivo de pardeamiento de los sistemas con el aumento de la actividad de agua. El sistema de melón presentó el mayor grado de pardeamiento mientras que los sistemas de manzana y pera presentaron valores similares de pardeo en todo el rango de actividades de agua.

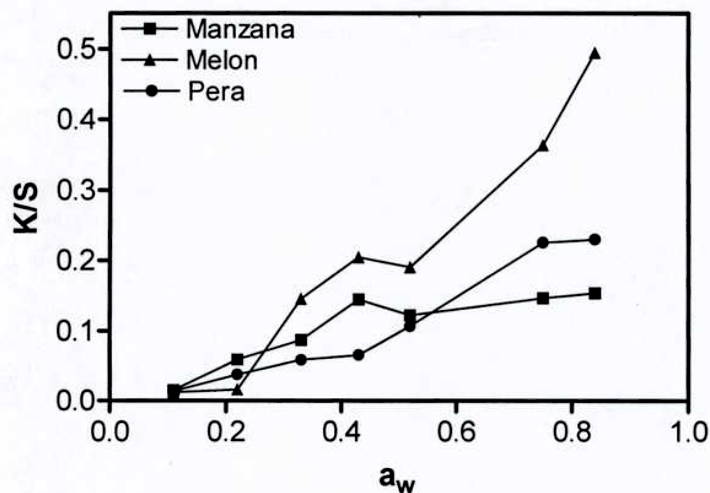


Figura 4.13 Oscurecimiento desarrollado luego de 14 días de almacenamiento a 20°C para los sistemas de manzana (■), melón (▲) y pera (●) en polvo en función de la actividad de agua.

Se tomaron fotografías para observar los cambios de apariencia en los sistemas de manzana, pera y melón (**Figuras 4.14 a, b y c** respectivamente) luego de la humidificación a diferentes actividades de agua y luego de 9 días de tratamiento térmico a 45°C. Se observó cualitativamente que durante la humidificación (0 días) a partir de la actividad de agua de 0,33 empezó a notarse un oscurecimiento de las muestras de manera similar a lo observado en las muestras en discos (**Figura 4.6**). El grado de oscurecimiento de las muestras luego de 9 días a 45°C fue mayor y además presentó cambios a a_w 0,22.

Con la finalidad de comparar la contribución al pardeamiento ocurrido durante por la humidificación y el tratamiento térmico se calcularon los porcentajes de pardeamiento a 0 y 9 días de almacenamiento a 45°C (**Figura 4.15**).

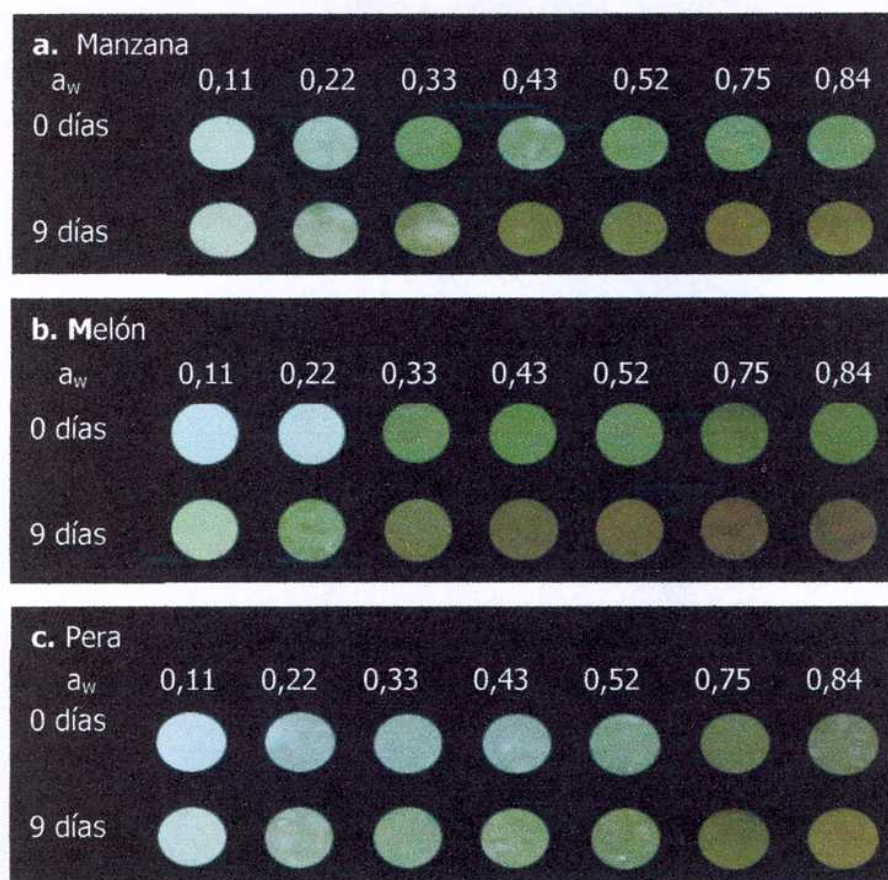


Figura 4.14 Desarrollo de pardeamiento de manzana (a), melón (b) y pera (c) en polvo a diferentes actividades de agua y después de 0 y 9 días de almacenamiento a 45°C.

El desarrollo de pardeamiento se vio afectado por la actividad de agua de diferente manera a 20°C que a 45°C. Se observó que en el caso de la pera la contribución al pardeamiento fue siempre mayor en la humidificación que al cabo de 9 días a 45°C. En el caso de manzana, el porcentaje de oscurecimiento ocurrido durante la humidificación fue mayor hasta a_w 0,52. Luego, se produjo un cambio en el comportamiento y el tratamiento térmico contribuyó con porcentajes mayores al oscurecimiento total de las muestras. En el caso de melón, las contribuciones al pardeamiento fueron similares a 20 y 45°C.

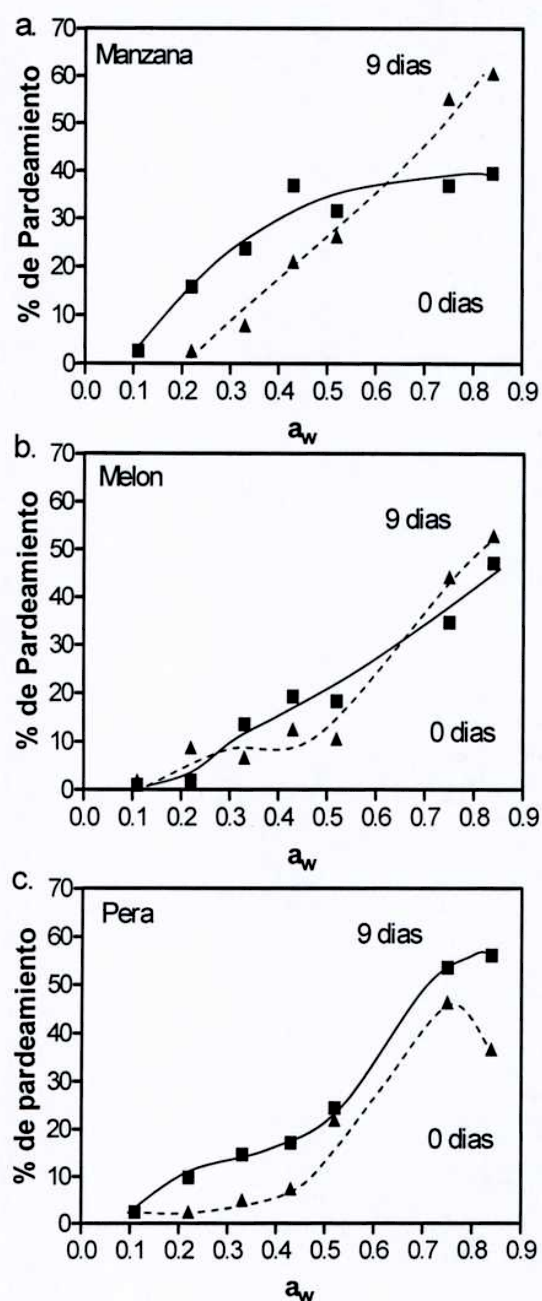


Figura 4.15 Porcentaje de pardeamiento (calculado a través de la variable K/S) desarrollado durante la humidificación (0 días) y luego de 9 días de almacenamiento a 45°C para los sistemas de manzana (a), melón (b) y pera (c) en función de a_w .

