



UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL

**“Desarrollo de un snack de manzana
enriquecido con jugo de granada
mediante la impregnación al vacío
acoplado con campo eléctrico
moderado”.**

**MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE:
INGENIERO CIVIL QUÍMICO**

Profesor Guía: Dr. Ricardo Simpson Rivera

Profesor Correferente (1): Dr. Cristian Ramírez Bustos

Profesor Correferente (2): MCs. Helena Núñez Andrade

GUSTAVO ADOLFO FERRADA KUSCH

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mi familia, a mi padre, Claudio Ferrada, quien siempre me apoyó en todo momento y me motivó a ser un profesional que trabaje por el bien de todos.

A mi difunta madre, María Cristina Kusch, que supo que el único legado que pudo dejarme fue el de tener una buena educación junto con una buena disciplina y qué por eso, estoy muy agradecido.

A mi hermano Joaquín, quien me inculca a pensar, a tener sentido común y me desafía a ser cada día mejor.

Agradezco también a mi Tío Miguel, quien es mi padrino y que siempre me prestó apoyo económico para ayudar a mantener mi estadía en la universidad. Agradezco también a mis Tías Carmen y mi Tía Mónica, quienes siempre me dieron apoyo cuando podían.

Agradecer a mis amigos de la universidad, en especial a José y Gerardo, quienes viví con ellos y fueron como mi segunda familia. Agradezco También a David, Juanita, Ignacio y muchos otros por haber compartido conmigo durante estos años.

Agradezco también a mis compañeros de carrera, a Angélica, Juan y Maite, por todo el apoyo que me dieron mientras cursaba la carrera.

Agradezco especialmente al profesor Ricardo Simpson, mi profesor guía, quien me recibió con toda disposición para poder realizar mi memoria con él y por el desarrollo de esta. Agradezco también a la Profesora Helena Núñez y al profesor Cristian Ramírez por todo el apoyo, la asesoría y la disponibilidad que siempre tuvieron para el desarrollo de este trabajo. Gracias a ellos tengo una mejor noción de cómo funciona el mundo de la investigación y como uno va aprendiendo cada día algo nuevo. Agradezco también a Marlene y a mis compañeros del laboratorio por el tiempo y las experiencias que tuvimos juntos.

Finalmente, un agradecimiento al proyecto FONDECYT N°1160761 por el financiamiento de este trabajo.

RESUMEN

La demanda de alimentos saludables ha crecido durante los últimos años, el público es cada vez es más exigente en lo que se refiere a consumir alimentos funcionales que otorguen beneficios para su salud.

En este trabajo se propone el diseño de un alimento funcional de un snack de manzana enriquecido con jugo de granada. El objetivo es enriquecer discos de manzana mediante impregnación al vacío de jugo de granada, aumentando su capacidad antioxidante y luego estabilizarlos mediante dos técnicas de secado: En estufa convectiva y liofilización.

Para el enriquecimiento de las manzanas, se realizaron impregnaciones al vacío, acopladas a un campo eléctrico moderado en manzanas de variedad Granny Smith con una solución de jugo de granada a 65° Brix. Se realizaron 15 experiencias en las que se cambiaron los factores de temperatura (30, 40 y 50°C), intensidad del campo eléctrico (10,5; 13,0 y 15,7 [volt/cm]) y el tiempo vacío aplicado durante la impregnación (5, 10 y 15 minutos) durante 90 minutos.

Con el propósito de obtener el producto de la mayor calidad, las experiencias de impregnación con mayor actividad antioxidante fueron deshidratadas con secado convectivo y liofilización. Estas experiencias fueron: Experiencia 1: 40°C, 10,5 [volt/cm] y 5 min de vacío; Experiencia 3: 40°C, 15,7 [volt/cm] y 5 min de vacío y Experiencia 7: 50°C, 13,0 [volt/cm] y 5 min de vacío, con valores de actividad antioxidante de $51,373 \pm 0,048$ [$\mu\text{mol Trolox/g}$ masa seca], $54,272 \pm 2,094$ [$\mu\text{mol Trolox/g}$ masa seca] y $59,214 \pm 0,537$ [$\mu\text{mol Trolox/g}$ masa seca], respectivamente.

En los procesos de secado se observó una disminución significativa del contenido total de polifenoles, así también como una disminución significativa de la actividad antioxidante. Del producto final se determinó que los mayores niveles de actividad antioxidante fueron de las manzanas impregnadas de acuerdo a la experiencia 7, con un valor de $51,319 \pm 0,430$ [$\mu\text{mol Trolox/g}$ masa seca] cuando es liofilizado y un valor de $50,869 \pm 0,483$ [$\mu\text{mol Trolox/g}$ masa seca] cuando es secado en estufa convectiva. Ambos métodos de secado resultaron ser igual de efectivos en la retención de las propiedades antioxidantes del producto.

INDICE

RESUMEN.....	4
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	10
1. INTRODUCCIÓN.....	11
CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES GENERALES.....	13
2. ANTECEDENTES GENERALES.....	14
2.1. PRODUCTOS DESHIDRATADOS Y ENRIQUECIDOS	14
2.2. TECNOLOGÍAS UTILIZADAS EN EL ENRIQUECIMIENTO DE MATRICES ALIMENTARIAS	18
2.3. APLICACIÓN DE CAMPO ELÉCTRICO MODERADO EN PROCESOS DE ENRIQUECIMIENTO.....	20
2.4. COMPUESTOS CON PROPIEDADES FUNCIONALES: ANTIOXIDANTES	21
2.5. SECADO DE ALIMENTOS ENRIQUECIDOS.....	23
2.5.1. SECADO CONVECTIVO	24
2.5.2. LIOFILIZACIÓN	24
CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
3. MATERIALES Y METODOS	26
3.1. MATERIALES	26
3.1.1. MATERIA PRIMA.....	26
3.1.2. SOLUCIÓN DE IMPREGNACIÓN	27
3.1.3. TRATAMIENTO DE IMPREGNACIÓN	27
3.1.4. SECADO DE MUESTRAS IMPREGNADAS	29
3.2. MÉTODOS	30
3.2.1. DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD DE AGUA	30
3.2.2. DETERMINACIÓN DE PÉRDIDA DE AGUA	31
3.2.3. DETERMINACIÓN DE GANANCIA DE SÓLIDOS SOLUBLES	31
3.2.4. DETERMINACIÓN DE COLOR	33
3.2.5. DETERMINACIÓN DE DUREZA	34
3.2.6. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO TOTAL DE POLIFENOLES.....	35
3.2.7. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	36
3.2.8. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	37
3.2.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	38
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40

