

**DETERMINACIÓN DE LA CINÉTICA DE LIOFILIZACIÓN EN FLORETES  
DE BRÓCOLI (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) Y EVALUACIÓN DEL  
CONTENIDO DE ÁCIDO L - ASCÓRBICO (L-AA) Y ACTIVIDAD  
PEROXIDASA (POD)**

**JULIE CAROLINA PARRA VERGARA**

**Cod: 46.455.038**

**TRABAJO DE GRADO**

**Presentado como requisito para optar por el título de  
“Ingeniero(a) de Alimentos”**

**MODALIDAD: INVESTIGACION**

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA – UNAD  
ESCUELA DE CIENCIAS BASICAS E INGENIERIA  
PROGRAMA DE INGENIERIA DE ALIMENTOS  
DUITAMA BOYACA**

**2013**

**DETERMINACIÓN DE LA CINÉTICA DE LIOFILIZACIÓN EN FLORETES  
DE BRÓCOLI (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) Y EVALUACIÓN DEL  
CONTENIDO DE ÁCIDO L - ASCÓRBICO (L-AA) Y ACTIVIDAD  
PEROXIDASA (POD)**

**JULIE CAROLINA PARRA VERGARA**

**Cod: 46.455.038**

**TRABAJO DE GRADO**

**Presentado como requisito para optar por el título de  
“Ingeniero(a) de Alimentos”**

**Director**

**GOLDA MEYER TORRES VARGAS**

**Química de Alimentos**

**Esp. Biotecnología Agraria**

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA – UNAD  
ESCUELA DE CIENCIAS BASICAS E INGENIERIA  
PROGRAMA DE INGENIERIA DE ALIMENTOS  
DUITAMA BOYACA**

**2013**

Nota de aceptación:

---

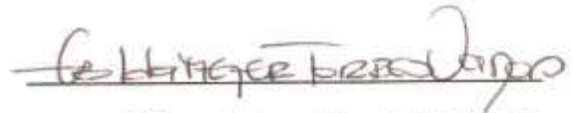
---

---

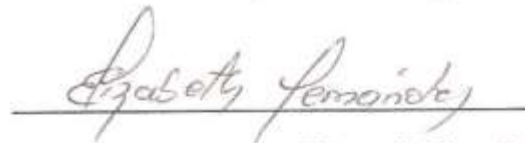
---

---

---



Firma del presidente del jurado



Firma del jurado

Duitama, 29 de Octubre del 2013

## **Dedicatoria**

*Las palabras no pueden expresar  
toda la felicidad que siento.  
Hoy es una fecha muy especial para volver  
a reconocer todos mis esfuerzos y dedicación  
que he tenido en este proyecto,  
porque Dios me ha concedido la paciencia  
y la sabiduría que se requiere en esta carrera.*

*Por eso este trabajo está dedicado a Dios,  
a aquellos que me brindaron su colaboración,  
apoyo y paciencia en este largo camino,  
a mis padres,  
mis hermanas  
y sobrinos.*

## **Agradecimientos**

*Resumir el tiempo de trabajo, aprendizaje, experiencias, amistades, buenos y no tan buenos momentos, es difícil en tan poco espacio.*

*En primer lugar, este trabajo de investigación, agradecer a Dios por haberme brindado fuerza y sabiduría para poder elaborar esta tesis.*

*A la Universidad Nacional Abierta y a Distancia - UNAD. Cead Duitama, Boyacá por aportar recursos que fueron necesarios para el desarrollo de la investigación, igualmente a la Microbióloga Angela Olarte por su colaboración, paciencia, apoyo y comprensión en el laboratorio de Química en el momento que tuve que realizar algunas de las pruebas experimentales.*

*A la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Facultad de Zootecnia. Edificio de Posgrados. Laboratorio de Nutrición de rumiantes, en especial a la Dra. Karol, por la colaboración y apoyo en la realización de algunos de los ensayos experimentales realizados en este laboratorio.*

*A mi directora de Tesis, Q.A. Golda Meyer Torres Vargas, por su apoyo, comprensión, paciencia y ayuda, así como por su seguimiento y dedicación constante, he aprendido mucho a su lado, muchas gracias.*

*Al Ing. Osvaldo Guevara, por su colaboración incondicional en la solución de algunas de las inquietudes que se presentaron en el desarrollo y culminación del proyecto.*

*Al profesor Dairo Gil, por su colaboración en el diseño experimental del proyecto ya que él me concedió las pautas y la solución de algunas inquietudes para los resultados y análisis de este.*

*A mis padres, Martha y Jaime, por su cariño, consejos, apoyo, dedicación, paciencia, por ayudarme en todo lo posible y lo imposible para ellos, por estar en todo momento a mi lado y por creer tanto en mí, muchas gracias.*

*A mis hermanas Lorena y Zulima, por su cariño y paciencia al realizar este trabajo. Por su labor diaria como hermanas-amigas dándome ánimos en todo momento y creyendo tanto en mí.*

*A José Javier Pineda, por hacerme sentir importante, animarme y sacarme una sonrisa en los momentos difíciles, paciencia y comprensión, gracias de verdad.*

*A mi amiga Edith Castro “mechas”, por estar siempre ahí, apoyándome, animándome y ayudándome en todo lo que ha estado en su mano, muchas gracias.*

*Sin duda, lo mejor de este trabajo no son los resultados, ni siquiera la publicación, son las experiencias personales que he tenido y que no cambiaría por nada del mundo.*

## TABLA DE CONTENIDO

<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	3
<b>1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL</b> .....	5
1.1 Generalidades .....	5
1.2 El Brócoli .....	5
1.2.1 Beneficios nutricionales del brócoli.....	6
1.2.2 Postcosecha del brócoli.....	8
1.2.2.1 Factores que afectan las condiciones de frescura.....	8
1.2.2.2 Temperatura y humedad relativa optima de almacenamiento en fresco.....	11
1.3 Deshidratación.....	12
1.4 Secado por liofilización .....	13
1.4.1 Fundamentos de la liofilización.....	14
1.4.2 Etapas de la liofilización.....	15
1.4.2.1 Congelación.....	15
1.4.2.2 Sublimación.....	16
1.4.2.3 Secado.....	17
1.4.3 Diferencias, ventajas y desventajas de la liofilización.....	18
1.4.4 Aplicaciones de los productos liofilizados.....	19
1.5 Tratamiento matemático en el proceso de liofilización .....	20
1.5.1 Modelo Matemático - Modelo URIF.....	20
1.5.2 Modelo en estado estacionario.....	21
1.5.3 Modelamiento para liofilización simétrica y por una sola cara.....	23
1.5.4 Modelos semi-teóricos (difusividad).....	24
1.6 Transferencia de masa y calor durante la liofilización.....	25
1.7 Cinética de liofilización .....	28

1.8	Prevención del pardeamiento enzimático.....	30
1.8.1	Escaldado. ....	30
1.8.2	Efectos del escaldado. ....	32
1.8.3	Tipos de escaldado. ....	32
1.9	Acido L – Ascórbico (L-AA).....	33
1.9.1	Estructura del ácido ascórbico. ....	34
1.9.2	Funciones del ácido ascórbico. ....	35
1.9.3	Estabilidad del ácido ascórbico del brócoli frente al procesado industrial. ....	35
1.9.4	Compuestos de interés del brócoli relacionado con el ácido ascórbico. ....	38
1.9.4.1	Técnica por reducción de iones cúprico para determinar ácido L-ascórbico. ....	40
1.10	Actividad de la Peroxidasa (POD).....	42
1.10.1	Mecanismo de acción.....	42
1.10.2	Factores que afectan la actividad enzimática. ....	44
1.10.3	Cinética de desactivación térmica. ....	44
1.10.3.1	Peroxidasa en otros alimentos.....	45
1.10.4	Relación del escaldado con la actividad peroxidasa y el ácido ascórbico. ....	46
<b>2.</b>	<b>JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>48</b>
<b>3.</b>	<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>49</b>
<b>4.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>50</b>
4.1	Objetivo General .....	50
4.2	Objetivos Específicos.....	50
<b>5.</b>	<b>METODOLOGÍA .....</b>	<b>52</b>
5.1	Lugar de Ejecución .....	52
5.2	Materiales y Métodos.....	52
5.2.1	Obtención de Materia Prima. ....	52



5.2.2	Caracterización fisicoquímica de la Materia Prima. ....	53
5.2.3	Tratamientos.....	53
5.2.3.1	Fase 1: Acondicionamiento de la muestra – Floretes de brócoli fresco.....	54
5.2.3.2	Fase 2: Pretratamiento - Floretes de brócoli escaldado al vapor.....	55
5.2.4	Secado por liofilización. ....	56
5.2.4.1	Etapa 1 - Proceso de congelación de las muestras. ....	56
5.2.4.2	Etapa 2 - Proceso de liofilización de las muestras. ....	56
5.2.4.3	Etapa 3 - Almacenamiento y análisis fisicoquímico de las muestras liofilizadas. .....	58
5.2.4.4	Determinación de los parámetros cinéticos de la liofilización.....	58
5.2.5	Determinación de ácido L- Ascórbico (L-AA). ....	60
5.2.6	Determinación de actividad peroxidasa (POD). ....	61
5.3	Diagrama del diseño de la investigación.....	62
<b>6.</b>	<b>DISEÑO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>63</b>
6.1	Caracterización de la Materia Prima.....	63
6.2	Cinética de Liofilización.....	63
6.2.1	Análisis estadístico de la Cinética de Liofilización. ....	63
6.2.2	Hipótesis.....	64
6.2.2.1	Hipótesis de trabajo.....	64
6.2.2.2	Hipótesis estadística.....	65
6.2.2.3	Variables operacionales ....	66
6.3	Análisis del Ácido L - Ascórbico.....	66
6.3.1	Análisis estadístico del Ácido L – Ascórbico. ....	66
6.3.2	Hipótesis.....	67
6.3.2.1	Hipótesis de trabajo.....	67
6.3.2.2	Hipótesis estadística. ....	68
6.3.2.3	Variables operacionales. ....	68
6.4	Análisis de la Actividad Peroxidasa.....	69
6.4.1	Análisis Estadístico de Actividad Peroxidasa. ....	69

6.4.2 Hipótesis.....	70
6.4.2.1 Hipótesis de trabajo.....	70
6.4.2.2 Hipótesis estadística.....	70
6.4.2.3 Variables operacionales .....	70
<b>7. RESULTADOS Y ANÁLISIS.....</b>	<b>72</b>
7.1 Caracterización de la materia prima.....	72
7.2 Determinación de la cinética de liofilización.....	74
7.3 Modelo matemático propuesto – URIF (Uniformly Retreating Ice Front).....	79
7.3.1 Determinación del espesor de la capa seca. ....	84
7.3.1.1 Calculo del volumen de la muestra a liofilizar.....	84
7.3.1.2 Calculo del Volumen Equivalente. ....	84
7.3.1.3 Calculo del espesor equivalente.....	85
7.3.1.4 Calculo de la difusividad.....	89
7.3.2 Solución del modelo matemático para $C_{As}$ . ....	90
7.4 Determinación de ácido L - Ascórbico (L – AA) .....	98
7.5 Determinación de actividad peroxidasa (POD).....	102
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>107</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>111</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>113</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>129</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Brócoli ( <i>Brassica oleracea L, var. Legacy</i> ).....	6
Figura 2. Brócoli ( <i>Brassica oleracea L, var. Legacy</i> ).....	8
Figura 3. Esquema de secado por sublimación en el que se muestran las resistencias a los distintos mecanismos de transferencia de calor.....	13
Figura 4. Representa la presión de saturación del agua en función de su temperatura...	14
Figura 5. Mecanismos de secado durante la liofilización. ....	17
Figura 6. Esquema del frente de sublimación en retroceso con el tiempo.....	20
Figura 7. Factores influyentes en la velocidad de liofilización.....	21
Figura 8. Diferentes tipos de transferencia de calor.....	22
Figura 9. Flujo de calor y masa durante la liofilización unidimensional.....	23
Figura 10. Estructura de un producto en proceso de liofilización.....	25
Figura 11. Formas biológicamente activas de la vitamina C.....	34
Figura 12. Estructura química de los isómeros ópticos del carbono 4 del ácido ascórbico.....	34
Figura 13. Reacción del ácido ascórbico por reducción de iones cúprico y complejo de ion cuproso producido por 2,2-biquinolina (cuproína). ....	41
Figura 14. Reacción de la Peroxidasa. Oxidación de fenoles (guaiacol) hasta la quinona y reducción del H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> a H <sub>2</sub> O por acción de la POD.....	43
Figura 15. Materia prima Brócoli.....	52
Figura 16. Caracterización Fisicoquímica de la materia prima.....	53
Figura 17. Acondicionamiento de la materia prima.....	54
Figura 18. Procedimiento de escaldado al vapor.....	55
Figura 19. Proceso de liofilización. ....	57
Figura 20. Almacenamiento de las muestras liofilizadas.....	58
Figura 21. Proceso para la determinación de Acido L – Ascórbico.....	60
Figura 22. Cambio de coloración en la actividad Peroxidasa. ....	61
Figura 23. Diagrama del diseño de la Investigación.....	62
Figura 24. Floretes de brócoli liofilizado.....	74

Figura 25. Curva de secado del Brócoli ( <i>Brassica oleracea L, var. Legacy</i> ) en (BL) y (BEL).....	77
Figura 26. Cantidad de Agua Retirada (g H <sub>2</sub> O/100 g s.s) en el brócoli .....	78
Figura 27. Espesor de la capa seca. Brócoli fresco liofilizado (BL).....	87
Figura 28. Espesor de la capa seca. Brócoli escaldado – liofilizado (BEL) .....	87
Figura 29. Comparación de resultados de fracción de agua retirada. Brócoli fresco liofilizado. ....	96
Figura 30. Comparación de fracción de agua retirada. Brócoli escaldado – liofilizado .	96
Figura 31. Contenido de Ácido L – Ascórbico (L-AA) .....	98
Figura 32. Efecto del tratamiento BE y BL sobre el efecto de UPOD .....	105
Figura 33. Comportamiento de los tratamientos BE, BE, BL y BEL sobre el efecto del ácido L-ascórbico (L-AA) y la actividad enzimática de peroxidasa (UPOD) .....	109

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Valor nutricional del brócoli .....	7
Tabla 2. Tasa de respiración.....	9
Tabla 3. Temperatura y humedad relativa de almacenamiento en fresco .....	12
Tabla 4. Diferencias, ventajas y desventajas de la liofilización.....	18
Tabla 5. Aplicaciones de los productos liofilizados.....	19
Tabla 6. Tiempos de escaldado en agua a 95°C .....	31
Tabla 7. Vitamina C (L-AA y DHA) contenida (g /Kg <sup>-1</sup> peso fresco) del brócoli Híbrido Kailan después de diferentes tratamientos de cocción y almacenado por 45 días a 4°C	37
Tabla 8. Resultado de la caracterización del brócoli fresco ( <i>Brassica oleracea L, var. Legacy</i> ).....	72
Tabla 9. Resultados experimentales del brócoli fresco liofilizado (BL) y el brócoli escaldado – liofilizado (BEL) .....	75
Tabla 10. Estadístico (ANOVA). Fracción de agua retirada (g H <sub>2</sub> O/100g s.s) en floretes de brócoli (( <i>Brassica oleracea L, var. Legacy</i> ) fresco y escaldado al vapor.....	78
Tabla 11. Volumen y espesor equivalente de la capa seca del brócoli fresco liofilizado (BL) y brócoli escaldado – liofilizado (BEL). .....	86
Tabla 12. Espesor de la capa seca. Brócoli fresco liofilizado (BL) y brócoli escaldado – liofilizado (BEL).....	88
Tabla 13. Datos de los valores iniciales del Brócoli fresco liofilizado (BL) y brócoli escaldado – liofilizado (BEL) .....	89
Tabla 14. Solución del modelo matemático. Brócoli fresco liofilizado (BL) y brócoli escaldado – liofilizado (BEL) .....	91
Tabla 15. Valores de CA calculados. Brócoli fresco liofilizado (BL) y brócoli escaldado – liofilizado (BEL) .....	92
Tabla 16. Valores de CA calculados y valores de CA experimentales. Brócoli fresco liofilizado (BL) y brócoli escaldado – liofilizado (BEL).....	93
Tabla 17. Estadístico (ANOVA). Fracción de agua retirada en floretes de brócoli ( <i>Brassica oleracea L, var. Legacy</i> ) fresco liofilizado.....	94

Tabla 18. Estadístico (ANOVA). Fracción de agua retirada en floretes de brócoli ( <i>Brassica oleracea L, var. Legacy</i> ) escaldado liofilizado.....	95
Tabla 19. Estadístico (ANOVA). Contenido de L – AA en floretes de brócoli ( <i>Brassica oleracea L, var. Legacy</i> ) escaldado y liofilizado (g /100 gramos de producto).....	99
Tabla 20. Análisis de Varianza (ANOVA) para el efecto de BE sobre el L-AA.....	100
Tabla 21. Análisis de Varianza (ANOVA) para el efecto de BL sobre el (L-AA).....	101
Tabla 22. Porcentaje de retención de (L-AA) para (BE) y (BL).....	101
Tabla 23. Análisis de varianza (ANOVA) para el efecto de los tratamientos sobre UPOD .....	103
Tabla 24. Estadístico (ANOVA). Actividad POD en floretes de brócoli ( <i>Brassica oleracea L, var. Legacy</i> ) escaldado y liofilizado (UPOD/100 gramos de producto)....	104

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Protocolos de Laboratorio para la Caracterización Físicoquímica de la Materia Prima .....	129
Anexo 2. Acondicionamiento de la muestra - Floretes de Brócoli Fresco.....	131
Anexo 3. Pretratamiento - Floretes de Brócoli Escaldado al Vapor .....	132
Anexo 4. Determinación Del Ácido L - Ascórbico (L-AA) .....	133
Anexo 5. Determinación de la Actividad Peroxidasa (POD).....	134
Anexo 6. Curva Patrón del Ácido L - Ascórbico .....	135
Anexo 7. Datos Experimentales del Ácido L – Ascórbico .....	136
Anexo 8. Datos Experimentales de la Actividad Peroxidasa.....	137
Anexo 9. Réplicas de los datos de pérdida de peso (cinética de liofilización). .....	140
Anexo 10. Réplicas de los datos de pérdida de peso (cinética de liofilización). Brócoli Escaldado Liofilizado.....	141
Anexo 11. Análisis exploratorio del Ácido L – Ascórbico.....	142
Anexo 12. Análisis Exploratorio de la POD Contenido en el Brócoli.....	146
Anexo 13. Análisis exploratorio para validar los datos de la cinética de liofilización .	151
Anexo 14. Análisis exploratorio para validar los datos del modelo matemático Vs. Fresco liofilizado.....	154
Anexo 15. Análisis exploratorio para validar los datos del modelo matemático Vs. escaldado liofilizado.....	157

## Resumen

La liofilización es una alternativa de interés como método de conservación de alimentos, la cual permite prolongar la vida útil manteniendo significativamente las propiedades físicas y químicas relacionadas con su calidad. El objetivo de este trabajo fue determinar la cinética de liofilización en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) y evaluar el contenido de ácido L-ascórbico (L-AA) y Actividad Peroxidasa (POD). Las muestras se sometieron a pretratamiento (escaldado a vapor durante  $90\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 2 minutos) y una liofilización con congelación previa (12 horas a  $-26^{\circ}\text{C}$ ); las variables de trabajo del equipo fueron de  $-56^{\circ}\text{C}$  y 0.021mbar.

Los resultados de la cinética de liofilización mostraron al final del proceso, ninguna diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en la fracción de agua retirada con y sin pretratamiento (escaldado al vapor). Igualmente se evaluó la liofilización con el modelo matemático URIF, y presentó ninguna diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) con respecto a la fracción de agua retirada, tanto en los tratamientos (BL) y (BEL).

Se evaluó el contenido del ácido L-ascórbico (L-AA) y actividad peroxidasa (POD) en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. legacy*), en los tratamientos brócoli fresco (BF), brócoli escaldado (BE), brócoli liofilizado (BL) y brócoli escaldado-liofilizado (BEL). La determinación del ácido L-ascórbico (L-AA) se realizó por el método espectrofotométrico con 2,2-biquinolína o cuproína y la actividad peroxidasa (POD) mediante medición de tetraguayacol a 470 nm.

El tratamiento (BL) registró los mayores valores para el contenido de ácido L-ascórbico (L-AA) (122.618 mg/100 gramos de producto) y una actividad enzimática de peroxidasa (UPOD) (34.291/100 gramos de producto) a un nivel de significancia del 95% ( $p \leq 0.05$ ). El escaldado también presentó diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ), sobre el contenido de ácido L-ascórbico (L-AA) (115.310 mg /100 gramos de producto) y la actividad enzimática de peroxidasa (UPOD) (93.054/ 100 gramos de producto). No se encontraron diferencias significativas para determinar el efecto del (BEL) sobre el



contenido de ácido L-ascórbico (L-AA), pero si se pudo determinar que (BEL) causa una disminución del 97,7 % de la actividad enzimática de peroxidasa (UPOD).

De acuerdo al análisis de varianza (ANOVA), se concluye que la liofilización con y son pretratamiento (escaldado a vapor) no registra cambios significativos en la fracción de agua retirada, también que el mejor tratamiento para retener el ácido L-ascórbico (L-AA) e inactivar la peroxidasa (POD) es el liofilizado, pero éste se debe seguir evaluando para verificar que no se registran cambios significativos durante un almacenamiento prolongado que relacionen mayor pérdida de ácido L-ascórbico (L-AA) y reactivación de la peroxidasa (POD), por lo tanto, a las condiciones de esta experimentación el tratamiento (BE) aporta mayor estabilidad sobre el contenido de ácido L-ascórbico (L-AA) y peroxidasa (POD).

**Palabras Claves:** brócoli, modelo URIF, ácido ascórbico, peroxidasa, liofilización, escaldado, actividad enzimática.

## Introducción

El brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) es una planta de la familia de las Brassicaceas, antes llamadas Crucíferas, que se ha extendido por todo el mundo; es uno de los vegetales más consumidos debido a los diferentes beneficios sobre la salud humano y los efectos comprobados en la reducción de la incidencia de cáncer. El brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) es un vegetal que durante el manejo postcosecha puede llegar a perder o reducir notablemente sus propiedades funcionales, por lo tanto, el interés actual es estandarizar protocolos convencionales y/o implementar tecnologías nuevas para asegurar la estabilidad de éste vegetal. La tendencia actual gira en torno a elaborar alimentos mínimamente procesados, el cual garantiza la conservación de nutrientes esenciales y por ende, una vida útil más prolongada del producto.

En la industria de alimentos se cuenta con numerosos procesos y operaciones en los que se modifican y afectan las condiciones iniciales de un alimento. La selección adecuada de un sistema de secado es importante para la productividad de una empresa procesadora de alimentos deshidratados, por lo tanto; en el desarrollo de esta investigación, el modelo de secado para el proceso de liofilización es el modelo URIF (Retiro Uniforme del Frente Congelado) describe el comportamiento en la sublimación, es decir la etapa de secado primario. Lo que interesa del modelo URIF es analizar el comportamiento más que el ajuste con los datos experimentales, además ayuda a establecer el contenido de humedad final del producto y los requisitos mínimos del proceso de liofilizado.

Constantemente se han estudiado métodos de conservación para garantizar la no degradación de las sustancias bioactivas de brócoli, para que se mantengan o se modifiquen mínimamente, conservando así su valor nutricional. Dentro de los métodos de conservación de vegetales está el escaldado al vapor, procedimiento eficiente que inactiva enzimas que causan pardeamiento, pérdida de la textura y decoloración de pigmentos; y la liofilización que consiste en eliminar gran contenido de agua, lo que permite que se reduzca las reacciones químicas e inhiba el crecimiento microbiano. Para

vegetales como el brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*), resulta de gran importancia verificar cuanto modifica el contenido nutricional (Ácido L- Ascórbico) y químico del producto (Actividad Peroxidasa) y así contribuir a estandarizar procesos en vegetales al determinar las variables para conservar las cualidades nutricionales y sensoriales del producto.

Este trabajo de investigación permite obtener las curvas de secado de liofilización del brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*), con y sin pretratamiento (escaldado al vapor), además un modelo matemático (URIF) que predice el comportamiento de secado de liofilización del brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*), basado en la aplicación de la ecuación de Fick y con algunas simplificaciones matemáticas permitidas, que se aplican al modelo sobre el producto final ajustado con los datos experimentales. Las variables para evaluar la calidad del brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*), fueron el componente nutricional (Acido L-Ascórbico) y químico (actividad Peroxidasa).

La propuesta de investigación trae consigo la solución o parte de la solución del manejo postcosecha de la cadena agro-productiva del brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*), al implementar técnicas de conservación en los productos vegetales, igualmente, una forma de comercialización a mercados nacionales e internacionales y esto conlleva al mejoramiento productivo y competitivo del producto.

## 1. Marco Teórico Referencial

### 1.1 Generalidades

Las crucíferas, son un importante grupo de especies hortícolas, tanto por el área sembrada, como por el valor de su producción. Las crucíferas de mayor importancia económica son brócoli, coliflor, repollo, col china, col de bruselas y col. [Jaramillo, Cipriano & Díaz, 2006].

Para el año 2005, se sembraron en el país, aproximadamente 3.472 hectáreas de estas especies, que representan el 3,84% del total nacional del área sembrada en hortalizas. Los departamentos más productores son Cundinamarca, Boyacá, Antioquia, Norte de Santander, Valle del Cauca y Caldas. En Cundinamarca, los municipios con mayor producción son: Bojacá, Cajicá, Cota, Chía, Chocontá, Engativá, Facatativá, La Calera, Madrid, Mosquera, Sesquile, Sibaté, Soacha, Sopó, Subachoque, Tabio, Tenjo y Zipaquirá. En Boyacá se destacan los municipios de Villa de Leyva, Garagoa, Guateque, Somondoco, Sutatenza y Tenza [Jaramillo, *et al.*, 2006].

En Antioquia los municipios de El Santuario, Marinilla y El Carmen de Viboral. En Nariño, los municipios de Pasto, Túquerrez, Ipiales, Gualmatán, Puerres, Contadero. En el departamento de Caldas, la zona de Villa Maria y en el Valle del Cauca, se reportan siembras de repollo en los municipios de La Cumbre, Palmira, Buga y El Dovio [Jaramillo, *et al.*, 2006].

### 1.2 El Brócoli

El brócoli es una planta formada por tallos carnosos y gruesos que emergen de axilas foliares formando inflorescencias, generalmente una central de mayor tamaño y otras laterales, tal como se observa en la Figura 1. La parte comestible, está formada por un conjunto de yemas florales con sus pedúnculos carnosos y a diferencia de la coliflor,

puede producir otras pequeñas laterales que salen de las axilas de las hojas del tallo principal [Jaramillo, *et al.*, 2006].



**Figura 1. Brócoli (*Brassica oleracea L*, var. *Legacy*).**  
Fuente. La Autora, 2013

### **1.2.1 Beneficios nutricionales del brócoli.**

Investigaciones han demostrado que el brócoli contiene una sustancia anticancerígena llamada sulfurofano, compuesto que estimula el organismo a producir enzimas capaces de combatir el cáncer, al contrario del efecto que produce la vitamina E y otros antioxidantes, que inciden directamente sobre las moléculas que desencadenan el cáncer [Jaramillo, *et al.*, 2006].

Esta crucífera es rica en índoles y flavonoides. Los índoles influyen sobre las enzimas por su importante papel en el sistema de desintoxicación, favoreciendo la destrucción de toxinas y carcinógenos; también, tiene un alto contenido de fibra, proteínas y carotenos, especialmente betacarotenos, que le aportan propiedades antioxidantes [Jaramillo, *et al.*, 2006].

El brócoli ha sido calificado como la hortaliza de mayor valor nutritivo por unidad de peso de brócoli comestible, pues brinda un gran aporte de vitaminas, principalmente vitamina C (Ácido Ascórbico), B<sub>2</sub> (Riboflavina) y vitamina A, además suministra cantidades significativas de minerales como calcio (Ca), hierro (Fe), Sodio (Na) y especialmente potasio (K) [Hasperué, 2012].

El brócoli es una fuente rica de vitaminas A y C, que contribuyen al buen funcionamiento del sistema inmunológico del organismo y de vitamina K, esencial en la formación de ciertas proteínas indispensables en la coagulación de la sangre y ayuda a mantener la elasticidad de las arterias. Igualmente contiene ácido fólico, de gran importancia al ser imprescindible en los procesos de división y multiplicación celular. Esta hortaliza se consume en forma natural, cocida y en conserva [Jaramillo, *et al.*, 2006].

En la Tabla 1, se aprecia el valor nutricional del brócoli. Posee un alto contenido de antioxidantes, generado principalmente por la vitamina C y los compuestos fenólicos. Por otra parte, el brócoli es un alimento bajo en calorías y alto en fibras, adecuado para una dieta saludable [Latté, Appel & Lampen, 2011].

Tabla 1. Valor nutricional del brócoli

<b>Agua (g)</b>	91
<b>Proteínas (g)</b>	5.45
<b>Lípidos (g)</b>	0.3
<b>Carbohidratos (g)</b>	4.86
<b>Vitamina A (U.I)</b>	3.50
<b>Vitamina B1 (mg)</b>	100
<b>Vitamina B2 (mg)</b>	210
<b>Vitamina C (mg)</b>	118
<b>Calcio (mg)</b>	130
<b>Fosforo (mg)</b>	76
<b>Hierro (mg)</b>	1.3
<b>Calorías (Cal)</b>	42.32

**Nota.** Valor nutricional del brócoli por 100 g de producto comestible. Fuente: Hasperué, H. J. (2012). *Rol del metabolismo de hidratos de carbono en la senescencia postcosecha de brócoli*. (Trabajo de Tesis Doctoral). Universidad Nacional de La Plata. Argentina. Pp. 22

“Algunas investigaciones indican que 100 gramos de brócoli aportan 75% más de vitamina C (Ácido Ascórbico) que el contenido de 100 gramos de naranjas” [Oleas, 1999].

### 1.2.2 Postcosecha del brócoli.

La pella o cabeza del brócoli en su estado comercial, es una inflorescencia que está en desarrollo y que tiende a florecer en muy poco tiempo, si las condiciones climatológicas le son propicias, modificando sus características, perdiendo color y consistencia;



los granos se hacen más gruesos e inician su apertura o floración, tornándose de color amarillo y las cabezas pierden compacidad, siendo rechazadas en el mercado, [Jaramillo, *et al.*, 2006] se aprecia en la Figura 2.

**Figura 2. Brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*)**

Fuente. La autora, 2013

En el trópico, estos cultivos son de ciclo productivo corto, con el uso de híbridos; además de se puede sembrar todo el año, se obtienen cosechas entre 60 y 85 días, dependiendo de cada cultivar. Un buen índice de cosecha es el peso de la cabeza, el cual debe tener un promedio de 350 gramos, según el tipo de mercado. La cosecha se debe hacer de cabezas que sean firmes y compactas, que no tengan el grano abierto, de color verde oscuro o verde salvia o aún con una tonalidad verde púrpura o azulada [Jaramillo, *et al.*, 2006].

#### 1.2.2.1 Factores que afectan las condiciones de frescura.

“El brócoli sufre un deterioro de la calidad muy rápido durante la postcosecha a causa de la senescencia acelerada, por lo que si se lo almacena a altas temperaturas (20 °C) se torna amarillo luego de 3-4 días” [King & Morris, 1994]. “A esta pérdida de calidad visual se le debe sumar la disminución en el contenido de proteínas, hidratos de carbono y ácido ascórbico” [Nishikawa *et al.*, 2003]; [Costa, Civello, Chaves & Martínez, 2005]. “Los niveles de glucosinolatos también disminuyen durante la postcosecha, reduciendo de esta manera la calidad nutracéutica del producto” [Jones, Faragher & Winkler, 2006].

**Tasa de respiración.** “La tasa de deterioro (perecebilidad) de los productos cosechados es generalmente proporcional a la tasa respiratoria, clasificándose los productos hortofrutícolas de acuerdo a su velocidad de respiración” [Fernández, 2012]. “La tasa de respiración de los floretes de brócoli es ligeramente el doble de la tasa respiratoria de las pellas intactas por unidad de peso” [Cantwell & Suslow, 2012].

Se observa en la Tabla 2, que las pellas de brócoli tienen una tasa de respiración relativamente alta:

Tabla 2. Tasa de respiración.

Temperatura	0°C	5°C	10°C	15°C	20°C
mL CO <sub>2</sub> /Kg.h	10 - 11	16 - 18	38 - 43	80 - 90	140 - 160

**Nota.** Fuente: Cantwell, M. & Suslow, T. (2012). Brócoli: (Brócoli): Recomendaciones para Mantener la Calidad Postcosecha. Department of Vegetable Crops, University of California, Davis. Extraído el día 16 de marzo del 2012, desde <http://postharvest.ucdavis.edu/Hortalizas/Br%C3%B3coliBr%C3%B3culi/>

**Tasa de etileno.** La tasa de producción de etileno es muy baja, <0.1 µL/Kg.h a 20°C, en cuanto a los efectos se puede mencionar que el brócoli es extremadamente sensible al etileno presente en el ambiente de la postcosecha. El amarillento de los floretes es un síntoma más común. El contacto con 2 ppm de etileno a 10°C reduce la vida de latencia del brócoli en un 50% [Cantwell & Suslow, 1999].

“No existe una relación consistente entre la capacidad de producción de etileno de un producto dado y su grado de perecebilidad. Sin embargo, la exposición de la mayoría de los productos al etileno acelera su senescencia” [Kader, 1992].

Generalmente la tasa de producción de etileno aumenta a medida que el producto se acerca a su madurez, por daños físicos, incidencia de enfermedades, aumento en la temperatura hasta los 30 °C y estrés hídrico. Por otro lado, las tasas de producción de etileno, así como la tasa respiratoria, se reducen al almacenar los productos a baja temperatura, al reducir los niveles de oxígeno y al aumentar los niveles de dióxido de carbono [Lipton, 1987].



**Degradación de clorofila.** Varios factores como la variedad, las condiciones de pre-cosecha, manejo poscosecha y procesamiento pueden variar el contenido de clorofila en vegetales como el brócoli. De esta manera, hay un amplio rango del contenido de clorofila en el brócoli desde 260 a 970 mg / kg peso fresco, con niveles de clorofila *a* 3 veces más altos que la clorofila *b*, es decir una relación 3:1 [Funamoto, Yamauchi & Shigyo, 2003]; [Lemoine, Civello, Martínez & Chaves, 2007].

El brócoli es un vegetal altamente perecedero que muestran numerosos cambios en el contenido de los pigmentos durante el desarrollo y la maduración del producto hortofrutícola en la planta. Algunos de éstos continúan después de la cosecha y pueden ser deseables o indeseables. La pérdida de las clorofilas (color verde), es deseable en frutas, pero no en vegetales. La oxidación-degradación de las clorofilas da productos como feofitina, feofórbido y clorofilina que son de colores más pardos. [Fernández, 2012].

El amarillento de los floretes de brócoli es una importante cualidad durante la poscosecha. Una vez que la clorofila es liberada de los complejos tilacoidales debe ser rápidamente degradada para evitar su fotoactividad y consecuente generación de radicales libres y lesión tisular. Se ha postulado que la primera reacción es la eliminación del fitol catalizada por la clorofilasa. [Hasperué, 2012].

Posteriormente, se produce “la remoción del ión central de  $Mg^{2+}$  por la Mg dequelatasa (MDS) para generar feofórbido” [Hörtensteiner, 2006]. Sin embargo, recientemente se ha propuesto que en “una primera etapa podría liberarse el  $Mg^{2+}$  de la clorofila por la acción de una enzima desconocida generando feofitina, y luego hidrolizarse el fitol por acción de una feofitinasas” [Schelbert, *et.al.*, 2009], conduciendo también a feofórbido. “La enzima clave en la ruta de degradación parece ser la feofórbido a oxigenasa (PaO), que cliva el feofórbido para producir RCCs (Red Chlorophyll Catabolites), logrando de esta manera eliminar la fotoactividad de la clorofila pero también deverdizando el tejido” [Matile, Hörtensteiner & Thomas, 1999].

**Cambios en la composición.** El desarrollo y evolución de los compuestos fenólicos en la maduración del brócoli incide sobre la calidad de los productos y está en parte regulado por la actividad de la enzima fenilaminoliasa (PAL), que interviene en la formación de compuestos fenólicos, y por la actividad de la enzima Peroxidasa (POD), que interviene en la degradación de polifenoles a quinonas, las cuales proporcionan una coloración oscura o parduzca en la zona dañada (por oxidación, corte, etc.) del producto hortofrutícola [Dixon, 2001].

“También el proceso de maduración origina cambios en el contenido de carbohidratos, como la desintegración de pectinas y otros polisacáridos, dando como resultado el ablandamiento de los productos y consecuentemente aumentando la susceptibilidad a daños mecánicos”. [Fernández, 2012].

**Transpiración.** La pérdida de agua es una de las causas principales de deterioro, porque esto no produce únicamente pérdidas cuantitativas directas (como es la pérdida de peso vendible), sino que también supone pérdidas en la apariencia (marchitamiento y deshidratación), en la calidad de la textura (ablandamiento, flacidez, pérdida de una textura crujiente y jugosidad), así como en su valor nutricional [Cappellini & Ceponis, 1984].

#### ***1.2.2.2 Temperatura y humedad relativa óptima de almacenamiento en fresco.***

La refrigeración y el control de la temperatura es extremadamente importante para conseguir un almacenamiento adecuado y de esta forma conservar la materia prima. En la Tabla 3, se aprecia la temperatura y humedad relativa del almacenamiento en fresco. Generalmente, el brócoli que llega al campo se lo enfría rápidamente con una mezcla de hielo-agua (liquid-icing) esto es lo más recomendable. El hidrogenfriamiento y el enfriamiento con aire forzado también pueden usarse.

Tabla 3. Temperatura y humedad relativa de almacenamiento en fresco

Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)	Almacenamiento (días)
0	> 95%	21 – 28
5		14
10		5

**Nota.** Fuente: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - CORPOICA (2006). Manual técnico 20. Rionegro, Antioquia.

“El brócoli es altamente perecible, pero el almacenamiento a bajas temperaturas (0-2°C) y el uso de atmósfera controlada (AC), permitirán el acceso al mercado evitando pérdidas postcosecha y manteniendo la calidad sensorial y nutricional del brócoli” [Tan, *et al.*, 1993].

Se han evaluado otras alternativas para retrasar la senescencia con el fin de complementar los beneficios que aporta la refrigeración. “En este sentido, diversos tratamientos de postcosecha como atmósferas modificadas” [Barth *et al.*, 1993], “atmósferas controladas” [Hurs, *et al.*, 1996], “tratamientos térmicos” [Tian, *et al.*, 1997], “radiación UV-C” [Lemoine, *et al.*, 2007], “aplicaciones de 1-metilciclopropeno (1- MCP)” [Ku, *et al.*, 1999], y “luz visible” [Büchert, *et al.*, 2011].

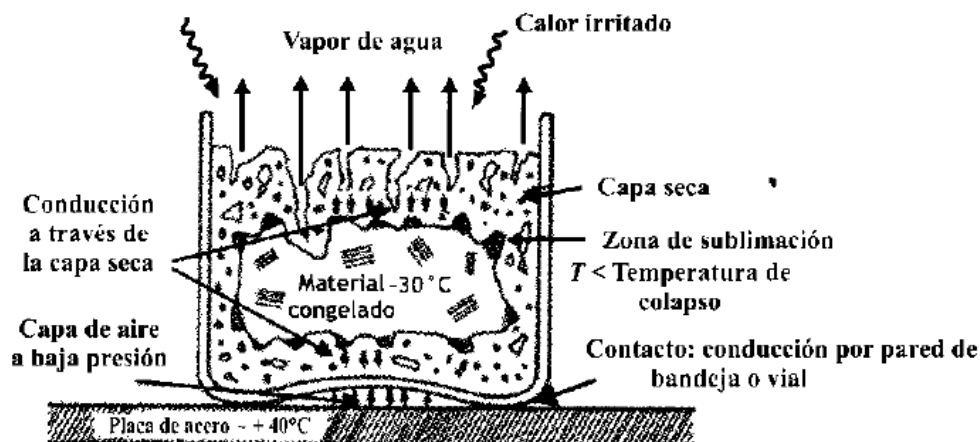
### 1.3 Deshidratación

La deshidratación es una de las formas más antiguas de procesar alimentos. Consiste en eliminar una buena parte de la humedad de los alimentos, para que no se arruinen, a fin de conservar alimentos acuosos que abundan en verano, para disponer de ellos durante el invierno. Carnes y vegetales deshidratados era algo común en antiguas civilizaciones de distintas latitudes [“Acciones de los antocianos”, 2005].

Se considera de gran importancia la conservación de alimentos deshidratados porque elimina una buena parte de la humedad de los alimentos, lo que permite que se reduzcan las reacciones químicas e inhiban el crecimiento microbiano, por consiguiente, se prolonga la vida útil de los alimentos [Maldonado & Pacheco, 2003].

## 1.4 Secado por liofilización

“La liofilización es una técnica que da como resultado productos deshidratados de alta calidad debido a la ausencia de agua líquida y las bajas temperaturas requeridas en el proceso. El estado sólido de agua durante la liofilización protege la estructura primaria y minimiza los cambios en la forma del producto, con una reducción mínima de volumen” [Ratti, 2001]. “Además, contribuye a preservar constituyentes como minerales y vitaminas, así como para conservar el sabor y el aroma” [George & Datta, 2002]. “El secado por congelación es una técnica prometedora para la deshidratación de los materiales termosensibles” [Luanda, Ferreira & Freire, 2007].



**Figura 3. Esquema de secado por sublimación en el que se muestran las resistencias a los distintos mecanismos de transferencia de calor.**

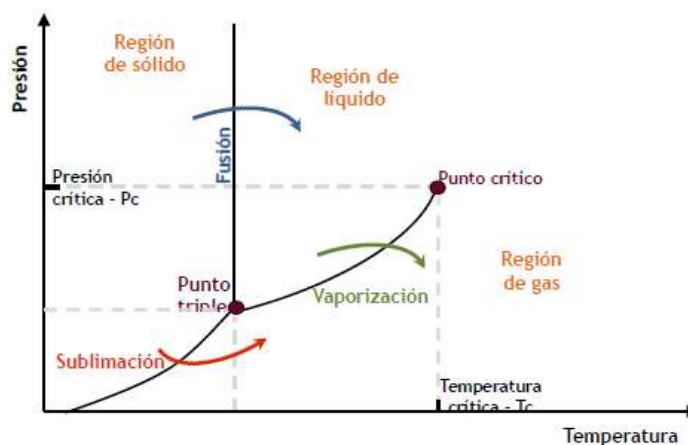
Fuente: Orrego, Alzate C. E. (2008). *Congelación y Liofilización de Alimentos*. Manizales, Caldas, Colombia. Pp. 52

“La temperatura del producto es típicamente más fría que la temperatura del anaquel (bandeja) porque el calor es utilizado en el cambio de la fase de sublimación (enfriamiento evaporativo)”, [Orrego, 2008] tal como se observa en la Figura 3, en los cuales se encuentran los distintos mecanismos de transferencia de calor. “La transferencia de calor se hace por conducción, convección gaseosa y radiación (o una combinación de ambos mecanismos) siendo esta última la preponderante cuando se opera a muy baja presión” [Orrego, 2008].