Para determinar la contribución al desarrollo de oscurecimiento generada durante el almacenamiento a 45°C en las distintas muestras, se graficó la variable K/S-

K_0/S_0 , donde K_0/S_0 corresponde al color inicial adquirido durante la humidificación de los sistemas (**Figura 4.16**).

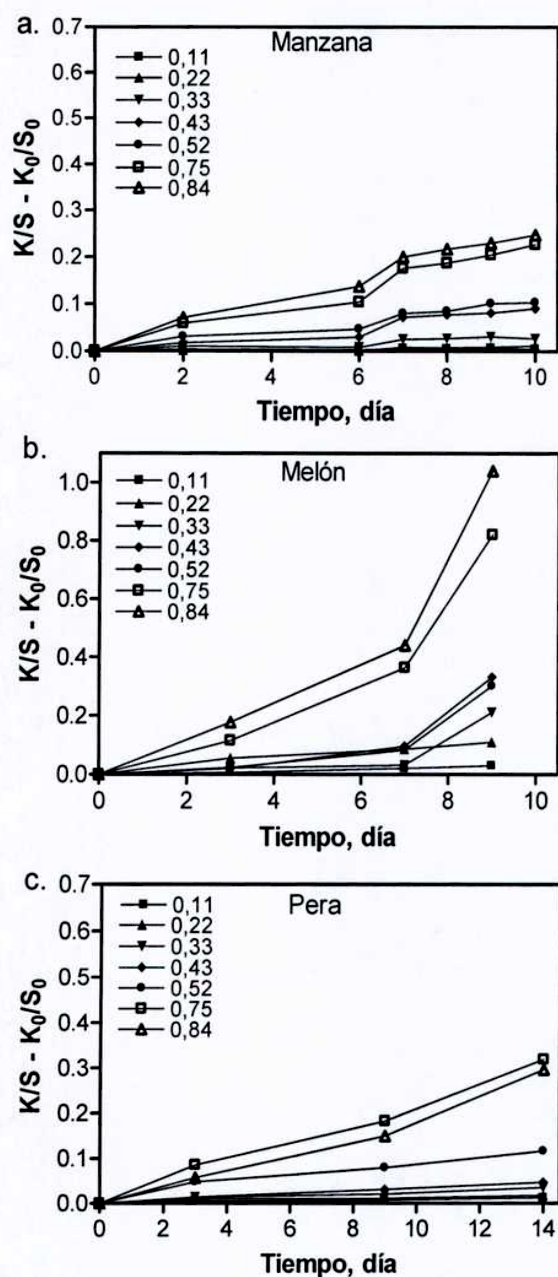


Figura 4.16 Desarrollo de pardeamiento para los sistemas de manzana (a), melón (b) y pera (c) en polvo equilibrados a diferentes actividades de agua en función del tiempo de almacenamiento a 45°C.

En los tiempos analizados, se observó un crecimiento del pardeamiento con el aumento de la actividad de agua. El grado de pardeamiento alcanzado fue mayor para los sistemas de mayor actividad de agua (0,75 y 0,84) siendo el sistema de melón el que más se pardeó (**Figura 4.16**).

4.2.2.2 Constantes cinéticas de pardeamiento

En esta sección se analizaron las constantes cinéticas de pardeamiento de los sistemas de manzana, melón y pera en polvo equilibrados a diferentes actividades de agua y almacenados a 45°C. La obtención de los datos cinéticos se realizó de la misma manera que para los sistemas en discos (**sección 4.2.1.2**).

En la **Figura 4.17** se muestra la velocidad de pardeamiento (calculada a través de la variable K/S) a 45°C en función de la actividad de agua de las muestras de manzana, melón y pera en polvo.

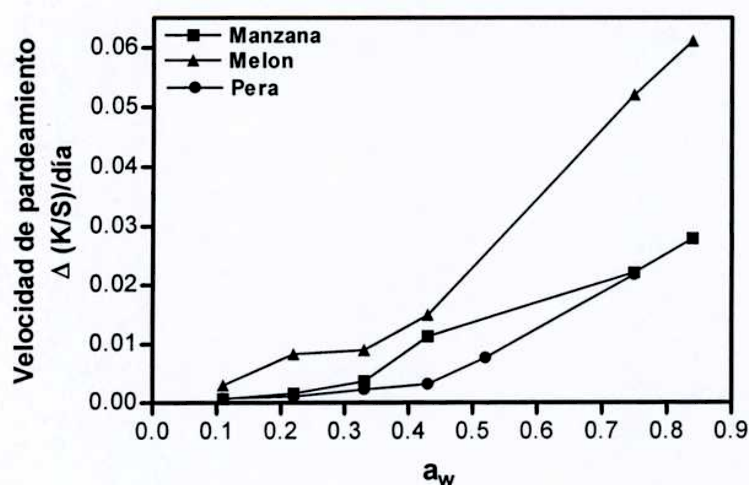


Figura 4.17 Velocidad de pardeamiento de manzana (■) melón (▲) y pera (●) en función de la actividad de agua.

Se observó que en todos los sistemas estudiados la velocidad de pardeamiento presentó un incremento al aumentar la actividad de agua. En el rango de a_w en que se realizó el estudio no se presentaron máximos de velocidad de pardeamiento. Los sistemas de melón en polvo tuvieron constantes de velocidad mayores en todo el rango de actividades de agua analizado. Acevedo y col., (2006) analizaron la cinética de pardeamiento a 70°C en manzana en polvo y observaron máximos de velocidad a una actividad de agua de 0,75. Las diferencias encontradas en este trabajo pueden deberse a las condiciones del experimento, ya que el grado de pardeamiento puede ser afectado por factores como la temperatura del tratamiento térmico y el tiempo de calentamiento. Para la pera en polvo se obtuvieron velocidades de pardeamiento menores con respecto a los demás sistemas.

La dependencia del grado de oscurecimiento con la actividad de agua está regida por las interacciones sólido-agua y por las características estructurales de los sistemas (Acevedo y col., 2006).

5. INTEGRACIÓN DE RESULTADOS

5.1 EFECTOS DEL AGUA SOBRE EL PARDEAMIENTO

Muchas de las reacciones químicas relacionadas con el deterioro de los alimentos están vinculadas con el contenido y actividad de agua de los mismos, y con la capacidad que tienen los constituyentes para interactuar con el agua. Estas diferencias son fundamentales para predecir la estabilidad del sistema frente a reacciones de deterioro importantes como es el pardeamiento.

Las isothermas de sorción de agua (**sección 4.1.1**) se ajustaron con la ecuación GAB (Tolaba, y col. 2004) obteniéndose curvas sigmoideas que presentan 2 puntos de inflexión. El primer punto de inflexión representa el valor de humedad de monocapa (m_0) y el segundo punto de inflexión (I) se relacionó con el valor de a_w a partir del cual el agua se comporta como solvente. El valor de I se calculó como la intersección de las rectas tangentes a la isoterma de sorción de agua a contenidos de agua mayores de m_0 (**Figura 5.1**).