Universidad Técnica Federico Santa María

4.1.	ANÁLISIS DE RESULTADOS DE IMPREGNACIÓN.....	40
4.1.1.	CONTENIDO TOTAL DE POLIFENOLES.....	40
4.1.2.	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	42
4.1.3.	PERDIDA DE AGUA.....	46
4.1.4.	GANANCIA DE SOLIDOS SOLUBLES.....	47
4.1.5.	ACTIVIDAD DE AGUA.....	48
4.1.6.	DIFERENCIA DE COLOR.....	49
4.1.7.	DUREZA DE LAS MUESTRAS IMPREGNADAS.....	51
4.2.	CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO FINAL.....	52
4.2.1.	CONTENIDO TOTAL DE POLIFENOLES.....	53
4.2.2.	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	54
4.2.3.	DIFERENCIA DE COLOR EN MUESTRAS SECAS.....	55
5.	CONCLUSIONES.....	56
	REFERENCIAS.....	57
	ANEXOS.....	61
	ANEXO 1: RESULTADOS EXPERIMENTALES.....	62
	ANEXO 2: CURVAS DE CALIBRACIÓN.....	79
	ANEXO 3: COEFICIENTES DE CORRELACIÓN.....	81

INDICE DE TABLAS

1 Valores de Aw de alimentos.....	24
2 Valores de Aw mínimos para el crecimiento de microorganismos.....	23
3 Factores y niveles del diseño experimental.....	37
4 Diseño experimental.....	37
5 Contenido total de polifenoles.....	40
6 Actividad antioxidante.....	42
7 Cambios de color.....	49
8 Dureza de las muestras.....	51
9 Experiencias elegidas para secado.....	52
10 Cambios de color en muestras secas.....	55
11 Resultado experimentales Contenido total de polifenoles.....	63
12 Resultados experimentales Actividad antioxidante.....	65
13 Resultados experimentales contenido total de polifenoles al final de la impregnación y del secado.....	67
14 Resultados experimentales actividad antioxidante al final de la impregnación y del secado.....	67
15 Resultados experimentales humedad.....	68
16 Resultado experimentales porcentaje de solidos solubles.....	70
17 Resultados experimentales actividad de agua.....	72
18 Resultado experimentales perdida de agua y aumento de solidos solubles.....	74
19 Resultados experimentales color.....	76
20 Resultados experimentales textura.....	77
21 Coeficientes de correlación de modelación de contenido de polifenoles totales.....	82
22 Coeficientes de correlación de modelación de actividad antioxidante.....	82

INDICE DE FIGURAS

1 Exportaciones de productos deshidratados de Chile	14
2 Exportaciones de manzanas deshidratadas en Chile.....	15
3 Productos deshidratados en formato comercial	15
4 Alimentos enriquecidos.....	16
5 Snacks de manzana deshidratados y enriquecidos	17
6 Intercambio de gas y líquidos en impregnación al vacío.....	19
7 Punicalagina	22
8 Manzana Granny Smith.....	26
9 Manzanas cortadas en discos.....	26
10 Diagrama de proceso de aplicación de vacío.....	27
11 Diagrama de proceso de aplicación de campo eléctrico.....	28
12 Estufa Memert HCP-108.....	29
13 Liofilizador Christ Alpha 2-4 LSCPlus	29
14 Curva de presión y temperatura del proceso de liofilización	29
15 Higrómetro AquaLab 4T	30
16 Sistema de coordenadas espectro CIE L*a*b.....	33
17 Colorímetro Konica Minolta CR-400.....	33
18 Texturómetro Brookfield CT3.....	34
19 Espectrómetro Spectronic, GENESYS 5.....	35
20 Efecto de la temperatura y el campo eléctrico en el contenido total de polifenoles a una impregnación con tiempo de vacío de 10 minutos	41
21 Efecto de la temperatura y el campo eléctrico en la actividad antioxidante a una impregnación con tiempo de vacío de 5 minutos	43
22 Efecto de la temperatura y el tiempo de vacío en la actividad antioxidante a una impregnación en un campo eléctrico de 13,1 [volt/cm]	44
23 Efecto del campo eléctrico y el tiempo de vacío en la actividad antioxidante a una impregnación con una temperatura de 50°C	44
24 Cambios en la masa de agua.....	46
25 Cambios en la masa de sólidos solubles.....	47
26 Actividad de agua de las muestras durante la impregnación.....	48
27 Discos de manzana impregnados y frescos	50

Universidad Técnica Federico Santa María

28 Polifenoles totales al final de la impregnación y secado	53
29 Actividad antioxidante al final de la impregnación y secado	54
30 Manzanas control e impregnadas secadas mediante estufa y liofilización	55
31 Curva de calibración de equivalente de Ácido gálico	80
32 Curva de calibración de equivalente de Trolox	80

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La demanda por alimentos saludables ha ido en aumento durante los últimos años, el público es cada vez es más exigente en lo que se refiere a consumir alimentos saludables o alimentos que contengan algún compuesto bioactivo que otorgue beneficios para su salud (Sun-Waterhouse, Teoh, Massarotto, Wibisono, & Wadhwa, 2010). Entre estos compuestos hay polifenoles altos en actividad antioxidante, de los cuales se ha visto que tienen un efecto positivo en la prevención y el tratamiento de enfermedades degenerativas (Espín, Larrosa, García-Conesa, & Barberán, 2013).

Para esto se plantea el diseño de un alimento funcional que sea fácil de consumir y de transportar, en el mercado existe un formato de chips de manzana deshidratadas, las cuales son fáciles de transportar, poseen una larga vida útil y sobre todo son fáciles como base para incorporar otros compuestos de interés. La granada es una fruta conocida por sus altos niveles de actividad antioxidante, principalmente provenientes de la punicalagina, el cual es un polifenol exclusivo de esta fruta, que comprende más del 50% de su actividad antioxidante (Turrini, Ferruzzi, & Fimognari, 2014). El alimento funcional a diseñar es un chip de manzana enriquecido con antioxidantes provenientes del jugo de granada.

Como métodos de enriquecimiento, la impregnación al vacío ha sido un método eficiente para incorporar compuestos de interés disueltos en una solución de impregnación en el interior de un sólido poroso (Moreno, et al., 2016). El sólido es sumergido en una solución de impregnación en el interior de un recipiente sellado y se reduce la presión para extraer todo el aire en su interior, al restaurar la presión atmosférica, el líquido de la solución de impregnación ocupa los espacios del interior del sólido que antes estaban llenos de aire. Este proceso de enriquecimiento, puede acoplarse a la aplicación de un campo eléctrico moderado posterior a la impregnación al vacío, aumentando la difusión del sólido y los componentes de la solución de impregnación mediante el fenómeno de electroporación (Simpson, et al., 2015).

Además, si la impregnación al vacío es seguida de una operación de secado, es posible elaborar una amplia gama de productos funcionales (Castagnini, Betoret, Betoret, & Fito, 2015). Para la obtención de productos de calidad, es necesaria una operación de secado en la que se eviten altas temperaturas o altos tiempos de operación. La liofilización es un proceso que conserva las características de un producto, pero es un proceso de larga duración y requiere altas cantidades de energía, por otro lado, el secado convectivo es un proceso de bajo costo, pero puede afectar negativamente parámetros tales como color, sabor, textura y el contenido de nutrientes (Schulze, Hubbermann, & Schwarz, 2014).