### 1.4.1 Fundamentos de la liofilización.

El principio fundamental en la liofilización es **la sublimación**, el cambio de un sólido directamente en un gas. Justo como la evaporación, sublimación ocurre cuando una molécula gana bastante energía para romperse libremente de las moléculas alrededor de ella. El agua sublimara de un sólido (hielo) a un gas (vapor) cuando las moléculas tienen bastante energía a romperse libremente pero las condiciones no están a la derecha para que un líquido forme [Ramírez, 2006].

El cambio de fase de sólido a gas o sublimación, debe realizarse en condición de presión y temperatura menor a las del punto triple (punto en el que conviven los tres estados de la materia) y por debajo de éste no existe la fase líquida. En la Figura 4, se representa la presión de vapor del agua en función de su temperatura, se puede apreciar que el punto triple del agua se sitúa a la presión de 610 Pascal (4.58 Torr = 4.58 mm de Hg) para una temperatura de 0.01°C, de esta manera el porcentaje de humedad disminuye a 3% del valor original. Puesto que el alimento permanece congelado y rígido durante la liofilización, la estructura resultante es esponjosa y seca [Clementz, & Delmoro, 2011].



**Figura 4. Representa la presión de saturación del agua en función de su temperatura.**

El punto triple del agua se sitúa a la presión de 4,58 mmHg y a una temperatura de 0,01 °C.

Fuente: Clementz, A. & Delmoro, J. (2011). Snacks Frutales. *Universidad del Centro Educativo Latinoamericano*. Rosario, Argentina. Vol. 14, núm. 27, pp. 153-163.

### 1.4.2 Etapas de la liofilización.

**Preparación:** de la materia prima previo a su tratamiento. “El proceso de liofilización no admite manipulación luego de realizado. Los alimentos deben ser convenientemente preparados antes del proceso (limpiados, pelados, acondicionados, cortados, cubeteados y blanqueados o sulfitados cuando sea necesario)” [Viteri, 2009].

“Para aumentar la permeabilidad se hacen agujeros en la piel de algunos alimentos (arándanos, guisantes). Los líquidos deben concentrarse previamente para disminuir el contenido de agua y de esta manera acelerar el proceso de liofilización” [Amores, 2011].

#### 1.4.2.1 Congelación

**Congelación inicial:** es una operación previa y obligatoria (la temperatura del material completamente sólido debe ser inferior a 0°C). El tiempo necesario depende de varios factores como la cantidad, concentración y naturaleza del producto. En líneas generales se puede decir que una congelación adecuada es la base para que el producto liofilizado presente óptimas condiciones de aspecto, conservación de sus propiedades originales y rápida rehidratación. Se realiza a temperaturas inferiores a la de solidificación total, o sea, el producto debe estar congelado a temperaturas entre -10°C y -15°C [Viteri, 2009].

La acción de deshidratación básica es la formación de hielo, antes se pensaba que la sublimación del agua era el paso más importante, sin embargo ha quedado demostrado que la congelación es igual o aún más trascendente para el curso exitoso de la liofilización, ya que en esta etapa se crean las condiciones que culminaran con un secado óptimo y aún más, se determina la calidad del producto seco. [Amores, 2011]

“El proceso de congelación puede dividirse en dos fases: a) Formación y crecimiento de cristales de hielo. b) Descenso de la temperatura hasta el punto eutéctico del producto, garantizándose cristalización completa” [Huaraca, 2011]. Los resultados

obtenidos por la liofilización son influidos considerablemente por la velocidad con la que se congelan. La congelación rápida o duradera es un proceso a través del cual la temperatura, de los alimentos desciende aproximadamente unos  $-20^{\circ}\text{C}$  en 30 minutos. “La congelación lenta es un proceso en que la temperatura deseada se alcanza en 3 a 72 horas, tal como sucede en los aparatos domésticos de refrigeración” [Huaraca, 2011].

#### ***1.4.2.2 Sublimación.***

**Sublimación o desecación primaria:** es la etapa en la que la mayor parte del agua libre (en forma de hielo) pasa a vapor. La sublimación del agua tiene lugar por debajo del punto triple que es el aquel donde coexisten los tres estados físicos o lo que es lo mismo, donde las tres fases se hallan en equilibrio. La fase de sublimación propiamente dicha, en la que se elimina alrededor del 90% del agua. Se elimina el hielo libre. [Viteri, 2009].

Congelado el producto se inicia el proceso de la sublimación del agua mediante la transmisión de calor. El suministro de calor al producto congelado se puede hacer por conducción, radiación o fuente de microondas. Los dos primeros se utilizan comercialmente combinándose su efecto al colocarse el producto en bandejas sobre placas calefactoras separadas una distancia bien definida [Viteri, 2009].

Al comenzar el proceso, el hielo se sublima de la superficie del producto, retrocediendo el nivel de sublimación dentro de él, teniendo entonces que pasar el vapor por capas ya secas para salir del producto. El calor es requerido en las zonas límites, punto en el cual el hielo pasa de la forma sólida a la gaseosa [Huaraca, 2011].

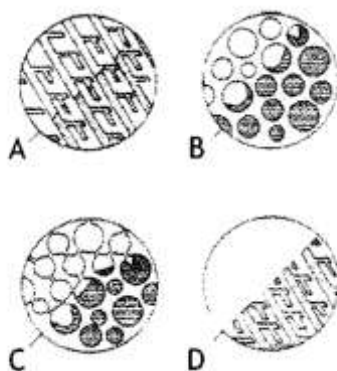
Debido a la temperatura máxima admisible y a la pobre conductividad térmica del producto, el gradiente de temperatura necesaria se hace siempre mayor y tratar de no sobrepasar la temperatura máxima admisible para el producto, a fin de no ocasionar daños en él y al mismo tiempo evitar el descongelamiento. Para tener una liofilización

buena y rápida es necesario poder controlar exactamente la temperatura de las placas y tener la posibilidad de regular la presión total y parcial del sistema [Huaraca, 2011].

### 1.4.2.3 Secado.

**Desorción o desecación secundaria:** Durante el secado final, lo importante es lograr condiciones de presión (caída de presión) que permitan el secado del producto a humedades residuales mínimas, de modo que pueda retirarse el agua intramolecular y ligada por absorción. Su misión es eliminar las últimas trazas de vapor de agua, evaporando el agua no congelada ligada al producto. Se lleva a cabo a una temperatura inferior a la de desnaturalización del producto y elimina el 10% de agua ligada restante. Con lo que se puede llegar hasta productos de una humedad del 2%. [Amores, 2011].

“Por otra parte, como los cristales sublimados de hielo dejan cavidades, el material seco contiene miles de intersticios por los que el agua puede penetrar produciendo una rápida y completa rehidratación cuando sea necesaria” [Saarelaa, *et al.*, 2005]. El vapor de agua se retira de la matriz de diferentes formas, como se presenta en la Figura 5.



**Figura 5. Mecanismos de secado durante la liofilización.**

A) sublimación del hielo con el vapor de agua retirándose por canales de la estructura. B) Difusión de moléculas de agua hasta el frente de secado de la matriz. C) Vapor de agua escapándose por fracturas de la matriz, desarrolladas durante el proceso de secado. D) Pérdida de la estructura en el frente de secado por colapso.

Fuente: Orrego, Alzate C. E. (2008). *Congelación y Liofilización de Alimentos*. Manizales, Caldas, Colombia. Pp. 58.



### 1.4.3 Diferencias, ventajas y desventajas de la liofilización.

Algunas diferencias, ventajas y desventajas de la liofilización se presentan en la Tabla 4. Todas estas particularidades pueden resumirse en: una estabilidad óptima, una solubilidad fácil, rápida y completa; una conservación ilimitada; una buena protección contra las influencias externas nocivas y una rápida disponibilidad de uso [Bedu-addo, 2005].

Tabla 4. Diferencias, ventajas y desventajas de la liofilización

Secado convencional	Liofilización
Adecuado para alimentos que se pueden secar fácilmente (verduras, granos)	Adecuado para la mayoría de los alimentos, pero reservado a aquellos que son dificultosos de secar por otros métodos
Generalmente insatisfactorio para la carne	Adecuado para carnes crudas y cocidas
Existe un procesado continuo, ya sea la deshidratación simple o la doble deshidratación. Deshidratación de 8 a 12 horas como máximo	Se tiene procesado con dos fases bien delimitadas: Congelación y Sublimación. Deshidratación de 12 a 24 horas.
Temperatura de trabajo entre 37 – 93 °C	Temperatura de trabajo por debajo del punto de congelación
Presión atmosférica	Presiones reducidas (27 – 133 Pa)
Evaporación del agua desde la superficie del alimento	Sublimación del hielo desde el frente de sublimación
Movimiento de solutos, y en algunos casos, endurecimiento	Mínimo movimiento de los solutos
Las tensiones en los alimentos sólidos causan daño estructural y contracción	Mínimo daño estructural y contracción
Rehidratación lenta e incompleta	Rehidratación completa y rápida
El alimento procesado tiene una densidad mayor que la del alimento original	El alimento procesado es poroso, con una densidad inferior a la del alimento original
Olor y sabor frecuentemente anormal. Se pierden por evaporación ya que tienen una presión de vapor apreciable a la temperatura de trabajo	Olor y sabor frecuentemente normal. No se pierden por evaporación ya que su presión de vapor es inferior a la del hielo a la temperatura de trabajo
Color frecuentemente más oscuro debido a la oxidación	Conserva el color normal debido a que no se produce oxidación al trabajar al vacío
Valor nutricional reducido	Los nutrientes se retienen en su mayoría
Costos generalmente bajos	Costos generalmente altos, hasta 4 veces los del secado convencional
Los productos presentan buena estabilidad al almacenamiento, con tendencia a oscurecerse en almacenamiento prolongado, e incluso pueden tornarse rancios.	Los productos mantienen una excelente estabilidad siempre y cuando se les almacene en el envase adecuado, puesto que son sumamente higroscópicos

**Nota.** Las diferencias, ventajas y desventajas de la liofilización frente al secado convencional. Fuente: Ramírez J. (2006). Liofilización de Alimentos. *Recitela*. Bogotá, Colombia. Pp. 25.

#### 1.4.4 Aplicaciones de los productos liofilizados.

Los productos liofilizados tienen variedad de aplicaciones, las cuales se referencian a continuación en la Tabla 5:

Tabla 5. Aplicaciones de los productos liofilizados

PRODUCTO	TIPOS	USOS
<b>Vegetales y Legumbres</b>	Desde apio hasta zanahorias y todo lo que se encuentra entre ellos	Sopas instantáneas, comidas rápidas, comidas preparadas para perder peso, suplementos alimenticios, salsa, aderezos y productos lácteos
<b>Carnes y Productos Lácteos</b>	Pollo, res, pavo, camarón, jamón, cerdo, salchichón, carnes ahumadas, quesos, huevos revueltos, yogurt	Salsas y aderezos, decoraciones de queso, alimentos para mascotas, sopas instantáneas, comidas preparadas para perder peso y Suplementos alimenticios.
<b>Fruta</b>	Manzana, albaricoque, plátano, cereza, naranja, kiwi, limón, mango, durazno.	Cereales preparados, cereales calientes, bebidas energéticas, panecillos, galletas, mezclas preparadas para pastel, bebidas de frutas, granola, galletas y barritas alimenticias, compotas y dulces
<b>Frutas con infusión</b>	Fresa, cereza	Cereales preparados, cereales calientes, bebidas energéticas, galletas, mezclas preparadas para pastel, bebidas de frutas, granola, galletas y barritas alimenticias, compotas y dulces
<b>Hierbas y Especies</b>	Albahaca, alcaparras, cebollín, cilantro, granos de pimienta verde y rosa, hierbabuena, perejil, romero, estragón, hojas de laurel, hojas de apio, hinojo, mejorana, salvia, tomillo	Mezclas para envases de especias, pimienta molida, condimentos, aderezos secos, paquetes de salsa y salchicha, aderezos para ensaladas, condimentos surtidos, uso diario
<b>Materiales no vivos</b>	Plasma sanguíneo, suero, soluciones de hormonas, productos farmacéuticos biológicamente complejos como vacunas, sueros y antídotos	Trasplantes quirúrgicos
<b>Tejido conectivo</b>	Arterias, piel y huesos	Trasplantes quirúrgicos
<b>Productos farmacéuticos</b>	Antibióticos, vacunas	Productos medicinales
<b>Microorganismos</b>	Bacterias, virus y levaduras	Producción agrícola y productos medicinales

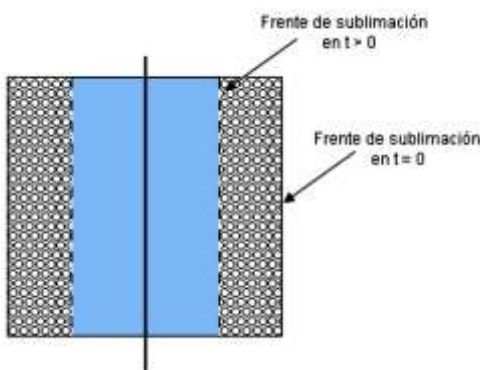
**Nota.** Fuente: Jennings, T. A. (1999). Lyophilization, Introduction and Basic Principles. Ed. Interpharm. Denver, Colorado.

## 1.5 Tratamiento matemático en el proceso de liofilización

### 1.5.1 Modelo Matemático - Modelo URIF.

Modelo URIF “Uniformly Retreating Ice Front Model” “Retiro Uniforme del Frente Congelado”: “El modelo URIF relaciona la pérdida de peso de la muestra con el movimiento de vapor de agua a través de los poros y en el ciclo de sublimación, es decir la etapa de secado primario. El modelo URIF analiza el comportamiento más que el ajuste con los datos experimentales” [Pérez, 2010].

Los factores que interactúan para regular las velocidades de secado en la liofilización se muestran en la Figura 6. En la liofilización para producir la sublimación del agua, la energía debe suministrarse desde una fuente de calor. También es necesario que el vapor de agua generado sea removido por algún captador de humedad.



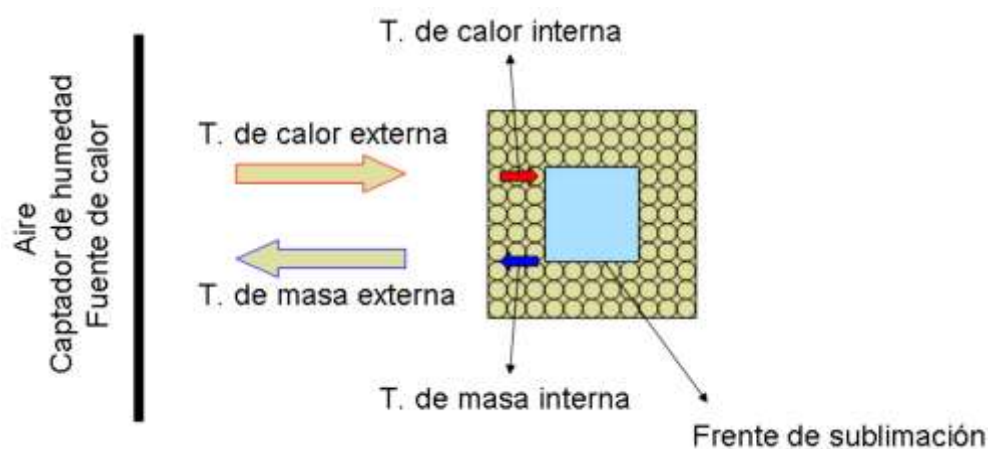
**Figura 6. Esquema del frente de sublimación en retroceso con el tiempo**

Fuente: King, C. J. (1971). *Freeze-Drying of Foods*. CRC PRESS. Pp. 26

El secado de alimentos por liofilización tiene dos características principales:

- La ausencia de aire y la temperatura baja, previene el deterioro debido a la oxidación química del producto.
- Los productos que se descomponen o que padecen cambios en estructura, texturas, apariencia o sabor como consecuencia de la alta temperatura en el secado convencional, pueden ser secados bajo vacío con un mínimo daño.

Los factores que interactúan para regular la velocidad de secado en la liofilización se muestran en la Figura 7. En la liofilización para producir la sublimación del agua, la energía debe suministrarse desde una fuente de calor. También es necesario que el vapor de agua generado sea removido por algún captador de humedad. El calor se desplaza desde la fuente de calor hacia el frente de sublimación debido a la diferencia de temperatura existente, y el vapor de agua se mueve desde el frente de sublimación hacia el captador de humedad a causa de la diferencia de presión parcial de vapor de agua [Pérez, 2010].



**Figura 7. Factores influyentes en la velocidad de liofilización**

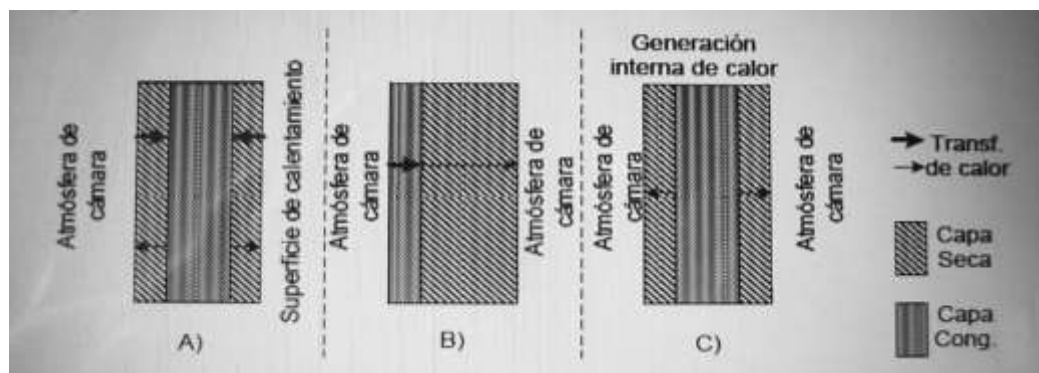
Fuente: Perez Castillo, N. L. (2010). *Estudio teórico y experimental de la liofilización de locos (concholepas concholepas) (tesis de pregrado)*. Santiago, Chile: Universidad Santiago de Chile. Pp. 16

### 1.5.2 Modelo en estado estacionario.

Según sea la forma de introducir el calor a la interfase de sublimación se tendrán distintas alternativas que modificarán la matemática involucrada a saber:

- Por conducción a través de la capa seca
- Por conducción a través de la capa congelada
- Por radiación desde cualquiera de las placas calefactoras (superior o inferior)

En la Figura 8, se puede observar las tres etapas de transferencia de calor durante la liofilización. Estas son: A) conducción a través de la capa seca, B) conducción a través de la capa congelada, C) generación interna de calor por microondas.



**Figura 8. Diferentes tipos de transferencia de calor**

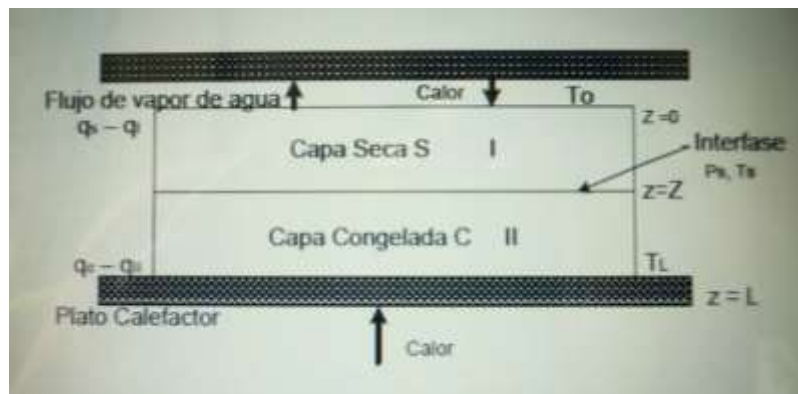
Fuente: Barbosa G. & Cánovas H. (2000). Deshidratación de alimentos. Editorial Acibria, S.A. Zaragoza, España.

Se desarrollan diversos modelos para describir en estado estable y en estado transitorio el proceso de liofilización para geometrías simples. En general este modelo hace las siguientes suposiciones: [Parra, *et al.*, 2007].

- El flujo de calor y masa son unidimensionales y normales a la interfase ( $z = Z$ ) y a la superficie ( $z = 0$ )
- La sublimación ocurre en la interfase paralela, a distancia  $Z$  de la superficie de la muestra
- El espesor de la interfase es infinitesimal
- A través de la capa seca fluye solamente el gas sublimado que es vapor de agua
- En la interfase de sublimación, el vapor de agua está en equilibrio con el hielo
- El medio poroso y el gas encerrado en él están en equilibrio térmico
- La región congelada es homogénea, de propiedades físicas uniformes y contiene una insignificante proporción de gases disueltos
- El recipiente que contiene la muestra ofrece una mínima resistencia a la transferencia de calor
- Las resistencias de transferencia de masa y calor externas a la muestra son insignificantes
- El volumen inicial y final de la muestra son idénticos

### 1.5.3 Modelamiento para liofilización simétrica y por una sola cara.

Este modelo esta esquematizado en la Figura 9. Las capas exteriores están secas y el frente de hielo en el centro se reduce con el tiempo; la sublimación del agua ocurre en la superficie del hielo, y el vapor de agua debe difundirse por los poros de la(s) capa(s) seca(s) hacia la atmósfera de la cámara. En este modelo no se tiene en cuenta el flujo de calor conductivo que pasa a través de la capa congelada. [Barbosa, 2000]



**Figura 9. Flujo de calor y masa durante la liofilización unidimensional**

Fuente: Barbosa G. & Cánovas H. (2000). Deshidratación de alimentos. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.

El flujo de vapor de agua que sale del frente de sublimación es, desde la transferencia de masa a través de la capa seca o entre la superficie y el ambiente de la cámara:

$$G(t) = -(1/A)dM/dt \quad (1)$$

Para  $M$  la masa de la muestra y  $A$  el área de sublimación.

Si se llama  $\rho_c$  a la densidad de la capa congelada (densidad inicial),  $\rho_s$  a la densidad de la capa seca (densidad final),  $L$  a el espesor de la placa (si se calienta por ambos lados  $L$  es el semiespesor) y  $Z$  a la distancia entre el borde de la placa y el frente de sublimación, [Barbosa, 2000].

$$M(t) = AZ\rho_s + A(L - Z)\rho_c \quad (2)$$

$$dM/dt = A(\rho_s - \rho_c) dZ/dt \quad (3)$$

$$G(t) = (\rho_c - \rho_s) dZ/dt \quad (4)$$

Considerando ahora la transferencia de masa a través de la capa seca.  $K_p$  es la permeabilidad del vapor de agua en la zona seca,  $P_s$  la presión del vapor de agua en la superficie de sublimación,  $P_o$  la presión de vapor del agua en la superficie exterior de la muestra  $k_g$  el coeficiente externo de transferencia de masa y  $P_A$  la presión en el ambiente de la cámara. [Barbosa, 2000].

$$G(t) = \left( \frac{K_p}{Z} \right) * (P_s - P_c) = K_g(P_o - P_A) \quad (5)$$

$$K_p = \frac{KM_w}{RT} \quad (6)$$

$M_w$  = Peso molecular del agua

$R$  = Constante universal de los gases

$T$  = Temperatura media de la capa seca

#### 1.5.4 Modelos semi-teóricos (difusividad).

Los modelos fenomenológicos describen el movimiento de la humedad dentro de partículas y están, usualmente, basados en mecanismos difusionales. Generalmente son usados para representar procesos de secado convencional, es decir, donde agua líquida difunde a través de los poros del material y luego pasa a un estado gaseoso. No obstante, ha sido utilizado también en liofilización, donde está presente el fenómeno de la sublimación [Pérez, 2010].

El coeficiente de difusividad efectiva es un parámetro práctico y conveniente para describir el movimiento de la humedad y la Ley de Fick ha sido utilizada para describir matemáticamente la velocidad de secado decreciente en una partícula sólida. Es importante señalar que en general durante el secado de alimentos no se presenta un periodo de velocidad de secado constante, o bien éste es poco significativo, por lo tanto, dependiendo del caso, permitiría describir el proceso de secado completo [Pérez, 2010]

### 1.6 Transferencia de masa y calor durante la liofilización

Los perfiles de temperatura y humedad en el interior del alimento durante la liofilización dependen de las velocidades de transferencia de masa y calor. El calor se transfiere a través del frente de sublimación o línea frontera entre las fases congelada y seca del producto. Dependiendo de la fuente de calor la transferencia podrá ser a través de la capa congelada, la capa seca o ambas. [Parra, Gómez, González & Santos, 2007].



**Figura 10. Estructura de un producto en proceso de liofilización**

Fuente: Flesia, M. A. (s.f.). *La Conservación de Sustancias Perecederas por Medio de la Liofilización*. Universidad Técnica Nacional. Facultad Regional Santa Fe. Ingeniería Industrial. Procesos industriales. Pp. 11-13

**Transferencia de calor.** La estructura de un producto durante la etapa de desecación primaria se puede observar en la Figura 10. El hielo que se separó en la etapa de congelación, sublima bajo los efectos de la baja presión y el calor suministrado, dejando un producto sólido poroso, con los poros ocupando el lugar que antes ocupaba el hielo. Las sustancias aromáticas, que tienen una presión de vapor mucho menor que la del hielo, quedan atrapadas en la matriz formada por el sólido seco [Flesia, s.f.].



La estructura porosa permite una rápida rehidratación, sin cambio aparente en la conformación del producto original, pero es frágil y requiere protección para evitar daños mecánicos. Además, la estructura abierta permite la penetración del oxígeno y se hace necesario el empaque en atmósferas inertes, para evitar procesos oxidativos sobre los lípidos. [Flesia, s.f.].

La transferencia de calor a través de la capa seca del producto, provoca un aumento proporcional en la cantidad de hielo sublimada. Por lo tanto, la velocidad de crecimiento de la capa seca del producto, se puede expresar en términos de la velocidad de transferencia de calor. [Flesia, s.f.].

$$\frac{dZ}{dt} = \frac{k_t(T_0 - T_s)}{\Lambda \rho X Z} \quad (7)$$

Donde  $T_0$  es la temperatura de la superficie exterior,  $T_s$  es la temperatura de la interfase donde se produce la sublimación,  $Z$  es el espesor de la capa seca y  $k_t$  su conductividad térmica.  $\Lambda$  es el calor latente de sublimación (2.836 kJ/kg de hielo), y  $\rho$  y  $X$  son respectivamente la densidad inicial y la fracción en peso del hielo en el producto.  $k_t$  es proporcional a la cantidad de sólidos inicial en el producto y también depende de la presión, a una presión mayor de 100 mm Hg,  $k_t$  es la misma que a la presión atmosférica, entre 0,032 y 0,17 W.m<sup>-1</sup>.°C<sup>-1</sup>. A presiones menores,  $kt$  disminuye sigmoidalmente con la presión, y a alrededor de 100 μm de Hg llega aproximadamente a la mitad o una cuarta parte de su valor a presión atmosférica. [Flesia, s.f.].

Las presiones respectivas a las cuales comienza y termina la variación de  $k_t$ , depende del tamaño de poro. En la mayoría de los casos, los procesos de liofilización se llevan a cabo en las cercanías de los valores inferiores de  $k_t$ . Las conductividades térmicas que se encuentran en los productos liofilizados son menores a los de la mayoría de los aislantes térmicos. [Flesia, s.f.].

**Transferencia de masa.** Cuando el calor llega al frente de sublimación, aumenta su temperatura y la presión de vapor del hielo. El vapor formado se mueve a través de la zona seca hasta la cámara de liofilización. 1 g de hielo forma 2 m<sup>3</sup> de vapor a 67 Pa, y en los liofilizadores comerciales es necesario remover varios cientos de metros cúbicos de vapor por segundo a través de los poros del material seco [Flesia, s.f.].

Los factores que controlan el gradiente de presión de vapor son:

- La presión dentro de la cámara
- La temperatura del condensador, que al igual que la presión dentro de la cámara debe ser lo más baja posible, dentro de los límites económicos.
- La temperatura del hielo en el frente de sublimación, que debe ser lo más alta posible, sin que se produzca la fusión del material.

En la práctica, la menor presión que se puede lograr económicamente es 13 Pa, y la temperatura más baja del condensador es - 35 °C. El flujo de vapor a través de la capa seca del producto, causa una caída de presión que es proporcional a  $dt/dZ$ . [Flesia, s.f.].

$$P_s - P_0 = \frac{k_t(T_0 - T_s)}{\Delta K} \quad (8)$$

Donde  $P_s$  es la presión en la interfase de sublimación,  $P_0$  la presión en el exterior de la muestra y  $K$  la permeabilidad de la capa seca.  $K$  es proporcional a la fracción volumétrica del hielo presente inicialmente, inversamente proporcional al tamaño de los cristales de hielo. Se incrementa un poco a medida que aumenta la presión parcial del agua en los poros, y disminuye si hay una excesiva cantidad de gases incondensables en el sistema. Los rangos típicos de  $K$  varían entre 0,7 y  $10 \cdot 10^{-9}$  kg.m<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup> μmHg<sup>-1</sup>. [Flesia, s.f.].

## 1.7 Cinética de liofilización

La cinética de la liofilización se divide en cinética de congelamiento y cinética de sublimación. La cinética de congelación está relacionada con la formación del estado eutéctico (Es el punto de intersección de las dos curvas que separan la zona líquida y la zona donde el líquido se encuentra en equilibrio con el sólido y es la temperatura más baja a la cual puede existir la fase líquida) de las muestras; y la cinética de sublimación con la eliminación del hielo a través de los poros en forma de vapor de agua. [Barbosa, 2000].

Para la cinética de sublimación se tiene en cuenta el modelo de estado estacionario, con base en los siguientes supuestos:

- La temperatura de la superficie es constante durante la etapa de sublimación
- El calor solo entra por la capa seca
- La transferencia de masa solo es a través de la capa seca
- El frente de hielo solo mantiene una posición paralela a la superficie
- Tanto la conductividad térmica, la cual depende de la composición y de la estructura celular de la muestra; como la permeabilidad se mantienen constantes en el producto.

De acuerdo con la transferencia de masa del proceso de sublimación en estado estacionario se tienen las siguientes ecuaciones que relacionan la velocidad de pérdida de masa de agua con el flujo de vapor a través de la capa porosa (9) y la velocidad de pérdida de agua con la variación de la fracción de agua en el producto y el movimiento del frente de hielo (10) [Barbosa, 2000].

$$\frac{dW}{dtA} = \frac{b\Delta p}{x} \quad (9)$$

$$\frac{dW}{dtA} = \rho_s(m_0 - m_t) \frac{dx}{dt} \quad (10)$$

Siendo:

$b$  = La permeabilidad

$\Delta p$  = Presión de vapor del hielo a la temperatura medida

$x$  = Distancia entre el frente de hielo y la superficie (m)

$m_0$  y  $m_t$  = Los contenidos de agua (fracción) inicial y final definidos en base seca

$\rho_s$  = Densidad de la capa seca (kg/m<sup>3</sup>)

Por otro lado la Ley de Fourier en estado estacionario se utiliza para describir la transferencia de calor:

$$Q = \frac{AK(T_s - T_i)}{x} \quad (11)$$

Haciendo un balance de calor en el frente de hielo, asumiendo que todo el calor que entra al producto es utilizado en el proceso de sublimación se tiene.

$$\frac{dW}{dt} \Delta H = Q \quad (12)$$

Dónde:

$A$  = Área de transferencia (m<sup>2</sup>)

$K$  = Conductividad térmica del producto seco (Wm<sup>-1</sup>K<sup>-1</sup>)

$T_s$  y  $T_i$ : = Temperaturas de la superficie y del frente de hielo (K)

$\Delta H$  = Calor latente de sublimación (2840000 Jkg<sup>-1</sup>)

Finalmente asumiendo que existe un equilibrio entre la transferencia de masa y calor; reemplazando (11) en (12), igualando con (10) y luego integrando, se obtiene el tiempo de secado (13) el cual es aproximadamente proporcional al cuadrado del espesor del producto, razón por la cual resulta favorable trabajar con capas delgadas o trozos de tamaño pequeño [Mafart, 1994].

$$T_f = \frac{x_f^2 \Delta H \rho_s (m_0 - m_f)}{2K(T_s - T_i)} \quad (13)$$

## **1.8 Prevención del pardeamiento enzimático**

“Existen varias formas de evitar el pardeamiento enzimático, todas ellas apuntan a inhibir la enzima o a eliminar el oxígeno sobre el substrato oxidable” [Schmidt & Pennacchiotti, 2001].

### **1.8.1 Escaldado.**

“El escaldado es un calentamiento de corta duración, que tiene como objetivo desnaturalizar o inactivar las enzimas, de modo que éstas detengan su actividad metabólica y cese la degradación del alimento” [Jiménez, Zambrano & Aguilar, 2004]. [Fernández, 2007]. “Es típico el escaldado de productos vegetales antes de su congelación de esta forma impide el desarrollo de olores y sabores extraños durante el almacenamiento en congelación además de prolongar la vida del alimento” [Chandia, 2000].

“El control enzimático es obtenido fácilmente, destruyendo las enzimas mediante un corto tratamiento térmico anterior a la congelación y el almacenamiento. Casi todas las enzimas son destruidas irreversiblemente en unos pocos minutos calentándolas a 79°C” [Desrosier, 1993]. “El escaldado debe realizarse en el intervalo de 60°C a 100°C” [Chandia, 2000].

“Los tiempos y temperaturas de escaldado sugeridos en la literatura para diversos productos varían en un amplio rango y frecuentemente no especifican todos los parámetros de la cinética de transferencia de calor” [Luh & Lorenzo, 1988] citados en la Tabla 6:

Tabla 6. Tiempos de escaldado en agua a 95°C

<b>PRODUCTO</b>	<b>TIEMPO (min)</b>
<b>Alcachofas</b>	5 – 9
<b>Apio</b>	2
<b>Brócolis</b>	2 – 3
<b>Coles de Bruselas</b>	4 – 5
<b>Espárragos</b>	2 – 5
<b>Espinacas</b>	2
<b>Guisantes</b>	1 – 2
<b>Inflorescencias de coliflor</b>	3 – 4
<b>Judías verdes</b>	2 – 3
<b>Mazorca de maíz</b>	6 – 11
<b>Zanahorias</b>	2 – 5

**Nota.** Fuente: Adaptado de Luh, B.S. & Lorenzo, M.C. (1988). Freezing of vegetables. In: Commercial vegetable processing. Luh, B.S. and Woodroof, J.G. (eds). Van Nostrand Reinhold, New York. pp. 342-386.

“Las enzimas como la peroxidasa pueden ser reactivadas después del calentamiento, puesto que ésta es capaz de soportar temperaturas de 85°C” [Ben-aziz, 1970]. “De acuerdo con esto, dado que la Peroxidasa es muy resistente a la inactivación por el calor, se acepta que existe una destrucción de todas las enzimas de interés una vez inactivada la Peroxidasa”.

“El escaldado o blanqueado se realiza con el fin de inactivar enzimas, las oxidasas, que tienden a oscurecer los alimentos” [Figueroa & Lama, 2000]. “La eliminación de enzimas mejora la calidad del producto final, así mismo ayuda la eliminación parcial de los gases intercelulares, fijación y acentuación del color natural y sabor característico de la fruta o vegetal, reducción parcial de los microorganismos” [Fintrac, 2002].

Inmediatamente después del escaldado, los alimentos deben enfriarse rápidamente en agua helada para evitar el cocimiento y sobre todo el enfriamiento rápido provoca un choque térmico que produce la eliminación de microorganismos, de lo contrario si el enfriamiento es lento los microorganismo se mantendrán vivos y crecerán sin dificultad, ya que el producto se ha cocinado y el microorganismo puede aprovechar el sustrato [Figueroa & Lama, 2000].

### **1.8.2 Efectos del escaldado.**

Los tejidos vegetales son materiales vivos y manifiestan frescura dependiendo en gran parte de la ordenación estructural y composición química de la pared celular de los espacios intracelulares donde las sustancias pépticas y además causan daños irreversibles en la estructura celular y en las características físicas del tejido vegetal. [“Revisión Bibliográfica. Escaldado”, 2000]

El rompimiento de la membrana citoplasmática incrementa su permeabilidad penetrando agua a la célula y a los espacios intercelulares donde son expelidos los gases y otros productos volátiles. Las proteínas se desnaturalizan y existe pérdida de nutrimentos hidrosolubles como vitaminas, azúcares, minerales, clorofila y carotenos.

### **1.8.3 Tipos de escaldado.**

“Los alimentos pueden ser escaldados poniéndolos en contacto ya sea con agua, vapor aire caliente o con microondas, por aproximadamente de 1 a 3 minutos, dependiendo de la naturaleza y el tamaño del producto concerniente” [“Revisión Bibliográfica. Escaldado”, 2000].

Otros métodos son “escaldados no ordinarios” los cuales son: escaldado a temperaturas altas por tiempos cortos [Brennan, Butters, Cowell & Lilly, 1980], escaldado por microondas [Muftugil, 1986], [Bülher & Gierscher, 1988], microondas-vapor, radiaciones infrarrojas, vapor y radiofrecuencia [Ponner, Baysal & Yuksel, 1994], escaldado individual [Aguilar, 1995], escaldado por etapas [Favier, 1990] y escaldado a baja temperatura por tiempo largo (TB-TL) [Aguilar, Anzaldúa- Morales, Talamás & Gastelum, 1997] estos métodos ocasionan una pérdida de firmeza del vegetal menor que la obtenida durante el escaldado ordinario.

Un estudio comparativo de los métodos de escaldado ordinario, por microondas, microondas-vapor, radiaciones infrarrojas, vapor y radiofrecuencia. Los resultados de

este estudio indican que el escaldado por microondas y vapor permite la obtención de vegetales más firmes y con mejores características sensoriales: color, apariencia, sabor y aceptación; además este método muestra menores pérdidas de vitaminas hidrosolubles, especialmente vitamina C [Ponner, *et al.*, 1994].

“Existen varias formas de escaldado, pero los tipos más usados son el escaldado con vapor de agua (se utiliza vapor saturado a presión atmosférica o mayor) y el escaldado por inmersión en agua (temperatura de escaldado entre 75°C a 100°C controlada)” [Ling & Lund, 1978].

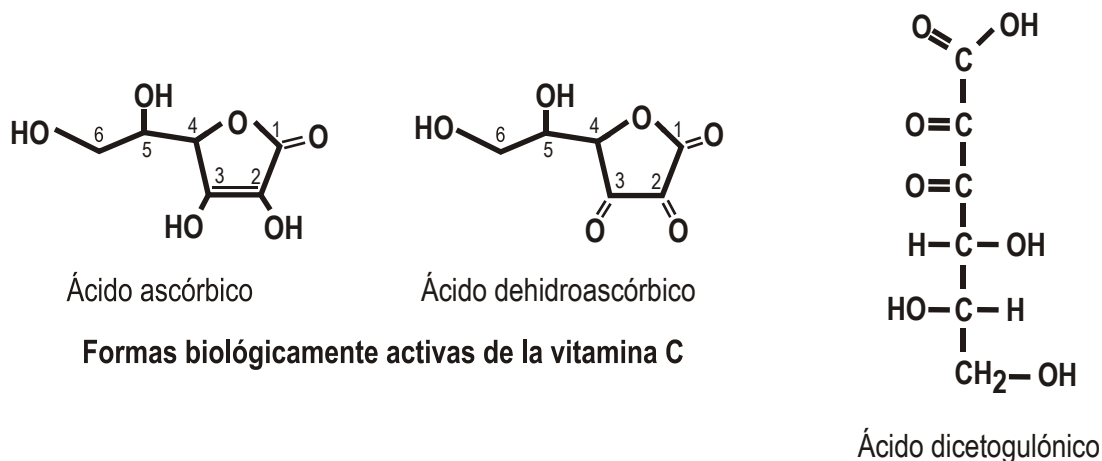
### **1.9 Acido L – Ascórbico (L-AA)**

El Ácido Ascórbico es termolábil y por consiguiente en frutas y vegetales es indicativa de la pérdida de otras vitaminas y se utiliza como parámetro de calidad para otros componentes sensoriales o nutritivos, tales como los pigmentos naturales y sustancias aromáticas. Su concentración disminuye durante el almacenamiento, dependiendo de las condiciones del mismo, tales como la temperatura, el contenido en oxígeno, la luz y el tiempo [Verdú, 2006].

El contenido de vitamina C (Ácido Ascórbico) en vegetales resulta ser muy variable tanto por causas genotípicas como de manejo pre y postcosecha. En los tratamientos de conservación postcosecha, la pérdida de vitamina depende fundamentalmente del tiempo y la temperatura de almacenamiento, de la exposición a la luz y del grado de daño tisular [Giannakourou & Taoukis, 2003].

El ácido ascórbico está compuesta por dos formas activas: el ácido ascórbico (L-AA), que por oxidación enzimática (ascórbico oxidasa) y química genera el ácido dehidroascórbico (ADHA). Este último es también susceptible a la oxidación a ácido dicetogulónico que carece de actividad vitamínica [Cuantificación vitamina C, 2011], esto se observa en la Figura 11.

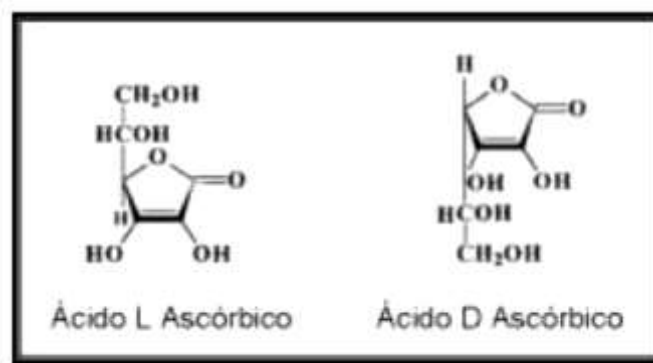




**Figura 11. Formas biológicamente activas de la vitamina C**  
 Fuente: Cuantificación vitamina C (2011). Universidad para los mayores. Pp. 1-6

### 1.9.1 Estructura del ácido ascórbico.

El ácido L – ascórbico (L-AA) es una sustancia muy soluble que posee propiedades ácidas y fuertemente reductoras, que se deben a su estructura enediol que está conjugada con el grupo carbonilo de una lactona. La forma natural de la vitamina es el isómero L -; el isómero D – tiene alrededor del 10 % de la actividad del L – y se añade a los alimentos con fines no vitamínicos. [Jesse & Gregory, 2000]. La Figura 12, se observa la estructura química de los isómeros del Ácido Ascórbico.