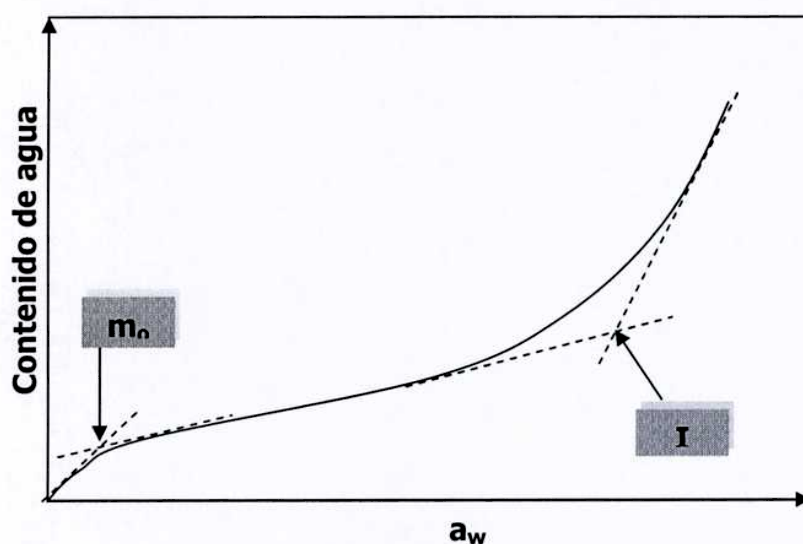


Figura 5.1: Esquema de la estimación de m_0 e I a partir del gráfico de contenido de agua versus a_w .

5. Integración de resultados

El efecto de la dilución de los reactivos, puede influir en la cinética de pardeamiento (cuando los reactivos son limitantes) sólo a a_w mayores de las correspondientes al punto I, que son valores de a_w a partir de los cuales el agua se comporta como solvente. De acuerdo con Duckworth, (1981) en sistemas de biopolímeros o azúcares el agua produce efectos de dilución a H.R. >75%.

En la **Tabla 5.1** se muestran los valores de m_o e I obtenidos para las tres frutas estudiadas.

Tabla 5.1: Sorción y características plastificantes del agua en los sistemas en discos. m_o es el contenido de agua correspondiente al valor de monocapa de la isoterma de sorción de agua. I es la a_w a la cual se localiza el segundo punto de inflexión de la isoterma de sorción de agua.

Sistema	m_o (%)	I (a_w)
melón	7.8	0.71
pera	7.9	0.69
manzana	8.3	0.65

Los valores de humedad de monocapa (m_o) en los alimentos estudiados son cercanos entre si.

Tanto en melón como en pera en discos, el descenso de la velocidad de pardeamiento (**Figura 4.9**) se presentó a a_w cercanas a I (**Tabla 5.1**).

Es interesante resaltar que la disminución de la velocidad luego del máximo de pardeamiento se atribuyó tradicionalmente a la dilución de los reactivos en el

medio de la reacción. Sin embargo, estudios previos demostraron que en este tipo sistemas, si bien el agua tiene propiedades de solvente, las cantidades de agua presentes en ese rango de a_w no son suficientes para diluir los reactivos, principalmente en sistemas con alta concentración de reactivos como las frutas (Acevedo y col., 2006). Por lo tanto, aunque el descenso de velocidad luego del máximo ocurrió a a_w cercanas a 1, no se espera que el efecto de dilución sea la causa de este hecho. El principal efecto del agua es el de inhibir la reacción como producto.

5.2 EFECTO DE $(T-T_g)$ SOBRE LA VELOCIDAD DE PARDEAMIENTO

Un parámetro aceptado por muchos autores para evaluar la magnitud de los cambios en las propiedades físicas y reacciones químicas controladas por la difusión, que ocurren como consecuencia de la transición vítrea, es la diferencia entre la temperatura de almacenamiento (T) y la temperatura de transición vítrea (T_g). La variable $(T-T_g)$ daría cuenta de los efectos de la temperatura y de la humedad (Karel y Saguy, 1991; Slade y Levine, 1991). Para valores de $(T-T_g)$ negativos, el sistema se encuentra en un estado vítreo altamente viscoso (viscosidad aproximada 10^{12} Pa.s) y se espera que sea muy estable, mientras que a valores de $(T-T_g)$ positivos el sistema está en estado de líquido sobre-enfriado, su viscosidad es mucho menor y es un estado mucho más susceptible a los cambios (Roos y Karel, 1991).

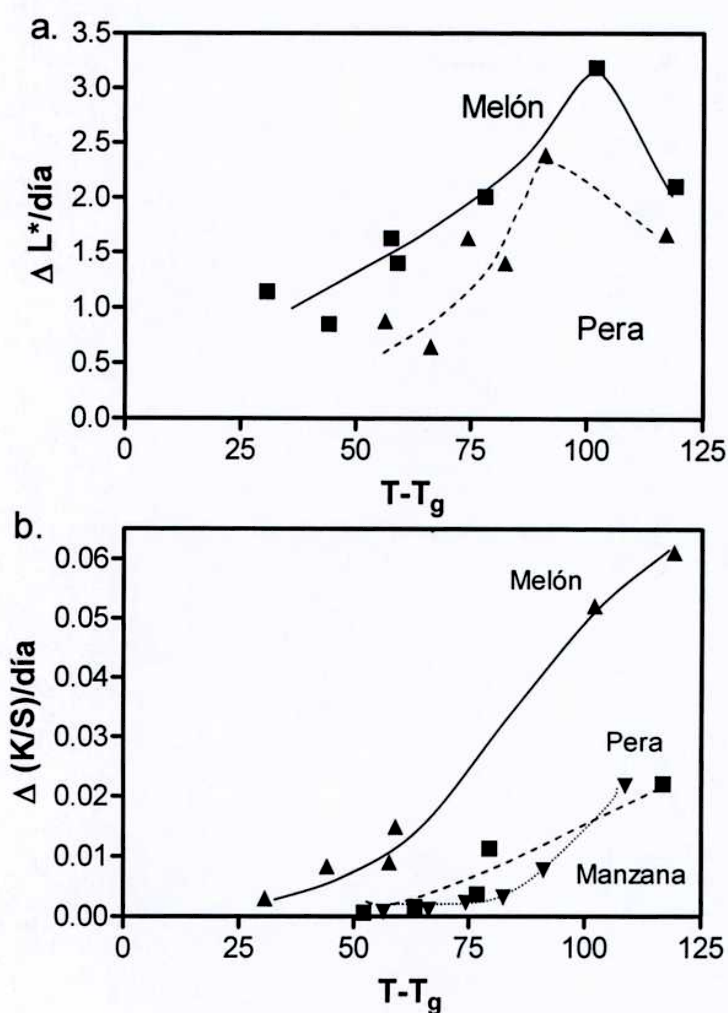


Figura 5.2 Velocidad de pardeamiento en función de $(T-T_g)$ para alimentos en disco **(a)** y en polvo **(b)** a 45° C.

Los alimentos analizados se encontraban en estado sobre-enfriado a 45° C en todo el rango de actividad de agua analizado. La velocidad máxima de pardeamiento alcanzada correspondió a valores elevados de $(T-T_g)$. Para las muestras en discos se presentaron máximos de pardeamiento a valores de $(T-T_g)$ de 91 y 102°C para pera y melón respectivamente. Por otro lado, los sistemas en polvo no presentaron máximos de velocidad en el rango de actividades de agua analizado (**Figura 5.2**).

Las diferencias observadas entre discos y polvo podrían deberse a la interacción del agua con el conjunto de solutos de cada material. En el caso del polvo, la estructura no íntegra y la pérdida de compartimentalización podrían contribuir a que el agua estuviera interactuando con mayor proporción de moléculas de sólidos, dado que habría más sólidos disponibles para adsorber agua. Por lo tanto, el agua estaría menos disponible para inhibir el desarrollo de pardeamiento que en el tejido íntegro de los discos.