El objetivo general de este trabajo es la elaboración de un snack de manzana enriquecido en jugo de granada, mediante un tratamiento de impregnación al vacío, acoplado con un campo eléctrico moderado, y posteriormente ser secado mediante el uso de una estufa convectiva y un liofilizador.

Los objetivos específicos son:

- Determinar las condiciones de proceso de la impregnación de manzanas (Temperatura, intensidad del campo eléctrico y tiempo de vacío) que otorguen los mayores niveles de actividad antioxidante.
- Determinar un modelo que permita una estimación de la actividad antioxidante para los procesos de impregnación.
- Estudiar el efecto del secado en estufa convectiva y liofilización sobre el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante.

CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES GENERALES

2. ANTECEDENTES GENERALES

2.1. Productos deshidratados y enriquecidos

Actualmente en Chile, existen varias empresas cuyo rubro es la elaboración de productos deshidratados, siendo en su mayoría frutas, las cuales son vendidas tanto en el mercado interno como en el extranjero.

En Chile, el clima permite la alternativa de producir alimentos deshidratados en contraestación, llegando a ser uno de los mayores productores de frutos secos y deshidratados del mundo y siendo el primero en cuanto a la exportación de ciruela y manzana deshidratadas (NOS Magazine, 2015).

La mayor parte de los productos deshidratados producidos en Chile son importados en el extranjero, siendo mayoritariamente ciruelas y pasas, que componen el 90,5% del total de las exportaciones (Figura 1).

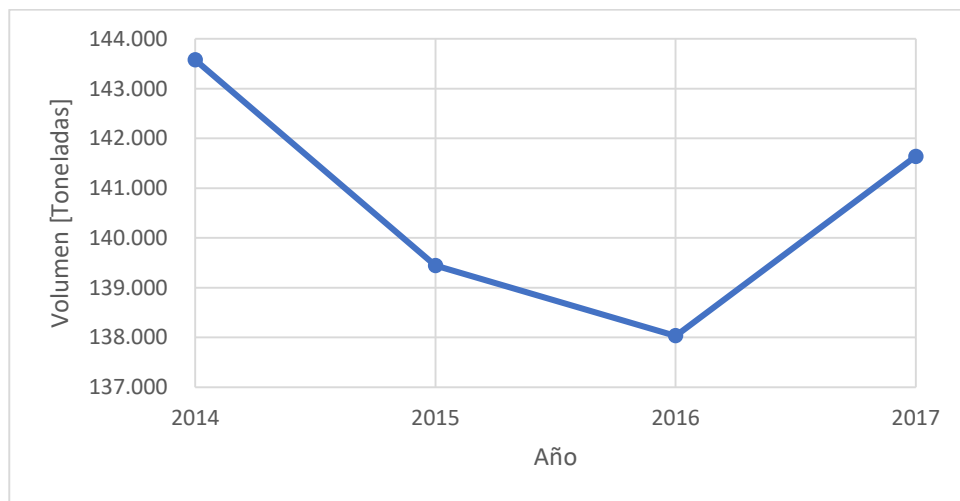


Figura 1 Exportaciones de productos deshidratados de Chile

Las manzanas deshidratadas comprenden el 3,4% de las exportaciones de productos deshidratados, con una producción que ha disminuido durante los últimos años, pero que en 2017 ha mantenido sus volúmenes de exportación y que pronostica un alza para este 2018 (ODEPA, 2018).

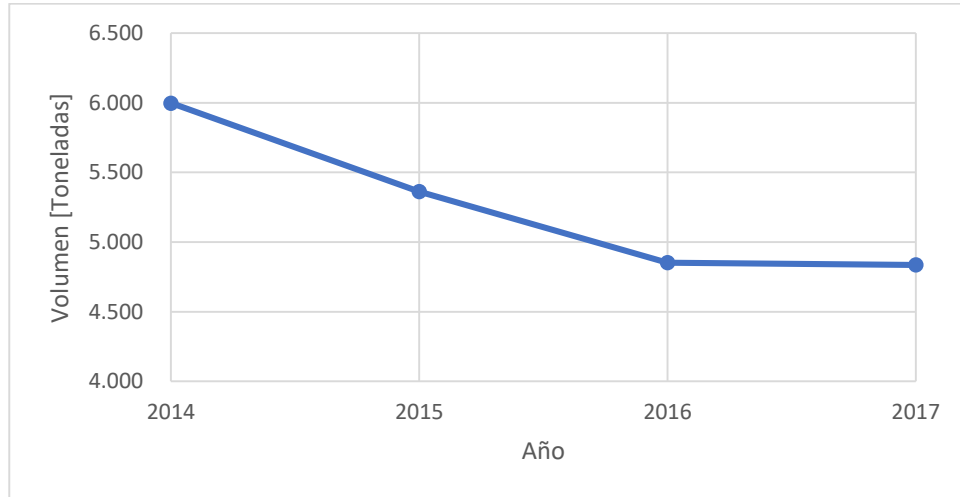


Figura 2 Exportaciones de manzanas deshidratadas en Chile

Los productos deshidratados pueden elaborarse en diferentes formatos (Figura 3), chips, barras y polvos, tanto como para su consumo inmediato o como un aditivo para otro alimento.



Figura 3 Productos deshidratados en formato comercial

En la elaboración de productos deshidratados se ha investigado la elaboración de alimentos enriquecidos con el objeto de medir su retención de compuestos bioactivos, debido al aumento de la demanda por productos naturales, convenientes y sanos para su consumo (Sun-Waterhouse, Teoh, Massarotto, Wibisono, & Wadhwa, 2010).

Estos alimentos, denominados alimentos funcionales, son enriquecidos con un compuesto activo, el cual le da un valor adicional como producto comercial. El año 2011 se registraron ventas de USD 2950 millones, manteniéndose estable durante los últimos años. Estos productos han pasado a una categoría Premium de alimentos, pero pese a las propiedades adicionales que se le incorporan a los productos enriquecidos, el mayor precio elevado de estos es aún una barrera para incrementar sus ventas (ProChile, 2012). Aun así, el aumento en la preocupación por parte del público, de consumir alimentos cada vez más saludables, prevé que el consumo de los alimentos funcionales aumentará durante el transcurso de los años.

En el mercado actual, existe una variedad de alimentos que han sido enriquecidos, tales como Ácido fólico, omega 3, probióticos y diversas vitaminas (Figura 4).



Figura 4 Alimentos enriquecidos

Universidad Técnica Federico Santa María

En el caso de manzanas enriquecidas, existe una producción en Chile de alimentos enriquecidos en las que rodajas de manzana son sumergidas en soluciones de canela, frambuesa y maqui (Figura 5). Posteriormente estas son deshidratadas bajo condiciones de vacío (Nanuva, 2018).