**Figura 12. Estructura química de los isómeros ópticos del carbono 4 del ácido ascórbico (isómero L y D)**

Fuente: Jesse F. & Gregory III. (2000). Vitaminas. En Fennema, *Química de los alimentos*. 2º. Ed. Zaragoza (España): ACRIBIA.

### **1.9.2 Funciones del ácido ascórbico.**

El Ácido Ascórbico es esencial en la síntesis del colágeno, también interviene en la síntesis de lípidos, proteínas, norepinefrina, serotonina, L-carnitina, y en el metabolismo de tirosina, histamina y fenilalanina. “En el escorbuto el problema se produce en la síntesis del colágeno, ya que el Ácido L- Ascórbico (L-AA) es un cofactor esencial en este proceso” [Basabe, 2000].

Su función más difundida está relacionada con su poder antioxidante, que le permite desactivar una gran variedad de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno en sistemas acuosos. Además actúa como cofactor de enzimas que participan en la síntesis de colágeno, carnitina y neurotransmisores. También se ha demostrado que estimula al sistema inmune, tiene efectos beneficiosos en pacientes con determinados tipos de lesiones cancerosas o precancerosas y facilita la absorción intestinal de hierro no hemínico de los alimentos. En los vegetales es parte del sistema de defensas contra el stress fotooxidativo, entre otras funciones [National Academy Press, 2000].

“Además de sus efectos antioxidantes se ha demostrado que posee capacidad para absorber RUV y debido a que está altamente concentrado en córnea, humor acuoso y cristalino, protege a diferentes tejidos oculares de dichas radiaciones” [Machlin & Bendich, 1987]. “La vitamina C (Ácido Ascórbico) sirve para evitar el envejecimiento prematuro (proteger el tejido conectivo, la "piel" de los vasos sanguíneos), Facilita la absorción de otras vitaminas y minerales, Antioxidante, Evita las enfermedades degenerativas tales como arteriosclerosis, cáncer, enfermedad de Alzheimer, Evita las enfermedades cardíacas” [“Vitamina C”, 2011].

### **1.9.3 Estabilidad del ácido ascórbico del brócoli frente al procesado industrial.**

De acuerdo a la revisión bibliográfica, se observa en la Tabla 7, el comportamiento del contenido de vitamina C (Ácido Ascórbico) en un estudio con el brócoli Híbrido Kailan en sus diferentes tratamientos de cocción. Los diferentes

tratamientos producen la interrupción matriz, es decir, el contacto de Ácido Ascórbico y las enzimas Ascorbato oxidasa y Peroxidasa, lo que facilita la oxidación de Acido L-Ascórbico (L-AA) en Acido Dehidroascórbico (ADHA) (Lee & Kader, 2000). Asar a la parrilla y la ebullición inducen a disminuir altamente el contenido de Acido L-Ascórbico (L-AA) (58-55% más que las muestras crudas). [Martínez, Ginés, Arte, Gómez, & Artes, 2013].

En la Tabla 7, también se observa que las muestras sin procesar muestran niveles de 91 y 2,4 veces mayor de Ácido Dehidroascórbico (ADHA) que las muestras cocidas (excepto a la parrilla), se corrobora “la alta termolabilidad del Ácido Dehidroascórbico (ADHA) encontrado en el brócoli convencional” [Munyaka, *et al.*, 2010]. Durante el tratamiento de ebullición, Ácido L-Ascórbico (L-AA) / Ácido Dehidroascórbico (ADHA) se lixivian al agua de cocción en una tasa de 0.2/0.01g por kg peso fresco de la muestra cocida, con 0.7/0.02g kg<sup>-1</sup> peso fresco que queda en la parte comestible. Este resultado indica que, dado que el Ácido Dehidroascórbico (ADHA) es más inestable (especialmente a bajo pH típico del brócoli) que el Ácido L-Ascórbico (L-AA) [Deutsch, 2000]. Por otra parte, la degradación del Ácido L-Ascórbico (L-AA) podría verse marcada en la cocción a ebullición [Martínez, *et al.*, 2013].

Muestras de la parrilla mostraron 19,2 veces mayor de Ácido Dehidroascórbico (ADHA) que las muestras hervidas, lo que indica una alta oxidación enzimática del Ácido L-Ascórbico (L-AA) a Ácido Dehidroascórbico (ADHA). Este resultado podría atribuirse a una inactivación enzimática incompleta debida al tiempo de cocción corto, con las enzimas oxidantes restantes activo en las partes internas del Brócoli Híbrido kailan. El resto de los tratamientos cocidos mostró que el Ácido L-Ascórbico (L-AA) disminuye entre 32% y 39%, sin diferencias entre ellos [Galgano, *et al.*, 2007], [Petersen, 1993] y [Zhang & Hamauzu, 2004]. Sous vide y sous vide-MW mostraron los niveles más altos de Ácido L-Ascórbico (L-AA) después de la cocción, probablemente debido a la baja atmósfera de O<sub>2</sub> generado después del envasado al vacío, que protege el Ácido L-Ascórbico (L-AA) de la oxidación [Martínez, *et al.*, 2013].

Tabla 7. Vitamina C (L-AA y DHA) contenida (g /Kg<sup>-1</sup> peso fresco) del brócoli Híbrido Kailan después de diferentes tratamientos de cocción y almacenado por 45 días a 4°C

	Storage time at 4 °C (days)						
	0	7	14	21	31	38	45
<b>AA (g kg<sup>-1</sup> fw)</b>							
Control	1.47 ± 0.03 <sup>A</sup>	1.27 ± 0.04 <sup>B</sup>	0.96 ± 0.05 <sup>B</sup>	0.90 ± 0.04 <sup>B</sup>	1.00 ± 0.10 <sup>AB</sup>	1.01 ± 0.12 <sup>AB</sup>	0.92 ± 0.05 <sup>B</sup>
Boiling	0.66 ± 0.08 <sup>A</sup>	0.57 ± 0.02 <sup>AB</sup>	0.36 ± 0.08 <sup>BC</sup>	0.14 ± 0.03 <sup>C</sup>	0.13 ± 0.01 <sup>C</sup>	0.14 ± 0.01 <sup>B</sup>	0.19 ± 0.08 <sup>AB</sup>
LP steaming	0.98 ± 0.05 <sup>A</sup>	0.62 ± 0.03 <sup>AB</sup>	0.36 ± 0.03 <sup>BC</sup>	0.16 ± 0.01 <sup>BC</sup>	0.22 ± 0.04 <sup>BC</sup>	0.15 ± 0.01 <sup>BC</sup>	0.10 ± 0.01 <sup>C</sup>
HP steaming	0.99 ± 0.05 <sup>A</sup>	0.63 ± 0.01 <sup>AB</sup>	0.30 ± 0.06 <sup>BC</sup>	0.17 ± 0.02 <sup>BC</sup>	0.16 ± 0.05 <sup>BC</sup>	0.12 ± 0.02 <sup>C</sup>	0.10 ± 0.01 <sup>C</sup>
Sous vide	1.10 ± 0.024 <sup>A</sup>	0.98 ± 0.05 <sup>AB</sup>	0.86 ± 0.10 <sup>AB</sup>	0.82 ± 0.10 <sup>AB</sup>	0.80 ± 0.15 <sup>AB</sup>	0.72 ± 0.04 <sup>AB</sup>	0.56 ± 0.10 <sup>AB</sup>
Microwaving	0.98 ± 0.14 <sup>A</sup>	0.87 ± 0.13 <sup>AB</sup>	0.93 ± 0.19 <sup>A</sup>	0.88 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.86 ± 0.05 <sup>A</sup>	0.86 ± 0.07 <sup>A</sup>	0.83 ± 0.15 <sup>A</sup>
Sous vide-MW	1.15 ± 0.17 <sup>A</sup>	0.46 ± 0.5 <sup>B</sup>	0.30 ± 0.09 <sup>B</sup>	0.15 ± 0.03 <sup>B</sup>	0.20 ± 0.06 <sup>B</sup>	0.14 ± 0.01 <sup>B</sup>	0.10 ± 0.01 <sup>B</sup>
Grilled	0.62 ± 0.03 <sup>A</sup>	0.44 ± 0.07 <sup>B</sup>	0.25 ± 0.13 <sup>C</sup>	0.12 ± 0.01 <sup>B</sup>	0.17 ± 0.02 <sup>AB</sup>	0.14 ± 0.02 <sup>AB</sup>	0.12 ± 0.03 <sup>BC</sup>
<b>DHA (g kg<sup>-1</sup> fw)</b>							
Control	0.23 ± 0.03 <sup>A</sup>	0.12 ± 0.03 <sup>A</sup>	0.10 ± 0.05 <sup>A</sup>	0.10 ± 0.05 <sup>A</sup>	0.15 ± 0.05 <sup>A</sup>	0.11 ± 0.02 <sup>A</sup>	0.14 ± 0.04 <sup>A</sup>
Boiling	0.00 ± 0.00 <sup>A</sup>	0.01 ± 0.00 <sup>A</sup>	0.02 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.08 ± 0.00 <sup>A</sup>	0.05 ± 0.03 <sup>A</sup>	0.04 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.01 ± 0.00 <sup>A</sup>
LP steaming	0.05 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.08 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.11 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.10 ± 0.00 <sup>A</sup>	0.06 ± 0.02 <sup>A</sup>	0.05 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>A</sup>
HP steaming	0.06 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.08 ± 0.00 <sup>A</sup>	0.09 ± 0.02 <sup>A</sup>	0.09 ± 0.00 <sup>A</sup>	0.07 ± 0.02 <sup>A</sup>	0.04 ± 0.00 <sup>A</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>A</sup>
Sous vide	0.01 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.05 ± 0.03 <sup>A</sup>	0.02 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.07 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.06 ± 0.00 <sup>A</sup>	0.05 ± 0.00 <sup>A</sup>	0.03 ± 0.03 <sup>A</sup>
Microwaving	0.10 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.02 ± 0.00 <sup>A</sup>	0.02 ± 0.00 <sup>A</sup>	0.08 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.10 ± 0.04 <sup>A</sup>	0.07 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.02 ± 0.02 <sup>A</sup>
Sous vide-MW	0.01 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.08 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.04 ± 0.04 <sup>A</sup>	0.05 ± 0.01 <sup>A</sup>	0.06 ± 0.02 <sup>A</sup>	0.05 ± 0.00 <sup>A</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>A</sup>
Grilled	0.30 ± 0.03 <sup>A</sup>	0.20 ± 0.01 <sup>AB</sup>	0.08 ± 0.02 <sup>AB</sup>	0.07 ± 0.02 <sup>AB</sup>	0.06 ± 0.02 <sup>AB</sup>	0.04 ± 0.00 <sup>B</sup>	0.03 ± 0.02 <sup>B</sup>

- Nota.** a) Boiling (ebullición): brócoli se hierve en una olla abierta con agua hirviendo a 100 °C durante 3,5 min.  
b) LP steaming (Baja presión de vapor): brócoli durante (5 min.) con vapor de Agua a 100 °C en un autoclave industrial con la válvula de presión abierta con el fin de cocinar al vapor (0,02 MPa).  
c) HP steaming (Alta presión de vapor): el brócoli fue colocado en varias capas de una canasta de acero inoxidable y el vapor caliente (2 min.) en el autoclave industrial (0,1 MPa).  
d) Sous Vide: El brócoli se coloca dentro de bolsas de polipropileno vacío estéril (PP) y envasados al vacío. Después el brócoli fue colocado en distintas capas de una canasta de acero inoxidable. Cuando el agua de cocción autoclave alcanzó 90°C la cesta se sumergió durante 15 min. Después de la cocción, brócoli se enfrió rápidamente hasta unos 20°C en un baño de agua-hielo (0°C).  
e) Microwaving – MW (Microondas): El brócoli se colocó dentro de bolsas de vacío especiales estériles y se trató durante 2,5 minutos en un microondas industrial. Después las bolsas se sellaron bajo una atmósfera de N<sub>2</sub> usando la cámara de vacío.  
f) Sous vide - MW: brócoli fue empacada al vacío en bolsas de PP y microondas durante 2,5 minutos. El enfriamiento se lleva a cabo de una manera similar como para el tratamiento sous vide.  
g) Grilled (Asar): Las muestras fueron asados a la parrilla durante 3 minutos a 280 - 300°C (1 minuto por cada lado y 1 min adicional girando constantemente sobre la placa de cocción).  
Fuente: Martínez-Hernández, Gines B., Artes-Hernandez, F., Gomez, P. A. & Artes, F. (2013). Induced changes in bioactive compounds of kailan-hybrid broccoli after innovative processing and storage. *Journal of Functional Foods*. (5) Pp. 133-143

En la Tabla 7, se muestra que después de 45 días de almacenamiento, el orden total de la disminución de vitamina C (Ácido ascórbico) (en comparación con sus valores respectivos en el día de elaboración) fue sous vide-MW (91,5%) > LP vapor > HP vapor > asar a la parrilla > ebullición > sous vide > microwaving (21,1%). De lo anterior disminuyen los tratamientos en microondas y sous vide inducen las mejores retenciones de vitamina C (Ácido ascórbico). Este resultado se puede explicar por el corto tiempo de cocción, mientras que el envasado al vacío de sous vide y sous vide-MW probablemente

al forzar los líquidos intracelular ocasionan fugas y la interrupción de la matriz, lo que resulta en un contacto más fácil entre Ácido L-Ascórbico (L-AA) y las enzimas oxidativas [Martínez, *et al.*, 2013].

En la literatura en su mayoría se declara que el Ácido L-Ascórbico (L-AA) es sensible al calor, soluble en agua y propensa a la degradación bajo la influencias de diferentes pH, temperatura, concentración de oxígeno, catalizadores de metales, enzimas y la lixiviación, por lo tanto, conduce a la degradación de la vitamina C (Ácido ascórbico) a elevada temperaturas [Leong & Oey, 2012].

“Por el contrario, las muestras liofilizadas principalmente como muestra una menor cantidad de fitoquímicos, en comparación con fresca, congelada y calentada productos básicos” [Leong & Oey, 2012]. Básicamente, “la liofilización es la combinación de la deshidratación y la congelación, es decir, la deshidratación de la muestras por la congelación del agua inmovilizada en hielo y luego la eliminación de los cristales de hielo a través de la sublimación en vapor” [Leong & Oey, 2012].

Mientras la liofilización es incapaz de inactivar todas las enzimas, es eficaz en la preservación de las cualidades sensoriales y nutricionales. Por lo general, hay una pérdida mínima de vitamina C (Ácido ascórbico) pero hay una extensa reducción de agua durante la liofilización, igualmente se forma la estructura porosa frágil en el producto final. La sublimación del hielo a vapor causado por secado en la muestra en rodajas ocasiona una textura abierta y porosa. [Leong & Oey, 2012].

#### **1.9.4 Compuestos de interés del brócoli relacionado con el ácido ascórbico.**

“De acuerdo a la revisión bibliográfica, se ha identificado que el brócoli posee el mayor contenido de ácido ascórbico (L-AA), de 100 gramos comestibles presenta 120 mg en promedio, es el antioxidante hidrosoluble más abundante encontrado en plantas” [Chacón, 2010]., por lo tanto, esta es una de las sustancias bioactivas de mayor interés en el contexto de las investigaciones de las crucíferas, tal es el caso que se ha

determinado las condiciones óptimas de almacenamiento para evitar la degradación de ácido L-ascórbico (L-AA) en brócoli (-3.02°C con 9.43 días y con 3.77% de área de intercambio gaseoso) [Zambrano, Maffei, Valera, Materano & Quintero, 2011], “otros trabajos presentan resultados que relacionan el contenido de ácido L-ascórbico (L-AA) con la velocidad de respiración durante el almacenamiento; la senescencia de floretes del brócoli, esta relacionadas con la cantidad de peróxidos formados por proceso de oxidación” [Techavuthiporn, Nakano & Maezawa, 2008].

Evaluar la estabilidad de ácido L-ascórbico (L-AA), implica modificar, evitar, inhibir o inactivar las rutas metabólicas implicadas en la degradación de este compuesto, por ejemplo, la oxidación enzimática y no enzimática del ácido L-ascórbico (L-AA) a ácido dehidroascórbico (ADHA), aunque biológicamente activo puede seguir degradándose en ácido 2,3-cetogulónico, que es biológicamente inactivo, lo que conduce a relacionar que la medición del contenido de ácido L-ascórbico (L-AA), ácido dehidroascórbico (ADHA) y la suma de ácido L-ascórbico (L-AA) + ácido dehidroascórbico (ADHA) = (vitamina C), debe emplear técnicas analíticas de alta sensibilidad como cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), método que ha sido optimizado mediante el uso de ácido metafosfórico, para inactivar la ascorbato oxidasa [Chebrolu, Jayaprakasha & Sun Yoo, 2012].

La concentración de ácido ascórbico también puede ser determinada de varias formas incluyendo métodos electroquímicos, espectrofotométricos, espectrofluorométricos y cromatográficos. Sin embargo, los métodos de cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAE) tienen algunas ventajas con respecto a la especificidad, sensibilidad y fácil operación [Novaková, Solich & Solichová, 2008]. “A pesar de que los detectores UV generalmente se incluyen en los sistemas de CLAE y que son más simples y rápidos que otros, tan sólo algunos métodos se han validado para ser utilizados en la determinación de la vitamina C en alimentos” [Ledezma, 2004]. “El ácido L-ascórbico (L-AA) puede ser fácilmente detectado por radiación ultravioleta en longitudes de onda entre (245 y 254) nm. La mayoría de los métodos que usan detección

UV determinan ácido L-ascórbico (L-AA) sin ácido dehidroascórbico (ADA), debido a las pobres propiedades de absorción UV del (ADA)” [Novaková, *et al.*, 2008].

La HPLC es muy costosa, por lo que se emplean técnicas que relaciona métodos volumétricos como el 2,6-diclorofenolindol, espectrofotométricas, usando como agentes reductores 2,4 dinitrofenilhidrazina y 2,2-biquinolína o cuproína, pero estos métodos solo dan el contenido de ácido L-ascórbico (L-AA) [Robinson, 1991].

La aplicación o el diseño de nuevas tecnología que involucren otras ramas de la ciencias biológicas podrían ayudar a mejorar los métodos de conservación para mantener las condiciones de frescura el contenido de ácido L-ascórbico (L-AA), se sabe que en vegetales antes de la cosecha, el ácido dehidroascórbico (ADHA) es nuevamente reducido a ácido L-ascórbico (L-AA) por acción de la enzima glutatión Ascorbato [Espinal, 2010]; “para el caso específico del brócoli, se ha identificado que en seis (6) semanas de almacenamiento se reduce la acción de la glutatión ascorbato, encontrándose altos niveles de ácido dehidroascórbico (ADHA) en muestras durante cuatro (4) días a 20°C” [Koh, Wimalasiri, Chassy & Mitchell, 2009].

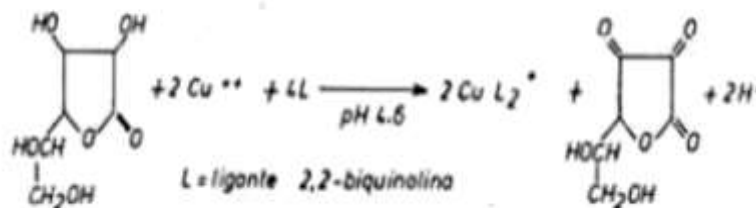
Las condiciones del cultivo también afecta el contenido de ácido L-ascórbico (L-AA) en brócoli (temperatura y radiación solar), Si la T° ambiente y del cultivo es de 15-20°C con radiación media, el contenido de ácido L-ascórbico (L-AA) decrece hasta un 38% comparado cuando crece a T° entre 7-12°C, hay un efecto predominante de la T° sobre el contenido de ácido L-ascórbico (L-AA) a bajas T° (2-3°C), en algunas variedades de brócoli el contenido de ácido L-ascórbico (L-AA) incrementó [Schonhof, Kläring & Krumbein, 2007].

#### ***1.9.4.1 Técnica por reducción de iones cúprico para determinar ácido L-ascórbico.***

La mayoría de los métodos para la determinación química del ácido ascórbico se fundamenta en su eficiencia como agente reductor. Sin duda, en los sistemas alimentarios, esta propiedad no es únicamente del ácido ascórbico. Por eso, la

determinación de ácido ascórbico por reducción de iones cúprico requiere un conocimiento profundo de la interferencia y una cuidadosa estandarización. Entre tanto, esta reacción de óxido-reducción son simples y representan una alta sensibilidad [Contreras, Strong & Guernelli, 1984].

La bibliografía sobre la oxidación aeróbica del ácido ascórbico catalizada por iones cúprico es numerosa y permite establecer que en medios de pH bajos, un mol de ácido ascórbico reduce dos equivalentes de  $\text{Cu}^{++}$ , oxidándose a ácido deshidroascórbico y generando agua oxigenada, esta reacción se observa en la Figura 13. En medios a pH siete (7) o superior, un mol de ácido ascórbico puede reducir a cuatro moles, originando ácido oxálico, anhídrido carbónico, ácido hidroxipirúvico, glicólico y otros compuestos [Contreras, et al., 1984].



**Figura 13. Reacción del ácido ascórbico por reducción de iones cúprico y complejo de ion cuproso producido por 2,2-biquinolona (cuproína).**

Fuente: Contreras, E., Strong, F. & Guernelli, O. (1984). Determinación de ácido ascórbico (vitamina C) por reducción de iones cúpricos. *Química Nova*, pp. 60-64.

Es sorprendente que esta gran reactividad entre el ácido ascórbico e iones cúpricos no han sido aprovechadas como método analítico para la determinación de vitamina C (Ácido ascórbico). Sin embargo, la literatura informa el caso contrario, es decir, la determinación de iones cúprico después de la reducción previa con ácido ascórbico. El mayor problema es la falta de reducción específica de los iones  $\text{Cu}^{++}$ , que no solo reaccionan con el ácido ascórbico sino también con la cisteína y compuestos sulfidrilos en general, fenoles, proteínas, azúcares, terpenoides, antocianinas y otros compuestos normalmente presentes en los extractos de tejidos vegetales y animales. La posibilidad de utilizar las propiedades de reducir de  $\text{Cu}^{++}$  por el ácido ascórbico, depende entonces de aplicación de dispositivos para eliminar la interferencia [Contreras, et al., 1984].



### **1.10 Actividad de la Peroxidasa (POD)**

Las peroxidases (EC 1.11.1.7) son unas enzimas, pertenecen a la clasificación enzimática de las oxidoreductasas, ampliamente distribuidas en los reinos animal y vegetal, que catalizan la oxidación de una gran variedad de sustratos orgánicos e inorgánicos, utilizando el peróxido de hidrógeno o un hidroperóxido orgánico como molécula aceptora de electrones [Sánchez, 1999]. “Las enzimas peroxidases son comúnmente utilizadas como indicadores del tratamiento térmico del proceso de escaldado, ya que la desactivación de estas enzimas lleva consigo un aumento de la vida útil del vegetal procesado” [“Revisión bibliográfica. Escaldado”, 2000].

Se encuentra presente en animales, plantas y microorganismos. En las plantas localizada en la célula parcialmente en forma soluble y en el citoplasma de manera insoluble. La fracción de Peroxidasa (POD) soluble, puede ser extraída de tejidos homogenizados con un buffer de fuerza iónica baja.

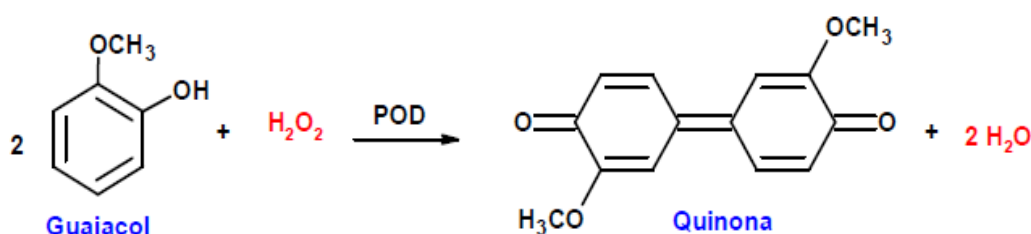
Se tiene conocimiento que las peroxidases son enzimas ubicuas que efectúan diversas funciones bioquímicas en las plantas superiores. Se involucran en la biogénesis del etileno, en la oxidación del ácido inol-acético, la degradación de clorofilas, la lignificación, la obscuridad de los tejidos y en las respuestas a los esfuerzos a que son sometidas. La actividad de este grupo de enzimas es estimulada por la exposición del etileno y por perturbaciones mecánicas [“Revisión bibliográfica. Escaldado”, 2000].

#### **1.10.1 Mecanismo de acción.**

“La peroxidasa es una enzima oxidoreductasa que cataliza reacciones usando oxígeno o peróxido como aceptor de hidrógeno” [Ben-Aziz, Grossman, Ascarelli & Budowski, 1970] y “los mecanismos de acción de la Peroxidasa están basados en la formación de un complejo enzima - donante de hidrógeno” [Altunkaya, *et al.*, 2008].

“Cataliza la reacción de ciertos fenoles (guayacol, pirogalol) y aminas aromáticas (o-fenilendiamina) por medio de peróxidos ( $H_2O_2$ ). El sustrato oxidable más

usado es el guaiacol, que es oxidado a un complejo coloreado de tetraguaiacol en presencia de peróxido” [Whitaker, 1972]. “La velocidad de formación del color rojo ladrillo puede ser utilizada como medida de la actividad enzimática por lecturas espectrofotométricas de las absorbancias con relación al tiempo” [Schmidt & Pennacchiotti, 2011]. “El color de aspecto pardusco, obtenido del producto de la oxidación en las reacciones antes mencionadas, sirve como base para la estimación colorimétrica de la actividad enzimática de las Peroxidasas” [Zambrano, *et al.*, 2011]. Como se observa en la siguiente reacción, en la Figura 14.



**Figura 14. Reacción de la Peroxidasas. Oxidación de fenoles (guaiacol) hasta la quinona y reducción del  $\text{H}_2\text{O}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$  por acción de la POD**

Fuente: Altunkaya, A. & Gokmen, V. (2008). Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). *Food Chemistry*. 107: 1173- 1179.

La actividad de la peroxidasa es ampliamente utilizada como indicador universal en un escaldado adecuado para frutas y hortalizas, debido a que es la enzima más estable térmicamente en las plantas. Las enzimas varían ampliamente en cuanto a su resistencia a la inactivación térmica. Las peroxidasas en los vegetales son particularmente estables y pueden llegar a soportar por algunos minutos altas temperaturas hasta de  $120^\circ\text{C}$ , sin perder por completo su actividad. La velocidad de inactivación térmica depende también del pH, la fuerza iónica y el estado físico de la enzima en el alimento [Zambrano, *et al.*, 2011].

“El calentamiento para completar la destrucción de peroxidasas es más que suficiente para destruir las enzimas directamente responsables de la pérdida de calidad en los productos. Sin embargo, hay estudios que demuestran que se obtienen hortalizas escaldadas de mejor calidad si se deja algo de actividad residual de Peroxidasas” [Bottcher, 1975], que la completa ausencia de “actividad de Peroxidasas indicaba sobre-

escaldado y que para obtener productos de mejor calidad, recomendaba escaldar hasta los siguientes porcentajes de actividad de Peroxidasa residual: chicharos de 2 – 6.3%; coliflor 2.9 – 8.2% y col de brúcelas de 7.5 – 11.5%” [Zambrano, *et al.*, 2011].

### **1.10.2 Factores que afectan la actividad enzimática.**

“Como la mayoría de las enzimas, la Peroxidasa puede ser inactivada por el calor, siendo una de las que precisan mayor temperatura y más tiempo para su inactivación. Posee, además, la propiedad peculiar de la *regeneración enzimática*” [Fennema, 2006]. Este fenómeno consiste en que al inactivarla por medio del calor recupera parcialmente su actividad después de un cierto tiempo. Esto ha sido explicado, aduciendo que la fracción proteica de la enzima sufre una desnaturalización sólo parcial, con pérdida de su estructura terciaria, si el calor se aplica un tiempo muy corto, produciéndose luego una reversión de la proteína a su estado normal por recombinación de sus grupos hidrógenos o sulfhidrúlicos [Fennema, 2006]. “Este efecto del calor sobre la actividad peroxidásica es muy importante en la industria de alimentos y la regeneración enzimática de la Peroxidasa puede causar serios problemas en los caracteres organolépticos” [Fennema, 2006].

La actividad enzimática puede ser regulada controlando ciertas condiciones tales como efectos de la concentración del sustrato [Al- Obaidy, & Siddiqi, 1981] [Jiménez, 1993], concentración de la enzima [Toledo, 1991], temperatura [Chandia, 2000], tiempo de reacción, efecto del pH [“Revisión bibliográfica. Escaldado”, 2000], efecto de la humedad [Schmidt-Hebbel, & Pennacchiotti, 1982], iones y fuerza iónica [Segel, 1976], radiaciones ionizantes, fuerzas cizallantes, presión y efecto de interfase. La estabilidad de las enzimas está relacionada a la estructura enzimática y a factores microambientales [Adams, 1991].

### **1.10.3 Cinética de desactivación térmica.**

Las enzimas, al ser proteínas, se desnaturalizan con tratamientos térmicos, cumpliéndose uno de los objetivos primordiales del escaldado. La desactivación de las

enzimas por tratamientos térmicos se debe a una ruptura de las fuerzas que mantienen la estructura terciaria (pocas enzimas están activas a más de 60°C y muchas de ellas ya se alteran a 40– 50°C). La misma ecuación de Arrhenius utilizada para determinar la energía de activación de las reacciones enzimáticas se utiliza para determinar la "energía de activación de la desactivación térmica" [Schonhof *et. al.*, 2007].

#### ***1.10.3.1 Peroxidasa en otros alimentos.***

“La Peroxidasa es una de las enzimas más termoestables de las plantas y bajo ciertas condiciones de tratamiento con calor puede retener la actividad durante el almacenaje” [Lee, *et al.*, 1984]. Estos autores al estudiar la Peroxidasa de coliflor determinaron que la temperatura óptima era de 40°C y que la actividad disminuía drásticamente a temperaturas superiores hasta llegar al 50% a 48 °C y aproximadamente 0% a 60 °C, por lo que llegaron a la conclusión de que la enzima de la coliflor es termolábil.

“El estudio de la inactivación térmica de la Peroxidasa de remolacha indica que la enzima es estable a 50°C y solo un 5% de la actividad se reduce después de 30 minutos” [Rudrappa, *et al.*, 2005]. La peroxidasa de alcachofa es estable a temperaturas de 65°C aproximadamente durante más de 24 horas [Rodríguez-López, *et al.*, 2002]. La Peroxidasa de nabo cuando se calienta a 60°C durante 25 minutos, retiene aproximadamente el 90 % de su actividad original, incluso después de un tratamiento más drástico (80° C, 25 minutos) muestra actividad.

De acuerdo con estos resultados la enzima con actividad Peroxidasa de nabo parece ser más termorresistente que la peroxidasa purificada de col de Bruselas, así como preparaciones comerciales de peroxidasa de rábano picante, las cuales son totalmente inactivadas después de 10 minutos de calentamiento a 80 °C [García, *et al.*, 2003].

La Peroxidasa (POD) podría estar implicada en la degradación de la clorofila. Funamoto, *et al.*, (2004) reportaron que “la actividad Peroxidasa (POD) aumentó

notablemente durante el amarillento de brócoli”. En este estudio, la actividad de Peroxidasa (POD) ya sea el brócoli no tratados por calor o el brócoli se trató con agua caliente durante 1 min se incrementó rápidamente y mantiene más los niveles, mientras que el brócoli se trató con agua caliente para 4 o 8 min mostrando un aumento relativamente menor en la actividad de peroxidasa (POD).

Por otra parte, se observó la actividad más baja de Peroxidasa (POD) (1,0 unidad / g de peso fresco), con el más alto contenido de clorofila (100%), antes del tratamiento térmico, y la actividad más alta de peroxidasa (POD) (24,3 unidad / g), con el menor contenido de clorofila (57,3%), se encontró en el brócoli no tratados por calor después de 16 días de almacenamiento a 12 °C. Por lo tanto, los tratamientos térmicos inhiben notablemente la clorofila que degrada la actividad (POD) y reducen la pérdida de la concentración de clorofila [Dong, *et al.*, 2004].

#### **1.10.4 Relación del escaldado con la actividad peroxidasa y el ácido ascórbico.**

Típicamente, “el escaldado se lleva a cabo mediante el tratamiento de las verduras con vapor o agua caliente entre 1 y 10 minutos y a 75 - 95 °C, el tiempo / combinación de temperatura en función del tipo de vegetal” [Cano, 1996]. El escaldado de los alimentos requiere calentamiento suave en agua. “El escaldado puede tener un efecto negativo en nutrientes tales como vitaminas y compuestos fenólicos que son relativamente inestables cuando se somete a tratamientos térmicos” [Prochaska *et al.*, 2000]. Aparte del procesamiento, “las condiciones de almacenamiento y la cocción doméstica y preparación tiene un efecto significativo sobre fitoquímicos tales como ácido ascórbico y fenoles” [Patras, Tiwari & Brunton, 2011].

Los métodos tradicionales de conservación de vegetales están siendo optimizados, por ejemplo, el escaldado, procedimiento eficiente para inactivar enzimas que causan pardeamiento, pérdida de la textura y decoloración de pigmentos. Para el brócoli, la inactivación de enzimas con actividad peroxidasa (POD) como la Ascorbato Peroxidasa (APx), resulta de gran importancia, ya que esta (APx) degrada el ácido L-

ascórbico (L-AA) [Munyaka, 2010]. Algunos vegetales tienen peroxidasas (POD) termoresistentes, tal es el caso de “la peroxidasa (POD) de la remolacha roja; para inactivarla se ha propuesto el escaldado en microondas, técnica en fase de experimentación” [Latorre, Ronelli & Rojas, 2012] también sobre brócoli, se ha desarrollado esta técnica [Chaparro, Díaz & Paredes, 2011].

Las nuevas tecnología para la inactivación de la peroxidasa (POD) se relacionan con la combinación de escaldado y ultrasonido, este sistema se ha disminuido hasta un 50% la actividad peroxidasa (POD) en el extracto de tomate [Sahin & Soysal, 2011]. La eficacia del proceso de escaldado ha sido determinada experimentalmente por la desactivación parcial o total de las isoenzimas Peroxidasa, trabajando con altas temperaturas y bajos tiempos [Gallardo, 2004].

La degradación del ácido L-ascórbico (L-AA) e inactivación de la peroxidasa (POD) en los espárragos escaldados están sujetos a una cinética de primer orden. La parte de la yema del espárrago se debe escaldar a un período relativamente corto de tiempo para la preservación del contenido de ácido L-ascórbico (L-AA) y la inactivación de la actividad de la peroxidasa (POD). Además, la aplicación de microondas puede ser un proceso de pre-tratamiento eficaz para usar antes del escaldado en agua para reducir la degradación del ácido L-ascórbico (L-AA) y para acelerar el inactivación de la peroxidasa (POD) y así mantener la calidad del producto [Zheng & Lu, 2011].

## 2. Justificación

Cada vez más el consumidor demanda productos con mayor calidad, tanto desde un punto de vista sensorial como también nutricional. No sólo se busca que el alimento realice funciones nutricionales, sino también pueda aportar beneficios para la salud e incluso prevenir enfermedades. Dentro de los alimentos más demandados en la actualidad, están las frutas y hortalizas y dentro de estas últimas los vegetales de la familia de las Brassicas como el brócoli. Este vegetal se destaca por ser beneficioso para la salud, debido a su contenido de vitaminas, especialmente las que actúan como antioxidantes (ácido ascórbico). Además es importante por la presencia de enzimas (peroxidasas) responsables de la decoloración (perdida de clorofila) que ocasionan cambios en la frescura del vegetal.

Este proyecto de investigación determina el contenido de los compuestos químicos (Peroxidasas) y nutricionales (Ácido L-ascórbico) en el proceso de liofilización, con y sin pre-tratamiento (escaldado al vapor) en la variedad de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*). En el estudio de la composición funcional es necesario disponer de métodos analíticos apropiados, de elevada sensibilidad y selectividad, de forma que sea posible identificar y determinar de forma exacta el contenido de los diferentes compuestos (Peroxidasas y ácido L-ascórbico) presentes. Por lo tanto, en este proyecto se hace necesario establecer métodos analíticos del tipo espectrométricos, que permite la identificación y cuantificación los compuestos funcionales. Por otra parte, estudiar el comportamiento del brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) en el proceso de liofilización en relación con el pre-tratamiento (escaldado al vapor) ajustado con el modelo matemático URIF, el cual permite establecer el comportamiento de los datos experimentales.

Con el fin de aumentar la competitividad en el mercado nacional e internacional, se busca implementar alternativas previas al proceso de liofilización, que conserve la calidad sensorial y nutricional de los alimentos especialmente de los vegetales como el brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) para poder ofrecer al consumidor productos deshidratados de mejor calidad.

### 3. Planteamiento del Problema

Esta investigación propone los siguientes planteamientos:

¿La validación de las curvas de fracción de agua retirada (g H<sub>2</sub>O/100 g s.s) por unidad de tiempo en cada uno de los tratamientos permite determinar la cinética del proceso de liofilización en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*)?

¿La validación matemática (modelo URIF) en la determinación del porcentaje de agua retirada por unidad de tiempo (cinética) permite establecer los tiempos, humedad finales y parámetros de transferencia de masa (espesor de capa seca, difusividad, concentración de vapor de agua) para optimizar el proceso de liofilización en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*)?

¿El proceso de liofilización teniendo como pretratamiento el escaldado al vapor puede llegar a modificar el contenido de Ácido L - Ascórbico y actividad Peroxidasa en los floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*)?



## 4. Objetivos

### 4.1 Objetivo General

Determinar la cinética de liofilización en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) y evaluar el contenido de Acido L - Ascórbico (L-AA) y Actividad Peroxidasa (POD).

### 4.2 Objetivos Específicos

Caracterizar física y químicamente los floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) en estado fresco, en relación al contenido de humedad, pH, acidez, Ácido Ascórbico y actividad Peroxidasa.

Determinar la fracción de masa seca por unidad de tiempo (g H<sub>2</sub>O/g s.s) en las muestra de floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) Sometidas a liofilización.

Determinar la fracción de agua sublimada por unidad de tiempo (g H<sub>2</sub>O/100 g s.s) en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) sometidas a liofilización.

Analizar los fenómenos de transporte (transferencia de masa) en relación a  $D_{AB}$  y  $C_{AS}$  del proceso de liofilización en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*).

Validar los datos experimentales del procesos de liofilización con el modelo matemático URIF para determinar: espesor de la capa seca, difusividad y cantidad de agua retirada del proceso de liofilización en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*).

Determinar el contenido de Ácido L – Ascórbico (L-AA) por el método espectrofotométrico con 2,2 biquinolína o cuproína a las muestras de floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) sometidas al proceso de liofilización.

Determinar la Actividad Peroxidasa (POD) a partir de la medición del tetraguayacol a 470 nm a las muestras de floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) sometidas al proceso de liofilización.

## 5. Metodología

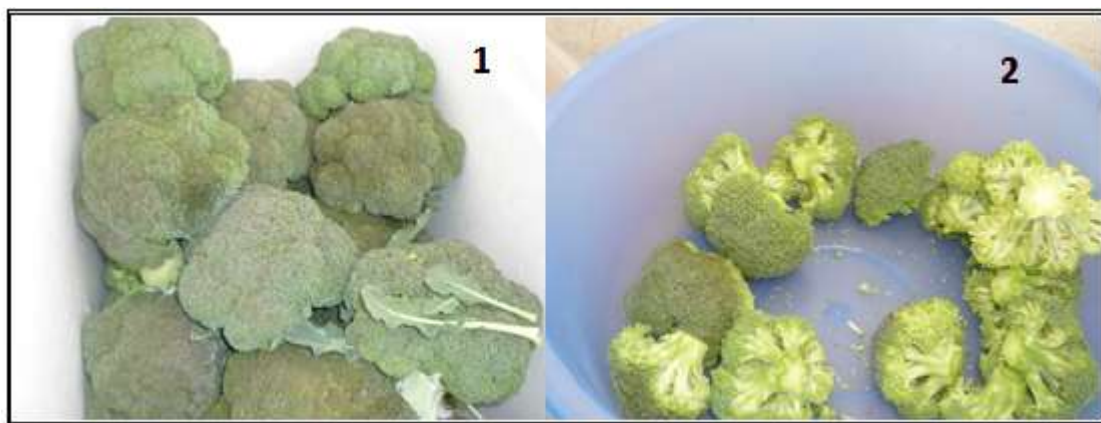
### 5.1 Lugar de Ejecución

Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. Facultad de Zootecnia. Edificio de Posgrados. Laboratorio de Nutrición de rumiantes y en la Universidad Nacional Abierta y a Distancia. CEAD Duitama, Boyacá, Colombia. Laboratorio de Química.

### 5.2 Materiales y Métodos

#### 5.2.1 Obtención de Materia Prima.

Se empleó brócoli (*Brassica oleracea L*, var. *Legacy*), proveniente del municipio de Duitama, Boyacá, Colombia; cultivada en una finca cercana al municipio. En la Figura 15, se observa el brócoli (inflorescencia cosechadas de una planta individual y compuesta por muchos floretes individuales) fue recolectada directamente de la finca con 132 días de crecimiento, en estado de maduración óptimo. Fue transportado y manteniendo una temperatura de  $4 \pm 5$  °C por 18 horas.



**Figura 15. Materia prima Brócoli.**

(1) Pellas de *Brassica oleracea L*, var. *Legacy* (2), Floretes de *Brassica oleracea L*, var. *Legacy*

Fuente: La autora, 2013

### 5.2.2 Caracterización fisicoquímica de la Materia Prima.

Con el fin de determinar las características fisicoquímicas se empleó floretes de brócoli (*Brassica oleracea L*, var. *Legacy*), en estado fresco, se realizó:

Determinación de acidez titulable total: expresada en ácido cítrico, determinado mediante método adaptado de la A.O.A.C. 31.231/84.942.15 / 1990., pH: Determinado mediante método adaptado de la A.O.A.C.10.84 /1984., Porcentaje de humedad: Determinada mediante pérdida de peso a cápsula abierta. Método de la A.O.A.C. (1984).

En la Figura 16, se observa los diferentes parámetros fisicoquímicos realizados, igualmente en el Anexo 1, se describen los protocolos de laboratorio para cada determinación.



**Figura 16. Caracterización Físicoquímica de la materia prima.**

(1) Determinación de pH, (2) Determinación de Acidez total, (3) Preparación de la muestra para determinación de Humedad, (4) Determinación de Humedad.