5.3 EFECTO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA SOBRE EL PARDEAMIENTO

Los cambios de pardeo producidos durante la humidificación y el almacenamiento de las muestras tanto en discos como en polvo y las diferencias encontradas entre los sistemas pueden deberse a la composición química de las frutas analizadas.

La **Tabla 5.2** muestra la composición química aproximada de los sistemas (Hollard y Buss, 1992), en ella se detalla la proporción de los reactivos de la reacción de Maillard, azúcares reductores y proteínas. Los tres sistemas analizados presentan concentraciones muy altas de azúcares reductores, lo cual contribuye a que ocurra la reacción de pardeamiento. La proporción de proteínas es mayor en el caso de melón que en manzana y pera. El máximo desarrollo de pardeamiento se obtuvo para melón (**Figura 4.8** para discos, y **Figura 4.16** para polvo) y esto podría explicarse, al menos en parte, debido a esta mayor proporción de proteínas. Se debe tener en cuenta que los valores presentados en la tabla son generales y no contemplan el estado de madurez de cada fruta, que puede influir

5. Integración de resultados

principalmente en la composición de azúcares solubles. Además habría que considerar otros aspectos como la compartimentalización en los tejidos y la presencia de otros componentes como polialcoholes que pueden influir en el desarrollo de la reacción.

Tabla 5.2 Composición química de frutas frescas Hollard y Buss (1992).

COMPONENTE (g/100g)	MANZANA Granny Smith	MELÓN Honeydew	PERA Packam 's Triumph
Agua	87,7	92,2	83,8
Proteína	0,3	0,6	0,3
Grasa	0,1	0,1	0,1
Azúcares solubles	8,9	6,6	10
Glucosa	2,0	2,8	2,3
Fructosa	5,9	3,2	7,1
Sacarosa	1,0	0,6	0,7

5.4 CORRELACIÓN DE VARIABLES DE OPACIDAD Y COLOR

La influencia de la actividad de agua sobre los fenómenos de dispersión de la luz en el interior del alimento se analizó a través de dos variables: Coeficiente de dispersión (S) y Opacidad. En la **Figura 5.3** se muestra la relación entre estas variables para las muestras en polvo a actividades de agua mayores que 0.22 (muestras translúcidas). Se presentó una relación lineal para cada una de las tres frutas analizadas al cabo de 14 días de humidificación a 20°C. Las muestras de pera y manzana mostraron curvas de pendiente similar. Sin embargo, el sistema de melón presentó una pendiente menor, probablemente debido a las diferencias de composición y de concentración de sólidos que afectan la dispersión de la luz.

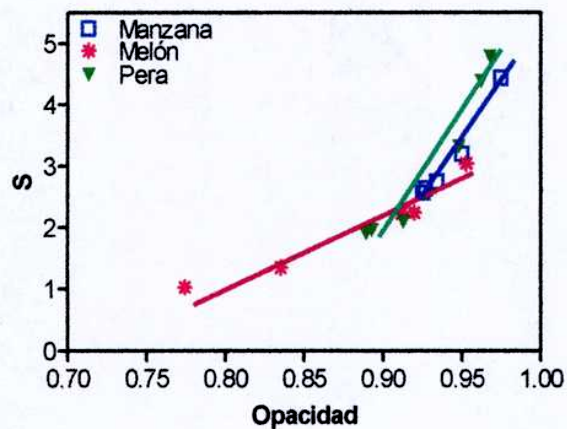


Figura 5.3 Relación entre las variables S y Opacidad para las tres frutas al cabo de la humidificación durante 14 días a 20°C.

En la **Figura 5.4** se relacionan las variables Coeficiente de absorción (K) y Luminosidad (L^*) para los tres sistemas luego de 9 días de almacenamiento a 45°C a todas las actividades de agua estudiadas. En este caso se observó que las 3 frutas presentaron rectas con pendientes similares, indicando un comportamiento menos dependiente del sistema.

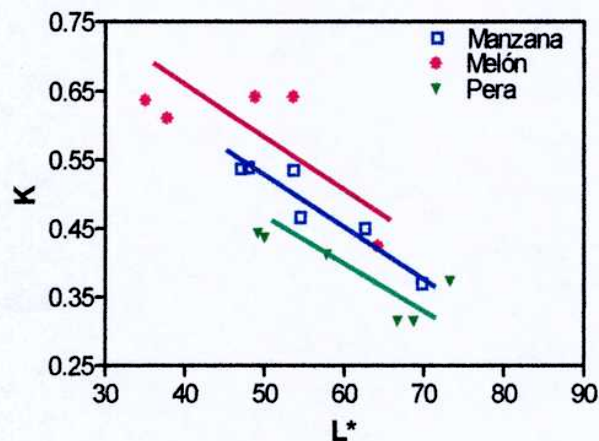


Figura 5.4 Relación entre las variables K y L^* para las tres frutas al cabo de 9 días a 45°C.

5.5 INFLUENCIA DEL ESTADO FÍSICO, SORCIÓN DE AGUA Y MOVILIDAD MOLECULAR SOBRE LA VELOCIDAD DE PARDEAMIENTO

La **Figura 5.5** muestra la velocidad de pardeamiento de discos de melón y pera en función del contenido de agua.

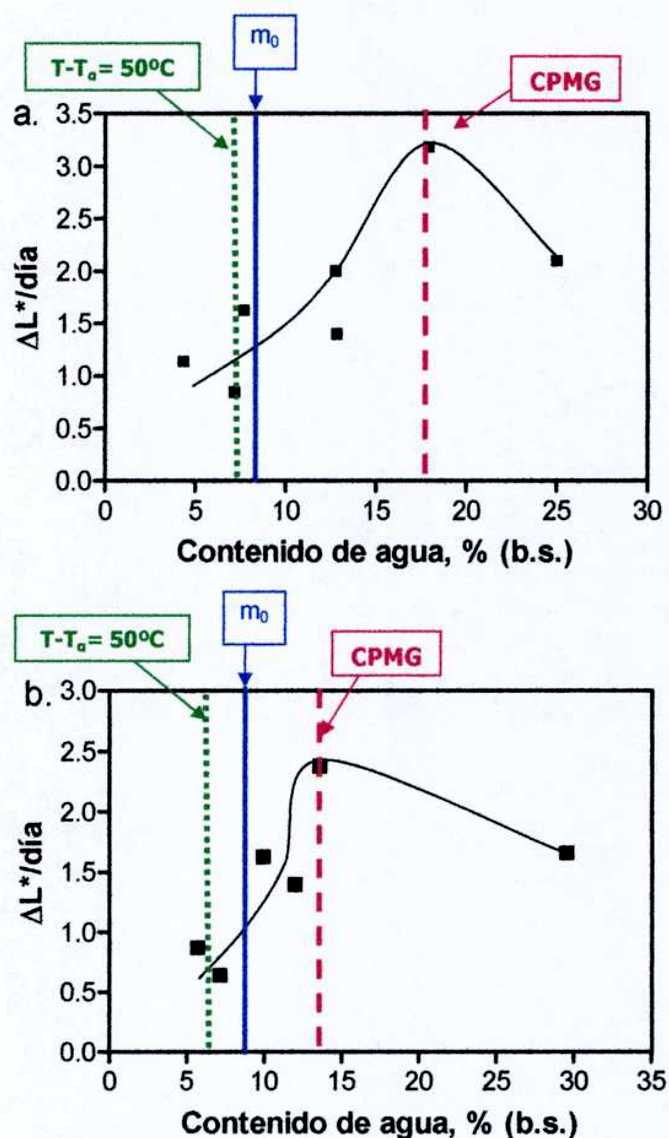


Figura 5.5 Velocidad de pardeamiento en función del contenido de agua para melón (a) y pera (b) en discos. Se indican con líneas el valor de humedad correspondiente a $(T-T_0)= 50^\circ\text{C}$, la humedad de monocapa y el valor de humedad a partir del cual se detectan poblaciones de agua por el método CPMG.