Figura 5 Snacks de manzana deshidratados y enriquecidos

Para el caso de alimentos funcionales enriquecidos en polifenoles, estos se prefieren debido a que una dieta rica en antioxidantes puede ayudar en la prevención de enfermedades degenerativas y crónicas, asimilando radicales libres en el organismo (Espín, Larrosa, García-Conesa, & Barberán, 2013).

Es por eso que se han investigado diferentes métodos para la impregnación de alimentos con compuestos bioactivos deseables, buscando obtener un proceso eficiente que llegue a ser rentable para poder aplicar a una escala industrial en la industria alimentaria.

2.2. Tecnologías utilizadas en el enriquecimiento de matrices alimentarias

Las tecnologías más frecuentes en el enriquecimiento de alimentos se pueden separar en:

- La mejora de técnicas tradicionales en la elaboración de productos animales y vegetales, como la modificación en la dieta de animales para obtener productos de mayor calidad.
- Productos modificados genéticamente con la adición de algún compuesto activo de interés.
- La mezcla de compuestos bioactivos con alimentos tradicionales, tales como leches y yogures fortificados.

La impregnación al vacío ha sido un método útil para la incorporación de líquidos en la matriz porosa de algunos alimentos, de esta forma es posible cambiar las propiedades físicas y químicas del alimento con tal de mejorar alguna característica del producto (Fito, et al., 2001). La tecnología de impregnación al vacío es una operación de deshidratación osmótica que es acoplada bajo un gradiente de presión que causa la salida de aire y líquidos que se encuentran adentro de la estructura porosa del alimento, aumentando el gradiente de sólidos solubles entre el alimento y la solución de impregnación (Fito, Modelling of vacuum osmotic dehydration of food, 1994). Esta operación permite la incorporación de cualquier ingrediente en un producto poroso con el objeto de adaptar su composición a unos niveles de estabilidad y calidad determinados (Fito, et al., 2001).

Inicialmente, el interior del poro se encuentra lleno de aire (Figura 6, A) con una entrada de líquido producto de la capilaridad (Figura 6, B). El cambio de presión producto de inducir vacío en el alimento retira el aire contenido en el interior del poro (Figura 6, C) seguido de una entrada de líquido producto de la capilaridad (Figura 6, D). En el momento en el que se restaura la presión, el aire contenido en el interior del poro se comprime, permitiendo la entrada líquido, reemplazando el volumen de aire que se ocupaba inicialmente (Figura 6, E)

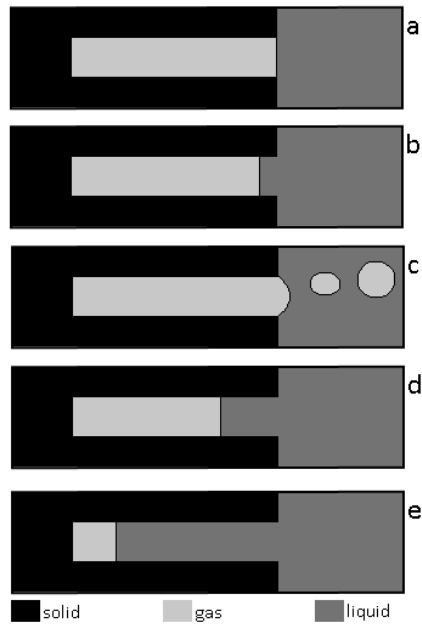


Figura 6 Intercambio de gas y líquidos en impregnación al vacío

Procesos de impregnación al vacío abarcan un amplio rango de usos, el enriquecimiento de manzanas con Ácido fólico (Moreno, et al., 2016) o en jugo de arándano (Castagnini, Betoret, Betoret, & Fito, 2015). También en el salado de alimentos, tales como carnes, pescados o quesos mediante la impregnación al vacío en salmueras (Chiralt, et al., 2001) o la fortificación de Berenjenas, Champiñones y Zanahorias con una solución de lactato de Calcio (Gras, Vidal, Betoret, Chiralt, & Fito, 2003).

2.3. Aplicación de campo eléctrico moderado en procesos de enriquecimiento

Un campo eléctrico moderado es un proceso de permeabilización caracterizado por el uso de campos eléctricos que van del rango de 1 a 100 [volt/cm], pudiendo haber o no la presencia de calentamiento óhmico. El concepto de campo eléctrico moderado se usa para diferenciar el uso de un campo eléctrico de pulsos el cual utiliza intensidades mayores a tiempos cortos y también del calentamiento óhmico en el que hay un aumento de temperatura producto de la aplicación del campo eléctrico (Kusnadi & Sastry, 2012).

En la impregnación de alimentos, la aplicación de un campo eléctrico aumenta la permeabilidad de las paredes celulares del alimento, formando poros y de esta forma permitiendo una entrada más fácil de los compuestos externos al interior del alimento, este fenómeno es conocido como electroporación (Simpson, et al., 2015).

El campo eléctrico puede ser utilizado en otros procesos de la industria de alimentos, como por ejemplo la inactivación de microorganismos, extracción de jugos, deshidratación y secado de alimentos (Levobka, Praporscic, Ghnimi, & Vorovieb, 2005a).

Sin embargo, la electroporación de alimentos durante periodos prolongados o a altos niveles de campo eléctrico generan el rompimiento de las paredes celulares del alimento (Levobka, Praporscic, Ghnimi, & Vorovieb, 2005b). Es posible causar el rompimiento celular de manzanas a intensidades de 13[volt/cm] (Simpson, et al., 2015) o el rompimiento de células de remolacha a intensidades de 20[volt/cm] (Levobka, Shinkaryk, & Vorobiev, 2007).

2.4. Compuestos con propiedades funcionales: Antioxidantes

En un entorno altamente oxidativo, muchos procesos del metabolismo llegan a inducir en un fenómeno denominado estrés oxidativo, dañando biomoléculas como proteínas, lípidos y ADN. Los antioxidantes son compuestos que inhiben los efectos del estrés oxidativo, asimilando los radicales libres y de esta forma protegiendo al organismo de enfermedades crónicas y degenerativas (Wang, et al., 2014).

Los radicales libres son producidos de forma natural en el organismo, producto del metabolismo, en bajas concentraciones resultan ser beneficiosos debido a que son imprescindibles para otros procesos tales como, por ejemplo, la actividad del sistema inmune en la eliminación de patógenos. Sin embargo, a altas concentraciones, estos resultan ser altamente destructivos con las células que tienen en su vecindad. Para contrarrestar el efecto del estrés oxidativo el organismo produce antioxidantes de forma natural, mientras que el resto se suplementa con los alimentos que este ingiera.

Se ha investigado que la granada es una fruta con altos valores de actividad antioxidante, llegando a obtener valores hasta aproximadamente 3 veces más altos que el vino tinto y que el té verde, La actividad antioxidante varía en función de que parte de la granada se esté utilizando, pero en general, jugos extraídos del total de la granada poseen una capacidad antioxidante ligeramente mayor que los jugos extraídos únicamente de los gajos de una granada (Gil, Barberán, Hess, Holcroft, & Kader, 2000).