Fuente: La autora, 2013

### 5.2.3 Tratamientos.

En esta experimentación para la determinación de Acido L-Ascórbico y Actividad Peroxidasa se trabajaron los siguientes tratamientos: En el tratamiento brócoli fresco (BF) se empleó muestras frescas (sin pretratamiento), en el tratamiento brócoli

escaldado (BE) se sometió las muestras previamente a un pretratamiento de escaldado al vapor, en el tratamiento brócoli liofilizado (BL) se empleó muestras frescas (sin pretratamiento) y luego se aplicó el proceso de liofilización y en el tratamiento combinado escaldado-liofilizado (BEL) se empleó muestras sometidas a un pretratamiento de escaldado al vapor y luego se aplicó el proceso de liofilización.

Para la determinación de la cinética de liofilización se aplicó los dos últimos tratamientos: El tratamiento brócoli liofilizado (BL) y el tratamiento combinado escaldado-liofilizado (BEL).

### **5.2.3.1 Fase I: Acondicionamiento de la muestra – Floretes de brócoli fresco.**

Se eliminó las sustancias extrañas presentes, se realizó selección, clasificación, lavado y corte utilizando floretes de brócoli (*Brassica oleracea L*, var. *Legacy*), tomados de los ápices laterales externos con las siguientes especificaciones: longitud 3.0 cm desde la yemas florales hasta el tallo y 4.0 cm correspondiente al ancho del florete [Howard, Wong, Perry & Klein, 1999], basado también en la tesis de Alfaro (2008). El proceso se describe en el Anexo 2 y se representa en la Figura 17. El procedimiento se realizó para todos los tratamientos.



**Figura 17. Acondicionamiento de la materia prima.**

Fuente: La autora, 2013

### 5.2.3.2 Fase 2: Pretratamiento - Floretes de brócoli escaldado al vapor.

El “pretratamiento escaldado al vapor a una temperatura de  $90\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 2 minutos” [Howard, Wong, Perry & Klein, 1999] [Murcia, López, Martínez, Vera & García, 2000]. “Mediante esta operación de escaldado y posterior enfriado, se consigue destruir o inhibir la acción de las enzimas como la Peroxidasa (POD), que alteran el color, sabor y textura de las verduras frescas; igualmente eliminar la mayor parte del aire que contienen los tejidos vegetales” [Howard, *et al.*, 1999]. Este proceso se describe en el Anexo 3 y en la Figura 18 se representa el procedimiento de escaldado al vapor.

Este procedimiento se realizó para el tratamiento brócoli escaldado (BE) y en el tratamiento combinado escaldado-liofilizado (BEL).



**Figura 18. Procedimiento de escaldado al vapor**

Fuente: La autora, 2013

## **5.2.4 Secado por liofilización.**

### ***5.2.4.1 Etapa 1 - Proceso de congelación de las muestras.***

Para la congelación de los floretes de brócoli (*Brassica oleracea L*, var. *Legacy*), se estableció una muestra de floretes de brócoli fresco y muestra de floretes de brócoli escaldado al vapor, se pesó 20 gramos de cada una de las muestras, se adiciono cuidadosamente esta cantidad en los frascos de vidrio ámbar de fondo redondo, que luego se llevó a un congelador comercial marca General Electric. Las muestras permanecieron en congelación por 12 horas a  $-26^{\circ}\text{C}$  antes de ser sometidas al proceso de liofilización, esto con el fin de que el producto quedara totalmente congelado. Es necesario congelar el contenido de los mismos, para que haya una mayor superficie de contacto con el vacío y la baja temperatura generada por el equipo y de esta manera el proceso sea más rápido.

Este proceso se realizó en la Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. Facultad de Zootecnia. Edificio de Posgrados. Laboratorio de Nutrición de rumiantes. Se realizó para el tratamiento brócoli liofilizado (BL) y el tratamiento combinado escaldado-liofilizado (BEL).

### ***5.2.4.2 Etapa 2 - Proceso de liofilización de las muestras.***

El proceso de liofilización consiste básicamente en introducir el producto congelado en una cámara y realizarle vacío rápidamente. En el proceso de liofilización es necesario congelar el contenido de los mismos tal como se describe en el ítem 5.2.4, este proceso es con el fin de que haya una mayor superficie de contacto con el vacío y la baja temperatura generada por el equipo y de esta manera el proceso sea más rápido [Viteri & Cornejo, 1984].

El equipo que se utilizó para la liofilización del brócoli fue un liofilizador Freeze Dryer Alpha 1 – 4 LD Plus, con capacidad de 4 kilos, capacidad para retirar hasta 4 kilos en 24 horas, temperatura de condensación  $-55^{\circ}\text{C}$  aproximadamente, con una

capacidad de muestras 24 piezas. Conexión eléctrica de 230v. Además tiene una pantalla pequeña que indica el vacío en Mbar y la temperatura.

Se preparó, se limpió y se estabilizó el liofilizador. La estabilización del liofilizador duro aproximadamente 10 minutos. Después, se llevan los frascos de vidrio con las muestras congeladas, en las bandejas del liofilizador. Las variables de trabajo del equipo fueron de  $-56^{\circ}\text{C}$  y 0.021mbar. Finalmente, se dejó el equipo en funcionamiento durante 33 horas. En la Figura 19 se representa el proceso de liofilización.

Este proceso se realizó en la Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. Facultad de Zootecnia. Edificio de Posgrados. Laboratorio de Nutrición de rumiantes. Se realizó para el tratamiento brócoli liofilizado (BL) y el tratamiento combinado escaldado-liofilizado (BEL).



**Figura 19. Proceso de liofilización.**

(1) y (2) Muestras de floretes brócoli en el proceso de liofilización

(3) y (4) Muestras de floretes de brócoli liofilizado

Fuente: La autora, 2013



#### **5.2.4.3 Etapa 3 - Almacenamiento y análisis fisicoquímico de las muestras liofilizadas.**



**Figura 20. Almacenamiento de las muestras liofilizadas**

Fuente: La autora, 2013

El producto obtenido se almacena en frascos de vidrio ámbar de fondo redondo a temperatura ambiente protegidos de la luz y la humedad, durante un periodo de 90 días. Tal como se observa en la Figura 20. Luego a la muestra resultante después del proceso de liofilización, se le realizó los análisis físico-químicos (determinación de Ácido L-Ascórbico y Actividad Peroxidasa), Para ello se tomó en cuenta la reducción de peso del brócoli.

#### **5.2.4.4 Determinación de los parámetros cinéticos de la liofilización.**

Para la cinética de secado se verifico la temperatura y la presión dentro de la cámara y se inició el proceso de liofilización. Luego de 2 horas, se rompió el vacío y se establece la presión atmosférica, se pesó los frascos correspondientes al primer tiempo. En seguida se continuó el proceso y se verifico las condiciones del equipo. Este proceso se repitió cada 2 horas una muestra y se pesó inmediatamente hasta peso constante. El ciclo de liofilización termino cuando entre 2 intervalos de tiempo, la variación del peso fue menor a 0.002 Kg y la humedad final fue menor al 10% en base húmeda [Márquez & Vergara, 2009]. El tiempo de proceso de secado fue de 33 horas. Cada experimento se llevó a cabo por duplicado.

El peso de la muestra se utilizó para determinar la pérdida de agua y fue monitoreado usando una balanza electrónica de precisión, semi-micro y analítica

Sartorius con exactitud de 0.001 gramos. Se realizo para los tratamientos brócoli liofilizado (BL) y el combinado escaldado-liofilizado (BEL).

A continuación se describe el procedimiento de la metodología para la realización del Modelo Barbosa & Vega (1996) para la determinación de los parámetros cinéticos de la liofilización:

Los resultados se trataron en relación a una cinética de tercer orden (Una ecuación de tercer grado o ecuación cúbica con una incógnita es una ecuación algebraica de grado tres que se puede poner bajo la forma canónica:  $ax^3 + bx^2 + cx + d = 0$ , donde  $a$ ,  $b$ ,  $c$  y  $d$  ( $a \neq 0$ ) son números que pertenecen a un campo, el campo de los números reales o el de los números complejos, normalmente números racionales)

El coeficiente de difusividad efectiva fue determinado a partir de los resultados de secado y analizados de acuerdo con la segunda ley de Fick.

#### **La segunda Ley de Fick**

Para la difusión unidireccional en estado transitorio está dada por:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D_{ef} \frac{\partial^2 C}{\partial x^2}$$

Dónde:

C: concentración

t: tiempo

$D_{ef}$ : coeficiente de difusión efectivo o aparente

x: dimensión en la que se produce la difusión, distancia desde el centro de la placa

**Medición de la transferencia de masa.** Los dos aspectos más importantes de la transferencia de masa son: La transferencia del agua desde el interior hasta la superficie del material (espesor de la capa seca). La extracción del vapor de agua desde la superficie del material (concentración de agua sublimada en la capa seca).

La evolución de la transferencia de masa con el tiempo se midió a través de la pérdida de peso (PP); el contenido de sólidos totales (ST); la pérdida de agua (PA); la ganancia de sólidos (GS) y la concentración de los sólidos solubles en la solución (SS).

Las ecuaciones se detallan a continuación:

$$PP(\%) = \left( \frac{m_0 - m_f}{m_0} \right) \times 100$$

$m_0$  = masa inicial de muestra fresca.

$m_f$  = masa de muestra deshidratada a tiempo t

### 5.2.5 Determinación de ácido L- Ascórbico (L-AA).



**Figura 21. Proceso para la determinación de Acido L – Ascórbico**  
Fuente: La autora.

La determinación de ácido L- ascórbico (L-AA) en las muestras BF, BE, BL y BEL, se realizó por el método espectrofotométrico con 2,2-biquinolína o cuproína [Contreras, Strong & Guernelli, 1984], [Borgues & Atzingen, 2004] con algunas modificaciones, el cual se basa en la reducción de iones cúpricos; se describe el proceso en el Anexo 4 y en la Figura 21, se observa cómo se determinó de Acido L – Ascórbico.

El método para la determinación de ácido ascórbico por reducción de iones cúprico; consta inicialmente de extracción de ácido ascórbico de frutas y hortalizas con ácido metafosfórico 5% en el extracto agitando vigorosamente con un pequeño volumen de cloroformo para remover vitamina E, compuestos terpenicos, taninos u otros compuestos liposolubles con propiedades reductoras. La siguiente, una fase acuosa tamponada y agitada con un solvente orgánico (alcohol isoamílico) contiene iones cúprico o cuproína. Un complejo de color púrpura,  $[\text{Cu}(\text{cuproína})_2]^+$ , soluble en alcohol isoamílico, se evalúa espectrofotométricamente a 545 nm [Contreras & Seron, 1993]. El análisis se realizó por triplicado y el resultado se expresó en mg/100 gramos de producto.

### 5.2.6 Determinación de actividad peroxidasa (POD).



**Figura 22. Cambio de coloración en la actividad Peroxidasa.**

(1) Floretes de brócoli escaldado-lioofilizado, (2) floretes de brócoli escaldado, (3) floretes de brócoli fresco liofilizado, (4) floretes de brócoli fresco

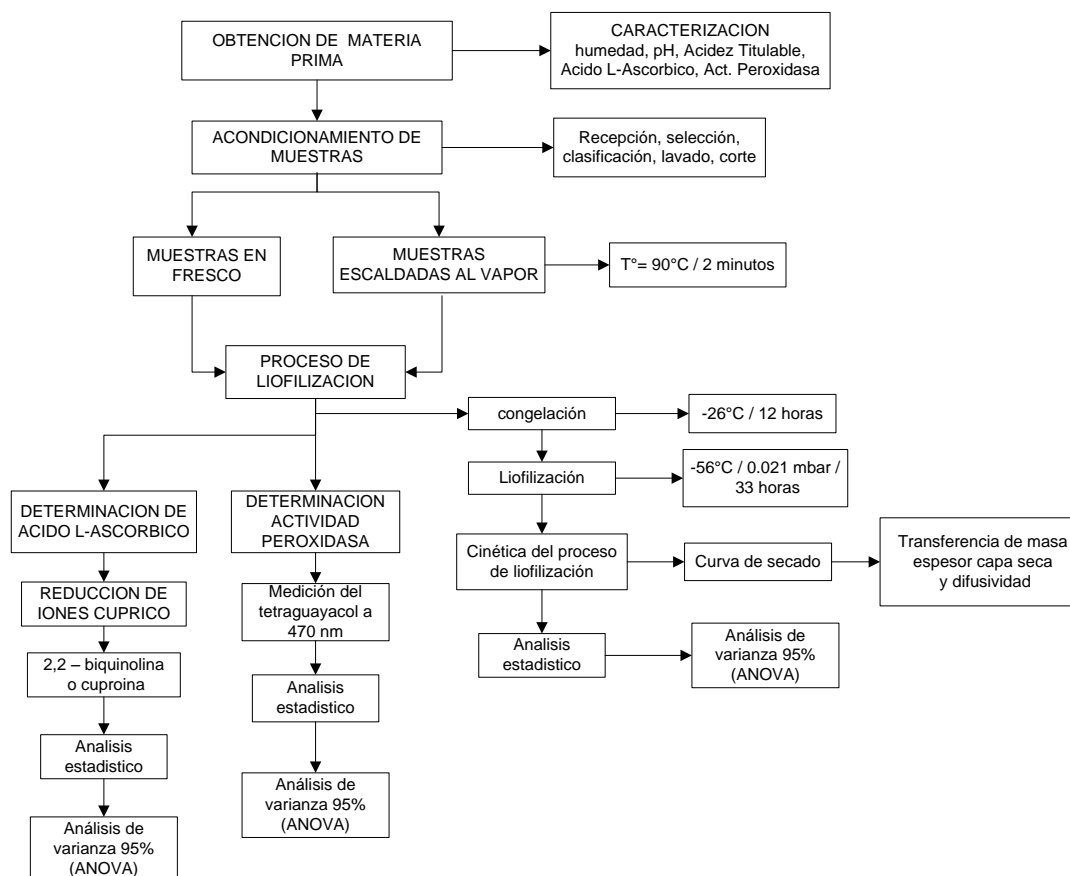
Fuente: La autora, 2013

El ensayo para la determinación de la actividad de la Peroxidasa (POD), se realizó mediante medición de tetraguayacol a 470 nm [Avollone, Cravzov, Montenegro & Pellizzare, 2000], [Avollone, *et al.*, 2000], que se describe Anexo 5 y se observa en la Figura 22. Este método consiste en determinar la velocidad de la reacción de oxidación del guayacol por la enzima, en presencia de peróxido de hidrógeno en un espectrofotómetro UV Visible. Modelo UV 1240/ Uv mini 1240v. Manufacturer

Shimadzy Corporation/ Analytical Instrument Division. Se registró los valores de absorbancia a 470 nm (zona del espectro donde absorbe el guayacol oxidado de coloración carmelita). Se tomó la variación en 10 lecturas cada minuto [Solórzano, Chacón & Fernández, 2004], [Polata, Wilinska, Bryjak & Polakovic, 2009]. El resultado se expresó en unidades de actividad enzimática, UPOD/100 gramos de producto.

### 5.3 Diagrama del diseño de la investigación

A continuación se presenta de manera esquemática el plan de trabajo seguido para completar los objetivos planteados en esta tesis.



**Figura 23. Diagrama del diseño de la Investigación**

Fuente: La Autora, 2013

## 6. Diseño Experimental

### 6.1 Caracterización de la Materia Prima

Para la presentación e interpretación de resultados, se utilizaron las medias estadísticas como la media aritmética, desviación estándar y coeficiente de variación. Estos datos se presentan tabulados.

### 6.2 Cinética de Liofilización

Para la presentación e interpretación de resultados se utilizaron las medias estadísticas como la media aritmética, para cada una de las lecturas. Se representó estos datos tabulados en una tabla.

Se corroboró el cumplimiento de los supuestos básicos (normalidad, y homogeneidad de varianzas) de los datos obtenidos en los diferentes ensayos. Para ello fue necesario el empleo de las siguientes pruebas: pruebas de S-K y Shapiro Wilk (para el Supuesto de Normalidad). La verificación del modelo estadístico (diseño del experimento), se realizó mediante un análisis exploratorio.

#### 6.2.1 Análisis estadístico de la Cinética de Liofilización.

Para determinar si existió diferencia estadísticamente significativa entre los valores aparente de las muestras en la evaluación de la cinética de liofilización en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) durante las 33 horas de extracción de agua congelada, fue necesario asumir que la variable respuesta y la covariable deben estar relacionadas linealmente.

Se aplicó el análisis de covarianza para un diseño experimental de un solo factor con una covariable [Montgomery, 2000]; con dos tratamientos y dos replicas, cada dos horas.

El modelo estadístico apropiado es diseño factorial con covariable:

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta(x_{ij} - \bar{x}_{..}) + \varepsilon_{ij} \quad \left[ \begin{array}{l} i = 1, 2, \dots, a \\ j = 1, 2, \dots, n \end{array} \right.$$

$Y_{ij}$  = Es la *j*-ésima observación de la variable respuesta obtenida al aplicar el *i*-ésimo tratamiento o a nivel del factor; para nuestro caso es la fracción de agua retirada resultante, al aplicar el tratamiento *i* en la *j*-ésima replica.  $X_{ij}$  = Es la medida hecha sobre la covariable o variable concomitante correspondiente; en nuestro caso es el tiempo en el cual se hizo la observación de la pérdida de peso en el frasco.  $\mu$  = Es la media aritmética de los valores de  $X_{ij}$ .  $\bar{x}_{..}$  = Es la media global.  $\alpha_i$  = Es el efecto del tratamiento (efecto del método de procesamiento: escaldado 1 y liofilizado 2).  $\beta$  = Coeficiente de regresión lineal, que indica la dependencia de  $Y_{ij}$  sobre  $X_{ij}$ .  $\varepsilon_{ij}$  = Es la componente de error aleatorio o ruido blanco [Montgomery, 2000].

Para la discusión de resultados obtenidos, los datos se tabularon mediante el programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) y verificar la confiabilidad de la investigación con análisis de varianza (ANOVA) al 95%.

## 6.2.2 Hipótesis

### 6.2.2.1 Hipótesis de trabajo

La validación de las curvas de fracción de agua retirada (g H<sub>2</sub>O/100 g s.s) por unidad de tiempo en cada uno de los tratamientos permite determinar la cinética del proceso de liofilización en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*).

La validación matemática (modelo URIF) para la determinación de la fracción de agua retirada (g H<sub>2</sub>O/100 g s.s) permite establecer los tiempos y humedad finales (parámetros), así como espesor de capa seca, difusividad y concentración de vapor

retirado del proceso de liofilización en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*).

#### 6.2.2.2 Hipótesis estadística

Ho:  $\tau_1 = \tau_2$

Ho: No existe diferencias significativas en la validación de las curvas para la determinación de la fracción de agua retirada (g H<sub>2</sub>O/100 g s.s) en cada uno de los tratamientos durante el proceso de liofilización en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*).

Ho: No existe diferencias significativas en la validación matemática (modelo URIF) para la determinación de la fracción de agua retirada (g H<sub>2</sub>O/100 g s.s) en cada uno de los tratamientos durante el proceso de liofilización en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*).

Ha:  $\tau_1 \neq \tau_2$

Ha: Existe diferencias significativas en la validación de las curvas para la determinación de la fracción de agua retirada (g H<sub>2</sub>O/100 g s.s) en cada uno de los tratamientos durante el proceso de liofilización en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*).

Ha: Existe diferencias significativas en la validación matemática (modelo URIF) para la determinación de la fracción de agua retirada (g H<sub>2</sub>O/100 g s.s) en cada uno de los tratamientos durante el proceso de liofilización en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*).



### 6.2.2.3 Variables operacionales

VARIABLES INDEPENDIENTES: Floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) fresco-lioofilizado (BL) y floretes de Brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) escaldado-lioofilizado (BEL).

VARIABLE DEPENDIENTE: Fracción de agua retirada a través del tiempo, expresada como cantidad de agua retirada sobre 100 gramos del producto ( $\text{g H}_2\text{O}/100 \text{ g s.s.}$ ).

VARIABLES DE RUIDO: Temperatura ambiental, condiciones de la cosecha, cantidad de la muestra, uso de congelación lenta y no congelación rápida, periodo de estabilización del equipo de liofilización (variación ligera entre muestras), no se permitió obtener una capa uniformemente distribuida de la muestra, variación en el manejo de equipos (balanza electrónica). Datos tomados teóricamente, las suposiciones que se realizaron en el modelo matemático (resistencias de transferencia de masa y calor insignificantes, volumen inicial y final idénticos, el vapor de agua está en equilibrio con el hielo, la difusión de vapor de agua ocurre a partir de la interfase, a través de los poros, entre otros.)

## 6.3 ANÁLISIS DEL ÁCIDO L - ASCÓRBICO

Los resultados obtenidos en el análisis del Ácido L- Ascórbico ( $\text{mg}/100 \text{ g}$ ), se interpretó utilizando las medidas estadísticas como la media aritmética, tabulados en tablas y representados en gráficas.

### 6.3.1 Análisis estadístico del Ácido L – Ascórbico.

La verificación del modelo estadístico (diseño del experimento), se realizó mediante un análisis exploratorio. Para la discusión de resultados obtenidos, los datos se tabularon mediante el programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) para observar la dispersión de los datos y así verificar la confiabilidad de la

investigación, mediante análisis de varianza ANOVA al 95%. Para la determinación de Ácido L - Ascórbico se tiene un diseño factorial 2 x 2 x 3 [Montgomery, 2000]. Donde se evalúa el efecto del contenido de Ácido L – Ascórbico con y sin pretratamiento y la forma de proceso.

A todos los tratamientos se les determinan el Ácido L – Ascórbico (mg/100 g) en el tiempo inicial y tiempo final, con tres niveles, dos réplicas por nivel. En donde se siguió el modelo factorial completa con efectos fijos:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

$Y_{ijk}$  = Representa la cantidad de ácido L- ascórbico (L – AA) medida cuando se aplica el nivel  $i$  del factor A: procesamiento por liofilización y cuando se aplica el nivel  $j$  del factor B: procesamiento por escaldado.  $\mu$  = Es el factor promedio global de la liofilización y el escaldado en el contenido de ácido L- ascórbico (L-AA) en el brócoli.  $\tau_i$  = Es el efecto principal del  $i$ -ésimo nivel del factor A.  $\beta_j$  = Es el efecto del  $i$ -ésimo nivel del factor B.  $(\tau\beta)_{ij}$  = Es el efecto de interacción entre los factores A y B.  $\varepsilon_{ijk}$  = Es la perturbación aleatoria o ruido blanco. [Montgomery, 2000]

### 6.3.2 Hipótesis.

#### 6.3.2.1 Hipótesis de trabajo.

Los floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) en cada uno de los tratamientos conserva un alto contenido de Acido L- Ascórbico (L-AA) durante el proceso de liofilización.

### 6.3.2.2 Hipótesis estadística.

$$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = \tau_4$$

$H_0$ : Los floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) en cada uno de los tratamientos (BF, BE, BL, BEL), no presentan diferencias significativas en el contenido de Ácido L- Ascórbico (L-AA) durante el proceso de liofilización.

$$H_a: \tau_1 \neq \tau_2 \neq \tau_3 \neq \tau_4$$

$H_a$ : Los floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) en cada uno de los tratamientos (BF, BE, BL, BEL), presentan diferencias significativas en el contenido de Ácido L- Ascórbico (L-AA) o por lo menos uno de ellos es diferente durante el proceso de liofilización.

### 6.3.2.3 Variables operacionales.

Variables independientes: Floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) fresco (BF), floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) escaldado al vapor (BE), floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) fresco liofilizado (BL) y floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) escaldado – liofilizado (BEL).

Variable dependiente: Contenido de Ácido L - Ascórbico (L-AA), expresado en miligramos de Ácido L- Ascórbico en 100 g de producto (mg / 100 g)

Variables de ruido: Temperatura ambiental, número de días en que se realizó el experimento, estación del año en que se realizó el experimento, condiciones de la cosecha, acondicionamiento de la muestra (mínimas variaciones en el maltrato del material vegetal), cantidad de la muestra, espesor de los floretes de brócoli, tiempo de exposición de la muestra al ambiente, cantidad de réplicas, fluctuaciones en la temperatura de escaldado, uso de congelación lenta y no congelación rápida.

## 6.4 Análisis de la Actividad Peroxidasa

Los resultados obtenidos en el análisis de la Actividad enzimática Peroxidasa (UPOD /100 g), se interpretó utilizando las medidas estadísticas como la media aritmética, tabulados en tablas y representados en gráficas.

### 6.4.1 Análisis Estadístico de Actividad Peroxidasa.

De igual forma que para el análisis de Acido L - Ascórbico, la verificación del modelo estadístico (diseño del experimento), se realizó mediante un análisis exploratorio. Para la discusión de resultados obtenidos, los datos se tabularon mediante el programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) para observar la dispersión de los datos y así verificar la confiabilidad de la investigación mediante análisis de varianza ANOVA al 95%. Para la Actividad Peroxidasa se tiene un diseño factorial 2 x 2 x 2 [Montgomery, 2000]. Donde se evalúa el efecto del contenido de Actividad Peroxidasa con y sin pretratamiento y la forma de proceso.

A todos los tratamientos se les determino Actividad enzimática Peroxidasa (UPOD /100 g) en el tiempo inicial y tiempo final, con tres niveles, dos réplicas por nivel. En donde se siguió el modelo factorial completa con efectos fijos:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

$Y_{ijk}$  = Representa la cantidad de (POD) medida cuando se aplica el nivel  $i$  del factor A: procesamiento por liofilización y cuando se aplica el nivel  $j$  del factor B: procesamiento por escaldado.  $\mu$  = Es el factor promedio global de la liofilización y el escaldado en el contenido de (POD) en el brócoli.  $\tau_i$  = Es el efecto principal del  $i$ -ésimo nivel del factor A.  $\beta_j$  = Es el efecto del  $i$ -ésimo nivel del factor B.  $(\tau\beta)_{ij}$  = Es el efecto de interacción entre los factores A y B.  $\epsilon_{ijk}$  = Es la perturbación aleatoria o ruido blanco. [Montgomery, 2000]

## 6.4.2 Hipótesis.

### 6.4.2.1 Hipótesis de trabajo.

Los floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) en cada uno de los tratamientos no poseen actividad Peroxidasa (POD).

### 6.4.2.2 Hipótesis estadística.

$$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = \tau_4$$

$H_0$ : Los floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) en cada uno de los tratamientos ((BF, BE, BL, BEL), no presentan diferencias significativas en los resultados de actividad Peroxidasa (POD) durante el proceso de liofilización.

$$H_a: \tau_1 \neq \tau_2 \neq \tau_3 \neq \tau_4$$

$H_a$ : Los floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) en cada uno de los tratamientos (BF, BE, BL, BEL), presentan diferencias significativas o por lo menos un sólo tratamiento es diferente en los resultados de actividad Peroxidasa (POD) durante el proceso de liofilización.

### 6.4.2.3 Variables operacionales

Variables independientes: Floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) fresco (BF), floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*), escaldado al vapor (BE), floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) fresco liofilizado (BL) y floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) escaldado – liofilizado (BEL).

Variable dependiente: Contenido de Peroxidasa, expresado en unidad de actividad enzimática (UPOD), UPOD/100 gramos de producto. (UPOD /100 gr)

Variables de ruido: Temperatura ambiental, número de días en que se realizó el experimento, estación del año en que se realizó el experimento, condiciones de la cosecha, cantidad de la muestra, acondicionamiento del material vegetal, tiempo de exposición de la muestra al ambiente, cantidad de réplicas, variación en el procedimiento de escaldado, uso de congelación lenta y no congelación rápida.

## 7. Resultados y Análisis

### 7.1 Caracterización de la materia prima

Se identificó desde un inicio los parámetros físicos característicos de los floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) seleccionado a criterio visual, tratando de que siempre se presentara un estado y grado de madurez similar.

Se determinaron los parámetros fisicoquímicos iniciales en las muestras de floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*): Humedad (en % en base húmeda), densidad ( $\text{g/m}^3$  a  $20^\circ\text{C}$ ), pH, y Acidez total (% Ácido cítrico). Las determinaciones se realizaron por triplicado. Estos se realizaron siguiendo los procedimientos descritos en el Anexo 1. Los resultados de la caracterización del brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) se observa en la Tabla 8.

Tabla 8. Resultado de la caracterización del brócoli fresco (*Brassica oleracea L, var. Legacy*)

COMPONENTE	VALOR
<b>Humedad</b> <sup>(1)</sup>	84.14% <sup>a</sup>
<b>Densidad</b> <sup>(2)</sup>	1.034 <sup>b</sup>
<b>pH</b>	6.2 <sup>a</sup>
<b>Acidez titulable total</b> <sup>(3)</sup>	0.183% <sup>a</sup>

**Nota.** <sup>a</sup> Media aritmética. (n=3). <sup>(1)</sup> % en base húmeda, <sup>(2)</sup> Densidad real, en  $\text{g/m}^3$  a  $20^\circ\text{C}$ , <sup>(3)</sup> % Ácido cítrico. <sup>b</sup> Dato teórico de densidad [Sanzana Ramos, 2010]. Fuente: La autora, 2013.

La humedad debe situarse normalmente alrededor del 80 - 90% en peso del contenido total. Tanto el exceso como la falta de agua son perjudiciales, la cantidad de agua varía de acuerdo a la variedad. “La pérdida de agua puede ser una de las causas principales del deterioro, no sólo por la pérdida de peso, sino también debido a la marchitez y arrugamiento en la textura y en la pérdida de frescura” [Briceño, Sakoda & Falla, 2008].

Como puede observarse en la Tabla 8 y los datos experimentales expresados en el Anexo 6, la humedad en estado fresco o humedad inicial del brócoli fue de 84.14%, lo que indica que se encuentra entre los parámetros normales del vegetal. Barth, *et al.* (1993) determinaron el contenido de humedad del brócoli en estado fresco, siendo este de 88,6%. “Debido a los altos porcentajes de humedad presentes en este material vegetal, se caracterizan por ser altamente perecederos a temperatura ambiente cambiando a color amarillo, en el transcurso de 1 a 3 días, y de esta manera se convierte en un producto no apto para su comercialización” [Gnanasekharan, Shewfelt & Chinna, 1992].

La densidad real de las hortalizas que es la que presenta el producto una vez eliminado el aire de los poros, no pudo ser determinada por la metodología descrita en el Anexo 1, debido a la alta compactación natural de los tejidos. Por tanto, se calculó a partir de datos teóricos. Este valor se encuentra en la Tabla 8.

“El pH óptimo para el brócoli debe estar en un rango de 6.0 a 6.5. El nivel de pH tiene efectos directos en la nutrición de las plantas porque afecta la disponibilidad de los nutrientes” [Campas, *et al.*, 2011]. La experiencia presento un valor de 6.2 tal como se presenta en la Tabla 8, por lo tanto, nos indica que se encuentra dentro de los parámetros normales del brócoli.

La acidez titulable total expresada en este caso en ácido cítrico, es un importante componente del sabor y tienden a disminuir a medida que el fruto madura. La acidez titulable fue de 0.183% tal como se refleja en la Tabla 8, del cual se encuentra dentro de los parámetros normales, tal como se indica Martínez, *et al.* (2007) realizaron el análisis de las características fisicoquímicas del brócoli fresco e indica un valor de 0.188% ácido cítrico.



## 7.2 Determinación de la cinética de liofilización

Para obtener un modelo matemático que prediga de manera segura el comportamiento del proceso de liofilización enfocado al brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*), se desarrolló un diseño de experimentos para obtener los resultados experimentales con los cuales se pudo comparar los datos obtenidos al resolver el modelo matemático siguiendo la técnica para la liofilización.



**Figura 24. Floretes de brócoli liofilizado**

Fuente: La Autora, 2013.

A partir de la experimentación se pudo observar en la Figura 24, el comportamiento de los floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*), al final del proceso de liofilizado. La muestra es el producto producido a partir de vegetales frescos (brócoli) y deshidratados a partir de la liofilización conservando sus características sensoriales como su estructura, color y aroma.

A partir de este proceso se obtuvo datos con los cuales se pudo comparar y validar el modelo matemático. La experimentación se realizó de acuerdo con la metodología especificada en el ítem 5.2.4.4 y los resultados se mostraron en la Tabla 9, que se presenta a continuación:

Tabla 9. Resultados experimentales del brócoli fresco liofilizado (BL) y el brócoli escaldado – liofilizado (BEL)

Brócoli Fresco Liofilizado (BL)							Brócoli escaldado – liofilizado (BEL)						
Lectura	Tiempo (horas)	Peso Inicial <sup>b</sup> (g)	Peso Final <sup>b</sup> (g)	Cantidad de agua retirada (g)	Masa final/masa inicial (g H <sub>2</sub> O/gr s.s)	Fracción de agua retirada (g H <sub>2</sub> O/100 g s.s)	Lectura	Tiempo (horas)	Peso inicial <sup>b</sup> (g)	Peso Final <sup>b</sup> (g)	Cantidad de agua retirada (g)	Masa final/masa inicial (g H <sub>2</sub> O/gr s.s)	Fracción de agua retirada (g H <sub>2</sub> O/100 g s.s)
0	0	20	20	0.00	0.8414	0.0000	0	0	20	20	0.00	0.9011	0.0000
1	2	20.1211 <sup>a</sup>	14.9211 <sup>a</sup>	5.20	0.7415	0.2585	1	2	20.175 <sup>a</sup>	15.7750 <sup>a</sup>	4.40	0.7819	0.2181
2	4	19.9828 <sup>a</sup>	12.6328 <sup>a</sup>	7.35	0.6322	0.3678	2	4	19.6563 <sup>a</sup>	13.7563 <sup>a</sup>	5.90	0.6998	0.3002
3	6	20.0785 <sup>a</sup>	10.2285 <sup>a</sup>	9.85	0.5094	0.4906	3	6	20.101 <sup>a</sup>	11.2010 <sup>a</sup>	8.90	0.5572	0.4428
4	8	21.4719 <sup>a</sup>	9.8219 <sup>a</sup>	11.65	0.4577	0.5423	4	8	20.2451 <sup>a</sup>	10.2451 <sup>a</sup>	10.00	0.5060	0.4940
5	11	19.8601 <sup>a</sup>	6.2101 <sup>a</sup>	13.65	0.3127	0.6873	5	11	20.2031 <sup>a</sup>	8.1031 <sup>a</sup>	12.10	0.4011	0.5989
6	24	19.8536 <sup>a</sup>	3.4536 <sup>a</sup>	16.40	0.1736	0.8264	6	24	20.1915 <sup>a</sup>	4.2415 <sup>a</sup>	15.95	0.2101	0.7899
7	27	20.3745 <sup>a</sup>	2.8745 <sup>a</sup>	17.50	0.1411	0.8589	7	27	20.1848 <sup>a</sup>	3.7348 <sup>a</sup>	16.45	0.1850	0.8150
8	30	20.1685 <sup>a</sup>	2.4685 <sup>a</sup>	17.70	0.1224	0.8776	8	30	20.3034 <sup>a</sup>	2.5534 <sup>a</sup>	17.75	0.1257	0.8743
9	33	20.6130 <sup>a</sup>	1.3130 <sup>a</sup>	19.30	0.0637	0.9363	9	33	20.169 <sup>a</sup>	1.6690 <sup>a</sup>	18.50	0.0827	0.9173

**Nota.** <sup>a</sup> media aritmética. <sup>b</sup> Promedio de las réplicas: (n = 2). g = (gramos). g H<sub>2</sub>O/gr s.s = (masa final/masa inicial). g H<sub>2</sub>O/100 g s.s = (Fracción de agua retirada)  
Fuente: La Autora, 2013

Los floretes de brócoli presentaron contenidos de humedad entre 0.0637 y 0.7819 gr H<sub>2</sub>O/gr s.s, tal como se observa en la Tabla 9; el comportamiento de los datos conducen a una pérdida de agua acelerada en las primeras etapas y lenta en la última, resultados que concuerdan con los obtenidos por Viteri (2009) en su trabajo “Parámetros en Liofilización” en el que expresa que “La difusión de vapor aumenta con la porosidad, razón por la cual la lenta velocidad de descongelación del producto provoca rápida velocidad de secado ya que los cristales formados son voluminosos y se transforman en poros después de la sublimación. Los cristales formados durante la congelación son más pequeños en cuanto mayor es el extracto seco inicial. Por lo tanto, la velocidad de liofilización disminuye cuando aumenta el extracto seco del producto”.

“Una curva de secado se obtiene al representar la humedad del alimento en base seca frente al tiempo de secado” [Barbosa-Canovas & Vega-Mercado, 1996]. Las curvas de secado permiten conocer la humedad final obtenida después del proceso de liofilización, lo cual es de suma importancia para identificar los cambios en el vegetal y la estabilidad que presenta el producto final. La liofilización es un proceso de deshidratación en la que el agua se retira de materiales congelados por sublimación de hielo” [George & Datta, 2002]. En la Figura 25 se presentan las curvas de secado del brócoli fresco liofilizado (BL) y brócoli escaldado-liofilizado (BEL), en donde los resultados obtenidos presentaron el comportamiento esperado, ya que al ir retirando agua, la fracción de masa seca va disminuyendo hasta permanecer constante debido a que el contenido de agua en la muestra original ya ha sido retirada.

El contenido de humedad del tratamiento fresco liofilizado disminuyó hasta alcanzar, al final del proceso (33 horas), 0.0637 g H<sub>2</sub>O/gr s.s y el tratamiento escaldado-liofilizado alcanzó 0.0827 g H<sub>2</sub>O/gr s.s; esta diferencia de valores pueden corresponder que en BEL, el contenido de humedad inicial es alto frente a BL, debido al pretratamiento aplicado (escaldado al vapor e inmersión en agua-hielo), sumado a esto a la forma como el vapor de agua se retira de la matriz del alimentos, “el cual puede ser por sublimación del hielo con el vapor de agua retirándose de los canales de la estructura, difusión de las moléculas de agua hasta el frente de secado de la matriz,

vapor de agua escapándose por fracturas de la matriz, desarrolladas durante el proceso de secado y pérdida de la estructura en frente de secado por colapso” [Rey, 2006].

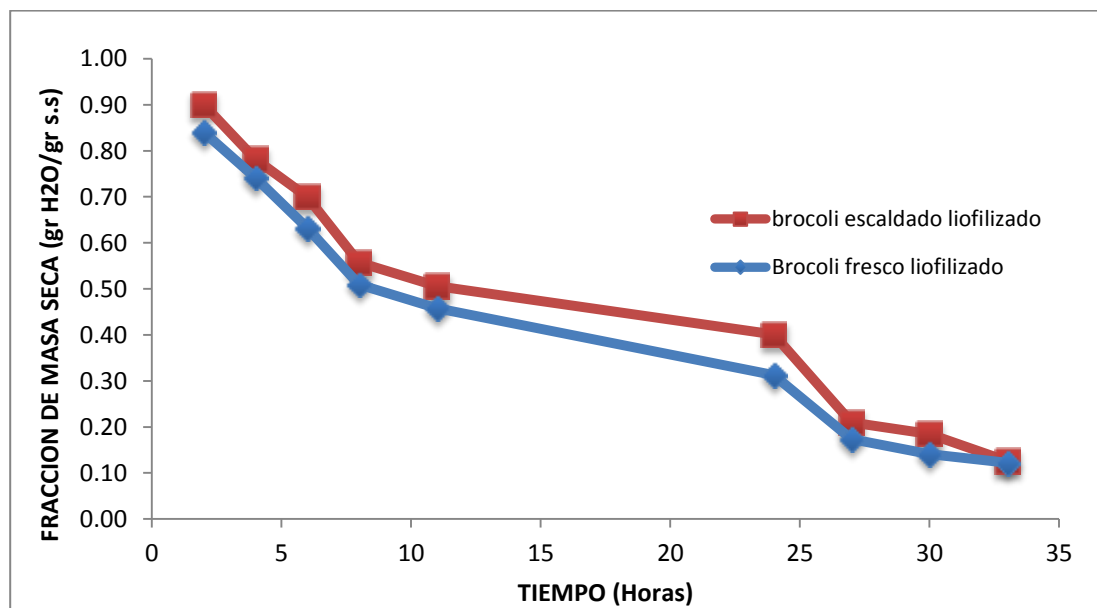
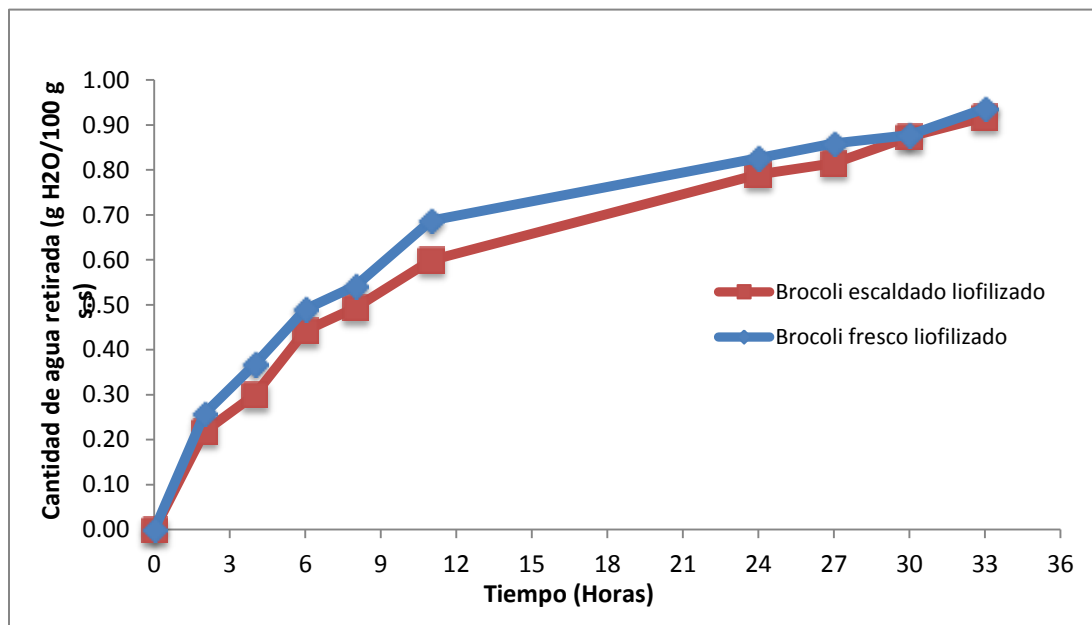


Figura 25. Curva de secado del Brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) en (BL) y (BEL).  
Fuente: La autora, 2013.