5. Integración de resultados

Se puede observar que la velocidad de pardeamiento es relativamente baja a contenidos de agua cercanos a la monocapa. Además, se observa que a partir de valores de $(T-T_g)$ cercanos a 50 empieza a aumentar la velocidad de pardeamiento. Se sugirió que las reacciones dependientes de la difusión tienen una velocidad relativamente baja a valores bajos de $(T-T_g)$. Por otro lado está indicado el valor de contenido de agua a partir del cual se presentan poblaciones de agua en multicapa que son detectables con el método CPMG para medir tiempos de relajación por ^1H RMN. La presencia de agua más móvil se relaciona con el comienzo de la disminución de la velocidad de pardeamiento.

Estos resultados permiten integrar la información provista por las determinaciones de las propiedades físicas de los materiales con las diferentes velocidades de pardeamiento desarrolladas en función del contenido de agua.

6. CONCLUSIONES

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

En este trabajo se evaluó el desarrollo y la cinética de una de las reacciones químicas más relevantes para la estabilidad en alimentos deshidratados: la reacción de pardeamiento. Algunos de los trabajos previos realizados por el grupo de investigación en que se desarrolló esta tesis demostraron que las transiciones térmicas, cambios de fase y las características estructurales afectan la cinética de esta reacción. Otro aspecto incluido en este trabajo es la influencia de las interacciones agua-soluto sobre la velocidad de pardeamiento.

Algunos de los puntos más relevantes de este trabajo son:

- La importancia de la elección de la variable empleada para determinar el oscurecimiento causado por el desarrollo de pardeamiento en materiales que presentan translucidez.
- La efectividad del empleo del método de análisis de imagen por visión computarizada para evaluar el desarrollo de pardeamiento en sistemas con diferente grado de opacidad.
- El efecto de la estructura y la compartimentalización sobre las propiedades ópticas de los materiales en función de la a_w .

6. Conclusiones

- La información aportada por la isoterma de sorción de agua, la T_g y la movilidad molecular fue importante para explicar el efecto del agua sobre la reacción de pardeamiento en sistemas deshidratados de frutas.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. Referencias bibliográficas

- Acevedo N., Schebor C., Buera M., 2004. Prediction of the relative humidity for the maximum rate of non-enzymatic browning in food systems. *Food Science*, 4:153-160.
- Acevedo, N., Schebor, C., Buera, M., 2006. Water solids interactions, matrix structural properties and the rate of non – enzymatic browning. *Journal of food engineering*, 77: 1108-1115.
- Acevedo, N., Briones, V., Buera, M., Aguilera, J. 2008. Microstructure affects the rates of chemical, physical and color changes during storage of dried apple discs. *Journal of food engineering*, 85(2): 222-231
- Adhikari, H. R. 1973. Fluorescent products in a glucose-glycine browning reaction. *J. Food Sci.*, 38: 486-488.
- Aguilera J., y Briones, V. 2005. Computer vision and food quality. *Food Aust.*, 57 (3): 79-87.
- Aguilera J., Cuadros, T., del Valle, J. 1998. Differential scanning calorimetry of low moisture apple products. *Carbohydrate polymers*, 37: 79-86.
- Aguilera J., y Stanley, D. 1999. Microstructural principles of food processing and engineering. Lancaster: Aspen Publishers, EEUU.
- Aguilera, J.M., Levi, G., Karel, M. 1993. Effect of water content on the glass transition and caking of fish protein hydrolyzates. *Biotechnology Progress*, 9 (6): 651-654.
- Ajandouz, E. H. y Puigserver, A. 1999. Nonenzymatic browning reaction of essential amino acids: effect of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics. *J. Agric. Food Chem.*, 47: 1786-1793.
- Anglea, S.; Karathanos, V. y Karel, M., 1993. Low temperature transitions in fresh and osmotically dehydrated plant materials. *Biotechnol. Prog.*, 9:204-209.
- Ashoor, S., y Zent, J. 1984. Maillard browning of common amino acids and sugars. *J. Food Sci.*, 49: 1206-1207.
- Bai, Y., Shafiur, M., Perera, C., Smith, B., Melton, L. 2001. State diagram of apple slices: glass transition and freezing curves. *Food research International*, 34: 89-95.

7. Referencias bibliográficas

- Bell, L. N. 1997. Maillard reaction as influenced by buffer type and concentration. *Food Chem*, 1: 143-147.
- Bellows, R., y King, C. 1973. Product collapse during freeze drying of liquid foods, *AIChE Symposium Series*, 69: 33-41.
- Blanka, I., Davidekb, T., Devauda, S. y Cletyb, N. 2002. Analysis of Amadori compounds by high performance anion exchange chromatography-pulse amperometric detection. *International Congress Series*, 1245: 263-267.
- Bonelli, P.; Schebor, C.; Cukierman, A.L.; Buera, M.P. y Chirife, J., 1997. Residual moisture content as related to collapse of freeze-dried sugar matrices. *J. Food Sci.*, 62:693-695.
- Braverman, J. 1963. *Introduction to the biochemistry of foods*. Elsevier Publishing Co.
- Brownlee, M., Cerami, A. y Vlassara, H. 1988. Advanced products of nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic vascular disease. *Diabetes Metab. Rev.*, 4: 437-451.
- Brunauer, S., Demming, L., Demming, W., y Teller, E. 1940. On a theory of the Van der Waals adsorption of gases. *J. Am. Chem. Soc.*, 62: 1723-1732.
- Brunauer, S., Emmet, P., y Teller, E. 1938. Adsorption of gases in multimolecular layers. *J. Am. Chem. Soc.*, 60: 309-319.
- Buera, M., Chirife, J., Resnik, S., y Wetzler, G. 1987. Nonenzymatic browning in liquid model systems of high water activity: Kinetics of color changes due to Maillard's reaction between different single sugars and glycine and comparison with caramelization browning. *J. Food Sci.*, 52: 1063-1067.
- Buera, M., y Resnik, S. 1989. Colorimetric measurements in a turbid medium: hydrolyzed concentrated cheese whey. *Die Farbe*, 35/36: 201-214.
- Buera, M.P. y Karel, M., 1995. Effect of physical changes on the rates of non-enzymatic browning and related reactions. *Food Chem.*, 52:167-173.
- Burton, H. S., Mc Weeny, D. J., Pandhi, P. N. y Biltcliffe, D. O. 1962. Fluorescent compounds and non-enzymatic browning. *Nature*, 98: 4858, 948-950.

7. Referencias bibliográficas

- Burin, L., Jouppila, K., Roos, Y., Kansikas, J., & Buera, M. 2000. Color formation in Dehydrated modified whey powder systems as affected by compression and Tg. *J. Agric. Food Chem.*, 48: 5263-5268.
- Carabasa, M. y Ibarz, A. 2000. Kinetics of colour development in aqueous fructose systems at high temperatures. *Journal of the science of food and agriculture*, 80: 2105-2113.
- Carr, H. Y. y Purcell, E. M. 1954. Effects of diffusion on free precession in Nuclear Magnetic Resonance Experiments. *Phys. Rev.*, 94: 630-638.
- Carson, J. 1955. The reaction of fructose with isopropyl-amine and cyclohexylamine. *J. Am. Chem. Soc.*, 77: 1881.
- Cerruti, P., Resnik, S. L., Seldes, A. y Ferro Fontán, C. 1985. Kinetics of deteriorative reactions in food systems of high water activity: glucose loss, 5-HMF accumulation and fluorescence development due to non-enzymatic browning. *J. Food Sci.*, 50: 627-636.
- Chan, R. K., Pathmanathan, K. y Johari, G. P. 1986. Dielectric relaxations in the liquid and glassy states of glucose and its water mixtures. *J. Phys. Chem.*, 90: 6358-6362.
- Colquhoun, I., Goodfellow, B. 1994. Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy. En: Reginald, W. (Ed.). *Spectroscopic techniques for food analysis*, 87-145.
- Danehy, J., y Pigman, W. 1951. Reactions between sugars and nitrogenous compounds and their relationship to certain food problems. *Adv. Food Res.*, 3: 241-290.
- Delgado, A., y Rubiolo, A. 2005. Microstructural changes in strawberry after freezing and thawing processes. *Lebensm. -Wiss. U.- Technol.*, 38: 135-142.
- Delgado, A., y Sun, D. 2002. Desorption isotherms and glass transition temperature for chicken meat. *J. Food Eng.*, 55: 1-8.
- Del Valle, J.M., Cuadros T.R.M. y Aguilera, J.M. 1998. Glass transition and shrinkage during drying and storage of osmosed apple pieces, *Food Research International*, 31 (3) 191-204.