También se ha presenciado que la cascara de granada, la cual es usualmente desechada, posee un alto contenido de polifenoles y por lo tanto puede ser utilizado como un ingrediente funcional o aditivo para usos tales como preservantes o colorantes (Galaz, et al., 2017).

La granada es conocida por tener diferentes compuestos antioxidantes, entre los que se puede destacar la Punicalagina (Figura 7), el cual es un tanino hidrolizable, exclusivo de la granada y que comprende más del 50% de la actividad antioxidante del jugo de granada, este es hidrolizado en ácido elágico cuando es digerido, prolongando su liberación en el torrente sanguíneo (Turrini, Ferruzzi, & Fimognari, 2014).

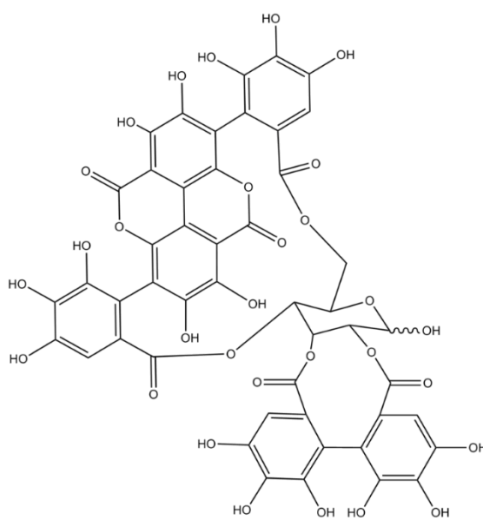


Figura 7 Punicalagina

Además de la granada, las manzanas también posee una cantidad significativa de polifenoles, predominando en ellos algunos flavonoides, tales como la Catequina y la Epicatequina (Moreno, et al., 2017). Los antioxidantes han sido sujeto de estudio debido a su capacidad de controlar la concentración de radicales libres en el organismo, de esta forma previniendo y tratando enfermedades degenerativas y crónicas. Últimamente se investigan las propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, neuroprotectoras y anticancerígenas que poseen estos compuestos (Espín, Larrosa, García-Conesa, & Barberán, 2013).

2.5. Secado de alimentos enriquecidos

La deshidratación de alimentos tiene como objeto reducir la actividad de agua para prolongar la vida útil de estos mediante la inhibición del crecimiento de microorganismos de provocan el deterioro de estos. En la industria de los alimentos, todos los productos tienen niveles de actividad de agua diferentes (Tabla 1), este nivel determina que tipos de microorganismos pueden estar presentes en el producto (Tabla 1). La deshidratación de alimentos puede llegar a reducir los niveles de actividad de agua a un nivel que inhiba la presencia de la mayoría de los microorganismos.

Tabla 1 Valores de Aw de alimentos

Actividad de agua	Alimento
0,98	Carne fresca, frutas, vegetales
0,97	Queso
0,88	Conservas
0,83	Salames
0,76	Fruta seca
0,75	Miel
0,5	Pastas, caramelos
0,4	Cacao
0,3	Alimentos secos en base a almidón
0,2	Leche en polvo

Tabla 2 Valores de Aw mínimos para el crecimiento de microorganismos

Actividad de agua mínima	Grupo de microorganismos
0,9	Mayoría de bacterias
0,88	Mayoría de levaduras
0,8	Mayoría de mohos
0,75	Bacterias halófilas
0,61	Mohos Xerófilos
0,61	Levaduras Osmófilas

2.5.1. Secado convectivo

Existen 3 métodos convencionales para el secado de alimentos enriquecidos o bien para el secado de alimentos en general, mediante la aplicación de una corriente de aire caliente, secado al vacío o secado de alimentos bajo el sol.

El efecto combinado de la temperatura de secado y el tiempo de secado pueden afectar la estabilidad de los compuestos activos que se hayan incorporado. Para el caso de alimentos enriquecidos con polifenoles, estos se reducen a causa de las transformaciones y polimerizaciones de las moléculas antioxidantes causadas por el aumento de la temperatura y también mediante reacciones enzimáticas y/o químicas causadas por tiempos prolongados de secado (Al-Rawahi, Rahman, Guizani, & Essa, 2013)

2.5.2. Liofilización

La liofilización es un proceso de secado que consiste de 3 etapas. La primera consiste en congelar el alimento a una temperatura bajo el punto de congelación, luego entra en el secado primario, el cual baja la presión del sistema, causando la sublimación del agua contenida en el alimento. El secado secundario disminuye aún más la presión del sistema, removiendo el agua remanente que no está congelada. Finalmente, la presión del sistema es restaurada a presión atmosférica una vez que el producto se ha secado. Se ha investigado que los procesos de liofilización tienen una mayor capacidad de retención de compuestos activos comparados con otros procesos de secado (Henriquez, Almonacid, Lutz, Simpson, & Valdenegro, 2013)

Se ha investigado la aplicación de un método combinado de liofilización, acoplado a un sistema de deshidratación por microondas al vacío, el cual ha demostrado, pudiendo llegar a reducir el tiempo de liofilización en hasta un 40% (Li, Huang, Zhang, Mujumdar, & Wang, 2014) (Aghilinategh, et al., 2015). Además, se está investigando la posibilidad de reducir los tiempos de liofilización mediante el uso de tecnologías de láser de CO₂ en que se realizan microperforaciones en el producto como proceso previo a la liofilización.

CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Materiales

3.1.1. Materia prima

Manzanas frescas (Variedad Granny Smith) de Chile, obtenidas en el mercado local, son refrigeradas hasta el momento de realizar una impregnación.



Figura 8 Manzana Granny Smith

Las muestras fueron cortadas en forma de un disco de pulpa blanca de manzana, con un diámetro de 4 [cm] y un espesor de 5 [mm], para obtener esta forma, las manzanas se cortaron en láminas y luego estas se cortaron con un cilindro metálico, obviando el centro de la manzana. Posteriormente, los discos de manzana son sumergidos en una solución de 20 [mg/ml] de Ácido Ascórbico y 10 [mg/ml] de Ácido cítrico, para evitar su oxidación enzimática (Moreno, et al., 2016).



Figura 9 Manzanas cortadas en discos

3.1.2. Solución de impregnación

Las manzanas se impregnaron con una solución de jugo de granada, comprados a Berrysur y concentrados a 65° Brix mediante la adición de Sacarosa. La relación entre la masa de manzanas a impregnar y la solución de impregnación a utilizar fue de 1:3. Para la realización de las experiencias, se utilizaron 300 [g] de manzanas cortadas (50 a 60 discos de manzana) y un volumen de 900 [ml] de solución de impregnación, obteniendo así una cantidad de muestras suficientes para realizar todos los análisis. La solución de impregnación se elaboró añadiendo 550 [g] de Sacarosa a 400 [ml] de jugo de granada, siendo calentados para facilitar su homogeneización.