En la Figura 26, se observa el porcentaje de agua que es retirada con respecto del tiempo. Como se puede observar el tiempo cero corresponde al brócoli fresco lo cual no tiene pérdida del contenido de agua. Teniendo en cuenta la misma figura, se observa un incremento en la pérdida de agua en las primeras horas del proceso, disminuyendo la cantidad de agua retirada en las siguientes horas hasta llegar a 33 horas de liofilización, esto es debido a que toda “el agua libre es retirada y solo queda el agua ligada al material” [George & Datta, 2002].

Lo anterior es explicado por la facilidad de arrastre que tiene el proceso de secado debido a “la presencia de agua libre en una superficie del sólido que está suficientemente saturada y que pasa directamente de la superficie al aire de arrastre antes de la primera hora de secado lo cual genera una fuerte caída de la humedad del sólido; luego, es moderada porque el agua primero tiene que pasar del interior a la superficie por mecanismos de difusión” [Keck, 1997]. “Este mecanismo es propio de alimentos altamente poroso como es el caso del brócoli” [Mulet, *et. al.*, 1999].



**Figura 26. Cantidad de Agua Retirada (g H<sub>2</sub>O/100 g s.s) en el brócoli (*Brassica oleracea L*, var. *Legacy*)**

Fuente: La autora, 2013.

Al continuar con el análisis en la Figura 26, se observa que cada uno de los tratamientos presento una reducción del contenido de agua entre un 90 y 95%, tal como lo manifiesta Ramírez (2006) cuando dice que “para un investigador liofilizar es extraer más del 95% de agua y que el método de liofilización es un método que concentra en mayor porcentaje los nutrientes, ayuda a que los productos sean más estables y no presente reacciones de deterioro y evita la proliferación de microorganismos”.

Tabla 10. Estadístico (ANOVA). Fracción de agua retirada (g H<sub>2</sub>O/100g s.s) en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L*, var. *Legacy*) fresco y escaldado al vapor.

Origen	Suma de cuadrados tipo III	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	8,314 <sup>a</sup>	1	8,314	0,338	0,565
Intersección	5803,900	1	5803,900	235,712	0,000
Estado	8,314	1	8,314	<b>0,338</b>	<b>0,565</b>
Error	837,176	34	24,623		
Total	6649,390	36			
Total corregida	845,490	35			

**Nota.** <sup>a</sup> R cuadrado = 0,010 (R cuadrado corregida = -0,019). El (ANOVA) es a un nivel de confiabilidad del 95% y  $\alpha = 0.05$ . (n= 2). Fuente: La autora, 2013.

En la Tabla 10, se muestra el ANOVA para los tratamientos al final del proceso de secado (33 Horas) el cual indica que no hubo diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) entre los tratamientos, por lo tanto, en esta investigación se acepta la hipótesis nula ( $H_0$ ) como verdadera, es decir, no existe diferencias significativas en la determinación de la fracción de agua retirada por unidad de tiempo (cinética) en cada uno de las muestras de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) durante el proceso de liofilización. En términos generales, la cantidad de agua retirada en muestras de brócoli fresco es la misma cantidad de agua que se retira en muestras de brócoli escaldadas y liofilizadas, por lo tanto, en las condiciones de esta investigación, el pretratamiento (escaldar) no modifica la cantidad de agua retirada de las muestras en el proceso de liofilización.

Por lo tanto, estudios realizados manifiestan que “la capacidad de retención de líquidos no cambia de manera significativa, cuando el producto es escaldado, pero sí se presenta una pérdida importante en la textura” [Millán, Restrepo & Narváez, 2007].

Igualmente durante “el secado se desplaza la humedad de las regiones internas del producto a la parte externa del producto. Esto ocurre a través de varios mecanismos que dependen de la estructura del alimento y la etapa de secado” [Kerr, 2007], mas no del pretratamiento del escaldado.

### **7.3 Modelo matemático propuesto – URIF (Uniformly Retreating Ice Front)**

La mayoría de los modelos de sublimación encontrados en la literatura “utilizan un parámetro conocido como la permeabilidad, para describir la cinética de liofilización, pero desafortunadamente este parámetro global oculta la influencia del tamaño del poro sobre la cinética de sublimación” [Ramírez, 2006].

“El modelo más utilizado y más simple es conocido como URIF que relaciona la pérdida de peso de la muestra con el movimiento de vapor a través de los poros y con el movimiento del frente de sublimación” [Pardo & Niranjana, 2006]. Igualmente este modelo aplica “tanto la transferencia de calor como la transferencia de masa solo se

efectúan a través de la parte seca porosa superior, considerando que las paredes laterales y el fondo del recipiente están aisladas a dichas transferencias” [Parra, 2007].

Al realizar el balance de masas para la capa seca se obtiene:

$$(masa\ de\ A\ que\ entra) - (masa\ de\ A\ que\ sale) + (masa\ que\ se\ produce\ de\ A) = 0$$

En donde, la especie A es el agua que se extrae a través del solido poroso de los (florete de brócoli seco, especie B).

En el sistema de liofilización no se produce A, por lo tanto la ecuación anterior se convierte en:

$$(masa\ de\ A\ que\ entra) - (masa\ de\ A\ que\ sale) = 0 \quad (15)$$

Sustituyendo términos se obtiene:

$$Sn_A|_z - Sn_A|_{z+\Delta z} = 0 \quad (16)$$

Donde S es el área superficial.

Cambiando signos, dividiendo entre  $S\Delta z$  y tomando el limite  $\Delta z \rightarrow 0$

$$\lim_{\Delta z \rightarrow 0} \left( \frac{Sn_A|_{z+\Delta z} - Sn_A|_z}{S\Delta z} \right) = 0 \quad (17)$$

La ecuación de transferencia de masa se reduce a:

$$\frac{dn_{A,z}}{dz} = 0$$

Aplicando la ley de Fick para la difusión del agua (especie A) a través del solido poroso (florete de brócoli seco, especie B).

$$\mathbf{n}_{A,z} = -D_{AB} \frac{dC_A}{dz} + \frac{C_A}{C} (\mathbf{n}_{A,z}) \quad (19)$$

La concentración del agua en la capa seca de los floretes de brócoli es muy pequeña, por lo tanto el término  $C_A/C$  es muy pequeño comparado con los otros términos. De esta forma la ecuación de Fick se reduce a:

$$\mathbf{n}_{A,z} = -D_{AB} \frac{dC_A}{dz} \quad (20)$$

Integrando la ecuación por separación de variables:

$$\int_0^\delta \mathbf{n}_{A,z} dz = -D_{AB} \int_0^{C_{As}} dC_A \quad (21)$$

$$\mathbf{n}_{A,z} (\delta - 0) = -D_{AB} (C_{As} - 0) \quad (22)$$

$$\mathbf{n}_{A,z} = -\frac{D_{AB} C_{As}}{\delta} \quad (23)$$

$D_{AB}$  = Difusividad de vapor de agua a través de la capa seca

$C_{As}$  = Concentración de agua sublimada en la capa seca

$\delta$  = Espesor de la capa seca

Conforme pasa el tiempo  $\delta$  crece lentamente y eso se sabe debido a que cambia de 0 cm a 5 cm en 33 horas por lo que se puede considerar que el proceso se mantiene casi en estado estacionario por transcurrir tan lentamente con el tiempo, o dicho en otra forma el sistema opera bajo la suposición de un estado estacionario.

Para encontrar como  $\delta$  se incrementa con el tiempo, se considera un balance de masa en estado inestable para el brócoli seco dentro de todo el volumen de materia. Se conoce de datos experimentales que la muestra total pesa 20 gramos, de los cuales 19.3 gramos corresponden al agua y 1.3130 gramos corresponde al resto del material que compone al brócoli fresco; y en el caso del brócoli escaldado 18.5 gramos corresponden



al agua y 1.6690 gramos corresponde al resto del material que lo compone. Por lo tanto, para obtener la relación que existe entre la masa seca de brócoli y la cantidad de agua total que tienen dicha muestra se realizó la siguiente operación:

$$\frac{\text{gramos del resto de los componentes del brocoli } (g_B)}{\text{gramos de agua en la muestra } (g_A)} = \frac{1.3130 \text{ g}}{19.3 \text{ g}} = 0.06803$$

Brócoli fresco Liofilizado:

$$\frac{g_B}{g_A} = 0.06803 \quad (A)$$

La ecuación (A) indica la relación de masa seca de brócoli fresco liofilizado con respecto del agua total que contiene es de 0.06803 o dicho en otra forma, por cada gramo de masa seca se tienen 0.06803 gramos de agua.

Brócoli escaldado - Liofilizado:

$$\frac{g_B}{g_A} = \frac{1.6690 \text{ g}}{18.5 \text{ g}} = 0.09021 \quad (B)$$

La ecuación (B) indica la relación de masa seca de brócoli escaldado liofilizado con respecto del agua total que contiene es de 0.09021 o dicho en otra forma, por cada gramo de masa seca se tienen 0.09021 gramos de agua.

Realizando el balance de materia para la formación de la capa seca:

$$(0.06803) \left( \begin{array}{l} \text{velocidad masica de formacion de} \\ \text{la capa seca de los floretes de brocoli} \end{array} \right) = \left( \begin{array}{l} \text{velocidad masica de acumulacion de} \\ \text{la capa seca de los floretes d brocoli} \end{array} \right)$$

Al sustituir términos para la velocidad másica de acumulación de la capa seca se tiene:

$$\left( \begin{array}{l} \text{velocidad masica de acumulacion de} \\ \text{la capa seca de los floretes d brocoli} \end{array} \right) = \frac{d(\rho_B S \delta)}{dt}$$

Donde  $\rho_B$  es la densidad del brócoli y  $S$  es el área superficial.

La velocidad de formación de la capa seca de los floretes de brócoli se determina a partir del flujo másico y el área superficial.

$$\left( \begin{array}{l} \text{velocidad masica de formacion de} \\ \text{la capa seca de los floretes de brocoli} \end{array} \right) = n_{A,z} S = - \frac{D_{AB} C_{As}}{\delta} S$$

Sustituyendo las ecuaciones en la ecuación:

$$(0.06803)\rho_B \frac{d\delta}{dt} = \frac{D_{AB} C_{As}}{\delta} \quad (24)$$

Separando variables e integrando:

$$0.06803 \int_0^{\delta} \delta d\delta = \frac{D_{AB} C_{As}}{\rho_B} \int_0^t dt \quad (25)$$

Se obtiene,

$$\frac{0.06803\delta^2}{2} = \frac{D_{AB} C_{As}}{\rho_B} t \quad (26)$$

Al recomodar términos se obtiene la ecuación que representa nuestro modelo matemático.

Floretes de Brócoli fresco:

$$0.034015\delta^2 = \frac{D_{AB} C_{As}}{\rho_B} t \quad (27)$$

Floretes de brócoli escaldado al vapor:

$$0.04510 \delta^2 = \frac{D_{AB} C_{As}}{\rho_B} t \quad (28)$$

### 7.3.1 Determinación del espesor de la capa seca.

El espesor de la capa seca es de suma importancia ya que limita la transferencia de masa en el alimento, aunque el peso de la muestra sea el mismo. El tiempo del proceso de secado del producto se ve influenciado notablemente por la magnitud del espesor de la capa seca del brócoli.

Para calcular el espesor de la capa seca a través a del tiempo se utilizó los datos obtenidos en la forma experimental debido a que el espesor de la muestra de los floretes de brócoli liofilizado corresponde a 5 cm de espesor y no es posible obtener los datos a simple vista, por otra parte, no se puede sacar la muestra liofilizada del frasco porque una vez que el proceso de liofilización ha concluido el brócoli seco es muy poroso.

#### 7.3.1.1 *Calculo del volumen de la muestra a liofilizar.*

Para calcular el volumen de la muestra a liofilizar se utiliza la ecuación del volumen de un cilindro:

$$V = \pi r^2 h \quad (29)$$

Donde  $V$  es el volumen total de la muestra en  $\text{cm}^3$ ,  $r$  es el radio del frasco en el cual se realizó la liofilización en  $\text{cm}$  y  $h$  es la altura de la muestra liofilizada en  $\text{cm}$ .

Para resolver la ecuación se usó los siguientes valores:

$$V = 3.1416 (2 \text{ cm})^2 (5 \text{ cm}) = 62.8318 \text{ cm}^3$$

#### 7.3.1.2 *Calculo del Volumen Equivalente.*

El cálculo del volumen equivalente permite determinar el espesor  $r$  de la capa seca con respecto al tiempo.

$$V_{eq} = \frac{V (H_2O)_R}{(H_2O)_T} \quad (30)$$

Donde  $V_{eq}$  es el volumen al cual equivale al retirarle una cantidad de agua determinada  $(H_2O)_R$  en un periodo de tiempo del total del agua que contiene la muestra  $(H_2O)_T$  igual a 19.3 gramos.

### 7.3.1.3 *Calculo del espesor equivalente.*

El espesor equivalente  $h_{eq}$ , es el espesor de la capa seca calculado con los datos experimentales para cada periodo de tiempo determinado.

$$Heq = \frac{V_{eq}}{\pi r^2} \quad (31)$$

En la Tabla 11, se muestra los resultados obtenidos de las ecuaciones 30 y 31 y los datos experimentales que se obtuvieron en la investigación. Se puede observar que el espesor equivalente en un tiempo igual a 33 horas de liofilización es igual a 5 cm el cual es igual al espesor de la capa del brócoli usada para liofilizar, por lo que se considera que esta forma de calcular el espesor es confiable.

En la Tabla 11, se puede observar que los resultados demuestran que existe una relación entre el espesor del brócoli con la cantidad de agua retirada, ya que, a menor espesor mayor cantidad de agua retirada. Lo que concuerda con lo que dice Pino (2003) que “el espesor es importante: mientras más delgado, hay menor resistencia para que el flujo de calor y masa pase a través de la muestra para eliminar el agua presente, por lo cual los alimentos de menor espesor permiten que se elimine la mayor cantidad de agua posible”.

En la Tabla 11, se puede apreciar que “un producto sometido a un proceso de liofilización en un instante cualquiera presenta dos capas homogéneas separadas por la interfase, la capa superior seca y la capa inferior es la capa congelada” [Pérez, 2010]. Notándose claramente que mientras mayor es el espesor de la capa seca menor es la masa de muestra, la capa seca del brócoli se vuelve más grueso a medida que se elimina el hielo de esta.

Tabla 11. Volumen y espesor equivalente de la capa seca del brócoli fresco liofilizado (BL) y brócoli escaldado – liofilizado (BEL).

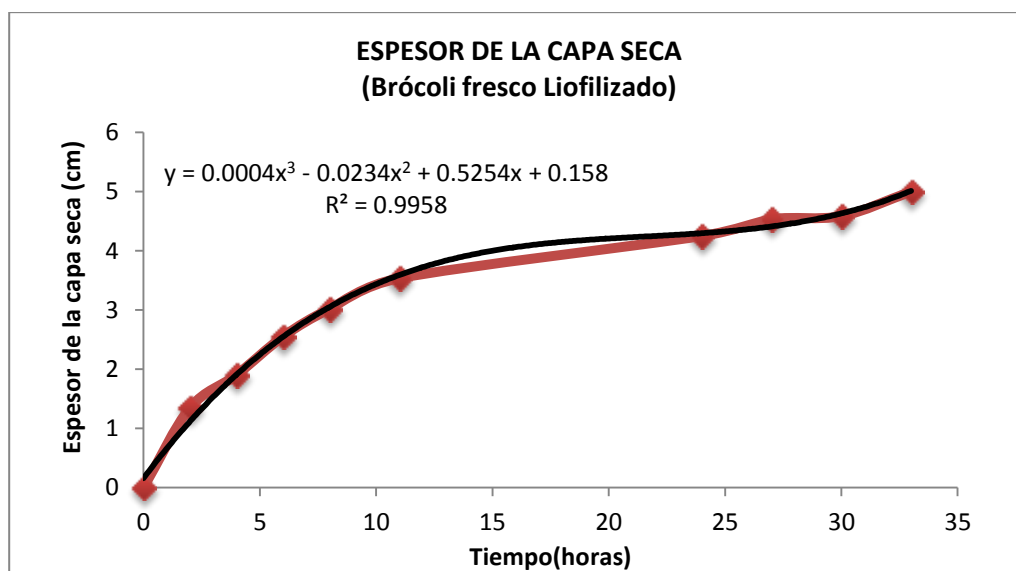
## VOLUMEN Y ESPESOR EQUIVALENTE DE LA CAPA SECA

Brócoli Fresco Liofilizado (BL)						Brócoli Escaldado-Liofilizado (BEL)					
Tiempo (Horas)	Peso Inicial <sup>b</sup> (g)	Peso Final <sup>b</sup> (g)	Agua Retirada (g)	Veq (cm <sup>3</sup> )	Heq (cm)	Tiempo (Horas)	Peso Inicial <sup>b</sup> (g)	Peso Final <sup>b</sup> (g)	Agua retirada (g)	Veq (cm <sup>3</sup> )	Heq (cm)
0	20 <sup>a</sup>	20 <sup>a</sup>	0.00	0.000	0.000	0	20 <sup>a</sup>	20 <sup>a</sup>	0.00	0	0
2	20.121 <sup>a</sup>	14.921 <sup>a</sup>	5.20	16.928	1.347	2	20.175 <sup>a</sup>	15.775 <sup>a</sup>	4.40	14.944	1.189
4	19.983 <sup>a</sup>	12.633 <sup>a</sup>	7.35	23.928	1.904	4	19.656 <sup>a</sup>	13.756 <sup>a</sup>	5.90	20.038	1.595
6	20.078 <sup>a</sup>	10.228 <sup>a</sup>	9.85	32.067	2.552	6	20.101 <sup>a</sup>	11.201 <sup>a</sup>	8.90	30.227	2.405
8	21.472 <sup>a</sup>	9.822 <sup>a</sup>	11.65	37.927	3.018	8	20.245 <sup>a</sup>	10.245 <sup>a</sup>	10.00	33.963	2.703
11	19.860 <sup>a</sup>	6.210 <sup>a</sup>	13.65	44.438	3.536	11	20.203 <sup>a</sup>	8.103 <sup>a</sup>	12.10	41.095	3.270
24	19.854 <sup>a</sup>	3.454 <sup>a</sup>	16.40	53.390	4.249	24	20.191 <sup>a</sup>	4.241 <sup>a</sup>	15.95	54.171	4.311
27	20.375 <sup>a</sup>	2.875 <sup>a</sup>	17.50	56.971	4.534	27	20.185 <sup>a</sup>	3.735 <sup>a</sup>	16.45	55.869	4.446
30	20.168 <sup>a</sup>	2.468 <sup>a</sup>	17.70	57.622	4.586	30	20.303 <sup>a</sup>	2.553 <sup>a</sup>	17.75	60.285	4.797
33	20.613 <sup>a</sup>	1.313 <sup>a</sup>	19.30	62.831	5.000	33	20.169 <sup>a</sup>	1.669 <sup>a</sup>	18.50	62.832	5.000

**Nota.** <sup>a</sup> media aritmética. <sup>b</sup> Promedio de las réplicas: (n = 2). g = (gramos). Veq = (volumen equivalente). Heq = (espesor equivalente).

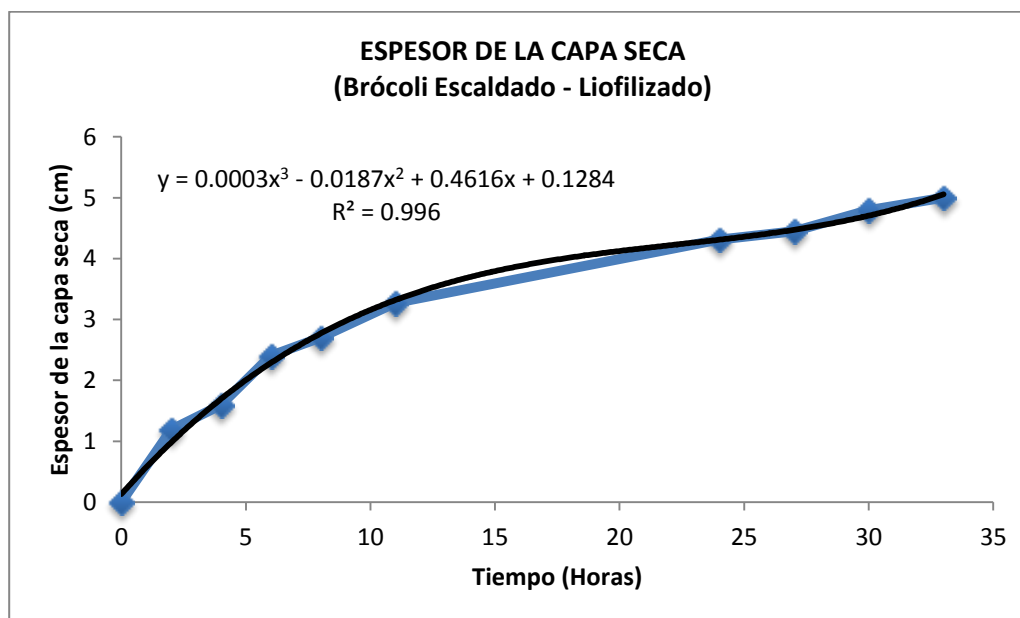
Fuente: La Autora, 2013.

En la Figura 27 y Figura 28 podemos apreciar el comportamiento del espesor de la capa seca con respecto al tiempo y observamos que al igual que la concentración ambas tienen un comportamiento no lineal.



**Figura 27. Espesor de la capa seca. Brócoli fresco liofilizado (BL)**

Fuente: La autora, 2013.



**Figura 28. Espesor de la capa seca. Brócoli escaldado – liofilizado (BEL)**

Fuente: La autora, 2013.

Como a partir de la línea de tendencia obtenida en la Figura 27 y Figura 28 se puede calcular los valores del espesor de la capa seca:

Espesor de la capa seca (brócoli fresco liofilizado):

$$Y = 0.0004x^3 - 0.0234x^2 + 0.5254x + 0.158 \quad (32)$$

Espesor de la capa seca (brócoli escaldado liofilizado):

$$Y = 0.0003x^3 - 0.0187x^2 + 0.4616x + 0.1284 \quad (33)$$

Los valores que se obtienen se muestran en la Tabla 12, en la cual se puede apreciar que la ecuación de la línea de tendencia se ajusta perfectamente a los datos calculados experimentalmente, esto es debido a que tenemos varios puntos en el gráfico y la línea de tendencia se aproxima a un polinomio de tercer orden por lo que el error es muy pequeño.

Tabla 12. Espesor de la capa seca. Brócoli fresco liofilizado (BL) y brócoli escaldado – liofilizado (BEL)

ESPESOR DE LA CAPA SECA					
Brócoli Fresco Liofilizado			Brócoli Escaldado – Liofilizado		
Tiempo (Horas)	Espesor Real (cm)	Espesor calculado (cm)	Tiempo (Horas)	Espesor Real (cm)	Espesor calculado (cm)
0	0	0	0	0	0
2	1.347	1.118	2	1.189	0.979
4	1.904	1.911	4	1.595	1.695
6	2.552	2.554	6	2.405	2.290
8	3.018	3.068	8	2.703	2.778
11	3.536	3.472	11	3.270	3.343
24	4.249	4.819	24	4.311	4.583
27	4.534	5.158	27	4.446	4.864
30	4.586	5.660	30	4.797	5.246
33	5.000	6.116	33	5.000	5.581

Nota. Fuente: La Autora., 2013

Al igual que cualquier otro proceso de deshidratación, secado por congelación implica simultánea transferencia de calor y de masa. La distribución de contenido de humedad a través de la liofilización someterse material es diferente de la observada en otros procesos de deshidratación. Idealmente, se observan dos zonas distintas, separadas por una interfaz bastante aguda: una zona congelada y una zona "seca". La zona congelada está en el contenido de humedad original. La zona seca está desprovista de cristales de hielo y la única humedad en él es el agua adsorbida en la matriz sólida. [“Freeze Drying (lyophilization) and Freeze Concentration”, 2009].

### 7.3.1.4 Cálculo de la difusividad.

Se calcula la difusividad con los datos experimentales que conocemos partiendo de la ecuación 27 y 28 Para  $t = 0$  y despejando  $D_{AB}$  :

Tabla 13. Datos de los valores iniciales del Brócoli fresco liofilizado (BL) y brócoli escaldado – liofilizado (BEL)

Datos (brócoli fresco liofilizado)		Datos (brócoli escaldado liofilizado)	
<b>t =</b>	1 seg	<b>t =</b>	1 seg
<b>Espesor =</b>	0.000051 cm	<b>Espesor =</b>	0.000046 cm
<b>Densidad =</b>	1.034 g/cm <sup>3</sup>	<b>Densidad =</b>	1.034 g/cm <sup>3</sup>
<b>C<sub>as</sub> =</b>	0.0000025 g/cm <sup>3</sup>	<b>C<sub>as</sub> =</b>	0.0000024 g/cm <sup>3</sup>

**Nota.** **t** = (Tiempo) **C<sub>AS</sub>** = (Concentración de agua sublimada en la capa seca).

Fuente: La autora, 2013

Los datos con los que se resuelve la ecuación de  $D_{AB}$ , se encuentran en la Tabla 13, para un tiempo igual a cero, dicho en otra forma, son los valores iniciales para la liofilización del brócoli.

Difusividad (brócoli fresco liofilizado):

$$D_{AB} = 0.034015 \frac{\delta^2 \rho_B}{t C_{As}} \quad (34)$$



Difusividad (Brócoli escaldado liofilizado):

$$D_{AB} = 0.04510 \frac{\delta^2}{t} \frac{\rho_B}{C_{As}} \quad (35)$$

Sustituyendo los datos en la ecuación 34 y 35:

Brócoli Fresco Liofilizado:

$$D_{AB} = 3.6592 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s} \quad (36)$$

Brócoli Escaldado - Liofilizado:

$$D_{AB} = 4.1115 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s} \quad (37)$$

### 7.3.2 Solución del modelo matemático para $C_{As}$ .

Partiendo de la ecuación 36 y 37 despejamos  $C_{As}$  :

Brócoli Fresco Liofilizado:

$$C_{As} = 0.034015 \frac{\delta^2}{t} \frac{\rho_B}{D_{AB}} \quad (38)$$

Brócoli Escaldado - Liofilizado:

$$C_{As} = 0.04510 \frac{\delta^2}{t} \frac{\rho_B}{D_{AB}} \quad (39)$$

La Tabla 14, muestra los resultados obtenidos para  $C_{AS}$  al sustituir los datos en la ecuación 38 manteniendo un valor igual a  $3.6395 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 / \text{s}$  constante y  $\rho_B$  igual a  $1.034 \text{ g/cm}^3$  constante. La variable que cambia con respecto al tiempo es  $\delta$  (espesor de la capa seca).

Tabla 14. Solución del modelo matemático. Brócoli fresco liofilizado (BL) y brócoli escaldado – liofilizado (BEL)

#### SOLUCION DEL MODELO MATEMATICO

Brócoli Fresco Liofilizado (BL)				Brócoli Escaldado – Liofilizado (BEL)			
Tiempo (Horas)	tiempo (seg)	Heq (cm)	$C_{AS}$ calculado	Tiempo (Horas)	tiempo (seg)	Heq (cm)	$C_{AS}$ calculado
0	1	0.000	0.000	0	1	0.000	0.000
2	7200	1.118	0.166	2	7200	0.979	0.151
4	14400	1.911	0.243	4	14400	1.695	0.226
6	19200	2.554	0.326	6	19200	2.290	0.309
8	28800	3.068	0.314	8	28800	2.778	0.303
11	39600	3.472	0.292	11	39600	3.343	0.320
24	86400	4.819	0.258	24	86400	4.583	0.275
27	97200	5.158	0.263	27	97200	4.864	0.276
30	108000	5.660	0.285	30	108000	5.246	0.289
33	118800	6.116	0.302	33	118800	5.581	0.297

**Nota.** Heq = (espesor equivalente)  $C_{AS}$  = (Concentración de agua sublimada en la capa seca) seg = (segundos)  
Fuente: La autora, 2013.

La concentración  $C_{AS}$  está dada en unidades de masa sobre volumen ( $\text{g/cm}^3$ ) por lo que multiplicamos los resultados obtenidos con el modelo matemático por el volumen al cual equivale cada una de las concentraciones para de esta forma obtener los gramos de agua retirados en función del tiempo y poder comparar con los resultados experimentales. Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 15:

Tabla 15. Valores de CA calculados. Brócoli fresco liofilizado (BL) y brócoli escaldado – liofilizado (BEL)

**VALORES DE CA CALCULADOS**

<b>Brócoli Fresco Liofilizado (BL)</b>				<b>Brócoli Escaldado – Liofilizado (BEL)</b>			
<b>Tiempo (horas)</b>	<b>C<sub>AS</sub> calculado (g/cm<sup>3</sup>)</b>	<b>Ve<sub>q</sub> (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>CA calculado (g)</b>	<b>Tiempo (horas)</b>	<b>C<sub>AS</sub> calculado (g/cm<sup>3</sup>)</b>	<b>Ve<sub>q</sub> (cm<sup>3</sup>)</b>	<b>CA calculado (g)</b>
<b>0</b>	0.0000	0.000	0.000	<b>0</b>	0.0000	0.000	0.000
<b>2</b>	0.1670	16.929	2.827	<b>2</b>	0.1510	14.944	2.257
<b>4</b>	0.2437	23.928	5.832	<b>4</b>	0.2262	20.038	4.533
<b>6</b>	0.3267	32.067	10.475	<b>6</b>	0.3097	30.227	9.361
<b>8</b>	0.3142	37.927	11.918	<b>8</b>	0.3039	37.529	11.406
<b>11</b>	0.2926	44.438	13.003	<b>11</b>	0.3200	47.379	15.162
<b>24</b>	0.2583	53.391	13.793	<b>24</b>	0.2757	60.794	16.761
<b>27</b>	0.2631	56.972	14.992	<b>27</b>	0.2761	61.983	17.113
<b>30</b>	0.2851	57.623	16.430	<b>30</b>	0.2891	62.322	18.015
<b>33</b>	0.3027	62.832	19.016	<b>33</b>	0.2974	62.832	18.685

**Nota.** C<sub>AS</sub> = (Concentración de agua sublimada en la capa seca) CA = (cantidad de agua retirada). Ve<sub>q</sub> = (volumen equivalente). Fuente: La autora, 2013.

En la Tabla 16, se puede apreciar la fracción de agua retirada con el modelo matemático y los valores obtenidos de forma experimental que fueron calculados en el liofilizador Freeze Dryer Alpha 1 – 4 LD Plus en función del tiempo respectivamente. Lo que interesa del modelo URIF es analizar su comportamiento más que el ajuste con los datos experimentales.

Tabla 16. Valores de CA calculados y valores de CA experimentales. Brócoli fresco liofilizado (BL) y brócoli escaldado – liofilizado (BEL)

BROCOLI FRESCO LIOFILIZADO					BROCOLI ESCALDADO LIOFILIZADO				
Tiempo (horas)	CA retirada (calculado) (g)	Fracción de agua retirada (calculado) (g H <sub>2</sub> O/100 g s.s)	CA retirada (Real) (g)	Fracción de agua retirada (real) (g H <sub>2</sub> O/100 g s.s)	Tiempo (horas)	CA retirada (calculado) (g)	Fracción de agua retirada (calculado) (g H <sub>2</sub> O/100 g s.s)	CA retirada (real) (g)	Fracción de agua retirada (real) (g H <sub>2</sub> O/100 g s.s)
0	0.000	0.000	0.00	0.000	0	0.00	0.000	0.00	0.000
2	2.827	0.141	5.20	0.258	2	2.257	0.113	4.40	0.218
4	5.832	0.292	7.35	0.368	4	4.533	0.227	5.90	0.300
6	10.475	0.524	9.85	0.491	6	9.361	0.468	8.90	0.443
8	11.918	0.596	11.65	0.542	8	11.406	0.570	11.05	0.494
11	13.003	0.650	13.65	0.687	11	15.162	0.758	13.95	0.599
24	13.793	0.690	16.40	0.826	24	16.761	0.838	17.90	0.790
27	14.992	0.750	17.50	0.859	27	17.113	0.856	18.25	0.815
30	16.430	0.821	17.70	0.878	30	18.015	0.901	18.35	0.874
33	19.016	0.951	19.30	0.936	33	18.685	0.934	18.50	0.917

**Nota.** CA = (Cantidad de agua retirada). g H<sub>2</sub>O/100 g s.s = (Fracción de agua retirada). Fuente: La autora, 2013.

En la Tabla 16, se observa los resultados de la cantidad de agua retirada, esto se confirma en las Tablas 17 y 18 con el ANOVA para los tratamientos al final del proceso de secado (33 Horas), que indica que no existe diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre los tratamientos, por lo tanto, en esta investigación se acepta la hipótesis nula ( $H_0$ ) como verdadera, es decir, no hay diferencia en la cantidad de agua retirada entre los valores obtenidos con el modelo matemático con respecto a la parte experimental de los tratamientos brócoli fresco liofilizado (BL) como para el brócoli escaldado liofilizado (BEL).

Como se puede apreciar existe una pequeña diferencia entre los valores experimentales y los calculados con el modelo matemático, una de las posibles razones para esta diferencia se debe a que algunos datos requeridos como la densidad del brócoli, la difusividad de la capa seca, el espesor de la capa seca fueron calculados a partir de los datos obtenidos experimentalmente, también tiene que ver las suposiciones que se hicieron para obtener el modelo matemático el cual con estas el sistema se considera casi ideal.

Tabla 17. Estadístico (ANOVA). Fracción de agua retirada en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) fresco liofilizado

Origen	Suma de cuadrados tipo III	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	5.319 <sup>a</sup>	1	5.319	0.138	0.714
Intersección	2573.863	1	2573.863	67.014	0.000
Estado	5.319	1	5.319	<b>0.138</b>	<b>0.714</b>
Error	691.345	18	38.408		
Total	3270.527	20			
Total corregida	696.664	19			

**Nota.**<sup>a</sup> R cuadrado = 0.008 (R cuadrado corregida = -0.047). El (ANOVA) es a un nivel de confiabilidad del 95% y  $\alpha = 0.05$ . (n= 2). Fuente: La autora, 2013.

La ecuación del modelo ajustado fue:  $Y = 0.2435 + 0.022 t$

El coeficiente estadístico  $R^2$  indica que el modelo adaptado explica la variabilidad del 0.8131, indicando que la variable respuesta (fracción de agua retirada) está altamente

relacionada con el tiempo que se expone con relación al modelo matemático. El coeficiente de correlación es 0.9017, indicando una relación fuerte entre las variables, a medida que aumenta el tiempo aumenta la fracción de agua retirada, lo que indica que es directamente proporcional.

Tabla 18. Estadístico (ANOVA). Fracción de agua retirada en floretes de brócoli (*Brassica oleracea* L, var. Legacy) escaldado liofilizado

Origen	Suma de cuadrados tipo III	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	0.764 <sup>a</sup>	1	0.764	0.016	0.900
Intersección	2656.282	1	2656.282	56.513	0.000
Estado	0.764	1	0.764	<b>0.016</b>	<b>0.900</b>
Error	846.048	18	47.003		
Total	3503.094	20			
Total corregida	846.812	19			

**Nota.** <sup>a</sup> R cuadrado = 0.001 (R cuadrado corregida = -0.055). El (ANOVA) es a un nivel de confiabilidad del 95% y  $\alpha = 0.05$ . (n= 2). Fuente: La autora, 2013.

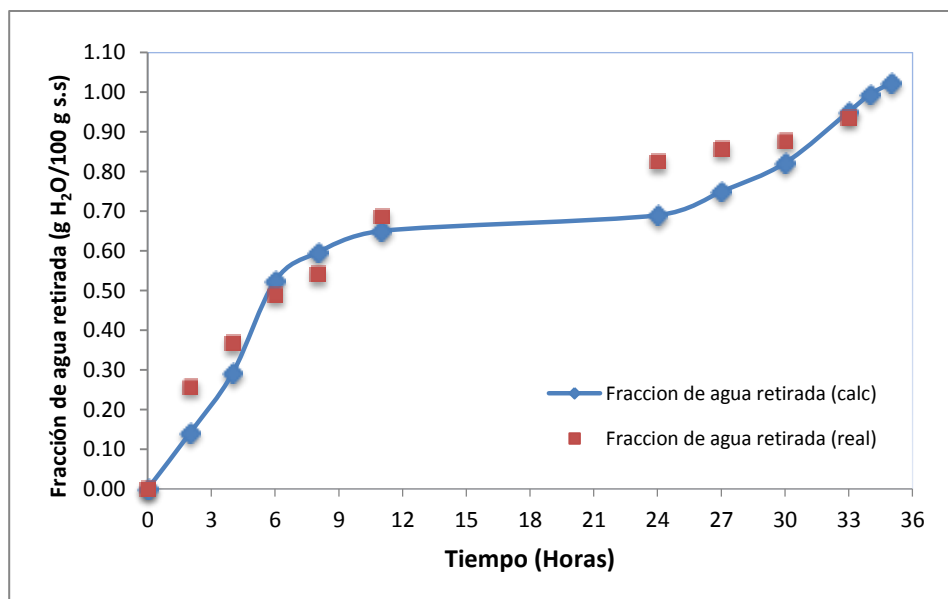
La ecuación del modelo ajustado fue:  $Y = 0.2064 + 0.0241 t$

El coeficiente estadístico  $R^2$  indica que el modelo adaptado explica la variabilidad del 0.8510, indicando que la variable respuesta (fracción de agua retirada) está altamente relacionada con el tiempo que se expone con relación al modelo matemático. El coeficiente de correlación es 0.9224, indicando una relación fuerte entre las variables a medida que aumenta el tiempo aumenta la fracción de agua retirada.

La diferencia existente entre el modelo y la realidad en la liofilización pueden deberse a las suposiciones hechas para obtener los valores de los parámetros del modelo, como los coeficientes de transferencia de masa principalmente, debido a que el sistema usado en la liofilización es más complejo. Por el contrario, las correlaciones encontradas están altamente relacionadas, motivo por el cual se transformó la ecuación del modelo para este caso.

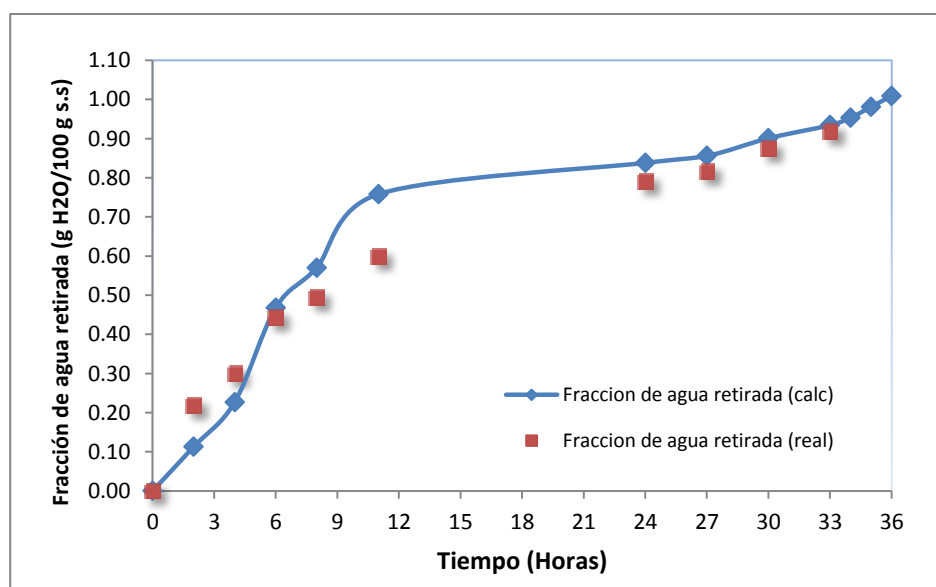
En la Figura 29 y Figura 30 se puede apreciar los resultados experimentales con los resultados obtenidos por el modelo matemático, de esta forma se obtiene una idea

gráfica del proceso y se visualiza el comportamiento de la curva de la fracción de agua retirada del sistema calculada y experimental. A medida que aumenta el tiempo aumenta la fracción de agua retirada, lo que indica que es directamente proporcional; tanto en los tratamientos brócoli fresco liofilizado y brócoli escaldado-liofilizado respectivamente.



**Figura 29. Comparación de resultados de fracción de agua retirada. Brócoli fresco liofilizado.**

Fuente: La autora, 2013.



**Figura 30. Comparación de fracción de agua retirada. Brócoli escaldado – liofilizado**

Fuente: La autora, 2013.

En este caso, el modelo URIF se ajusta con los datos experimentales, donde también se observa la tendencia de acabar con el núcleo congelado. Además, el modelo indicó que al finalizar el proceso de liofilización (33 horas) aún permanece hielo en el alimento. Esto efectivamente ocurrió en la práctica, en que la humedad final obtenida para estos casos reveló que la fracción de agua retirada fue de 93.63% (BL) y 91.73% (BEL) al final del proceso.

El modelo URIF, que incluye el ciclo de la sublimación muestra en general un buen ajuste con los datos experimentales, pero teniendo en cuenta que “para obtener un producto liofilizado la humedad residual debe ser inferior al 2,5%”, [Orrego, 2008], es necesario que el proceso de liofilización se extienda por más tiempo hasta obtener el porcentaje adecuado. De acuerdo a la fracción de agua retirada del brócoli fresco liofilizado (93.63%) y el brócoli escaldado liofilizado (91.73%) al final del proceso, se deduce que no fue suficiente para eliminar toda el agua libre del producto y el modelo indica que el tiempo requerido debe ser más de 33 horas.

Por lo tanto, en el proceso de liofilización a las condiciones de esta experimentación, se retiran 0,585 gramos de agua / hora en (BL) y 0,561 gramos de agua / hora en (BEL). Y para llegar entre 6,37% (BL) a 8,27% (BEL) de agua libre retirada se requieren 33 horas en el liofilizador. Es importante finalmente, controlar el contenido final de humedad del producto, de manera que se corresponda con el exigido para garantizar su estabilidad.