7. Referencias bibliográficas

- Duckworth, R. 1981. Solute mobility in relation to water content and water activity. In R. Rockland & G. Stewart (Eds.), *Water Activity: Influences on Food Quality*, 295-318. New York: Academic Press.
- Dworschak, E. y Osri, F. 1977. Study into the Maillard reaction occurring between methionine and tryptophan on the one hand and glucose on the other. I. Studies in aqueous solutions. *Acta Aliment.*, 6: 59.
- Eichner, K., y Karel, M. 1972. The influence of water content and water activity on the sugar-amino browning reaction in model systems under various conditions. *J. Agric. Food Chem.*, 20: 218-223.
- Ellis, G. 1959. The Maillard Reaction. En: M.L. Wolfrom (Ed.), *Advances in Carbohydrate Chemistry*, 63-134. New York: Academic Press.
- Fennema, O. 1996. *Water and Ice*. Fennema (Ed.). New York: Marcel Dekker.
- Fernández, L., Castellero, C., y Aguilera, J. 2005. An application of image analysis to dehydration of apple disc. *J. Food Eng.*, 67: 185-193.
- Flink, J.M., 1983. Nonenzymatic browning of freeze-dried sucrose. *J. Food Sci.*, 48: 539-542.
- Flink J.M., y Karel, M., 1972. Mechanisms of retention of organic volatiles in freeze-dried systems, *Journal of Food Technology*, 7: 199-211.
- Fox, T., y Flory, P. 1950. Second-order transition temperatures and related properties of polystyrene. I. Influence of molecular weight. *J. Appl. Phys.*, 21: 581-591.
- Franks, F. 1994. Long term stabilization of biologicals. *Biotech*, 12: 253-256.
- Ge, S-J. y Lee, T-C. 1996. Effective HPLC method for the determination of aromatic Amadori compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 44: 1053 -1057.
- Gejl-Hansen, F., & Flink, J. 1977. Freeze-dried carbohydrate containing oil-in-water emulsions: Microstructure and fat distribution. *J. Food Sci.*, 42: 1049-1055.
- Gerschenson, L.; Bartholomai, G. y Chirife, J., 1981. Structural collapse and volatile retention during heating and rehumidification of freeze-dried tomato juice. *J. Food Sci.*, 46:152-1556.

7. Referencias bibliográficas

- Goff, H. D. 1995. The use of thermal analysis in the development of a better understanding of frozen food stability. *Pure Appl. Chem.* 67: 1801-1808.
- Gonzalez, R., y Woods, R. 1992. *Digital imaging processing*. Boston, USA: Addison-Wesley Longman Publishing Co. Inc.
- Gordon, M., y Taylor, J. 1952. Ideal polymers and the second order transitions of synthetic rubbers. I. Non-crystalline copolymers. *J. Appl. Chem.*, 2: 493-500.
- Greenspan, L., 1977. Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. *Journal of research*, 8: 89-96.
- Guiné, R. y Castro, J. 2002. Experimental determination and computer fitting of desorption isotherms of D. joaquina pears. *Institutions of chemical engineers*, 80: 149-154.
- Hodge J. 1953. Chemistry of Browning Reactions in Model Systems. *J. Agric. Food Chem.*, 1 (15): 928-943.
- Hodge, J., y Osman, E. 1976. Carbohydrates. In: "Principles of Food Science. Part I. In O. Fennema (Ed.), *Food Chemistry*, 41-138. New York: Marcel Dekker.
- Hough, G., Buera, M., Martínez, E., & Resnik, S. 1991. Effect of composition on non enzymatic browning rate in dulce de leche. *An. Asoc. Quím. Argent.*, 79: 31-40.
- Isbell, H. y Frush, H. 1958. Mutarotation, hydrolysis and rearrangement reactions of glycosylamines. *J. Org. Chem.*, 23: 1309.
- Jayas, D., Paliwal, J., y Visen, N. 2000. Multi-layer neural network for image analysis of agricultural products. *J. Agric. Eng. Res.*, 77: 119-128.
- Kalichevsky, M. T., Jaroskiewicz, E. M., Ablett, S., Blanshard, J. M. y Lillford, P. J. 1992. The glass transition of amylopectin measured by DSC and NMR. *Carbohydr. Polymers*, 18: 77-88.
- Karmas, R., Buera, M., y Karel, M. 1992. Effect of glass transition on rates of non-enzymatic browning in food systems. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 4: 873-879.

7. Referencias bibliográficas

- Kawai, K., Hagiwara, T., Takai, R. y Suzuki, T. 2004. Maillard reaction rate in various glassy matrices. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 68: 2285-2288.
- Kaya, A., Aydin, O., Demirtas, D. 2007. Drying kinetics of red delicious apple. *Biosystems engineering*, 96: 517-524.
- Kaymak Ertekin F. y Sultanoglu, M. 2001. Moisture sorption isotherm characteristic of peppers. *Journal of food engineering*, 47: 225 – 231.
- Karel, M., y Saguy, I. 1991. Effects of water in food systems. In H. Levine & L. Slade (Eds.), *Water Relationships in Foods*, 157-174. New York: Plenum Press.
- Kubelka, P. y Munk, F. 1931. Ein Beitrag zur Optik der Farbanstriche. *Z. Techn. Physik*, 12: 591-601.
- Labuza, T. 1968. Sorption phenomena in foods. *Food Technol.*, 24: 543-550.
- Labuza, T. 1980. The effect of water activity on reaction kinetics of food deterioration. *Food Technol.*, 34 (59), 18: 36-41.
- Labuza, T. P. 1994. Interpreting the complexity of the kinetics of the Maillard reaction. En: "Maillard reactions in chemistry, food and health". The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 176-181.
- Labuza, T. y Baiser W. 1993. The kinetics of nonenzymatic browning. En: "Physical chemistry of foods". Academic Press. USA. Cap. 14.
- Labuza, T., y Saltmarch, M. 1981. Kinetics of browning and protein quality loss in whey powders during steady state and nonsteady state storage conditions. *J. Food Sci.*, 41 (1), 2: 92-96.
- Labuza, T., Tannenbaum, S., y Karel, M. 1970. Water content and stability of low-moisture and intermediate moisture foods. *Food Technol.*, 24, 12: 543-550.
- Labuza, T., Warren, R., y Warmbier, J. 1977. The physical aspects with respect to water and non-enzymatic browning. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 86B: 379.
- Lana, M.M., Tijsskens, L.M.M. y Kooten, O. 2006. Modelling RGB colour aspects and translucency of fresh-cut tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*, (40): 15-25.