3.1.3. Tratamiento de impregnación

El tratamiento de impregnación consistió en sumergir los discos de manzana en la solución de impregnación. El primer paso de la impregnación es la aplicación de vacío a 5KPa, mediante una bomba de vacío (Dosivac, DVP-1A). Las manzanas son introducidas junto con la solución de impregnación en el interior de un desecador. La parte superior de la tapa del desecador es conectada mediante un tubo a un matraz de kitasato, actuando como trampa de líquidos y este es conectado mediante una manguera de gases a la bomba de vacío (Figura 10). La manguera de gases posee un vacuómetro y válvulas que controlan el cambio de presión en el interior del desecador. El desecador está en el interior de un baño termorregulado (Lab Companion, BS-21) con la finalidad de mantener una temperatura uniforme durante la aplicación de vacío.

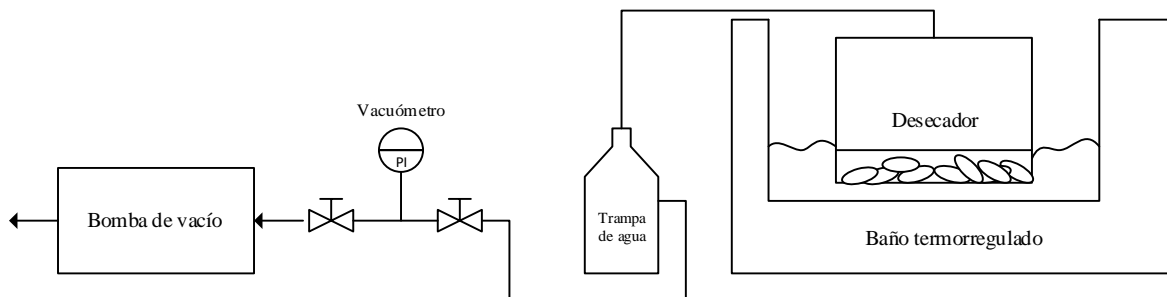


Figura 10 Diagrama de proceso de aplicación de vacío

Una vez terminada la etapa de vacío, se apagó la bomba y se retornó la presión del interior del desecador a presión atmosférica. Para el tratamiento del campo eléctrico, tanto las manzanas como la solución de impregnación se traspasaron a un recipiente que consiste en 2 cilindros metálicos concéntricos (3,7 cm y 19 cm de diámetro), unidos por una base plástica y conectados a un transformador de tensión (Voltac, SB-10) por medio de 2 electrodos (Figura 11). La conformación de los cilindros permite la aplicación de un campo eléctrico uniforme en todos los discos de manzana sumergidos. El transformador tiene los controladores para ajustar los niveles del campo eléctrico. Los niveles de voltaje de campo eléctrico y la temperatura son monitoreados con un registrador de datos (Omega, OM-320) el cual los muestra en un computador mediante el software Hyperware (versión 4.77). La aplicación del campo eléctrico proporciona una entrada de energía al sistema, aumentando la temperatura, por lo que es necesaria una entrada periódica de hielo en el agua del baño termostático para mantener la temperatura del experimento constante.

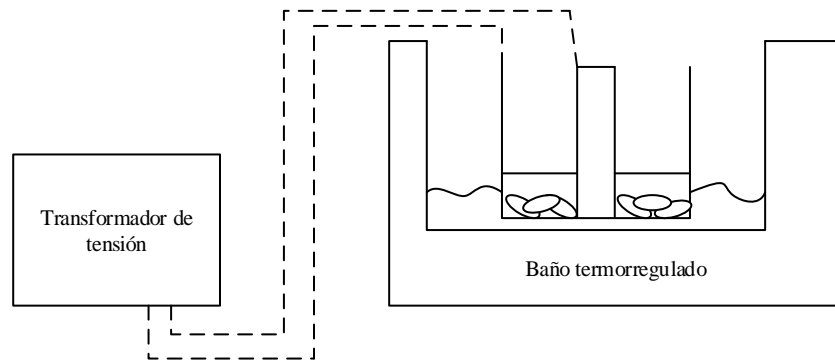


Figura 11 Diagrama de proceso de aplicación de campo eléctrico

3.1.4. Secado de muestras impregnadas

Para el secado se seleccionaron los 3 experimentos con los mayores niveles de actividad antioxidante, estas experiencias se repitieron y luego se separaron en 2 procesos de secado mediante el uso de una estufa (Memert, HCP-108, Figura 12) a 50°C por 24h y mediante el uso de un liofilizador (Christ, Alpha 2-4 LSCPlus, Figura 13). Las muestras a liofilizar, fueron congeladas a -40°C para posteriormente ser introducidas en el liofilizador, el cual, durante un periodo de 24,3 horas, se realizan 2 etapas de secado, el secado primario que ocurre a una presión de 0,1 [mbar] por 12,1 horas, comenzando a una temperatura de -25°C y finalizando en 26°C y el secado secundario el cual reduce la presión a 0.01 [mbar] por 12,2 horas y finalizando en 35°C (Figura 14).



Figura 12 Estufa Memert HCP-108



Figura 13 Liofilizador Christ Alpha 2-4 LSCPlus

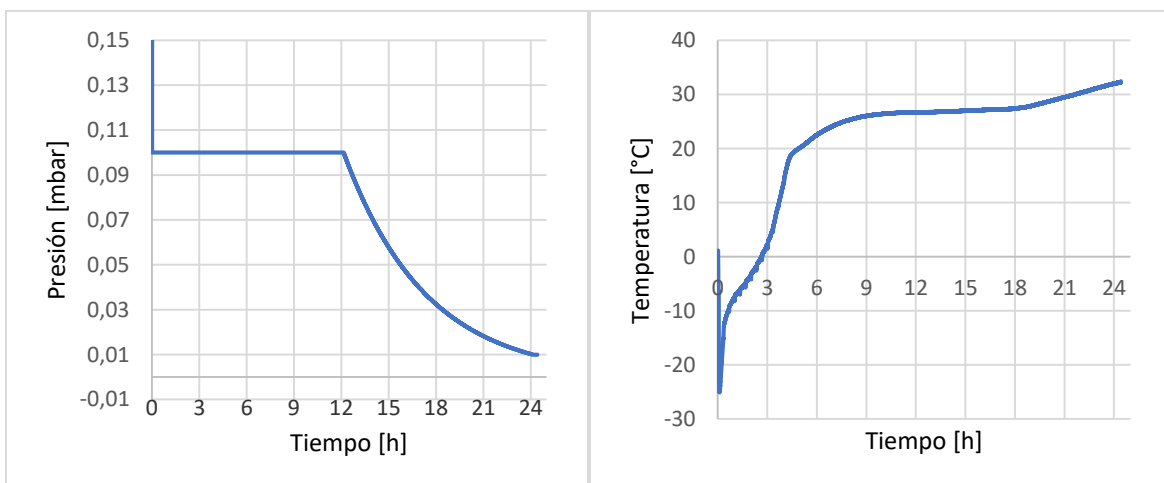


Figura 14 Curva de presión y temperatura del proceso de liofilización

3.2. Métodos

3.2.1. Determinación de actividad de agua

La obtención del valor de actividad de agua se realiza con un higrómetro (AquaLab, serie 4T, Figura 15), con un rango de medición de 0,0500 a 1,0000 y una precisión de $\pm 0,0030$. La medición se realiza colocando una muestra de manzana en un platillo plástico y colocando este en el interior del higrómetro.