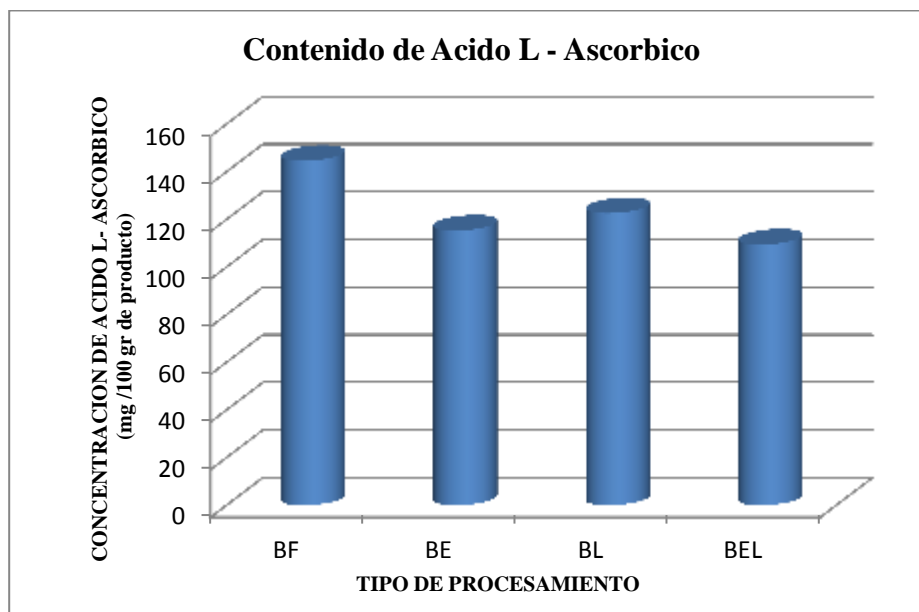
De esta manera, Rodríguez (1986) argumenta que “el proceso de secado a bajas temperaturas da lugar a velocidades lentas de secado debido a que el agua evaporada se difunde a través de los poros de la capa seca, antes de dejar el sólido y vaya a la atmosfera de la cámara de secado”. Igualmente puede apreciarse, que “el tiempo de secado se incrementa en proporción directa a la densidad del material, espesor del mismo y la fracción de agua retirada” [Segura & Oyarzun, 2012].



Los resultados apreciados en la Figura 29 y Figura 30 coinciden plenamente con Abdelwahed, *et al.*, (2006) que propuso que “el tamaño de los poros influye en el flujo de vapor de agua a través de masa seca en el proceso de liofilización” y como consecuencia, Spieles, Marx, Heschel & Rau (1995) señala que “los coeficientes de difusión de vapor de agua están influenciadas por esta característica de los materiales porosos”.

#### 7.4 Determinación de ácido L - Ascórbico (L – AA)

Los datos experimentales se encuentran en el Anexo 7. En la Figura 33, se observa los valores de la determinación de Acido L-Ascórbico.



**Figura 31. Contenido de Ácido L – Ascórbico (L-AA)**

Fuente: La Autora, 2013.

El brócoli fresco se caracteriza por ser una de los vegetales que mayor contenido de ácido L-ascórbico (L-AA) y/o vitamina C (L-AA y ADHA), así lo han reportado en mg/100 gramos de producto: entre 123.3-197.7 [Howard, Wong, Perry & Klein, 1999]; 103±3.5 [Zhang & Hamazu, 2004]; 13.37-110 para el Ácido L-Ascórbico (L-AA) y 57.35-131.35 para vitamina C [Koh, Wimalasiri, Chassy & Mitchell, 2009]; 895 [Chaparro, Diaz & Paredes, 2011]. Todos los valores anteriores se registraron en

variedades diferentes. Los datos obtenidos en esta investigación, evidenciaron que el tratamiento en fresco (BF) presenta un contenido de Ácido L-Ascórbico (L-AA) entre el rango de 134.637 - 147.239 mg/100 gramos de producto, resultado similar a los encontrados en la bibliografía.

Tabla 19. Estadístico (ANOVA). Contenido de L – AA en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) escaldado y liofilizado (g /100 gramos de producto)

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	3243,126 <sup>a</sup>	3	1081,042	136,684	0,000
Intersección	202646,629	1	202646,629	25622,093	0,000
Escaldado	645,333	1	645,333	81,594	0,000
Liofilización	2572,248	1	2572,248	325,228	0,000
Escaldado * liofilizado	25,544	1	25,544	3,230	0,110
Error	63,272	8	7,909		
Total	205953,027	12			
Total corregida	3306,398	11			

**Nota.** <sup>a</sup> R cuadrado = ,981 (R cuadrado corregida = ,974). El (ANOVA) es a un nivel de confiabilidad del 95% y  $\alpha = 0.05$ . (n= 3). Fuente: La Autora, 2013.

En la Tabla 19, se observa que para establecer la regla de decisión se necesita del valor crítico, el mismo que se obtiene de la Tabla F para el nivel de significancia de 95%. Se observa que los tratamientos de escaldado y liofilizado afectan significativamente la concentración de Acido L -Ascórbico. El cociente F de la interacción escaldado-liofilización tiene un P de 0.110, lo que indica cierta interacción entre estos factores.

La revisión bibliográfica coincide en definir “al Ácido L-Ascórbico (L-AA) como una sustancia sensible al calor y soluble en agua” [Leong & Oey, 2012]. “Una combinación de lixiviación, la oxidación a las formas biológicamente inactivos, la degradación enzimática y la destrucción del ácido ascórbico por el calor durante el escaldado de agua caliente podría explicar tales pérdidas” [Murcia, *et al.*, 2000]. “La concentración de vitamina C (ácido ascórbico) es un indicador del valor nutritivo del

alimento, por lo que se utiliza como parámetro de calidad nutritiva” [Leong & Oey, 2012].

En el presente estudio se observa que el contenido de Ácido L-Ascórbico (L-AA) en (BF) fue mayor que en los tratamientos (BE), (BL) y (BEL). En la Tabla 20, el (BE), en donde el proceso térmico  $90\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 2 minutos, causó un efecto altamente significativo ( $p\leq 0.05$ ), sobre la retención del contenido de Ácido L-Ascórbico (L-AA).

Tabla 20. Análisis de Varianza (ANOVA) para el efecto de BE sobre el L-AA

Tratamiento	Concentración Ácido L-Ascórbico (mg/100 g de producto)	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
<b>Brócoli Fresco (BF)</b>	144,592	1,148	141,944	147,239
<b>Brócoli Escaldado (BE)</b>	115,310 <sup>a</sup>	1,148	112,662	117,958

**Nota.** <sup>a</sup> Diferencia significativa  $p\leq 0.05$  (n= 3).

Fuente: La autora, 2013.

El efecto del tratamiento (BEL) sobre el contenido de Ácido L-Ascórbico (L-AA), no registró diferencias significativas ( $p\geq 0.05$ ), por lo tanto, combinar el escaldado y la liofilización en las condiciones de la experimentación, no generó efectos sobre la concentración de Ácido L-Ascórbico (L-AA), pero es importante mencionar que en otros trabajos, sí se ha obtenido esta significancia. Patras, Tiwari & Brunton (2011) cuando trataron “muestras de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) a  $95^{\circ}\text{C}$  por 3 minutos, congelación a  $-30^{\circ}\text{C}$  por 2.5 horas y posterior liofilización. De esto se dedujo que la temperatura de escaldado y congelación al igual que los tiempos aplicados en el escaldado condicionan el efecto del tratamiento (BEL)”.

Igualmente el efecto del tratamiento (BEL) ocasiona que “la estabilidad del ácido ascórbico disminuye con el aumento de la temperatura y el pH” según lo informado por Franke, Custer, Arakaki, & Murphy (2004). “Esta destrucción por oxidación es un problema grave en la que se pierde una cantidad considerable de los contenidos de vitamina C (Ácido ascórbico) de los alimentos durante el procesamiento, almacenamiento y preparación” [Gil, Tomas-Barberan, Hess-Pierce, & Kader, 2002].

En la Tabla 21, se observa que cuando se aplica el proceso de liofilización, se obtiene una diferencia altamente significativa ( $p \leq 0.05$ ) en la retención de Ácido L-Ascórbico (L-AA) con respecto al (BF).

Tabla 21. Análisis de Varianza (ANOVA) para el efecto de BL sobre el (L-AA)

Tratamiento	Concentración Ácido L – Ascórbico (mg/100 g de producto)	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
<b>Brócoli Fresco (BF)</b>	137,284	1,148	134,637	139,932
<b>Brócoli Liofilizado (BL)</b>	122,618 <sup>a</sup>	1,148	119,970	125,265

**Nota.**<sup>a</sup> Diferencia significativa  $p \leq 0.05$  (n= 3).  
Fuente: La autora., 2013.

La Tabla 21, indica que la cantidad de Acido L- Ascórbico varía entre el brócoli fresco y liofilizado, la pérdida de Acido L-Ascórbico es menor en la liofilización que en otros métodos, así se ratifica lo que Ramírez (2006) “cuando expone que una de las ventajas de la liofilización es la retención de los nutrientes en gran porcentaje”.

Tabla 22. Porcentaje de retención de (L-AA) para (BE) y (BL)

Tratamiento	Concentración Acido L- Ascórbico (mg/100 gr de producto)	Retención (%) Acido L-Ascórbico	Rango de pérdida de Ácido L-Ascórbico (mg /100 gr de producto)
<b>Brócoli Escaldado (BE)</b>	115.310	79.70	25.50 - 33.00 <sup>b</sup>
<b>Brócoli Liofilizado (BL)</b>	122.618	89.32	18.411 - 10.90 <sup>b</sup>

**Nota.**<sup>b</sup> Con un intervalo del 95% de confianza. (n=3)  
Fuente: La Autora, 2013.

El análisis de varianza permite identificar el tratamiento que retiene mayor cantidad (%) de Ácido L-Ascórbico (L-AA): el (BL) con un 89.32% esto se muestra en la Tabla 22, el cual difiere de los resultados encontrados en otros estudios similares; “en muestras de brócoli congeladas a -30°C por 2.5 horas en donde se registró un 16.8% de retención” [Funamoto, Yamauchi & Shigyo, 2003]. “Las pequeñas pérdidas en los productos liofilizados se atribuyen a las bajas temperaturas y a la utilización de vacío en el proceso. Se debe señalar que, debido a la estructura altamente porosa de productos liofilizados” [Marques & Freire, 2006].

El tratamiento (BE) registra el menor valor 79,70% en retención de Ácido L-Ascórbico (L-AA), pero al compararlo con trabajos similares, en donde “se obtuvo un 51.37% a  $\pm 92^{\circ}\text{C}$  por 4 minutos” [Chaparro, Díaz & Paredes, 2011] éste es superior. “Se ha determinado una alta retención de Ácido L-Ascórbico (L-AA) al aplicar HTST ( $90^{\circ}\text{C}$  por 3 minutos)” [Chaparro, Díaz & Paredes, 2011], concluyendo que el tratamiento (BE) se puede considerar un buen método de retención de Ácido L-Ascórbico (L-AA), además el contenido de 115.310 mg/100 gramos de producto, es superior al registrado en la tabla de composición de alimentos Colombiano del ICBF para el Brócoli (100 mg/100 gramos de parte comestible).

En tal sentido se puede señalar que “la diferencia de valores puede estar relacionada con la eliminación del agua libre” [Fennema, 2006] durante la liofilización, produciendo mayor retención y fijación de Ácido L-Ascórbico (L-AA) en comparación cuando sólo se congela el producto. Las pérdidas de Ácido L-Ascórbico (L-AA) en este tratamiento fueron atribuidas a la etapa de adecuación de las muestras (corte) y en el congelamiento previo a la liofilización ( $-26^{\circ}\text{C}$  por 12 horas).

“En procesos como corte y trituración se degrada la matriz de alimentos favoreciendo el contacto de la Ascorbato Oxidasa (AAO) sobre Ácido L-Ascórbico (L-AA), generando el ácido dehidroascórbico (ADHA)” [Munyaka, Oey & Van Loey, 2010], aumentando las posibilidades de la conversión a ácido dicetogulónico que carece de actividad vitamínica. Igualmente Badui (2006) opina que “la estabilidad de las vitaminas está influida por la actividad de agua de los alimentos de baja humedad, en los productos muy secos no existe agua que actúe como filtro y la oxidación se produce fácilmente”.

## **7.5 Determinación de actividad peroxidasa (POD)**

El Brócoli fresco presentó una gran actividad enzimática en Peroxidasa de 326.432 UPOD/100 gramos de producto, este resultado es superior al estudio realizado

por Murcia, López, Martínez, Vera & García (2000) en el cual obtuvo un resultado de 308 umol/min por cada 100 gramos de producto fresco.

Tabla 23. Análisis de varianza (ANOVA) para el efecto de los tratamientos sobre UPOD

Tratamiento	UPOD / 100 gr de producto	% POD	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
<b>Brócoli Fresco (BF)</b>	326.432 <sup>a</sup>	100%	0.514	325.005	327.859
<b>Brócoli Escaldado (BE)</b>	93.054 <sup>a</sup>	28.50%	0.514	91.627	94.480
<b>Brócoli Liofilizado (BL)</b>	34.291 <sup>a</sup>	10.50%	0.514	32.864	35.718
<b>Brócoli Escaldado-Liofilizado (BEL)</b>	10.610 <sup>a</sup>	3.30%	0.514	9.183	12.037

**Nota.** <sup>a</sup> Diferencia significativa  $p \leq 0.05$ . (n=2). Unidades de actividad enzimática de Peroxidasa = (UPOD / 100 gramos de producto). Fuente: La autora, 2013.

A diferencia del contenido de Ácido L-Ascórbico (L-AA), la interacción del escaldado y la liofilización (BEL), afectó la actividad enzimática de la Peroxidasa ( $p \geq 0.05$ ), registrando un 3.3 % de actividad enzimática en peroxidasa (UPOD) residual esto se observa en la Tabla 23.

En la evaluación del efecto de (BL) sobre la actividad enzimática en peroxidasa (UPOD), resultó ser altamente significativo ( $p \leq 0.05$ ), Se obtuvo un valor residual de 10.50% de actividad enzimática (Tabla 23), lo que conlleva a deducir que la liofilización tiene un efecto significativo para modificar la actividad enzimática de la peroxidasa (UPOD).

De acuerdo a los resultados la aplicación de (BL) se considera una alternativa para la conservación del brócoli sin aplicación de tratamientos térmicos (escaldado) porque retiene un alto porcentaje de ácido L-ascórbico (L-AA) y la actividad enzimática en peroxidasa (UPOD) disminuye a las condiciones de la experimentación; “pero se debe validar y garantizar la estabilidad el producto durante un almacenamiento prolongado, ya que puede presentarse durante éste la pérdida de ácido L- ascórbico (L-AA) hasta en un 50% o más” [Goncalves, Abreu, Brandao & Silva, 2011], debida principalmente a “la reactivación de isoenzimas asociadas con actividad Peroxidasa”

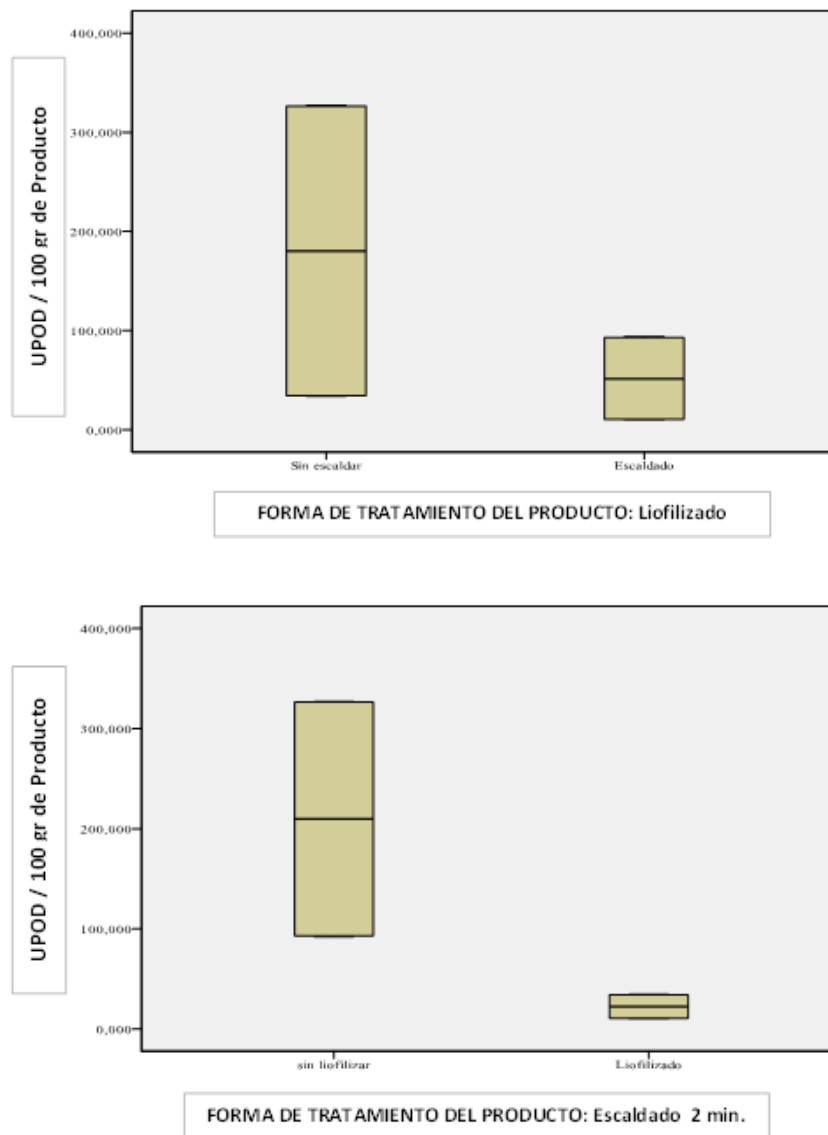
[Munyaka, Makule, Oey & Hendrickx, 2010], “ascorbato oxidasa (AAO) y ascorbato peroxidasa (APx); la reactivación de estas isoenzimas ha sido evaluada” [Tipawan & Barrett, 2005].

Tabla 24. Estadístico (ANOVA). Actividad POD en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) escaldado y liofilizado (UPOD/100 gramos de producto)

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	125183,088 <sup>a</sup>	3	41727,696	79032,478	0,000
Intersección	107827,411	1	107827,411	204225,688	0,000
Liofilización	33039,793	1	33039,793	62577,544	0,000
Escaldado	70156,774	1	70156,774	132877,302	0,000
liofilizado * Escaldado	21986,521	1	21986,521	41642,587	0,000
Error	2,112	4	0,528		
Total	233012,610	8			
Total corregida	125185,200	7			

**Nota.** <sup>a</sup> R cuadrado = 1,000 (R cuadrado corregida = 1,000). El (ANOVA) es a un nivel de confiabilidad del 95% y  $\alpha = 0.05$ . (n= 2). Fuente: La autora, 2013.

En la Tabla 24, se resume el análisis de varianza. Se observa que los tratamientos de liofilización y escaldado afectan significativamente la actividad Peroxidasa en floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*). Lo que indica que al combinar tratamientos térmicos (escaldado) y liofilizado reduce significativamente la actividad Peroxidasa (POD) pero no resulta práctico para evaluar la retención de ácido L-ascórbico (L-AA), esto se observa en la Figura 32, lo que conlleva a sugerir la revisión y ajuste de las condiciones de liofilización para determinar el efecto combinado, que podría resultar en un sinergismo, si se tiene en cuenta que éste tratamiento (BEL) registró el 97.7% de reducción de la actividad de la peroxidasa (POD) y se analiza que dentro de este valor, “también se incluye la actividad de isoenzimas asociadas a la peroxidasa (POD) como la Ascorbato Peroxidasa (APx), responsable de la reducción del (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) celular con la concomitante oxidación de ácido L-ascórbico (L-AA)” [Patras, Tiwari & Brunton, 2011] y “la clorofilasa asociada a la peroxidasa (POD) responsable de color amarillo del brócoli durante el almacenamiento” [Munyaka, Makule, Oey & Hendrickx, 2010].



**Figura 32. Efecto del tratamiento BE y BL sobre el efecto de UPOD**

Fuente: La autora, 2013.

Pero según estudios realizados por Raseetha, Leong, Burritt, & Oey (2013) determinó que “la peroxidasa, principal responsable de la degradación de carotenoides, no es destruida durante la deshidratación, pero sí mediante el escaldado”. Sin embargo, Sahari, Boostani & Hamidi (2004) experimentaron que “la peroxidasa se inactiva transcurrido los 16 minutos de calentamiento a 100°C”.



Los parámetros de tiempo y temperatura aplicados en (BE), dejan en la muestras una 28.50% de actividad residual de la peroxidasa (POD); de acuerdo al análisis de datos, el escaldado presenta un efecto significativo sobre la actividad de la peroxidasa (POD) ( $p \leq 0.05$ ) frente al valor de (BF), resultado similar al obtenido por Polata, Wilinska, Bryjak & Polakovic (2009) en donde se evidencio que “la actividad enzimática en peroxidasa (UPOD) decrece con el aumentos de la temperatura a tiempo inferiores a 100 segundos en floretes de Brócoli. Esta inactivación enzimática favorece la retención de Acido L-Ascórbico (L-AA) en las muestras”.

## Conclusiones

### Caracterización de la materia prima

Después de haber realizado la caracterización de los floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) en estado fresco, podemos corroborar con lo expuesto por otras investigaciones, debido a que el contenido de humedad fue de 84.14%, pH de 6.2, acidez titulable total fue de 0.183% ácido cítrico y ácido ascórbico entre el rango de 134.637 – 147.239 mg/100 gramos de producto; lo que indica que se encuentra dentro de los parámetros normales del vegetal y a la vez que es de muy buena calidad y pueda ser aceptada por el consumidor final.

### Cinética de Liofilización

A partir de la experimentación se pudo apreciar que la liofilización de floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) es una operación unitaria que permite conservar por mucho más tiempo este producto ya que de la forma natural este en pocos días se oxida y pierde las características organolépticas esenciales que hacen de este producto agradable.

La determinación de la cinética de liofilización en los floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) confirmó que el tiempo de liofilización depende del espesor de la capa seca de la muestra. Además, los resultados obtenidos pueden servir como base para establecer las condiciones óptimas para la liofilización de este producto.

La humedad de los floretes de brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) al iniciar el ciclo de liofilización fue entre 0.8414 y 0.9011 g H<sub>2</sub>O/g s.s en los tratamientos fresco liofilizado y escaldado liofilizado respectivamente y a las 33 horas el 93.6% y el 91.7% respectivamente, de la humedad inicial de los floretes de brócoli fue eliminada durante el periodo de sublimación, a una presión en la cámara de secado de 0.052 mbar

y una temperatura de  $-56^{\circ}\text{C}$  y una temperatura de los floretes de brócoli de  $-26^{\circ}\text{C}$ , el cual fue suficiente para mantener el flujo de vapor en el proceso de liofilización.

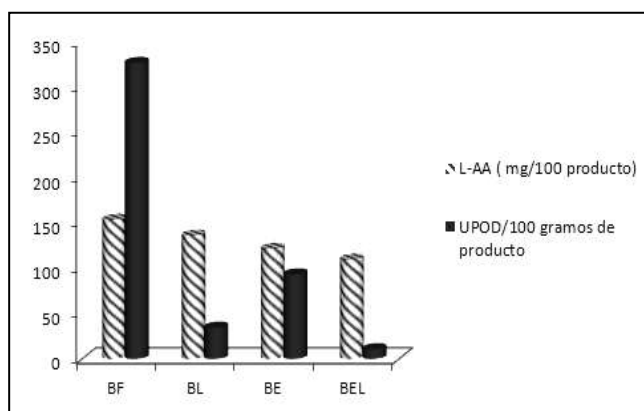
Las principales variables (temperatura del producto congelado, presión de vapor en el equipo, fracción de agua del producto) incluidas en el modelo matemático fueron calculadas a partir de los datos obtenidos experimentalmente, debido a que no se contó con el equipo necesario para obtenerlas directamente y a que el espesor de la muestra fue muy pequeño con lo cual se hacía más difícil medir algunos de los parámetros requeridos como la difusividad de vapor de la capa seca y el espesor de la capa seca con respecto al tiempo.

Lo que interesa del modelo URIF es analizar su comportamiento más que el ajuste con los datos experimentales, al resolver el modelo matemático se puede observar que los valores se ajustan satisfactoriamente con respecto a los obtenidos en forma experimental tanto en brócoli fresco liofilizado con un  $r^2 = 0.813$  y en brócoli escaldado liofilizado con un  $r^2 = 0.851$  aproximadamente, los resultados obtenidos en forma experimental con respecto a los datos obtenidos en el modelo matemático se deben principalmente a la forma como se obtuvieron los valores de las variables que intervienen en el modelo matemático.

El tratamiento escaldado-liofilizado en floretes de Brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*) no causa ningún efecto sobre la cantidad de agua retirada del producto ya que el escaldado no reduce el área superficial, por lo tanto; se deben evaluar otros pretratamientos o métodos de conservación que minimice el tiempo del proceso de liofilización, sin embargo, es importante estudiarlo ya que este proceso preserva las características de frescura del producto y elimina enzimas desagradables que afectan su calidad.

### Acido L- Ascórbico (L-AA) y Actividad Peroxidasa (POD)

El escaldado es uno de los métodos de conservación más usados durante el procesamiento industrial de vegetales, y en este trabajo, se evidenció el efecto que tiene sobre la retención de ácido L-Ascórbico (L-AA) y la peroxidasa (POD), por lo tanto se consideró que es el mejor tratamiento para mantener una estabilidad química (actividad Peroxidasa) y nutricional (ácido L-Ascórbico) en floretes de Brócoli (*Brassica oleracea L, var. Legacy*), esta es observada en la Figura 33.



**Figura 33. Comportamiento de los tratamientos BE, BE, BL y BEL sobre el efecto del ácido L-ascórbico (L-AA) y la actividad enzimática de peroxidasa (UPOD)**

Fuente: La Autora, 2013.

El tratamiento (BL) registró los mayores valores para el contenido de ácido L-ascórbico (L-AA) y actividad Peroxidasa (POD), (Figura 33), pero se debe evaluar el contenido de ácido L-ascórbico (L-AA) después de la congelación de la muestras para establecer niveles significativos durante la liofilización además verificar que no se registran cambios durante el almacenamiento prolongados para ser considerado como otro método eficiente para preservar la estabilidad química (actividad Peroxidasa) y nutricional (ácido L-ascórbico) en floretes de Brócoli (*Brassica oleracea L, var. legacy*).

El tratamiento (BEL), es efectivo para disminuir la actividad enzimática de Peroxidasa (UPOD) pero no causa un efecto sobre el contenido de ácido L-ascórbico (L-AA), por lo tanto se deben evaluar el contenido de ácido L-ascórbico (L-AA) después de la congelación de la muestras para establecer niveles significativos durante la liofilización y así considerarlo como un método de conservación, combinando altas y bajas temperaturas para mantener la estabilidad química (actividad Peroxidasa) y nutricional (ácido L-ascórbico) en floretes de Brócoli (*Brassica oleracea L, var. legacy*).

Para los tratamientos (BF), (BL) y (BE) las pérdidas de ácido L-ascórbico (L-AA) están asociadas a una combinación de lixiviación por el baño de hielo en el escaldado, el corte (área expuesta) que pudieron permitir la oxidación hacia formas biológicamente inactivas.

## Recomendaciones

Para un producto con un contenido de humedad muy alto como es el caso del brócoli, es recomendable la aplicación de un pretratamiento osmótico a la liofilización, para procesar alimentos que son susceptibles al oscurecimiento enzimático, permitiendo eliminar humedad hasta obtener las condiciones de un producto seco y conservar las características físicas de un fruto fresco, además de reducir los tiempos y por ende los costos de liofilización.

Para alimentos con un contenido alto de ácido L-Ascórbico (L-AA) como el brócoli, se recomienda un empaque con revestimiento oscuros tal como se realizó en la investigación (frascos ámbar) que proteja el alimento de la luz, el oxígeno y la contaminación, debido a que el ácido L-Ascórbico (L-AA) se degrada fácilmente, por lo cual, se debe buscar la manera de mantener la muestra liofilizada.

Se recomienda realizar curvas de congelación para floretes de brócoli, para determinar el comportamiento del producto a bajas temperaturas (tiempos de congelación), además se puede obtener datos que puedan determinar la viabilidad de compuestos nutricionales (ácido L - ascórbico), esto con el fin de establecer si la liofilización tiene efectos sobre el porcentaje de agua congelada y el contenido nutricional (Ácido L - ascórbico) existente en el producto.

Se recomienda realizar investigaciones para evaluar los compuestos bioactivos o funcionales que posee el brócoli (vitamina C, carotenoides, clorofilas, compuestos fenólicos y glucosinolatos), que puedan ser modificados por el proceso de escaldado (temperatura y tiempo de escaldado) y liofilización; para que igualmente este tipo de tratamiento afecte notablemente a la Actividad Peroxidasa (POD) haciendo que esta se inactive o desaparezca para evitar efectos desagradables totalmente del producto final.

La mayoría de los productos se deshidratan por métodos convencionales y no hay nuevos intentos implementar métodos de conservación como las tecnologías emergentes que por obvias razones estos son de alto costo. Pero a pesar de los costos se recomienda estos procesos para alimentos como el brócoli debido a que es una excelente alternativa para la industria con la seguridad de obtener un producto de óptima calidad nutricional (Acido L- Ascórbico), por esta razón la liofilización como un método de conservación, tiene cada vez mayor aplicación, especialmente con productos cuyos mercados exigen calidad. De todos modos existe un alto potencial de evolución que depende del progreso en la investigación básica y del nivel creativo en el desarrollo y operacional en plantas industriales.

## Referencias Bibliográficas

- Abdelwahed W., Degobert G., Stainmesse S. & Fessi H. (2006). Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations. *Adv. Drug Deliver Rev*; 58 (15): 1688-1713.
- Acciones de los antocianos. Los bioflavonoides: propiedades y funciones. (2005). Extraído el día 18 de julio del 2005 desde <http://saludbio.com/articulo/los-bioflavonoides>.
- Adams, J. B. (1991). Review: Enzyme inactivation during heat processing of food – stuffs. *International Journal of Food Science and Technology*. 26(1): 1-20.
- Al – Obaidy & Siddiqi, A. (1981). Properties of Broad Bean lipoxigenase. *Journal Food Science*. 46 (2): 622-629.
- Altunkaya, A. & Gokmen, V. (2008). Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). *Food Chemistry*. 107: 1173- 1179.
- Alvarado, J. D. (1996). *Principios de Ingeniería Aplicados a Alimentos*. Quito, Ecuador: Ed. Radio Comunicaciones OEA.
- Amores Vizuete, D. A. (2011). *Evaluación Nutritiva y Nutraceutica de la Mora de Castilla (Rubus Glaucus) deshidratada por el Método de Liofilización y Comparación con la Obtenida por Deshidratación en Microondas y Secador en Bandejas*”. (Tesis). Riobamba-Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia.. Pp. 5, 53, 72.
- Araujo, J. (2008). *Clasificación botánica sistemática*. Riobamba, Ecuador: Comunicación personal.
- Avollone, C., Cravzov, A., Montenegro, S. & Pellizzare, E. (2000). *Estudio de la actividad de polifeniloxidasas y peroxidasas en Carica papaya L. mínimamente procesada*. Comunicaciones científicas, Universidad nacional de Nordeste-Argentina.
- Avollone, C., Cravzov, A., Montenegro, S. & Pellizzare, E. (2000). *Estudio de la actividad de la peroxidasas, pectinesterasa y polifeniloxidasas en extracto enzimático de sandía (Citrullus vulgaris Schard)*. Universidad nacional de Nordeste-Argentina.
- Balouchi, Z., Peyvast, G. A., Ghasemnezhad, M. & Saadatian, M. (2011). Changes of antioxidant compounds of broccoli (*brassica oleracea* l.var. *Italica*) during



- storage at low and high temperatures. *Journal of Horticulture, Biology and Environment*. 2 (2): 193-212.
- Barbosa G. – Cánovas H. (2000). *Deshidratación de alimentos*. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S.A.
- Barbosa-Canovas G. V. & Vega-Mercado H. (1996). Dehydration of Foods. *Chapman & Hall*. Nueva York, EE.UU.
- Barth, M. M., Kerbel, E. L., Perry, A. K. & Schmidt, S. J. (1993). Modified atmosphere packaging affects ascorbic acid, enzyme activity and market quality of broccoli. *Journal of Food Science* 58: 140-143.
- Barth, M., Kerbel, E., Broussard, S. & Schmidt, S. (1993). Modified atmosphere packaging protects market quality in broccoli spears under ambient temperature storage. *Journal of Food Science*. 58: 1070-1072.
- Basabe, T. B. (2000). Funciones de la vitamina C en el metabolismo del colágeno. *Rev Cubana Aliment Nutr*; 14 (1): 46-54.
- Ben-Aziz, A., Grossman, S., Ascarelli, I. & Budowski, P. (1970). Linoleateoxidation induced by Lipoxygenase and heme proteins: A direct spectrophotometric assay. *Analytical Biochemistry*. 34: 88-100.
- Borgues, M. R., Atzingen, M. C., Machado, P. & Silva, M. (2004). Análisis Sensorial y ácido ascórbico de hortalizas en fresco y ultracongeladas. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 4(4): 240-245.
- Brennan, J. G., Butters J. R., Cowell, N.D. & Lilly, A. E. V. (1980). Las operaciones de la ingeniería de alimentos. Zaragoza, España: Acribia, S.A.
- Bubnovich, V., Reyes, A., Quijada, E. & Mahn, A. (2012). Numerical simulation of lyophilization of carrot slices at atmospheric pressure in a fluidized bed. *Journal of food engineering*. 109: 659 – 667
- Büchert, A. M., Civello, P. M. & Martínez, G. A. (2011). Chlorophyllase versus pheophytinase as candidates for chlorophyll dephytilation during senescence of broccoli. *Journal of Plant Physiology*, 168: 337-343.
- Camacho, J. C. (2004). *Vademecum Agrícola*. Edifarm. Pp. 53.
- Campas-Baypoli, O. N., López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D.I. & Bueno-Solano, C. (2011). Contenido de sulforafano (1-isotiocianato-4-(metilsulfinil)-butano) en fermentados de brócoli. *Ciencia@uaq*. 4(2):10-18.

- Cano, M. P., (1996). *Vegetables. Freezing effects on food quality*. New York: Marcel Dekker: L. E. Jeremiah. Pp. 520.
- Cantwell, M. and Suslow, T. (1999). Broccoli: Recommendation for maintaining postharvest quality. Extraído desde Abril del 2012. <http://postharvest.ucdavis.edu/pfvegetable/Broccoli/>
- Cantwell, M. & Suslow, T. (2012). Brócoli: (Brócoli): Recomendaciones para Mantener la Calidad Postcosecha. Department of Vegetable Crops, University of California, Davis. Extraído el día 16 de marzo del 2012, desde <http://postharvest.ucdavis.edu/Hortalizas/Br%C3%B3coliBr%C3%B3culi/>
- Cappellini, R. A. & Ceponis, M. J. (1984). *Postharvest losses in fresh fruits and vegetables. Postharvest pathology of fruit and vegetables: postharvest losses in perishable crops*. Universidad de California. Pp, 24-30.
- Características de vitamina C (1998). Leído el día 29 de enero de 1998 desde <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=www.google.com>.
- Chacón T. (2010). *Efecto de la aplicación de soluciones de *Chorella Vulgari* y *Scenedesmus Obliquus* sobre el Contenido de compuestos funcionales en germinados de brócoli (*Brassica Oleracea* var, *italica*)* (Tesis de Magister en Diseño y Gestión de Procesos), Universidad de la Sabana, Bogotá, Colombia.
- Chandia, V. (2000). *Modelo Bifásico para la determinación de los Parámetros Termocinéticos de la Desactivación de las Enzimas Peroxidasa y Lipoxigenasa en Zanahoria (*Daucus carota*), Brócoli (*brassica olerácea* cultivar *itálica*) sometidos a diversos tratamientos de escaldado*. (Tesis para optar al grado de Licenciado en Ingeniería en Alimentos) Universidad Austral de Chile. 98p.
- Chaparro, M. P., Diaz, Y. & Paredes, M. J. (2011). Evaluation of microwave technology in blanching of broccoli. *Procedia – Food Science, 1*, 426-432.
- Chebrolu, K., Jayaprakasha, G. & Sun Yoo, K. (2012). An improved sample preparation method for quantification of ascorbic acid. *Food Science and technology*, 47, 443-449.
- Cheftel, J.C., H. Cheftel y P. Besacon. (1992). *Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos*. Zaragoza, España: Editorial Acribia. Vol 2. Pp. 404.
- Clementz, A. & Delmoro, J. (2011). Snacks Frutales. *Universidad del Centro Educativo Latinoamericano. Rosario, Argentina. Vol. 14*, núm. 27: 153-163.
- Contreras, E., Strong, F. & Guernelli, O. (1984). Determinação de ácido ascórbico (vitamina C) por redução de ions cúpricos. *Química Nova*. Pp. 60-64.

- Contreras, Guzmán E. S., Seron, L. H. (1993). Suco de laranja com ferro. Aspectos químicos e nutricionais. (uma alternativa no combate á anemia). Química NOVA. 16(1), pag. 23 -27
- Costa, M. L., Civello, P. M., Chaves, A. R. & Martínez, G. A. (2005). Effect of hot air treatments on senescence and quality parameters of harvested broccoli (*Brassica oleracea* L. var *italica*) heads. *Journal of the Science and Food Agriculture*, 85: 1154-1160.
- Cuantificación vitamina C (2011). Universidad para los mayores. Pp. 1-6
- Cuper, O. (1965). *Deshidratación Artificial – Liofilización Alimentaria*. Tomo 1: Bases Generales – Tecnología Industrial. Buenos Aires, Consejo Nacional de Desarrollo, Grupo de Proyectos Especiales.
- Desrosier, N. (1993). *Conservación de alimentos*. México: Editorial Continental. 468 p.
- Díaz, A. (1999). *Diseño Estadístico de Experimentos*. Medellín, Antioquia: Editorial Universidad de Antioquia. Pp. 37-41
- Dixon, R. (2001). Natural products and plant disease resistance. *Journal Nature*, 411, 843-847.
- Duarte-Vázquez, M. A., Whitaker, J. R., Rojo-Domínguez, A., García-Almendárez, B. E. & Regalado, C. (2003). Isolation and thermal characterization of an acidic isoperoxidase from turnip roots. *J Agric Food Chem*. 51(17): 5096-102. Resumen extraído el 23 de Marzo, 2010, de la base de datos Refdoc.
- Ediriweera, N., Akiyama, Y. & Saio, K. (1987). Inactivation of Lipoxygenase in soybeans. *Journal of Food Science*. 52(3): 685 – 690.
- Escaldado y pelado al vapor. Tema 6 (2007). Leído el 25 de mayo del 2007. <http://www.ual.es/~jfernand/TA/Tema6/Tema6-EscaldadoyPV.pdf>.
- Espinal, M. (2010). *Capacidad antioxidante y ablandamiento de la guayaba Palmira ICA I (Psidium guajava)*. (Tesis de Maestría en Ciencias Químicas). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Colombia.
- Favell, D. J. (1998). A comparison of the vitamin C content of fresh and frozen vegetables. *Food Chemistry* 62 (1): 59 – 64.
- Freeze Drying (lyophilization) and Freeze Concentration (2009). *Food Process Engineering and Technology*. Elsevier Inc. Pp. 511-523. ISBN: 978-0-12-373660-4.

- Fennema, O. (2006). *Química de los alimentos*. Edición 2. Zaragoza: Editorial Acribia S.A.
- Fernández León, M. F. (2012). *Evolución de los parámetros de calidad físico-química y funcional de distintas brassicas sometidas a diferentes tratamientos postcosecha*. (Tesis doctoral). Universidad de Extremadura. Badajoz, España.
- Fernández, J. M. (2007). *Tecnología de los alimentos, escaldado y pelado al vapor*. Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Almería.
- Figueroa, V. & Lama, J. (2000). Como conservar Alimentos y Condimentos con método sencillos y naturales. Págs. 15-22.
- Fintrac, (2002). Procesamiento de Mango. Centro de inversión, desarrollo y exportación de agro negocios (IDEA). Boletín Técnico # 16. (En línea) Consultado 18 de Septiembre del 2010. Disponible en:  
[http://www.fintrac.com/docs/elsalvador/boletin\\_tecnico\\_16\\_procesamiento\\_mango\\_product.pdf](http://www.fintrac.com/docs/elsalvador/boletin_tecnico_16_procesamiento_mango_product.pdf)
- Flesia, M. A., (s.f.). *La Conservación de Sustancias Perecederas por Medio de la Liofilización*. Universidad Técnica Nacional. Facultad Regional Santa Fe. Ingeniería Industrial. Procesos industriales. Pp. 11-13
- Franke, A. A., Custer, L. J., Arakaki, C. & Murphy, S. P. (2004). Vitamin C and flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17(1), 1–35.
- Funamoto, Y., Yamauchi, N. & Shigyo. (2003). Involvement of peroxidase in chlorophyll degradation in stored broccoli (*Brassica oleracea* L.) and inhibition of the activity by heat treatment. *Postharvest Biology and echnology*, 28: 39-46
- Gallardo, M. (2004). *Validación Experimental de un Software Asistido por Internet para describir el proceso combinado escaldado-hidroenfriado en floretes de Brocólí (*Brassica oleracea* L. var *Italica*)*. (Tesis de Licenciado en Ingeniería de alimentos). Universidad Austral de Chile.
- García, B., Duarte-Vázquez, M. A., Regalado, C. (2003). Propiedades de la enzima indicadora del escaldado en el procesamiento de alimentos vegetales. Extraído el 3 de Marzo, 2010, de  
[http://www.pncta.com.mx/pages/pncta\\_investigaciones\\_03h.asp?page=03e15](http://www.pncta.com.mx/pages/pncta_investigaciones_03h.asp?page=03e15).
- Geankoplis, C. J. (1999). *Procesos de Transporte y Operaciones Unitarias*. 3ª ed., México: Compañía Editorial Continental.
- George, J.P. & Datta, A.K. (2002). Development and validation of heat and mass transfer models for freeze-drying of vegetable slices, *J. Food Eng.* 52 : 89–93.

- Giannakourou M. & Taoukis P. (2003). Kinetic modeling of vitamin C loss frozen green vegetables under variable storage conditions, *Food Chemistry*; 83: 33-41.
- Gil, M. I., Tomas-Barberan, F. A., Hess-Pierce, B. & Kader, A. A. (2002). Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17): 4976–4982.
- Gnanasekharan, J., Shewfelt R. & Chinna, N. (1992). Detection of color changes in green vegetables. *Journal of Food Science* 57:149-154.
- Gonc\_alves, E. M., Pinheiro, J., Abreu, M., Branda, T. R. S. & Silva, C. L. M. (2007). Modelling the kinetics of peroxidase inactivation, colour and texture changes of pumpkin (*Cucurbita maxima L.*) during blanching. *Journal of Food Engineering*. 81: 693–701.
- Goncalves, E., Abreu, M., Brandao, T. & Silva. C. (2011). Degradation kinetics of colour, vitamin C and drip loss. *International Journal of Refirgeration*, 34: 2136-2144.
- Gross, J. (1991). *Pigments in vegetables: Chlorophylls and carotenoids*. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Hasperué, H. J. (2012). *Rol del metabolismo de hidratos de carbono en la senescencia postcosecha de brócoli*. (Trabajo de Tesis Doctoral). Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Exactas. Pp. 22
- Hemeda, H. & Klein, B. (1990). Inactivation and Regeneration of Peroxidase Activity in Vegetable Extracts Treated with Antioxidants. *Journal of Food Science* 56(1): 68-71 p.
- Hong Z. & Hongfei L. (2011). Effect of microwave pretreatment on the kinetics of ascorbic acid degradation and peroxidase inactivation in different parts of green asparagus (*Asparagus officinalis L.*) during water blanching. *Food Chemistry*. 128: 1087–1093
- Hörtensteiner S. (2006). Chlorophyll Degradation During Senescence. *Annual Review of Plant Biology*, 57: 55–77
- Howard, L., Wong A., Perry, A. & Klein, B. (1999). B-Carotene and Ascorbic Acid Retention in Fresh and Processed Vegetables. *Journal of Food Science*, 64(5), 929-936.
- Huaqiang D., Yueming J., Yuehua W., Ruang L. & Haoning G. (2004). Storage Quality of Fresh Broccoli Heads. *Food Technol. Biotechnol.* 42 (2): 135–139.