7. Referencias bibliográficas

- Leclère, J. y Birlouez-Aragon, I. 2001. The fluorescence of advanced Maillard products is a good indicator of lysine damage during the Maillard reaction. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 4682-4687.
- Lee, C. M., Sherr, B. y Koh, Y. 1984. Evaluation of kinetic parameters for a glucose-lysine Maillard reaction. *J. Agric. Food Chem.*, 32: 379-382.
- León, K., Mery, D., Pedeschi, F., León, J., 2006. Color measurement in L* a* b* units from RGB digital images. *Food research international*. 39: 1084-1091.
- Levi, G. y Karel, M., 1995. Volumetric shrinkage (collapse) in freeze-dried carbohydrates above their glass transition temperature. *Food Res. Intl.*, 28:145-151.
- Levine, H., y Slade, L. 1986. Polymer physico-chemical approach to the study of commercial starch hydrolysis products. *Carbohydr. Polym.*, 6: 213-244.
- Levine, H., y Slade, L. 1988. "Collapse" phenomena - a unifying concept for interpreting the behaviour of low moisture foods. In J. Blanshard y R. Nitchell (Eds.), "Food Structure - Its Creation and Evaluation", 149-180. Butterworths, London.
- Levine, H. y Slade, L., 1989. Response to the letter by Simatos, Blond and Le Meste on the relation between glass transition and stability of a frozen product. *Cryo-Letters*, 10:347-370.
- Levine, H. y Slade, L. 1990. Influences of the glassy and rubbery states on the thermal, mechanical, and structural properties of dough and baked products. En: "Dough rheology and baked products texture". H. Faridi y J. M. Faubion, (Eds.). AVI. New York. Cap. 5. 157-330.
- Little, A. 1964. Color measurements of translucent food samples. *J. Food Sci.*, 29: 782-789.
- Little, A., y Brinner, L. 1981. Optical properties of instant tea and coffee solutions. *J. Food Sci.*, 46: 519-525.
- Ling Hang-Ing, H., Birch, J. y Lim, M. 2004. The glass transition approach to determination of drying protocols for colour stability in dehydrated pear slices. *International Journal of Food Science and Technology*, (40): 921-927.

7. Referencias bibliográficas

- Loncin, M., Jackmain, D., Tutundjian Provost, A., Lenges, J., y Bimbenet, J. 1965. Influence de l'eau sur les réactions de Maillard. *Crit. Rev. Acad. Sci.*, 3: 260-3208.
- Lozano, R. 1978. El color y su medición. Buenos Aires: Editorial América Lee.
- Mackinney, G., Little, A., y Brinner, L. 1966. Visual appearance of foods. *Food Technol.*, 20: 60-68.
- Maillard, L., y Gautier, M. 1912. Actino des acides amines sur les sucres: Formation des melanoidines par voie methodique. *Comp. Rend. Acad. Sci.*, 154: 66-68.
- Martínez-Monzó, J, Martínez-Navarrete, N., Chiralt, A. y Fito, P. 1998. Mechanical and Structural Changes in Apple (Var. Granny Smith) Due to Vacuum Impregnation with Cryoprotectants. *Journal of Food Science* vol 63 (3): 499-503.
- Matiacevich, S. B. y Buera, M. P. 2006. A critical evaluation of fluorescence as a potential marker for the Maillard reaction. *Food Chem.*, 95: 423-430.
- Matiacevich, S. B., Santagapita, P. R. y Buera, M. P. 2005. Fluorescence from the Maillard reaction and its potential application in food science. *Crit. Rev. Food Sci. Nut.*, 45: 483-495.
- Mauron, J. 1981. The Maillard reaction in food: A critical review from the nutritional stand point. *Prog. Food Nutr. Sci.*, 5: 5.
- Meiboom S. y Gill, D. 1958. Modified spin-echo method for measuring nuclear magnetic relaxation times. *Rev. Scient. Instr.*, 29: 688-691.
- Morales, F., Jiménez, S., 2001. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. *Food chemistry*, 72: 119-125.
- Namiki, M. 1988. Chemistry of Maillard reactions: Recent studies on the browning reaction mechanism and the development of antioxidants and mutagens. *Adv. Food. Res.*, 32: 116-184.
- Nelson, K. 1993. Reaction kinetics of food stability: Comparison of glass transition and classical models for temperature and moisture dependence. Tesis doctoral. Minnesota.

7. Referencias bibliográficas

- Nelson, K., y Labuza, T. 1994. Water activity and food polymer science: implications of state on Arrhenius and WLF models in predicting shelf life. *J. Food Eng.*, 22: 271-287.
- Nguyen, T.A., Verboven, P., Jean D. Daudin, J.D. y Nicola, B.M. 2004. Measurement and modelling of water sorption isotherms of 'Conference' pear flesh tissue in the high humidity range. *Postharvest Biology and Technology*, (33): 229-241.
- Noel, T. R., Ring, S. G. y Whittam, M. A. 1992. Dielectric relaxations of small carbohydrate molecules in the liquid and glassy states. *J. Phys. Chem.*, 96: 5662-5667.
- Nursten, H. 1980. Recent developments in studies of the Maillard reaction. *Food Chem.*, 6: 263.
- Papadakis, S., Abdul-Malek, S., Kandem, R., y Yam, K. 2000. A versatile and inexpensive technique for measuring colour of foods. *Food technol.*, 54 (12): 48-51.
- Pikal, M.J., Shah, S. 1990. The collapse temperature in freeze drying: Dependence on measurement methodology and rate of water removal from the glassy phase. *International Journal of Pharmaceutics*, 62 (2-3), 165-186
- Pordal y Poulsen, K. 1981. Acceleration of chemical reactions due to freezing. En: "Water activity: Influences on food quality". Academic Press Inc., 651-677.
- Pourcel, L., Routaboul, J-M., Cheynier, V., Lepiniec, L. y Debeaujon, I. 2007. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends Plant Sci.*, 12 (1): 29-36.
- Reyes, F., Poocharoln, B., y Wrolstad, R. 1982. Maillard browning reaction of sugar-glycine model systems: Changes in sugar concentration, color and appearance. *J. Food Sci.*, 47: 1376-1377.
- Reynolds, T. 1963. Chemistry of nonenzymic browning. I. The reaction between aldoses and amines. *Adv. in Food Research*, 12: 1.
- Reynolds, T. 1970. Flavors from nonenzymic browning reactions. *Food Technol. Australia*: 610.

7. Referencias bibliográficas

- Roos, Y. 1992. Reaction kinetics and thermodynamics in food systems; Part II, Phase transitions and transformations. In D. Lund y D. Heldman (Ed.), Handbook of Food Engineering. New York: Marcel Dekker.
- Roos, Y. 1993. Melting and glass transitions of low-molecular weight carbohydrates. Carbohydr. Res., 238: 39-48.
- Roos, Y. 1995. Kinetics in amorphous foods. In S. Taylor (Ed.), Phase Transitions in Foods, 283-302. New York: Academic Press.
- Roos, Y. 1995. The physical state of amorphous materials. In S. Taylor (Ed.), Phase Transitions in Foods, 26-34. New York: Academic Press.
- Roos, Y. 1995. Time-dependent phenomena. In S. Taylor (Ed.), Phase Transitions in Foods, 193-240. New York: Academic Press.
- Roos, Y., y Karel, M. 1991. Amorphous state and delayed ice formation in sucrose solutions. Int. J. Food Sci. Technol., 26: 553-566.
- Roos, Y. y Himberg, M., 1994. Nonenzymatic browning behavior as related to glass transition of a food model at chilling temperatures. J. Agric. Food Chem., 42:893-898.
- Roos, Y.; Jouppila, K. y Zielasko, B. 1996. Nonenzymatic browning-induced water plasticization: Glass transition temperature depression and reaction kinetics determination using differential scanning calorimetry. J. Thermal Anal., 47:1437-1450.
- Sá, M.M., Figueiredo, A.M. y Sereno, A.M. 1999. Glass transitions and state diagrams for fresh and processed apple. Thermochimica, (329): 31-38.
- Shallenberger, R., y Birch, G. 1975. Non-enzymatic browning reactions. In The AVI Publishing Company Westport (Ed.), Sugar Chemistry: cap. 7. Connecticut.
- Simatos, D., y Karel, M. 1988. Characterization of the condition of water in foods: Physico-chemical aspects. In C. Seow (Ed.), Food Preservation by Moisture Control, 24-30. New York: Elsevier.
- Slade, L., y Levine, H. 1991. Beyond water activity: Recent advances based on an alternative approach to the assessment of food quality and safety. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 30: 115-360.