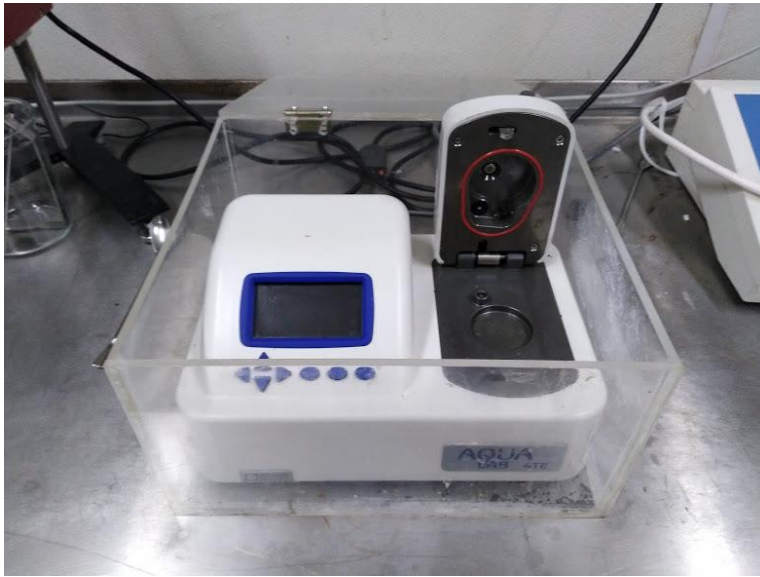


Figura 15 Higrómetro AquaLab 4T

3.2.2. Determinación de pérdida de agua

La pérdida de agua determina la cantidad de masa de agua que se pierde por unidad de masa de manzana que se impregne. El cálculo se realiza con la siguiente formula.

$$\Delta M_t^w = \frac{M_t * X_t^w - M_0 * X_0^w}{M_0}$$

M_t y M_0 son las masas de la muestra en los tiempos “t” y cero respectivamente, mientras que X_t^w y X_0^w son los valores de humedad de la muestra en los tiempos “t” y cero, respectivamente.

La humedad es determinada utilizando la metodología 934.06 de la AOAC (Asociation of Official Analytical Chemists, 1996), la cual se secan 5 a 10 [g] de la muestra a 60°C a una presión inferior a 100 [mm Hg], hasta alcanzar un peso constante en la muestra.

La humedad de una muestra se calcula con la siguiente formula.

$$X_t^w = \frac{M_0 - M_t}{M_0} * 100\%$$

3.2.3. Determinación de ganancia de sólidos solubles

La ganancia de solidos solubles determina la cantidad de masa de sólidos solubles que se añaden por unidad de masa de manzana que se impregne. El cálculo se realiza con la siguiente formula.

$$\Delta M_t^{SS} = \frac{M_t * X_t^{SS} - M_0 * X_0^{SS}}{M_0}$$

X_t^{SS} y X_0^{SS} son los valores del porcentaje de sólidos soluble de la muestra en los tiempos “t” y cero, respectivamente.

Universidad Técnica Federico Santa María

Para la determinación de sólidos solubles, se pesa una cantidad aproximada de 2 a 3 [g] de muestra, la cual es homogeneizada con 25 [ml] de agua destilada usando una juguera, de esta solución se mide el porcentaje de sólidos solubles mediante un refractómetro digital (Atago Pal-1), con este valor, el cálculo del porcentaje sólidos solubles se calcula con la siguiente fórmula.

$$X_t^{SS} = \frac{(W + M_t^* * X_t^w) * A}{M_t * (100\% - A)}$$

W es la masa de agua que se adiciona para homogeneizar la muestra, M_t^* es la masa de la muestra cortada antes de ser homogeneizada y A es el porcentaje de sólidos solubles proporcionado por el refractómetro.

3.2.4. Determinación de color

El parámetro del color se define con 3 factores, L, a y b, el sistema de colores (CIE, 1976) La Figura 16 muestra los factores L, a y b en un sistema de coordenadas, tomando L como la luminosidad, a cubre el espectro verde a rojo mientras que b cubre el espectro de azul a amarillo.

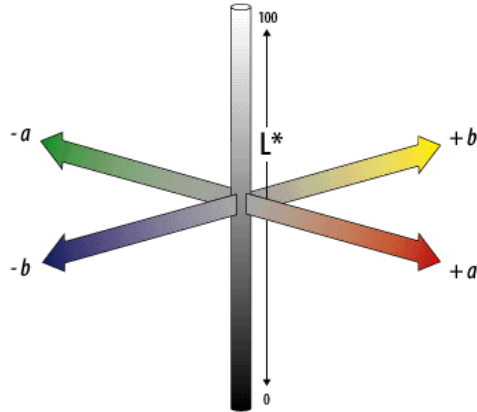


Figura 16 Sistema de coordenadas espectro CIE L*a*b

La determinación del cambio de color se determina con la siguiente fórmula:

$$\Delta E = \sqrt{(L_1 - L_2)^2 + (a_1 - a_2)^2 + (b_1 - b_2)^2}$$

La determinación de los factores de color se hizo usando un colorímetro (Konica Minolta, CR-400, Figura 17), el cual se coloca cuidadosamente encima de cada muestra, cada medición entregará los valores L, a y b que se muestran en la pantalla del mismo instrumento.



Figura 17 Colorímetro Konica Minolta CR-400

3.2.5. Determinación de dureza

La textura se determinó mediante el uso de un Texturómetro (CT3 Brookfield Texture analyser, Figura 18), el cual es controlado mediante un software (TexturePro CT v1.2.) para la obtención de datos. La medición se realizó juntando 5 discos de manzana recién cortados, formando un cilindro de una altura aproximada de 25 [mm], este cilindro es colocado en la base del texturómetro, el cual es exprimido con una sonda (A 25/1000) a una carga de activación de 0,1[N], hasta un 30% de la altura de la muestra. La determinación de la dureza es la fuerza con la que se exprime la muestra antes de su fracturación, esta se muestra en [N] y esta es provista por el software.