- Huaraca A. A. P. (2011). *Evaluación nutritiva y nutracéutica de la frutilla (fragaria vesca) deshidratada por el método de liofilización y comparación con la obtenida por deshidratación en microondas* (Tesis de pregrado). Riobamba-Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Pp. 36-46.
- Hurst, P., Cheer, V., Sinclair, B. & Irving, D. (1996). Biochemical responses of asparagus to controlled atmosphere storage at 20 °C. *Journal of Food Biochemistry*, 20: 463-472.
- Jaramillo, J. E., Cipriano A. & Díaz D. (2006). *El cultivo de las crucíferas. Brócoli, coliflor, repollo y col china*. Manual técnico 20. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - CORPOICA. La Selva Rionegro, Antioquia: Centro de Investigación. Pp 12, 14, 15, 162-170
- Jennings, T. A. (1999). *Lyophilization, Introduction and Basic Principles*. Denver, Colorado: Ed. Interpharm.
- Jesse F. & Gregory III. (2000). *Vitaminas*. Química de los alimentos. 2º. Ed. Zaragoza España: Acribia S.A.
- Jiménez, E. (1993). *Utilización de la Enzima Lipoxigenasa y Peroxidasa como Índice en el Blanqueado de Espárragos verdes (Asparagus officinalis L.)*. (Tesis para optar al título de Ingeniero en Industria Alimentarias). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima Perú.
- Jiménez, M. E., Zambrano, M. L. & Aguilar, M. R. (2004). Estabilidad de pigmentos en frutas sometidas a tratamiento con energía de microondas. *Información Tecnológica* 15(3):61-66.
- Jones, R. B., Faragher, J.D. & Winkler, S. (2006). A review of the influence of postharvest treatments on quality and glucosinolate content in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) heads. *Postharvest Biology and Technology*, 41: 1-8.
- Kader, A. A. (1992). *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. University of California Publications. Kader, edición. Pp. 3311.
- Keck, B. (1997). Fruit and vegetable dehydration. *Food Technology International* 100-102.
- Kerr, W. L. (2007). *11-Food Drying and Evaporation Processing Operations*. University of Georgia, Athens, USA: Myer Kutz (ed.). Handbook of Farm, Dairy and Food Machinery. Pp. 303-340.
- King, C. J. (1971). *Freeze-Drying of Foods*. Crc Press.

- King, G. A. & Morris S. C. (1994). Early compositional changes during postharvest senescence of broccoli. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119: 1000-1005.
- Koh, E., Wimalasiri, K., Chassy, A. & Mitchell, A. (2009). Content of ascorbic acid, quercetin, kaempferol and total phenolics in commercial broccoli. *Journal of food composition and analysis*, 22, 637-643.
- Ku, V. V. V. & Wills, R. B. H. (1999). Effect of 1-methylcyclopropene on the storage life of broccoli. *Postharvest Biology and Technology*, 17: 127-132.
- Kuehl, R. O. (2000). *Diseños de experimentos: Principios estadísticos de diseño y análisis de investigación*. Segunda edición. México: Editorial Thomson Editores S.A. 186-19.
- Ladrón de G., V. R. (2004). Hortalizas, las llaves de la energía. *Revista digital universitaria*. 5 (7): 1067 – 6079.
- Latorre, M., Ronelli, P. & Rojas, A. (2012). Microwave inactivation of red beet (*Beta vulgaris L. var. conditiva*) peroxidase. *Journal of food Engineering*, 109, 676-684.
- Latté, K. P., Appel, K. E. & Lampen, A. (2011). Review: Health benefits and possible risks of broccoli – An overview. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 3287-3309.
- Ledezma G, Marisol. (2004). Validación del método: Determinación de vitamina C total por cromatografía líquida de alta resolución HPLC. *Tecnología en marcha*. 17: 4, ISSN 0379-3982.
- Lee, C. Y., Pennesi, A. P. & Dickson, M. H. (1984). Characterization of the cauliflower peroxidase isoenzyme. *J. Agric. Food Chem.* 32: 18-21.
- Lemoine, M. L., Civello, M., Martínez, G. & Chaves, A. R. (2007). Influence of a postharvest V-C treatment on refrigerated storage of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea var italica*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 1132-1139.
- Leong, S., & Oey, I. (2012). Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 1577-1587.
- Lin, T.M., Durance, T.D. & Scaman, C.H. (1998). Characterization of vacuum microwave, air and freeze-dried carrot slices. *Food Res. Int.* 31 (2): 111–117.
- Ling, A. & Lund, D. (1978). Determining Kinetic Parameter for Thermal Inactivation of Heat-resistan and Heat-labile isoenzymes from Thermal destruction curves. *Journal of Food Science*. 43(4): 1307-1310.

- Lipton, W. J. (1987). Senescence in leafy vegetables. *HortScience*, 22: 854-859.
- Luanda, G., Marques, M. C. & Ferreira, J. T. (2007). Freeze-drying of acerola (*Malpighia glabra* L.), *Chemical Engineering and Processing* 46: 451-457.
- Luh, B. S. & Lorenzo, M. C. (1988). Freezing of vegetables. *Commercial vegetable processing*. New York: Van Nostrand Reinhold, pp. 342-386.
- Machlin, L. J. & Bendich A. (1987). Free radical tissue damage: protective role antioxidant nutrients. *Faseb J.* 441-445.
- Mafart, P. (1994). *Ingeniería Industrial Alimentaria*. Volumen I. Zaragoza, España: Ed. Acribia S.A.
- Mahmoodian F. & Peterkofsky B. (1999). Vitamin C deficiency in Guinea pigs differentially affects the expression of type IV collagen, laminin, and elastin in blood vessels. *Journal Nutr* ; 129: 83-91.
- Matile, P., Hörtensteiner, S. & Thomas, H. (1999). Chlorophyll degradation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular*, 50: 67-95.
- Marques, L. G. & Freire, J. T. (2005). *Lyophilization of Barbados cherry and papaya pulps*. Proceedings of the Third Inter-American Drying Conference. Montreal, Quebec, Canada.
- Marques, L. G. & Freire, J. T. (2006). Freeze-drying characteristics of tropical fruits. *Dry. Technology*. 24: 1-7.
- Marques, L. G., Ferreira, M. C. & Freire, J. T. (2007). Freeze-drying of acerola (*Malpighia glabra* L.). *Chemical Engineering and Processing* 46: 451-457
- Martínez, J. A., Ancos, de B., Sánchez, M. C. & Cano, M. P. (2007). *Protective effect of minimally processing on bioactive compounds of broccoli (brassica oleracea l. Var. Italica) during refrigerated storage and after cold chain rupture*. V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones.
- Martínez-Hernández, G. B., Artes-Hernandez, F., Gomez, P. A. & Artes, F. (2013). Induced changes in bioactive compounds of kailan-hybrid broccoli after innovative processing and storage. *Journal of Functional Foods*. 5: 133-143
- May, J. C. & Louis, R. (1999). Freeze-Drying/Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products. *Marcel Dekker*, New York, Basel.
- Meyer, M & Paltrinieri, G. (1989). *Elaboración de Frutas y Hortalizas*. Edición Trillas. Págs. 32-34,48.



- Millán, E., Restrepo, L. P. y Narváez C. E. (2007). Efecto del escaldado, de la velocidad de congelación y de descongelación sobre la calidad de la pulpa congelada de arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaught). *Agronomía Colombiana*, 25(2): 33-338.
- Montgomery, D. (2002). *Diseño y análisis de experimentos*. México: Limusa Wiley.
- Mulet, A., Sanjuan, N., Bon J. & Simal, S. (1999). Drying model for highly porous hemispherical bodies. *European Food Research and Technology* 210: 80-83.
- Munyaka, A., Makule E., Oey I. & Loey Hendrickx, M (2010). Thermal Stability of L-Ascorbic Acid and Ascorbic Acid Oxidase in Broccoli (*Brassica oleracea var. Italica*). *Journal of food science*, 75 (4): 336-340.
- Munyaka, A., Oey, I. & Van Loey, A. (2010). Application of thermal inactivation of enzymes during vitamin C analysis to study the influence of acidification, crushing and blanching on vitamin C stability in Broccoli (*Brassica Oleracea L var Italica*). *Food Chemistry*, 120: 591- 598.
- Murcia, M., López, B., Martínez, V. & García, M. (2000). Evolution of ascorbic acid and peroxidase during industrial processing of broccoli. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 8: 1882-1886.
- Nath, A., Bagchi, B., Misra, L. K. & Bidyut, D. (2011). Changes in post-harvest phytochemical qualities of broccoli florets. *Food Chemistry*, 127: 1510- 1514.
- National Academy Press (2000). *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. Food and Nutrition Board Institute of Medicine. Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds, Subcommittees on Upper Reference Levels of Nutrients and Interpretation and Uses of DRIs, Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Food and Nutrition Board. Washington, D.C.
- Nishikawa, F., Kato, M., Hyodo, H., Ikoma, Y., Sigiura, M. & Yano M, (2003). Ascorbate metabolism in harvested broccoli. *Journal of Experimental Botany*, 54: 2439-2448.
- Nováková, L., Solich, P. & Solichová, D. (2008). HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids. *Trends in Analytical Chemistry*. 27: 942-958, ISSN 0165-9936.
- Olaeta, J. A. (1991). Procesamiento de frutas subtropicales. *La Palma 1*: 17-22.
- Oleas López, M. R. (1999): Análisis de Competitividad de la Cadena Agroalimentaria del Brócoli: Brócoli Fresco/Brócoli Congelado. *Concejo Consultivo Hortalizas*. Investigación.

- Orrego Alzate, C. E. (2008). *Congelación y Liofilización de Alimentos*. Manizales, Caldas, Colombia. Pp. 49 - 65
- Otter, T., & Polle, A. (1994). The influence of apoplastic ascorbate on the activities of cell wall-associated peroxidase and NADH oxidase in needles of Norway spruce (*Picea abies L.*). *Plant and Cell Physiology*, 35(8), 1231–1238.
- Oyetade, O. A., Oyeleke, G. O., Adegoke, B. M. & Akintunde, A. O. (2012). Stability Studies on Ascorbic Acid (Vitamin C) From Different Sources. *Journal of Applied Chemistry*. 2(4): 20-24.
- Passardi, F., Cosio, C., Penel, C., & Dunand, C. (2005). Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Reports*, 24(5), 255–265.
- Pardo, M. & Keshavan, N. (2006). Modelación de la relación entre la cinética de congelación y la cinética de sublimación en extractos de café. *Ingeniería y competitividad*. 8, (2): 25 – 33.
- Parra R. F., Gomez, J., Hector, H., Gonzalez, E., Orfil, R. & Santos, A. J M. (2007). La importancia de medir la temperatura de sublimación para estimar parámetros efectivos de transporte en el proceso de liofilización. *Red de revistas científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*. Universidad de Guadalajara, Mexico.
- Parra, J., Gómez, H., González, O. & Santos, J. M. (2007). La importancia de medir la temperatura de sublimación para estimar parámetros efectivos de transporte en el proceso de liofilización. *Revista digital científica y tecnológica e-Gnosis*. 5: 1 – 23.
- Patras, A., Tiwari, B. & Brunton, N. (2011). Influence of blanching and low temperature preservation strategies. *Food Science and Technology*, 44: 299-306
- Patras, A., Tiwari, B. K. & Brunton N. P. (2011). Influence of blanching and low temperature preservation strategies on antioxidant activity and phytochemical content of carrots, green beans and broccoli. *Food Science and Technology* 44: 299-306.
- Pearson, D. (1986). *Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos*. Zaragoza: Editorial Acribia S.A.
- Perera H. & Yanovsky J. (1996). *Liofilización Alimentaria*. Buenos Aires: Proyecto LIAL.
- Pérez Castillo, N. L. (2010). *Estudio teórico y experimental de la liofilización de locos (concholepas concholepas)* (tesis de pregrado). Universidad de Santiago de Chile. Facultad de ingeniería. Departamento de ingeniería química. Santiago, Chile.

- Pino, P. (2003). *Introducción al Secado de Alimentos por Aire Caliente*. 1a.ed. Valencia-España: UPV. Pp. 39-48
- Polata, H., Wilinska, A., Bryjak, J. & Polakovic, M. (2009). Thermal inactivation kinetics of vegetable peroxidases. *Journal of Food Engineering*, 91, 387-391.
- Ponner, C. T., Baysal, T. & Yuksel, D. (1994). Freezing of vegetables. *Journal Food Science*. 59, 1037 – 1041, 1059.
- Prochaska, L. J., Nguyen, X. T., Donat, N. & Piekutowski, W. V. (2000). Effects of food processing on the thermodynamic and nutritive value of foods: literature and database survey. *Medical Hypotheses*, 54(2), 254-262.
- Ramírez Navas, J. S. (2006). Liofilización de Alimentos. *Recitela*. Bogotá, Colombia. Pp. 4, 25, 33, 36.
- Ramírez Navas, J. S. (2006). *Liofilización: Estado del Arte*. Universidad del Valle. Programa Doctoral en Ingeniería. Ingeniería de Alimentos. Cali, Colombia.
- Raseetha, S., Leong, S. Y., Burritt, D. J. & Oey, I. (2013). Understanding the degradation of ascorbic acid and glutathione in relation to the levels of oxidative stress biomarkers in broccoli (*Brassica oleracea L. italica* cv. Bellstar) during storage and mechanical processing. *Food Chemistry* 138: 1360–1369
- Ratti, C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-values foods: a review, *Journal Food Engineer*. 49: 311–319.
- Revisión bibliográfica. Escaldado. (2000). Extraído el día 16 de febrero del 2000 desde <http://tesis.uson.mx/digital/tesis/docs/8557/Capitulo1.pdf>
- Rey, L. R. (1960). Thermal análisis of eutectics in freezing solutions. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 85:510.
- Richardson, T. & Hyslop, D. (1993). *Enzimas*. Fennema. Química de los alimentos. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A. Pp. 415-536
- Rivera Rojas, J. E. (2007). Alimentos liofilizados. Liofilización: Una necesidad en Colombia. Publicado el 28 de marzo del 2007 desde <http://www.monografias.com/trabajos65/liofilizacion-colombia/liofilizacion-colombia.shtml>.
- Robinson, D. (1991). Bioquímica y el valor nutritivo de los alimentos. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.

- Rodríguez-Asca, J. C. (1986). Tecnología de la liofilización de productos vegetales. (Tesis de pregrado). Universidad Mayor de San Marcos. Facultad de Química e Ingeniería Química. Lima, Perú.
- Rodríguez-López, J. N., López-Molina, D., Tudela-Serrano, J. B. & García Cánovas, F. (2002). Enzima con actividad peroxidasa aislada de la alcachofa (*Cynara scolymus*, L.), procedimiento para su aislamiento y purificación y aplicaciones. Patente 2167278. España.
- Roos, Y. H. (1995). Glass transition-related physicochemical changes in foods: chemical and rheological changes during phase transition in food. *Food Technology*, 49(10): 97 – 102.
- Rudrappa, T., Neelwarne, B., Kumar, V., Lakshmanan, V., Reddampalli, S. & Gokare, R. (2005). Peroxidase production from hairy root cultures of red beet (*Beta vulgaris*). *Electronic Journal of Biotechnology*. 8: (2).
- Saarelaa, M., et al., (2005). Cantwell, M. & Suslow, T. (2012). *Stability and functionality of freeze-dried probiotic Bifidobacterium cells during storage in juice and milk*. Department of Vegetable Crops, University of California, Davis. Traducido por Clara Pelayo. Depto. Biotecnología. CBS. México, D.F. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.
- Sahari, M. A., Boostani, M. F. & Hamidi, Z. E. (2004). Effect of low temperature on the ascorbic acid content and quality characteristics of frozen strawberry. *Food Chem.* 86, 357-363.
- Sahin, S. & Soysal, C. (2011). Effect of ultrasound and temperature on tomato peroxidase. *Ultrasonics sonochemistry*, 18, 689-695.
- Sánchez Zamorano, L. (2009). *Caracterización químico - física de la Peroxidasa de palma real (Roystonea regia), una enzima con elevada estabilidad*. Universidad de Salamanca. Facultad de ciencias químicas. Salamanca.
- Saraiva, J., Oliveira, J., Lemos, A. & Hendrickx, M. (1996). Analysis of the patterns of horseradish peroxidase thermal inactivation in sodium phosphate buffer solutions of different ionic strength. *International Journal of Food Science and Technology*. 31(3): 223-231.
- Schelbert, S., Schenk, N., Kanwischer, M., Goldschmidt, E. E., Dörmann, P. & Hörtensteiner, S. (2009). The chlorophyllases *AtCLH1* and *AtCLH2* are not essential for senescence-related chlorophyll breakdown in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.* 581: 5517-5525.

- Schmidt, H. H., Pennacchiotti, M. I. (2011). Las enzimas en los alimentos. Su importancia en la química y la tecnología de los alimentos. *Determinación de actividad de Peroxidasa y de su regeneración*. Edición Digital reproducida con autorización de los autores. Biblioteca digital de la universidad de Chile. Desde [http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias\\_quimicas\\_y\\_farmaceuticas/schmidth02/parte08/02.html](http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/schmidth02/parte08/02.html)
- Schmidt-Hebbe L., H. & Pennacchiotti, I. (1982). *Las enzimas en los alimentos*. Fundación Chile. Santiago. Chile. 93 p.
- Schonhof, I., Kläring, H. & Krumbein, A. (2007). Effect of temperature increase under low radiation conditions on phytochemicals and ascorbic acid in greenhouse grown broccoli. *Science Direct Agriculture, Ecosystems and environment*, 119, 103-111
- Schössler, K., Jäger, H. & Knorr, D. (2012). Novel contact ultrasound system for the accelerated freeze-drying of vegetables. *Innovative Food Science and Emerging Technologies 16*: 113–120
- Segel, I. (1976). *Cálculos en Bioquímica*. 3ra Edición. Zaragoza, España: Editorial Acribia. S.A. Pp. 426.
- Segura, L. A. & Oyarzun, C. A. (2012). Experimental evidence of mass transfer mechanisms during freeze-drying in a capillary porous medium. *International journal of refrigeration 35* : 2102-2109.
- Shadle, E.R., Burns, E. E. & Talley, L. J. (1983). Forced air drying of partially freeze-dried compressed carrot bars, *Journal Food Science*. 48 (1): 193.
- Solórzano, E., Chacón O. & Fernández, A. (2004). Expresión Diferencial de Peroxidasas, Glucanasas y Fenilalanina Amonio Liasas en la Interacción Tabaco- *Phytophthora parasitica* variedad *nicotianae*. *Rev. Protección Veg.* 19 (2): 86-96
- Spieles, G., Marx, T., Heschel, I. & Rau, G., (1995). Analysis of desorption and diffusion secondary drying in vacuum freeze-drying of hydroxyethyl starch. *Chemistry Eng. Process.* 34 (4): 351-357.
- Tan, S. C., Bandarage, A., Haynes, & Phillips, D. (1993). Storage characteristics and quality of four broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) cultivars. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 33: 111.
- Techavuthiporn, Ch., Nakano, K. & Maezawa, S. (2008). Prediction of ascorbic acid content in broccoli using a model equation of respiration. *Postharvest Biology and technology*, 47, 373-381.

- Terroni, E. (1997). *Manual básico de liofilización*. Medellín Colombia: Editorial office. Pp. 15-17.
- Tian, M., Talebul, I., Stevenson, D. & Irving, D. (1997). Color, ethylene production, respiration, and compositional changes in broccoli dipped in hot water. *Journal of the American Society for the Horticultural Sciences*, 122: 112-116.
- Tipawan, T. & Barrett, D. (2005). Heat Inactivation and Reactivation of Broccoli Peroxidase. *Journal of agricultura and Food chemistry*, 53, 3215- 322.
- Toledo, R. (1999) *Fundamentals of Food Process Engineering*. 2da. Edición. New York USA.: Van Nostrand Reinhold.
- Torregrosa Verdú, F. (2006). “*Determinación de Vitamina C y Carotenoides en Zumos de Frutas y Hortalizas Frescos, Tratados por Calor o por Pulsos Eléctricos de Alta Intensidad (PEAI)*”. (Tesis doctoral). Universidad de Valencia. Valencia, España.
- Torres, W. H. (2002). Biología de las especies de oxígeno reactivas. *Mens Bioquim*; 26: 19-53.
- Universidad Nacional Federico Villareal (2011). *Liofilización*. Facultad ingeniería industrial y de sistemas. Escuela profesional de ingeniería agroindustrial. Lima, Perú.
- Vitamina C (2011). Extraído el día 19 de marzo del 2011 desde <http://es.wikipedia.org/wiki/VitaminaC#Funci.C3.B3n>.
- Viteri, P. (2005). *Estudio de estabilidad de la pulpa de mora sometida al proceso de liofilización*. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción. Guayaquil. Ecuador. Pp. 6
- Viteri, P. (2009). *Parámetros en liofilización*. Guayaquil, Ecuador: Editorial ESPOL. Pp. 17-51.
- Wambui Munyaka, A., Oey, I., Van Loey, A. & Hendrickx, M. (2010). Application of thermal inactivation of enzymes during vitamin C analysis to study the influence of acidification, crushing and blanching on vitamin C stability in Broccoli (*Brassica oleracea L var. italica*). *Food Chemistry* 120 : 591–598.
- Wang, Z., & Shi, M., (1998). The effects of sublimation–condensation region on heat and mass transfer during microwave freeze-drying. *J. Heat Transfer* 120, 654–660.
- Whitaker, J. (1972). *Principles of enzymology for the Food Sciences*. New York: Editorial Marcel Dekker. Vol 2: 592- 615 p.

- Wilhelm, G. & Oetjen, P. H. (2004). *Freeze-Drying*. Second Edition. WILEY-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, ISBN: 978-3-527-30620-6
- Winter, E. Z. (1969). Citado por Lee, C.Y.; Pennesi, A.P. & Dickson, M.H. (1984). Characterization of the cauliflower peroxidase isoenzymes. *J. Agric. Food Chem.*, 32: 18-21.
- Yamamoto, H. Y., Steinberg, M. P. & Nelson, A. I. (1962). Citado por Lee, C.Y.; Pennesi, A. P. & Dickson, M. H. (1984). Characterization of the cauliflower peroxidase isoenzymes. *J. Agric. Food Chem.*, 32: 18-21.
- Yanovsky, (2003). Entrevista realizada por Diario "LA NACIÓN", presentada con el título: "En Chubut, una planta única en el mundo", Argentina.
- Zambrano, J., Maffei, M., Valera, A., Materano, W. & Quintero, I. (2011). Optimización de las condiciones de almacenamiento sobre el contenido de ácido ascórbico en brócoli. *Rev. Fac. Agron.* 28 (1), 661-669.
- Zhai, S., Su, H., Taylor, R. & Slater, N. K. H. (2005). Pure ice sublimation within vials in a laboratory lyophilizer; comparison of theory with experiment. *Chemistry Engineer Science.* 60: 1167-1176.
- Zhai, S., Taylor, R., Sanches, R. & Slater, N. K. H. (2003). Measurement of lyophilisation primary drying rates by freeze-drying microscopy. *Chemistry Engineer Science* 58: 2313-2323.
- Zhang, D. & Hamazu, Y. (2004). Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry*, 88, 503-509.

## Anexos

### Anexo 1. Protocolos de Laboratorio para la Caracterización Físicoquímica de la Materia Prima

#### 1. Determinación de Acidez Titulable Total. (A.O.A.C. 31.231 / 84,942.15 / 1990 Adaptado)

Se coloca una bureta en un soporte universal, con pinza para bureta. Se llena la bureta con soda 0,1N, se mantiene en cero. Se toman 3 gramos de la muestra. Se toma una alícuota de 50 mL, de este se toman 10 ml del jugo filtrado y homogenizado. Se colocar en un erlenmeyer de 250mL, se vierten en el jugo tres o cuatro gotas de fenolftaleína.

Se vierte la solución de soda gota a gota hasta observar el cambio de color (rosado) hasta alcanzar un pH de 8.3, verificarlo con la ayuda del pH-metro. Con el contenido de soda gastado, calcular el contenido de ácido. (Ácido cítrico = 0.064 g / meq)

#### Cálculos:

El porcentaje de acidez se calcula a partir de la siguiente expresión

$$\% \text{ Acidez} = \left( \frac{N \text{ NaOH} * Vol. \text{ NaOH (ml)} * equi. g(\text{acido citrico})}{Peso \text{ Muestra (g)}} \right) * \frac{Vl \text{ ml}}{Alicuota} * 100$$

#### 2. PH (A.O.A.C.10.84 / 1984 Adaptado)

Se colocan 20 gramos de muestra bien homogenizada en un vaso de precipitado de 100 mL y leer directamente con un pH-metro. La lectura se realiza a 20°C. Después de un tiempo de espera, cuando ya no varía se hace la medición del pH.

#### 3. Determinación de Humedad

Preparación de la muestra: se pesan aproximadamente 5 gramos de muestra, se pasan a una capsula de porcelana secándola a 60°C, Introduzca la cápsula en la estufa calentada previamente (no tome la cápsula con las manos, utilizar pinzas), deje secar la muestra



por un tiempo de 1 hora. Pase la cápsula a un desecador hasta que se enfríe y pese el conjunto (crisol + residuos seco). Coloque nuevamente el conjunto de la estufa por media hora, enfríe en desecador y pese.

Realice este procedimiento hasta peso constante.

$$\% \text{ humedad} = \left[ \frac{(p_i - p_f)}{p_i} \right] * 100$$

#### 4. Determinación de Densidad

Las determinaciones de las densidades real y aparente se realizaron mediante el método de desplazamiento de volumen, utilizando para ello una probeta de 100 mL y agua destilada como líquido de referencia. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado a 25°C.

En la determinación de la densidad aparente se introduce en la probeta la muestra sólida (~ 5g) conservando toda su estructura y se enrasa con agua destilada evitando la formación de burbujas de aire en el interior del picnómetro. Para la determinación de la densidad real la muestra se tritura, se introduce en la probeta, se enrasa con agua destilada y se elimina el aire presente mediante la aplicación de vacío.

Las densidades real y aparente se obtienen a partir de las siguientes ecuaciones:

$$\rho_a = \frac{P_2 * \rho_w}{P_1 + P_2 - P_3} \qquad \rho_r = \frac{(P_4 - P_0) * \rho_w}{P_1 - P_0}$$

$\rho_a$  = densidad aparente (g/cm<sup>3</sup>).

$\rho_r$  = densidad real (g/cm<sup>3</sup>).

$\rho_w$  = densidad del agua (g/cm<sup>3</sup>).

P0 = peso del picnómetro vacío (g).

P1 = peso del picnómetro lleno de agua (g).

P2 = peso del trozo de hortaliza (g).

P3 = peso del picnómetro, el trozo de hortaliza y el agua (g).

P4 = peso del picnómetro lleno de puré de hortaliza/disolución de impregnación (g).

## **Anexo 2. Acondicionamiento de la muestra - Floretes de Brócoli Fresco**

**Recepción:** se eliminan las sustancias extrañas presentes en ellos.

**Selección:** En esta etapa se desecharon las unidades que tenían apariencia extraña tales como perforaciones por insectos, tamaño pequeño, bajo grado de madurez, entre otros.

**Clasificación:** Con el objeto de procesar materia prima en óptimo estado y uniforme se seleccionó y clasificó ésta previamente. En algunos tipos de hortalizas se encontró gran uniformidad, pero en otros tipos se requirió de una cuidadosa selección eliminando las defectuosas o las partes dañadas por golpes, etc. Se tomaron en cuenta los atributos químicos, entre estos se encuentran el grado de madurez.

**Lavado:** Se realizó de forma manual y consistió en limpiar con agua la hortaliza, con el fin de eliminar partículas adheridas a la superficie del mismo. Se realiza bajo el grifo, con agua corriente fría, para eliminar cualquier resto de tierra, o insectos. Especialmente, hay que cuidar la limpieza de las hortalizas que crecen bajo tierra. Un lavado inadecuado o insuficiente, puede ser causa del fracaso.

**Corte:** Se realizó manualmente con un cuchillo. Se cortaron pequeños floretes a partir de las yemas laterales externos del brócoli; con las siguientes especificaciones: longitud 3.0 cm desde la yema floral hasta el tallo y 4.0 cm correspondiente al ancho del florete.

**Envasado:** Se realizó en condiciones de hermeticidad, en envases de plásticos impermeables al vapor de agua y al oxígeno y evitar el paso de la luz evitando así procesos físicos y químicos de naturaleza oxidativa y enzimáticos.

**Almacenamiento:** Los productos obtenidos fueron almacenados a temperatura de refrigeración y durante este periodo máximo de tiempo (2 días). Para posterior análisis.

**Evaluación:** Se realizan análisis de Ácido Ascórbico y Actividad Peroxidasa, para cada una de las muestras.

### Anexo 3. Pretratamiento - Floretes de Brócoli Escaldado al Vapor

Para el acondicionamiento de esta muestra se realiza el mismo procedimiento que la muestra en fresco hasta el corte; luego viene:

**Escaldado de vapor:** La operación se realizó a temperatura de ebullición, utilizando una olla de acero inoxidable, provisto de un disco metálico con agujeros, que permite el paso del vapor desprendido del agua de ebullición. Se toman los floretes del brócoli y se colocan sobre el disco metálico, enseguida se tapa el recipiente, a una temperatura de  $90 \pm 2$  °C por 2 minutos.

**Enfriado:** luego se enfrían los floretes por inmersión rápidamente con agua-hielo, con la finalidad de controlar el tiempo efectivo y para reducir las pérdidas de constituyentes solubles e insolubles de los frutos.

**Ecurrido:** Utilizando un colador metálico se desechó el agua que quedó en los floretes por el escaldado realizado.

Mediante estas operaciones de escaldado y posterior enfriado, se consigue destruir o inhibir la acción de las enzimas, que alteran el color, sabor y textura de las verduras frescas; reducir la cantidad de microorganismos existentes en el producto; eliminar la mayor parte del aire que contienen los tejidos vegetales; pelar con más facilidad algunas verduras y hacer el producto más flexible, facilitando, así, el llenado de los envases.

**Envasado:** Se realizó en condiciones de hermeticidad, en envases de plásticos impermeables al vapor de agua y al oxígeno y evitar el paso de la luz evitando así procesos físicos y químicos de naturaleza oxidativa y enzimáticos.

**Almacenamiento:** Los productos obtenidos fueron almacenados a temperatura de refrigeración y durante este periodo máximo de tiempo (2 días). Para posterior análisis.

**Evaluación:** Se realizan análisis de Ácido Ascórbico y Actividad Peroxidasa, para cada una de las muestras.

## Anexo 4. Determinación Del Ácido L - Ascórbico (L-AA)

### Determinación del Ácido L - Ascórbico por Reducción de Iones Cúprico<sup>1</sup>

#### Preparación de la Solución Patrón del Ácido L- Ascórbico

Se preparó una solución de ácido ascórbico en agua destilada que contiene 1mg/mL. Y a 2 mL de esta solución se le adicionaron 2 mL de Ácido Meta fosfórico 5%, y se ajustó a 100 mL con agua destilada.

Se preparó también un blanco respectivamente mediante 2 mL de la solución de Ácido meta fosfórico al 5% y se ajusta con agua destilada a 100 mL.

#### Extracción del Ácido L-Ascórbico

En un vaso de precipitado, se pesaron 3 gramos de muestra y 6 gramos de solución de Ácido Meta fosfórico al 5% previamente refrigerada. Se macero en un mortero, hasta triturar completamente la muestra. Del extracto se tomaron 5 gramos, se llevó a 100 mL con agua destilada, en un balón aforado. Se agita bien, de esta mezcla se sacaron 30 mL, se le adicionaron 5 mL de cloroformo, agitando energéticamente por 1 minuto, se dejó separar las capas.

De la capa acuosa superior, se tomaron 5 mL y a esta se le adiciono 1 mL de solución tampón de acetato de sodio – ácido acético 1.0 M, pH 4.6 y 5 mL de solución del reactivo complejo (95 mL de  $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.075% m/v en alcohol isoamilico). Se agito la mezcla energéticamente durante 1.5 minutos. Se dejó separar las capas y se midieron 3mL de la fase superior (alcohol isoamilico), se le adicionaron 0.5 mL de etanol puro para clarificar y después de 5 minutos se evaluó la absorbancia a 545 nm.

#### Curva Patrón

Una curva patrón no necesita de tratamiento con cloroformo, de modo que se mide directamente 0.5; 1.0; 1.5; 2.0 y 2.5 mL. Se completa con 5 mL con el blanco respectivo y se le adiciona 1mL de la solución de solución tampón de acetato de sodio – ácido acético 1.0M, pH 4.6 y 5 mL de solución del reactivo complejo (95 mL de  $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.075% m/v en alcohol isoamilico). El procedimiento de determinación es similar a la extracción prevista para las muestras.

---

<sup>1</sup>Contreras, E. Strong, F. (1984). Determinação de ácido ascàrbico (vitamina C) por reduçào de àiones cùpricos. Nota Tècnica Química Nova, 60-64.

## Anexo 5. Determinación de la Actividad Peroxidasa (POD)

### Análisis de la Actividad Peroxidasa<sup>2,3</sup>

#### *Extracto Enzimático:*

Se preparó en una proporción de 3 gramos de muestra y 30 ml agua destilada helada (a – 4°C), la trituration se realizó mediante un mortero, macerando hasta triturar completamente la muestra, durante 3 minutos y luego se centrifugo por 15 minutos a 1500 rpm., el líquido sobrenadante fue pasado a un erlenmeyer con tapa de 250 ml, previamente esterilizado, y colocado en baño de hielo picado para ser utilizado como fuente enzimática.

#### *Determinación de la actividad de peroxidases (PO):*

- **Método Cualitativo** (NEVESKY, 1950): A 1 ml de extracto enzimático se le adiciona 9 ml de agua destilada ,1 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3% y 1 ml de guayacol al 1% en etanol. Si desarrolla color marrón, indica la presencia de peroxidases activa.

- **Método Cuantitativo** (SILVA, 1984): En un erlenmeyer de 50 ml se adiciona 20 ml de tampón fosfato 0,2M, pH 6,0 y 2 ml de extracto enzimático, luego se deja en Baño-María a 25°C hasta estabilizar la temperatura.

Posteriormente se adiciona 1 ml de guayacol al 0,5% y 1 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 0,08%, se homogeniza rápidamente y se realiza 10 lecturas, una por minuto, en espectrofotómetro a 470nm utilizando como blanco la mezcla reactiva sin peróxido de hidrógeno

---

<sup>2</sup> Avollone, C. Cravzov, A. Montenegro, S. Pellizzare, E. (2000). Estudio de la actividad de polifeniloxidasa y proxidas en *Carica papaya* L. minimamente procesada. Comunicaciones científicas, Universidad nacional de Nordeste-Argentina.

<sup>3</sup> Avollone, C. Cravzov, A. Montenegro, S. Pellizzare, E. (2000). Estudio de la actividad de la peroxidasa, pectinesterasa y polifeniloxidasa en extracto enzimático de sandía (*Citrullus vulgaris* Schard). Universidad nacional de Nordeste-Argentina

## Anexo 6. Curva Patrón del Ácido L - Ascórbico

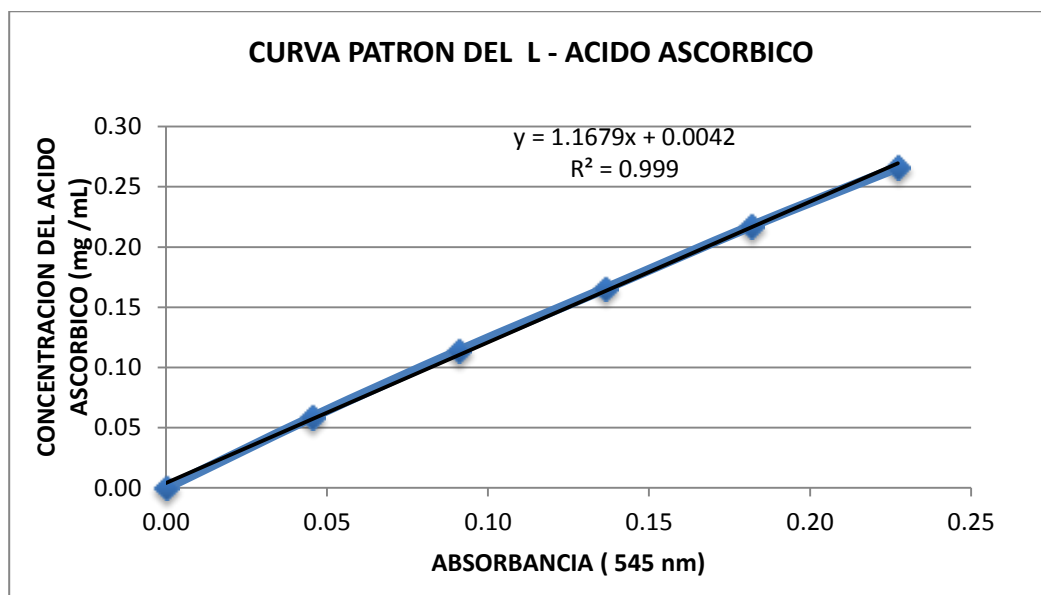
### Curva Patrón

La ecuación para determinar la concentración de L - Ácido Ascórbico fue obtenida a partir de regresión lineal de los datos de absorbancia a 545nm del estándar del L - Ácido Ascórbico. La regresión lineal tuvo  $R_2 = 0,999$ .

MUESTRA	CONCENTRACION DEL L - ACIDO ASCORBICO (mg / mL)	ABSORBANCIA (545 nm)
1	0.0	0
2	0.0455	0.0588
3	0.0909	0.1137
4	0.1364	0.1654
5	0.2	0.2174
6	0.2273	0.2661

La ecuación obtenida de la regresión lineal fue:

$$[\text{Acido Ascorbico}] = \frac{\text{Abs}_{545 \text{ nm}} - 0.0042}{1.1679}$$



### Anexo 7. Datos Experimentales del Ácido L – Ascórbico

BROCOLI FRESCO						
Muestra	Gr. iniciales	Gr. muestra	Absorbancia	mg/mL	mg/g	mg/100g
1	3.017	1.676	0.1686	0.1408	1.5119	151.185
2	3.010	1.672	0.1698	0.1418	1.5264	152.643
3	3.051	1.695	0.1761	0.1472	1.5632	156.321
Promedio						153.383

BROCOLI ESCALDADO						
Muestra	Gr. iniciales	Gr. muestra	Absorbancia	mg/mL	mg/g	mg/100g
1	3.051	1.695	0.1340	0.1111	1.1804	118.036
2	3.025	1.680	0.1393	0.1157	1.2391	123.912
3	3.027	1.681	0.1372	0.1139	1.2191	121.905
Promedio						121.284

BROCOLI LIOFILIZADO						
Muestra	Gr. iniciales	Gr. muestra	Absorbancia	mg/mL	mg/g	mg/100g
1	3.078	1.710	0.1531	0.1275	1.3422	134.217
2	3.052	1.695	0.1516	0.1262	1.3400	133.997
3	3.020	1.678	0.1557	0.1297	1.3918	139.184
Promedio						135.799

BROCOLI ESCALDADO LIOFILIZADO						
Muestra	Gramos iniciales	Gramos muestra	Absorbancia	mg/mL	mg/g	mg/100g
1	3.029	1.683	0.1233	0.1020	1.0909	109.093
2	3.056	1.698	0.1280	0.1060	1.1240	112.396
3	2.987	1.659	0.1192	0.0985	1.0682	106.818
Promedio						109.435

### Anexo 8. Datos Experimentales de la Actividad Peroxidasa

Contenido de Peroxidasa, expresado en unidad de actividad enzimática de peroxidasa (UPOD) se define como la cantidad de enzima que produce 1  $\mu\text{mol}$  de guayacol oxidado en 1 minuto, referido a 1 mL de preparado enzimático (Actividad enzimática).

De los análisis efectuados se comprueba que, en el extracto enzimático del brócoli, la actividad de la Peroxidasa es positiva.