7. Referencias bibliográficas

- Sperling, L. 1986. Introduction to physical Polymer Science. New York: Jhon Wiley y Sons.
- Sun, D. 1998. Selection of EMC/ERH isotherm equations for drying and storage of grain and oilseed. In Proceedings of CIGR XIIIth International Congress on Agricultural Engineering, (Vol. 6): 331-336. Rabat, Morocco.
- Sun, D. 1999. Comparison and selection of EMC/ERH isotherm equations for rice. *J. Sto. Prod. Res.*, 35 (3): 249-264.
- Talens, P., Martínez-Navarrete, P., Fito N. y Chiralt, A. 2002. Changes in optical and mechanical properties during osmodehydrofreezing of kiwi fruit. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* (3): 191-199.
- Telis, V., y Sobral, P. 2001. Glass transitions and state diagram for freeze dried pineapple. *Lebensm. Wiss. U. technol.*, 34: 199-205.
- Timmermann, O., 2003. Multilayer sorption parameters: BET or GAB values? *Colloids and surfaces*, 220: 235-260.
- To, E. y Flink, J., 1978 a. Collapse, a structural transition in freeze dried carbohydrates I. Evaluation of analytical methods. *J. Food Technol.*, 13:551-565.
- To, E.C. y Flink, J.M. 1978 b. "Collapse", a structural transition in freeze-dried carbohydrates. III Prerequisite of recrystallization, *J. Food Technol.*, 13:586-594.
- Tolaba, M., Peltzer, M., Enriquez, N., y Pollio, M. 2004. Grain sorption equilibria of quinoa grains. *J. Food Eng.*, 61, 365-371.
- Tsourouflis, S.; Flink, J. y Karel, M. 1976. Loss of structure in freeze-dried carbohydrates solutions: Effect of temperature, moisture content and composition. *J. Sci. Food Agric.*, 27:509-519.
- Van Boekel, M. A. J. S. 1998. Effect of heating on Maillard reactions in milk. *Food chemistry*. 62: 403-414.
- Van Boekel, M. A. J. S. 2001. Kinetic aspects of the Maillard reaction: a critical review. *Nahrung/Food*. 45: 150-159.
- Van den Berg, C. y Bruin, 1981. Water activity and its estimation in foods systems: Theoretical aspects. In L. y S. Rockland, G. (Ed.), *Water Activity: Influences on Food Quality*, 1-61. New York. Academic Press.

7. Referencias bibliográficas

- Venir, E. Munari, M., Tonizzo, A., Maltini, E. 2007. Structure related changes during moistening of freeze dried apple tissue. *Journal of engineering*, 81: 27-32.
- Warmbier, H., Schnickels, R., y Labuza, T. 1976. Effect of glycerol on nonenzymatic browning in a solid intermediate moisture model food system. *J. Food Sci.*, 41: 528-531.
- White, G., y Cakebread, S. 1966. The glassy state in certain sugar- containing food products. *J. Food Technol.*, 1:73.
- Wolfrom, M., Kolb, D., y Langer, A. 1953. Chemical interactions of amino compounds and sugars. VII. PH dependency. *J. Am. Chem. Soc.*, 75: 3471.
- Wunderlich, B. 1981. The basis of thermal analysis. En: "Thermal characterization of polymeric materials". E. A. Turi (Ed.). Academic Press Inc., NY. Cap. 2. 91-234.
- Yaylayan, V. A. 1997. Classification of the Maillard reaction: A conceptual approach. *Trends Food Sci., Tech.* 8: 13-18.
- Yaylayan, V. A. y Huyghues-Despointes, A. 1994. Chemistry of Amadori rearrangement products: analysis, synthesis, kinetics, reactions, and spectroscopic properties. *CRC Rev. Food Sci. Nutr.*, 34: 321-369.
- Zelevnak, K. J. y Hosney, R. C. 1987. The glass transition in starch. *Cereal Chem*, 64:121-124.

8. ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 PROPIEDADES FÍSICAS	1
1.1.1 ISOTERMAS DE SORCIÓN DE AGUA	1
1.1.2 ESTADO VÍTREO Y TRANSICIÓN VÍTREA	4
1.1.2.1 Factores que afectan a la temperatura de transición vítrea.....	6
1.1.3 COLAPSO	9
1.1.4 MOVILIDAD MOLECULAR	11
1.1.4.1 Procesos de relajación	12
1.2. REACCIONES DE PARDEAMIENTO	14
1.2.1 PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO	15
1.2.2 PARDEAMIENTO NO ENZIMÁTICO.....	16
1.2.2.1 Caramelización.....	17
1.2.2.2 Oxidación del ácido ascórbico	18
1.2.2.3 Reacción de Maillard	18
1.2.2.3.a Factores que afectan a la reacción de Maillard	21
1.2.2.3.b Evaluación del grado de pardeamiento.....	27
1.3 MEDICIÓN DE COLOR	29
2. OBJETIVOS.....	35
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
3.1 MATERIALES	36
3.2 PREPARACIÓN DE LOS SISTEMAS	36
3.3 METODOLOGIA.....	39
3.3.1 MEDICIÓN DEL CONTENIDO DE AGUA	39
3.3.2 TRATAMIENTO TÉRMICO	40
3.3.3 MEDICIÓN DEL GRADO DE COLAPSO	40
3.3.4 MEDICIÓN DEL GRADO DE PARDEAMIENTO.....	40
3.3.5 MEDICIÓN DE LA OPACIDAD	42
3.3.6 EVALUACIÓN DE LAS CONSTANTES CINÉTICAS DE PARDEAMIENTO	42
3.3.7 MEDICIÓN DE TRANSICIONES TÉRMICAS.....	42
3.3.8 MEDICIÓN DE LOS TIEMPOS DE RELAJACIÓN	44
4. RESULTADOS.....	46
4.1 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS.....	46
4.1.1 ISOTERMAS DE SORCIÓN DE AGUA	46
4.1.2 TRANSICIONES TÉRMICAS.....	48
4.1.3 COLAPSO	51
4.1.4 MOVILIDAD MOLECULAR	52
4.2 PROPIEDADES ÓPTICAS	55
4.2.1 MUESTRAS EN DISCOS	55
4.2.1.1 Desarrollo de pardeamiento.....	55
4.2.1.2 Constantes cinéticas de pardeamiento.....	59
4.2.2 MUESTRAS EN POLVO	61
4.2.2.1 Desarrollo de pardeamiento.....	66
4.2.2.2 Constantes cinéticas de pardeamiento.....	71
5. INTEGRACIÓN DE RESULTADOS.....	73
5.1 Efectos del agua sobre el pardeamiento.....	73

5.2 EFECTO DE $(T-T_g)$ SOBRE LA VELOCIDAD DE PARDEAMIENTO.....	75
5.3 EFECTO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA SOBRE EL PARDEAMIENTO.....	77
5.4 CORRELACIÓN DE VARIABLES DE OPACIDAD Y COLOR	78
5.5 INFLUENCIA DEL ESTADO FÍSICO, SORCIÓN DE AGUA Y MOVILIDAD MOLECULAR SOBRE LA VELOCIDAD DE PARDEAMIENTO	80
6. CONCLUSIONES.....	82
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84