<b>BROCOLI FRESCO</b>				
			<b>PESO DE MUESTRA</b>	
			<b>PESO 1 (g)</b>	3.059
			<b>PESO 2 (g)</b>	3.102
<b>LECTURA DE ABSORBANCIA</b>				
<b>TIEMPO (min)</b>	<b>tubo 1</b>	<b>tubo 2</b>	<b><math>\Delta\text{Abs}/\Delta t</math> (tubo 1)</b>	<b><math>\Delta\text{Abs}/\Delta t</math> (tubo 2)</b>
<b>0</b>	0.0	0.0		
<b>1</b>	0.6279	0.7274	0.6279	0.7274
<b>2</b>	1.0064	1.1302	0.3785	0.4028
<b>3</b>	1.3118	1.3948	0.3054	0.2646
<b>4</b>	1.5485	1.6367	0.2367	0.2419
<b>5</b>	1.7889	1.8521	0.2404	0.2154
<b>6</b>	1.9952	2.0900	0.2063	0.2379
<b>7</b>	2.2013	2.2630	0.2061	0.1730
<b>8</b>	2.3730	2.4542	0.1717	0.1912
<b>9</b>	2.5221	2.5651	0.1491	0.1109
<b>10</b>	2.6604	2.6892	0.1383	0.1241
<b><math>\Delta\text{Abs}/\Delta t</math></b>			0.2660	0.2689
<b>Actividad enzimática (UI/mL)</b>			10.0015	10.1098
<b>Actividad enzimática (UI/100g)</b>			326.9534	325.9115



<b>BROCOLI FRESCO ESCALDADO</b>				
			<b>PESO DE MUESTRA</b>	
			<b>PESO 1 (g)</b>	3.072
			<b>PESO 2 (g)</b>	3.021
			<b>LECTURA DE ABSORBANCIA</b>	
<b>TIEMPO (min)</b>	<b>tubo 1</b>	<b>tubo 2</b>	<b><math>\Delta</math>Abs/<math>\Delta</math>t (tubo 1)</b>	<b><math>\Delta</math>Abs/<math>\Delta</math>t (tubo 2)</b>
<b>0</b>	0.0	0.0		
<b>1</b>	0.0492	0.0430	0.0492	0.0430
<b>2</b>	0.0750	0.0754	0.0258	0.0324
<b>3</b>	0.0984	0.0934	0.0234	0.0180
<b>4</b>	0.1246	0.1243	0.0262	0.0309
<b>5</b>	0.1536	0.1466	0.0290	0.0223
<b>6</b>	0.1835	0.1744	0.0299	0.0278
<b>7</b>	0.2106	0.2017	0.0271	0.0273
<b>8</b>	0.2395	0.2260	0.0289	0.0243
<b>9</b>	0.2596	0.2494	0.0201	0.0234
<b>10</b>	0.2815	0.2743	0.0219	0.0249
<b><math>\Delta</math>Abs/<math>\Delta</math>t</b>			0.0282	0.0274
<b>Actividad enzimática (UI/mL)</b>			1.0583	1.0312
<b>Actividad enzimática (UI/100g)</b>			34.4489	34.1345

<b>BROCOLI FRESCO LIOFILIZADO</b>				
			<b>PESO DE MUESTRA</b>	
			<b>PESO 1 (g)</b>	3.181
			<b>PESO 2 (g)</b>	3.142
			<b>LECTURA DE ABSORBANCIA</b>	
<b>TIEMPO (min)</b>	<b>tubo 1</b>	<b>tubo 2</b>	<b><math>\Delta</math>Abs/<math>\Delta</math>t (tubo 1)</b>	<b><math>\Delta</math>Abs/<math>\Delta</math>t (tubo 2)</b>
<b>0</b>	0.0	0.0		
<b>1</b>	0.4682	0.4243	0.4682	0.4243
<b>2</b>	0.5115	0.4940	0.0433	0.0697
<b>3</b>	0.5646	0.5690	0.0531	0.0750
<b>4</b>	0.5984	0.6050	0.0338	0.0360
<b>5</b>	0.6381	0.6305	0.0397	0.0255
<b>6</b>	0.6737	0.6728	0.0356	0.0423
<b>7</b>	0.7051	0.7053	0.0314	0.0325
<b>8</b>	0.7286	0.7315	0.0235	0.0262
<b>9</b>	0.7552	0.7588	0.0266	0.0273
<b>10</b>	0.7800	0.7850	0.0248	0.0262
<b><math>\Delta</math>Abs/<math>\Delta</math>t</b>			0.0780	0.0785
<b>Actividad enzimática (UI/mL)</b>			2.9323	2.9511
<b>Actividad enzimática (UI/100g)</b>			92.1827	93.9251

<b>BROCOLI ESCALDADO LIOFILIZADO</b>				
			<b>PESO DE MUESTRA</b>	
			<b>PESO 1 (g)</b>	3.081
			<b>PESO 2 (g)</b>	3.091
	<b>LECTURA DE ABSORBANCIA</b>			
<b>TIEMPO (min)</b>	<b>tubo 1</b>	<b>tubo 2</b>	<b><math>\Delta</math>Abs/<math>\Delta</math>t (tubo 1)</b>	<b><math>\Delta</math>Abs/<math>\Delta</math>t (tubo 2)</b>
<b>0</b>	0.0	0.0		
<b>1</b>	0.0645	0.0645	0.0645	0.0645
<b>2</b>	0.0663	0.0645	0.0018	0.0000
<b>3</b>	0.0777	0.0775	0.0114	0.0130
<b>4</b>	0.0778	0.0775	0.0001	0.0000
<b>5</b>	0.0801	0.0777	0.0023	0.0002
<b>6</b>	0.0832	0.0777	0.0031	0.0000
<b>7</b>	0.0852	0.0818	0.0020	0.0041
<b>8</b>	0.0865	0.0863	0.0013	0.0045
<b>9</b>	0.0865	0.0872	0.0000	0.0009
<b>10</b>	0.0868	0.0874	0.0003	0.0002
<b><math>\Delta</math>Abs/<math>\Delta</math>t</b>			0.0087	0.0087
<b>Actividad enzimática (UI/mL)</b>			0.3263	0.3286
<b>Actividad enzimática (UI/100g)</b>			10.5912	10.6299

**Anexo 9. Réplicas de los datos de pérdida de peso (cinética de liofilización).  
Brócoli fresco liofilizado**

Lecturas	Tiempo de experimentación (Horas)	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Diferencia	Masa final/masa inicial	Fracción de agua retirada
1	2	20.0422	14.5422	5.5	0.7256	0.2744
	2	20.2000	15.3	4.9	0.7574	0.2426
2	4	20.0572	12.4572	7.6	0.6211	0.3789
	4	19.9083	12.8083	7.1	0.6434	0.3566
3	6	20.0058	10.0058	10	0.5001	0.4999
	6	20.1511	10.4511	9.7	0.5186	0.4814
4	8	21.7206	9.5206	12.2	0.4383	0.5617
	8	21.2231	10.1231	11.1	0.4770	0.5230
5	11	19.8765	6.0765	13.8	0.3057	0.6943
	11	19.8436	6.3436	13.5	0.3197	0.6803
6	24	19.5246	3.0246	16.5	0.1549	0.8451
	24	20.1826	3.8826	16.3	0.1924	0.8076
7	27	20.5423	2.7423	17.8	0.1335	0.8665
	27	20.2067	3.0067	17.2	0.1488	0.8512
8	30	20.1631	2.4631	17.7	0.1222	0.8778
	30	20.1738	2.4738	17.7	0.1226	0.8774
9	33	20.7470	1.3470	19.4	0.0649	0.9351
	33	20.4790	1.2790	19.2	0.0625	0.9375

**Anexo 10. Réplicas de los datos de pérdida de peso (cinética de liofilización).  
Brócoli Escaldado Liofilizado**

Lectura	Tiempo de experimentación (horas)	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Diferencia	Masa final/masa inicial	Fracción de agua retirada
1	2	20.2020	16.102	4.1	0.7970	0.2030
	2	20.1479	15.4479	4.7	0.7667	0.2333
2	4	19.6860	14.286	5.4	0.7257	0.2743
	4	19.6265	13.2265	6.4	0.6739	0.3261
3	6	20.2764	11.2764	9	0.5561	0.4439
	6	19.9255	11.1255	8.8	0.5584	0.4416
4	8	20.3058	10.6058	9.7	0.5223	0.4777
	8	20.1844	9.8844	10.3	0.4897	0.5103
5	11	20.1829	8.0829	12.1	0.4005	0.5995
	11	20.2232	8.1232	12.1	0.4017	0.5983
6	24	20.1642	4.6642	15.5	0.2313	0.7687
	24	20.2187	3.8187	16.4	0.1889	0.8111
7	27	20.1888	4.1888	16	0.2075	0.7925
	27	20.1808	3.2808	16.9	0.1626	0.8374
8	30	20.4373	2.7373	17.7	0.1339	0.8661
	30	20.1694	2.3694	17.8	0.1175	0.8825
9	33	20.1752	1.7752	18.4	0.0880	0.9120
	33	20.1627	1.5627	18.6	0.0775	0.9225

## Anexo 11. Análisis exploratorio del Ácido L – Ascórbico

### 1. Verificación de supuestos: Verificar que se verifican los supuestos que tiene que cumplir el modelo.

Con estas nuevas variables se realizan las pruebas de los supuestos necesarios para que el ANOVA sea válido:

PRUEBA DE NORMALIDAD: Prueba de que los datos se distribuyen normales, para esta se utiliza la prueba de Shapiro\_Wilk. En esta prueba se trabaja con los residuos del ANOVA. Para realizarla se utiliza el menú **Estadísticas\_Inferencia basada en una muestra, Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilks)**

Como  $p = \text{Sig.} = 0.395$ , como es bastante grande se rechaza la hipótesis nula. No hay evidencias suficientes para decir que los residuos no tienen distribución normal en los datos de Ácido Ascórbico, se distribuyen normales.

### Pruebas de normalidad

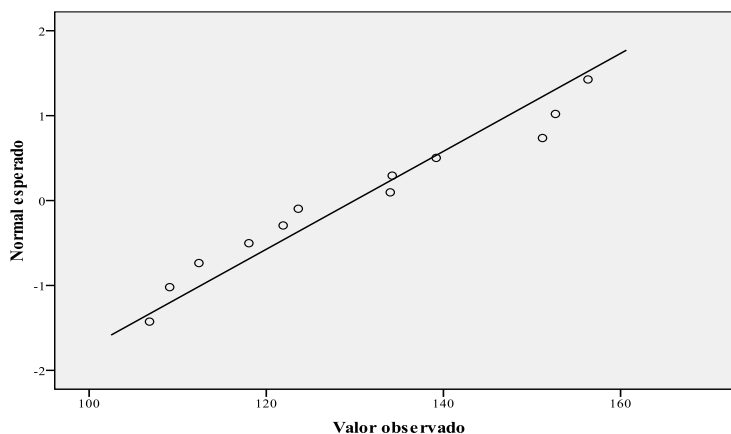
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Contenido de L-AA (mg/100 g de producto)	,143	12	,200 <sup>*</sup>	,931	12	,395

a. Corrección de la significación de Lilliefors

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

Además, la gráfica, confirma lo anterior no se distribuyen normales (gráfica Q. Q. Quantil Quiantil), conforma ya que los puntos están por fuera de la línea normal.

Gráfico Q-Q normal de Cont de vit. C (mg/g de prod)



En consecuencia, es necesario hacer una transformación de los datos con la esperanza de corregir este problema, con el fin de dejar los datos normales.

### Prueba de Ajuste a la Distribución Normal

La inferencia estadística paramétrica supone que las muestras provienen de poblaciones con distribuciones conocidas. Por otro lado se ha encontrado en muchas ramas de la ciencia que las medidas experimentales repetidas se ajustan al modelo normal, al menos

en forma aproximada: mediciones de variables como peso, longitud, volumen, concentración, densidad óptica, temperatura y muchas más se analizarán estadísticamente bajo la suposición de normalidad de la población del cual se extrajo la muestra. No obstante, se recomienda asegurarse de que la suposición es válida para la muestra que se tiene; para ello se dispone de un conjunto grande de pruebas, cada una con sus características peculiares.

Las pruebas de ajuste a la normal más comunes son la prueba de ji-cuadrado y la prueba de Kolmogorov-Smirnov. La primera fue diseñada para datos categóricos, de modo que al aplicarla a datos continuos, estos deben agruparse en frecuencias. Tiene como desventaja que requiere un número grande de datos (100 o más) y además es muy sensible, tanto al número de clases como a las frecuencias esperadas en los intervalos de los extremos. La prueba de Kolmogorov-Smirnov, por el contrario, fue diseñada para muestras de poblaciones continuas, no requiere agrupar los datos y puede aplicarse a muestras virtualmente de cualquier tamaño.

En ambas pruebas debe estimarse  $\mu$  y  $\sigma$  mediante  $\hat{y}$  y  $s$ , convirtiéndose así en pruebas asintóticas o aproximadas.

#### **Metodología la Prueba de Shapiro - Wilk<sup>4</sup>**

Esta es una de las pruebas con mayor sensibilidad a la no normalidad, en esta no es necesario calcular la media ni la varianza de la muestra para incluirlas en la hipótesis, pero requiere dos tipos de tablas para su aplicación.

No se pudo resolver (se realizaron varios métodos) del cual se tomó uno, por lo tanto se hace a partir de los datos originales. No hay distribución normal por lo tanto, es necesario hacer correcciones para justificar las transformaciones.

#### **Transformaciones con Exponentes para Estabilizar Varianzas<sup>5</sup>**

En ocasiones no se puede determinar la distribución de las observaciones con base en las propiedades de la muestra de la variable aleatoria. En estas circunstancias, es posible determinar la transformación según una relación empírica entre la desviación estándar y la media.

#### **Transformación de datos empíricos**

Una transformación del exponente altera la simetría o asimetría de la distribución de frecuencia de las observaciones. Las transformaciones se basan en el trabajo de Box y

---

<sup>4</sup> Diaz, Abel. Diseño Estadístico de Experimentos. Editorial Universidad de Antioquia. ISBN: 958-655-081-8. Medellín. 1999. Pág: 37-41

<sup>5</sup> Kuehl, Robert O. Diseños de experimentos: Principios estadísticos de diseño y análisis de investigación. Segunda edición. Editorial Thomson Editores S.A. Mexico. 186-19. 2000

Cox (1984), en el cual se supone que las desviaciones estándar de  $y$  son proporcionales a alguna potencia de la media.

A menudo las transformaciones se representan como una escalera de exponentes, frase que se originó en el análisis exploratorio de datos (Tukey, 1977).

2. *Análisis de varianza: (ANOVA) lo indica que el experimento funciona o no*

La representación de ANOVA para un diseño de experimento factorial de 2 factores está dada por el siguiente modelo:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde el término  $(\tau\beta)_{ij}$  es el efecto de la interacción entre el factor A y el factor B, y  $y_{ijk}$  es la respuesta observada cuando el factor A está en el nivel  $i$  y el factor B está en el nivel  $j$  para la réplica  $k$ .

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	3243,126 <sup>a</sup>	3	1081,042	136,684	,000
Intersección	202646,629	1	202646,629	25622,093	,000
<b>Escaldado</b>	<b>645,333</b>	<b>1</b>	<b>645,333</b>	<b>81,594</b>	<b>,000</b>
<b>liofilizado</b>	<b>2572,248</b>	<b>1</b>	<b>2572,248</b>	<b>325,228</b>	<b>,000</b>
<b>Escald * liofil</b>	<b>25,544</b>	<b>1</b>	<b>25,544</b>	<b>3,230</b>	<b>,110</b>
Error	63,272	8	7,909		
Total	205953,027	12			
Total corregida	3306,398	11			

a. R cuadrado = ,981 (R cuadrado corregida = ,974)

3. *Identificar cuáles son los niveles de los factores que producen la mayor cantidad de Acido L – Ascórbico*

Conservación por liofilización

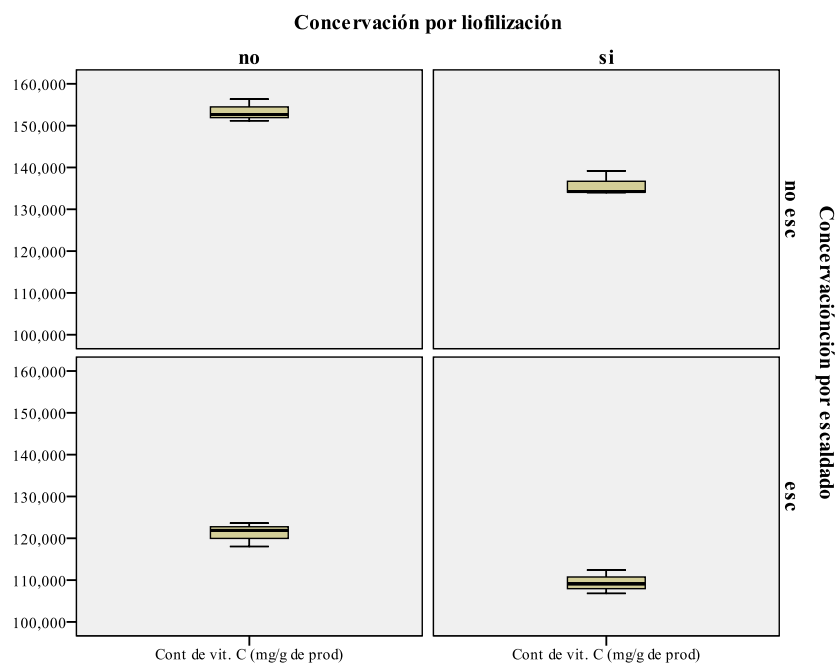
Variable dependiente: Contenido de L - AA (mg/100 g de producto)

Conservación por liofilización	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
NO	137,284	1,148	134,637	139,932
SI	122,618	1,148	119,970	125,265

### Conservación por escaldado

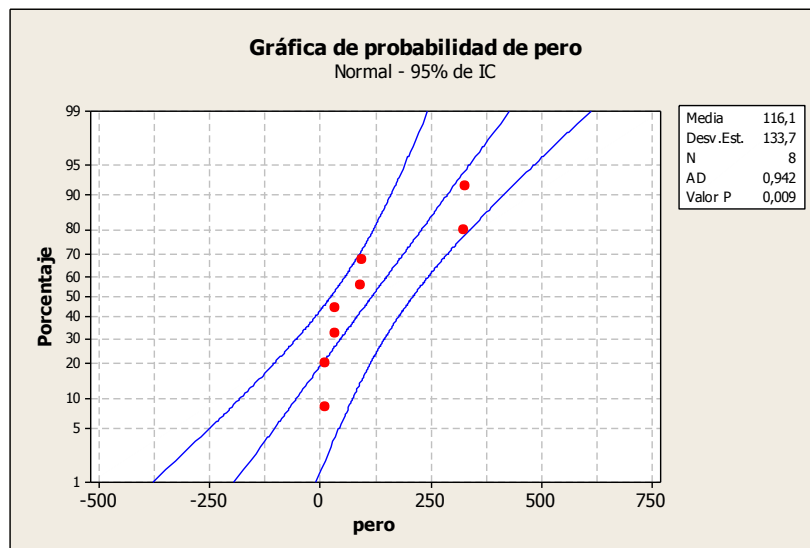
Variable dependiente: Contenido de L- AA (mg/100 g de producto)

Conservación por escaldado	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
No escaldado	144,592	1,148	141,944	147,239
Escaldado	115,310	1,148	112,662	117,958

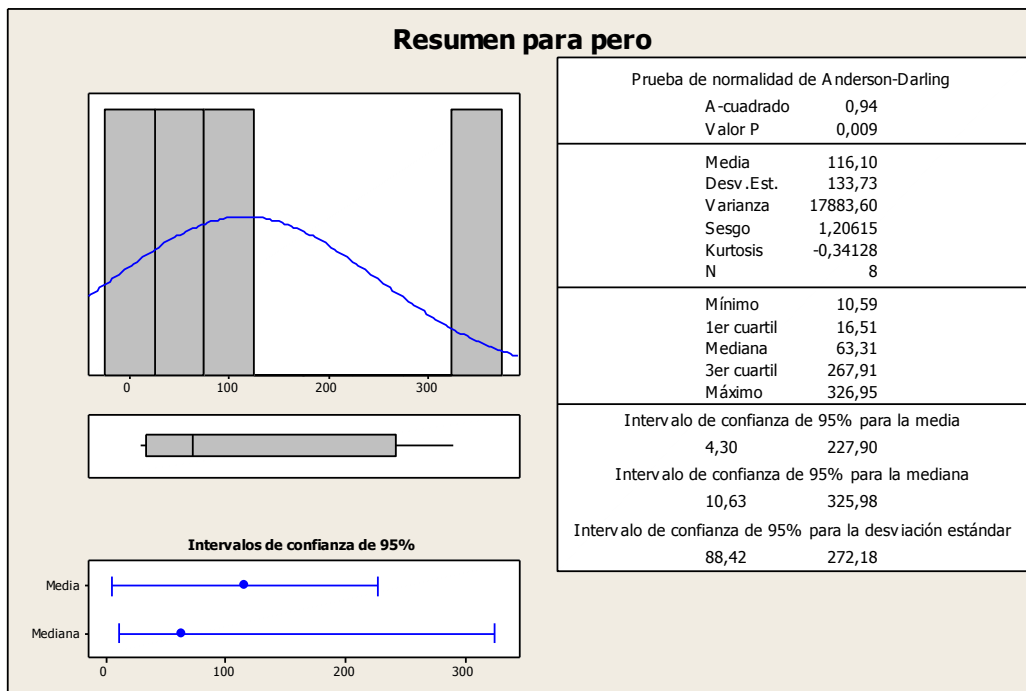




## Anexo 12. Análisis Exploratorio de la POD Contenido en el Brócoli



La variable POX contenido en el brócoli, tiene distribución aproximadamente normal, con una media de 116.1 mg/mL, CV (descripción) = 115.15. Altísimamente heterogéneo debido a que se encuentra afectado a los tratamientos de conservación, lo que era de esperarse dentro los resultados.



La gráfica, (resumen) confirma lo dicho anteriormente y además el box- plot refleja un fuerte sesgo positivo, este es producido por los tratamientos lo que se aclarará más adelante.

## Pruebas de normalidad

Conservación por liofilización		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Contenido de Peroxidasa (mg/ml)	sin liofilizar	,306	4	.	,734	4	,027
	Liofilizado	,306	4	.	,735	4	,028

a. Corrección de la significación de Lilliefors

La tabla anterior, resume los resultados de la prueba de normalidad según Kolmogorov y Shapiro; ambas confirman que el contenido de peroxidasa tiene distribución normal, es decir que se puede aplicar el modelo factorial completo sin restricciones.

Conservación por liofilización			Estadístico	
Contenido de Peroxidasa (mg/ml)	sin liofilizar	Media	209,74275	
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	-4,66453
			Límite superior	424,15003
		Desv. típ.	134,743690	
		Mínimo	92,182	
		Máximo	326,953	
		c.v	0.64	
	Liofilizado	Media	22,45050	
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	,69396
			Límite superior	44,20704
		Desv. típ.	13,672841	
		Mínimo	10,591	
		Máximo	34,448	
		c.v	0.61	

Obsérvese que el proceso de liofilización no modifica la homogeneidad de la concentración de POD

Conservación por escaldado			Estadístico	
Contenido de Peroxidasa (mg/ml)	Sin escaldar	Media	180,36150	
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	-88,02736
			Límite superior	448,75036
		Desv. típ.	168,66827	
		Mínimo	34,134	
		Máximo	326,953	
		c.v.	0.94	
	Escaldado	Media	51,83175	
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	-23,91699
			Límite superior	127,58049
		Desv. típ.	47,604098	
		Mínimo	10,591	
		Máximo	93,925	
		c.v.	0.92	

Conservación por escaldado	Conservación por liofilización	Media	Desviación típica
Sin escaldar	sin liofilizar	<b>326,43200</b>	0,736805
	Liofilizado	<b>34,29100</b>	0,222032
	Total	180,36150	168,668270
Escaldado	sin liofilizar	<b>93,05350</b>	1,232487
	Liofilizado	<b>10,61000</b>	0,026870
	Total	51,83175	47,604098
Total	sin liofilizar	209,74275	134,743690
	Liofilizado	22,45050	13,672841
	Total	116,09663	133,729578

**MODELO FACTORIAL COMPLETO.** SE CUMPLE LOS SUPUESTOS DE NORMALIDAD Y POR LO CONSECUENTE SE PUEDE PROSEGUIR CON EL ANOVA

#### ANOVA para la Actividad Peroxidasa

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	125183,088 <sup>a</sup>	3	41727,696	79032,478	,000
Intersección	107827,411	1	107827,411	204225,688	,000
<b>liofil</b>	<b>33039,793</b>	<b>1</b>	<b>33039,793</b>	<b>62577,544</b>	<b>,000</b>
<b>Escald</b>	<b>70156,774</b>	<b>1</b>	<b>70156,774</b>	<b>132877,302</b>	<b>,000</b>
<b>liofil * Escald</b>	<b>21986,521</b>	<b>1</b>	<b>21986,521</b>	<b>41642,587</b>	<b>,000</b>
Error	2,112	4	,528		
Total	233012,610	8			
Total corregida	125185,200	7			

a. R cuadrado = 1,000 (R cuadrado corregida = 1,000)

#### Contrast Results (K Matrix)

Contraste de diferencias Conservación por escaldado		Variable dependiente
		Contenido de Peroxidasa (mg/ml)
Nivel 2 - Nivel 1	Estimación del contraste	-128,530
	Valor hipotetizado	0
	Diferencia (Estimado - Hipotetizado)	-128,530
	Error típ.	,514
	Sig.	,000
	Intervalo de confianza al 95 % para la diferencia	Límite inferior -129,956
		Límite superior -127,103

En la tabla se observa que el contenido de POD cuando se escaldar, el intervalo de confianza, el proceso de escaldado afecta fuertemente la concentración de POD en el brócoli, llegando a reducir el contenido promedio cerca de 130 mg/mL, valores que fluctúan entre 127 y 125 mg/mL.

Origen	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	33039,793	1	33039,793	62577,544	,000
Error	2,112	4	,528		

Confirma lo dicho en la tabla anteriormente.

#### Comparaciones por pares

Variable dependiente: Contenido de Peroxidasa (mg/ml)

(I)Conservación por escaldado	(J)Conservación por escaldado	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig. <sup>a</sup>	Intervalo de confianza al 95 % para la diferencia <sup>a</sup>	
					Límite inferior	Límite superior
Sin escaldar	Escaldado	128,530*	,514	,000	127,103	129,956
Escaldado	Sin escaldar	-128,530*	,514	,000	-129,956	-127,103

Basadas en las medias marginales estimadas.

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

- a. Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

#### Estimaciones

Variable dependiente: Contenido de Peroxidasa (mg/ml)

Conservación por liofilización	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
sin liofilizar	209,743	,363	208,734	210,751
Liofilizado	22,451	,363	21,442	23,459

#### Comparaciones por pares

Variable dependiente: Contenido de Peroxidasa (mg/ml)

(I)Conservación por liofilización	(J)Conservación por liofilización	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig. <sup>a</sup>	Intervalo de confianza al 95 % para la diferencia <sup>a</sup>	
					Límite inferior	Límite superior
sin liofilizar	Liofilizado	187,292*	,514	,000	185,866	188,719
Liofilizado	sin liofilizar	-187,292*	,514	,000	-188,719	-185,866

Basadas en las medias marginales estimadas.

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

### Comparaciones por pares

Variable dependiente: Contenido de Peroxidasa (mg/ml)

(I) Conservación por liofilización	(J) Conservación por liofilización	Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Sig. <sup>a</sup>	Intervalo de confianza al 95 % para la diferencia <sup>a</sup>	
					Límite inferior	Límite superior
sin liofilizar	Liofilizado	187,292*	,514	,000	185,866	188,719
Liofilizado	sin liofilizar	-187,292*	,514	,000	-188,719	-185,866

Basadas en las medias marginales estimadas.

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

a. Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	70156,774	1	70156,774	132877,302	,000
Error	2,112	4	,528		

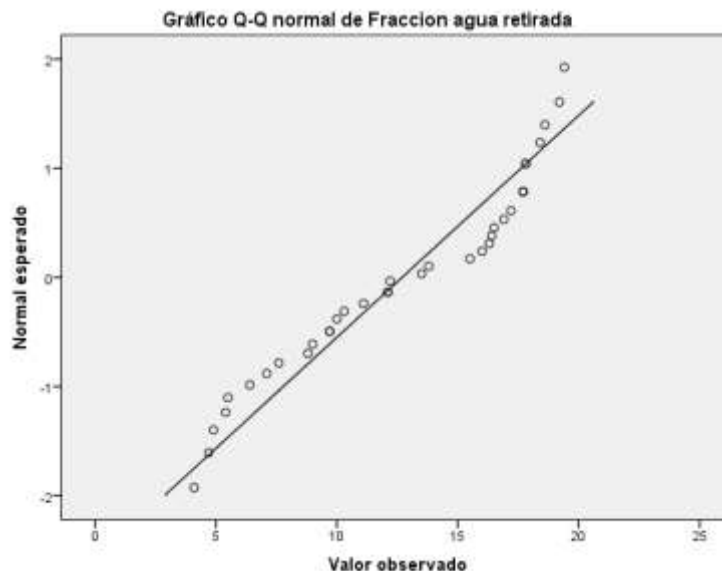
### 3. Conservación por escaldado \* Conservación por liofilización

Variable dependiente: Contenido de Peroxidasa (mg/ml)

Conservación por escaldado	Conservación por liofilización	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
				Límite inferior	Límite superior
Sin escaldar	sin liofilizar	326,432	,514	325,005	327,859
	Liofilizado	34,291	,514	32,864	35,718
Escaldado	sin liofilizar	93,054	,514	91,627	94,480
	Liofilizado	10,610	,514	9,183	12,037

### Anexo 13. Análisis exploratorio para validar los datos de la cinética de liofilización

#### 1. Diagrama de dispersión de la fracción de agua retirada (Y) vs. el tiempo de exposición (X).



#### 2. Resumen estadístico:

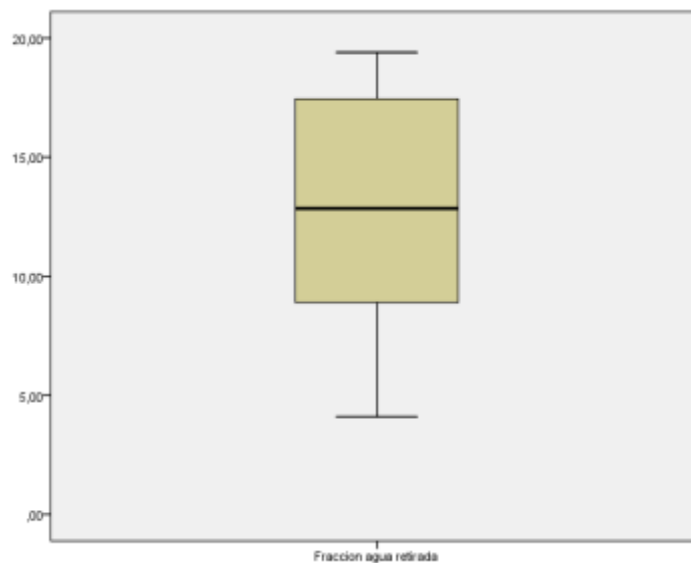
		Estadístico	
Fracción agua retirada	Media	0,6276	
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	0,5459
		Límite superior	0,7093
	Media recortada al 5%	0,6276	
	Mediana	0,6399	
	Desv. típ.	0,2416	
	Asimetría	-0,294	
	Curtosis	-1,364	

#### 3. Tabla de normalidad

	Pruebas de normalidad					
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Fracción agua retirada	0,166	36	0,014	0,914	36	,008

a. Corrección de la significación de Lilliefors

#### 4. Diagrama de cajas:



#### 5. Estadístico descriptivo:

**Estadísticos descriptivos**

	Media	Desviación típica	N
Fracción agua retirada	0,6276	0,2416	36
Tiempo (Horas)	16,11	11,705	36

#### 6. Modelo de la regresión Lineal:

**Resumen del modelo**

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	0,957 <sup>a</sup>	0,916	0,914	0,07084

a. Variables predictoras: (Constante), Tiempo (horas)

**Coefficientes<sup>a</sup>**

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.
	B	Error típ.	Beta		
1 (Constante)	0,3092	0,02027		15,250	0,000
Tiempo (Horas)	0,0198	0,00102	0,957	19,315	0,000

a. Variable dependiente: Fracción agua retirada

### Modelo de regresión lineal:

$$Y = 0.3092 + 0.0198 t$$

## 7. Prueba de ANOVA

Para mostrar el efecto de la covariable se corre el modelo y la ANOVA muestra que por ser el valor señalado es grande los efectos de los tratamientos se rechazan, lo que no es cierto porque, hay variación de la fracción de agua retirada a través del tiempo

### Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Fracción agua retirada

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	8,314 <sup>a</sup>	1	8,314	0,338	0,565
Intersección	5803,900	1	5803,900	235,712	0,000
Tratamiento	8,314	1	8,314	0,338	0,565
Error	837,176	34	24,623		
Total	6649,390	36			
Total corregida	845,490	35			

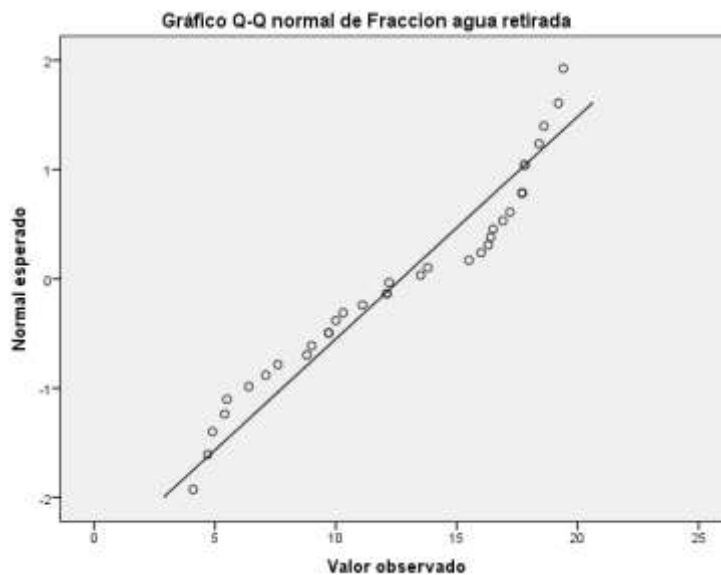
a. R cuadrado = ,010 (R cuadrado corregida = -,019)

MODELO CON COVARIABLE (TIEMPO). Se rechaza al 6% en el estado. Ambos procesos son iguales la diferencia de fracción agua retirada es igual.



## Anexo 14. Análisis exploratorio para validar los datos del modelo matemático Vs. Fresco liofilizado

### 1. Diagrama de dispersión de la fracción de agua retirada (Y) vs. el tiempo de exposición (X).



### 2. Resumen estadístico:

			Estadístico
Cantidad agua retirada	Media		0,5630
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	0,4226
		Límite superior	0,7034
	Media recortada al 5%		0,563
	Mediana		0,6230
	Desv. típ.		0,3001
	Asimetría		-0,593
	Curtosis		-0,700

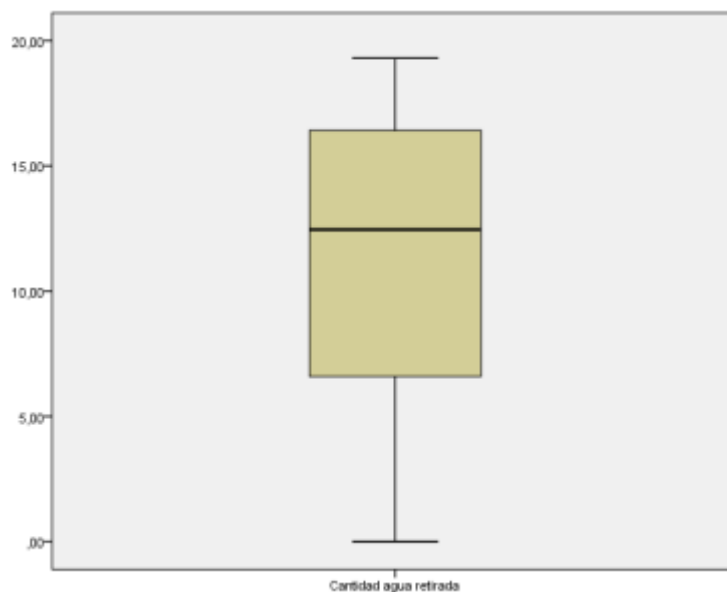
### 3. Prueba de normalidad:

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Cantidad agua retirada	0,120	20	0,200*	0,931	20	0,164

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors

#### 4. Diagrama de cajas:



#### 5. Estadístico descriptivo:

##### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: Cantidad agua retirada

Estado	Media	Desviación típica	N
ca calculado	0,5414	0,3059	10
ca real	0,5846	0,3090	10
Total	0.5630	0,3075	20

#### 6. Modelo de la regresión lineal:

##### Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	0,902 <sup>a</sup>	0,813	0,802	0,1332

a. Variables predictoras: (Constante), Tiempo (horas)

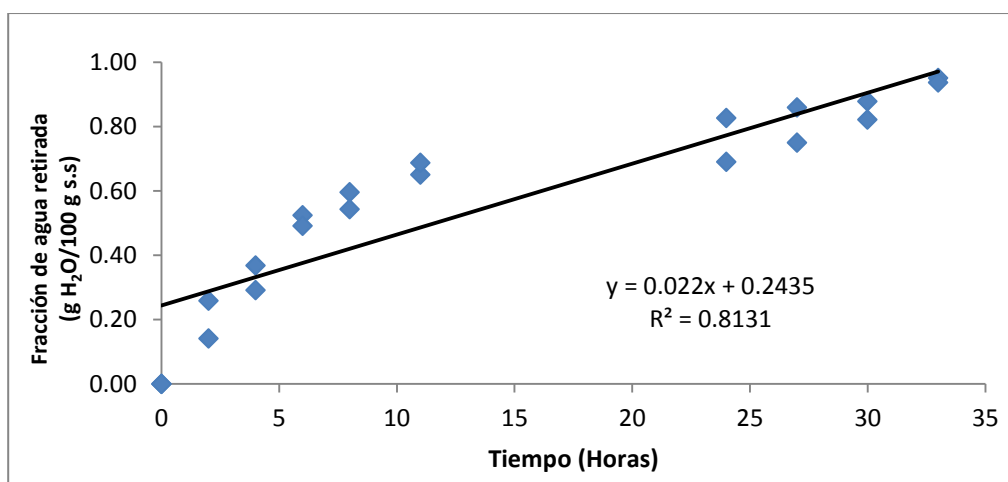
Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.
	B	Error típ.	Beta		
1 (Constante)	0,2435	0,0468		5,201	,000
1 Tiempo (horas)	0,022	0,0024	0,902	8,850	,000

a. Variable dependiente: Cantidad agua retirada

**Modelo de regresión lineal:**

$$Y = 0.2435 + 0.022 t$$

### 6.1 Curva de regresión ajustada: (brócoli fresco liofilizado Vs. Modelo matemático)



## 7. Prueba de ANOVA:

### Pruebas de los efectos inter-sujetos

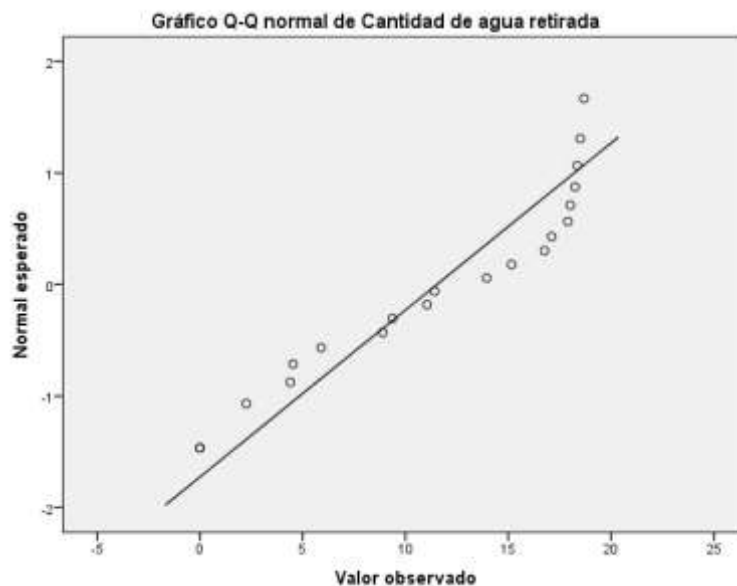
Variable dependiente: Cantidad agua retirada

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	5,319 <sup>a</sup>	1	5,319	0,138	0,714
Intersección	2573,863	1	2573,863	67,014	0,000
Estado	5,319	1	5,319	0,138	0,714
Error	691,345	18	38,408		
Total	3270,527	20			
Total corregida	696,664	19			

a . cuadrado =0 ,008 (R cuadrado corregida = -0,047)

## Anexo 15. Análisis exploratorio para validar los datos del modelo matemático Vs. escaldado liofilizado

### 1. Diagrama de dispersión de la fracción de agua retirada (Y) vs. el tiempo de exposición (X).



### 2. Resumen estadístico:

			Estadístico
Cantidad de agua retirada	Media		0,5558
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	0,4057
		Límite superior	0,7059
	Media recortada al 5%		0,5280
	Mediana		0,5846
	Desv. típ.		0,3208
	Asimetría		-0,462
	Curtosis		-1,190

### 3. prueba de normalidad:

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Cantidad de agua retirada	0,184	20	0,076	0,876	20	0,015

a. Corrección de la significación de Lilliefors

#### 4. Diagrama de cajas:



#### 5. Estadístico descriptivo:

##### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: Cantidad de agua retirada

Estado	Media	Desviación típica	N
ca calculado	0,5665	0,3485	10
ca real	0,5450	0,3091	10
Total	0,5558	0,3288	20

#### 6. modelo de regresión lineal:

##### Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	0,922 <sup>a</sup>	,0851	0,842	0,1272

a. Variables predictoras: (Constante), Tiempo (Horas)

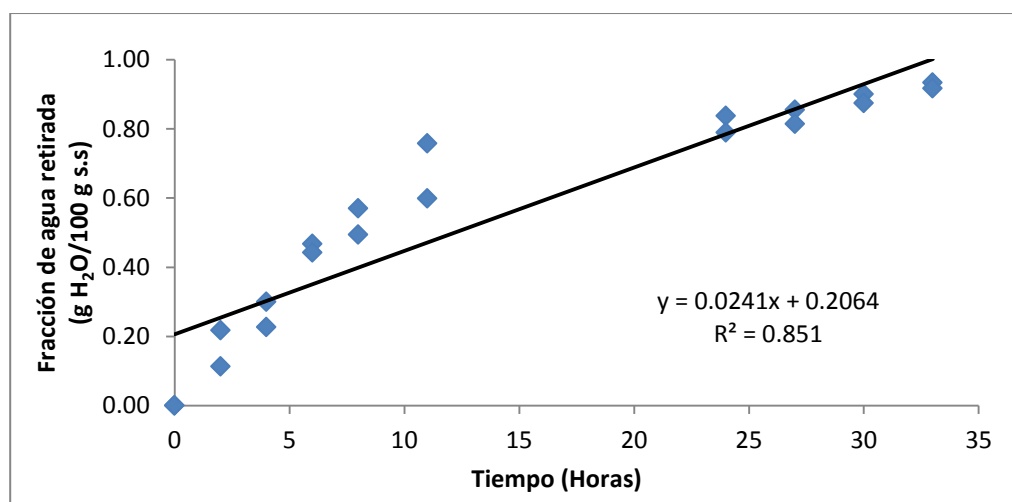
Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.
	B	Error típ.	Beta		
1 (Constante)	0,2064	0,044		4,617	,000
1 Tiempo (Horas)	,0,0241	0,0023	0,922	10.137	,000

a. Variable dependiente: Cantidad de agua retirada

**Modelo de regresión lineal:**

$$Y = 0.2064 + 0.0241 t$$

### 6.2 Curva de regresión ajustada: (brócoli escaldado - liofilizado Vs. Modelo matemático)



### 7. prueba de ANOVA:

#### Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Cantidad de agua retirada

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	0,764 <sup>a</sup>	1	0,764	0,016	0,900
Intersección	2656,282	1	2656,282	56,513	0,000
Estado	0,764	1	0,764	0,016	0,900
Error	846,048	18	47,003		
Total	3503,094	20			
Total corregida	846,812	19			

a. R cuadrado = 0,001 (R cuadrado corregida = -0,055)