Figura 18 Texturómetro Brookfield CT3

3.2.6. Determinación del contenido total de polifenoles

El contenido total de polifenoles se realizó mediante el método de Folin Ciocalteu (Silveira, Sautter, Tonetto de Freitas, Galiotta, & Brackmann, 2007), después de 1 hora, se midió la absorbancia de la muestra (la cual toma un color azulado) a una longitud de onda de 765 [nm], mediante el uso de un espectrofotómetro (Spectronic, GENESYS 5, Figura 19), utilizando celdas plásticas. Para la preparación de la muestra, se realizó un extracto de manzana en una solución de metanol 80% (Galaz, et al., 2017), el cual fue almacenado a -20°C. Para calcular el contenido total de polifenoles, por masa de manzana seca, se utiliza la siguiente fórmula.

$$\text{Polifenoles totales} \left[\frac{\text{mg EAG}}{\text{g masa seca}} \right] = \frac{\rho_t * M_t^e}{1 - X_0^w} * \frac{20}{100}$$

ρ_t es la concentración de polifenoles en equivalente de Ácido gálico obtenida de la curva de calibración, M_t^e es la masa de manzana homogeneizada utilizada en el extracto y X_0^w es la humedad inicial de la manzana.



Figura 19 Espectrómetro Spectronic, GENESYS 5

3.2.7. Determinación de la actividad antioxidante

La preparación de la muestra utiliza el mismo extracto de manzana que se usa para determinar el contenido total de polifenoles.

La determinación de la actividad antioxidante se realizó, mediante el método de radical libre DPPH (Mensor, et al., 2001) con unas modificaciones. La muestra se prepara con 4,5 [ml] de solución DPPH 0,1mM en metanol y 0,5 [ml] de extracto de manzana, el blanco se elabora con metanol. Las soluciones se prepararon según las dosis mostradas anteriormente y son guardaron bajo oscuridad durante 30 minutos, en las que se después se pueden midieron mediante espectrofotometría a 517 [nm], utilizando celdas plásticas.

La actividad antioxidante se determina utilizando la siguiente fórmula

$$\text{Actividad antioxidante} \left[\frac{\mu\text{mol Trolox}}{\text{g masa seca}} \right] = \frac{\mu_t * \frac{20}{0,5 * M_t^e}}{1 - X_0^w}$$

μ_t representa los moles de equivalente de Trolox de la curva de calibración, M_t^e es la masa de manzana homogeneizada utilizada en el extracto y X_0^w es la humedad inicial de la manzana.

3.2.8. Diseño experimental

El diseño que se utilizó en este trabajo es una aplicación de un diseño factorial Box Behnken de 3x3, este reduce la cantidad de experimentos del total de posibles combinaciones que puedan a llegar a tener los factores con sus niveles. Para el diseño de este trabajo, se reduce a un total de 15 experimentos. La Tabla 3 indica los factores del diseño y en que niveles se realizaran las experiencias. La Tabla 4 Muestra los niveles de cada factor para las 15 experiencias del diseño experimental.

El diseño tiene como objetivo determinar los experimentos con los mayores niveles de actividad antioxidante para el proceso de secado y liofilización.

Tabla 3 Factores y niveles del diseño experimental

Factor	Niveles
Temperatura [°C]	30, 40, 50
Intensidad del campo eléctrico [volt/cm]	10,5 ; 13,1 ; 15,7
Tiempo de vacío [minutos]	5, 10, 15

Tabla 4 Diseño experimental

Experimento	Temperatura [°C]	Campo eléctrico [volt/cm]	Tiempo de vacío [min]
1	40	10,5	5
2	40	10,5	15
3	40	15,7	5
4	40	15,7	15
5	30	13,1	5
6	30	13,1	15
7	50	13,1	5
8	50	13,1	15
9	30	10,5	10
10	30	15,7	10
11	50	10,5	10
12	50	15,7	10
13	40	13,1	10
14	40	13,1	10
15	40	13,1	10

3.2.9. Análisis estadístico

La modelación de la actividad antioxidante y el contenido total de polifenoles se realizó con el software de cálculo STATGRAPHICS Centurion XV, mediante el diseño de una superficie de respuesta, con el objeto de determinar el efecto de los factores del diseño experimental y determinar si el cambio en el nivel de alguno de los factores es significativamente determinante en los valores de uno de los parámetros a medir en los experimentos.

La determinación de los modelos se hizo obteniendo todos los valores de los coeficientes de correlación y obteniendo la combinación de coeficientes en la que se obtuviese el mayor valor del coeficiente de determinación R^2 ajustado.

Adicionalmente, se realizó una prueba de rango múltiple, a un valor $P < 0,05$ con la metodología de Duncan para los resultados de este trabajo.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis de resultados de impregnación

4.1.1. Contenido total de polifenoles

A continuación, la Tabla 5 muestra el contenido total de polifenoles máximo alcanzado durante cada impregnación de discos de manzana a 30, 40 y 50°C, usando 10,5; 13,1 y 15,7 [volt/cm] de intensidad de campo eléctrico y un tiempo de vacío de 5, 10 y 15 minutos.

Tabla 5 Contenido total de polifenoles

Nº Exp	factores de diseño			Contenido total de polifenoles [mg EAG/g masa seca]
	Temperatura [°C]	Campo eléctrico [Volt/cm]	t vacío [min]	
Control	-	-	-	6,884 ± 0,066*
1	40	10,5	5	6,352 ± 0,041 ^h
2	40	10,5	15	2,901 ± 0,095 ^a
3	40	15,7	5	5,919 ± 0,284 ^{fg}
4	40	15,7	15	2,836 ± 0,135 ^a
5	30	13,1	5	5,853 ± 0,258 ^{fg}
6	30	13,1	15	5,479 ± 0,119 ^e
7	50	13,1	5	3,059 ± 0,115 ^a
8	50	13,1	15	6,195 ± 0,216 ^{gh}
9	30	10,5	10	5,881 ± 0,181 ^{fg}
10	30	15,7	10	6,471 ± 0,153 ^h
11	50	10,5	10	3,441 ± 0,200 ^b
12	50	15,7	10	4,371 ± 0,191 ^c
13	40	13,1	10	5,049 ± 0,095 ^d
14	40	13,1	10	5,693 ± 0,071 ^{ef}
15	40	13,1	10	4,853 ± 0,092 ^d

EAG: Equivalente de Ácido Gálico

^{a,b,...,h} Letras diferentes indican diferencia significativa, con P < 0,05 en test de Duncan

* Manzana fresca

Los resultados muestran que el contenido total de polifenoles disminuyó con respecto a la muestra fresca, aunque está demostrado que el uso de tratamientos de impregnación ayuda en la retención de estos, cuando se compara con muestras frescas (Moreno, et al., 2016), además de la sensibilidad de los polifenoles a altas temperaturas (Moreno, et al., 2017), en el que el proceso de deshidratación va removiendo componentes que se encuentran en el interior de la estructura de la manzana. Existen estudios en los que la variedad granny Smith puede reducir en hasta un 27% el contenido total de polifenoles en tratamientos de impregnación al vacío, siendo la mayoría de estos procianidinas y epicatequinas (Blanda, et al., 2008), en este caso, estas moléculas estarían siendo reemplazadas, en menor cantidad, por polifenoles provenientes del jugo de granada, tales como Punicalaginas

Al comparar las experiencias que ocurren a tiempos de vacío de 10 minutos, la temperatura es una variable significativa en cuanto a la retención de polifenoles, mientras que los cambios de intensidad del campo eléctrico no son significativos (Figura 20).

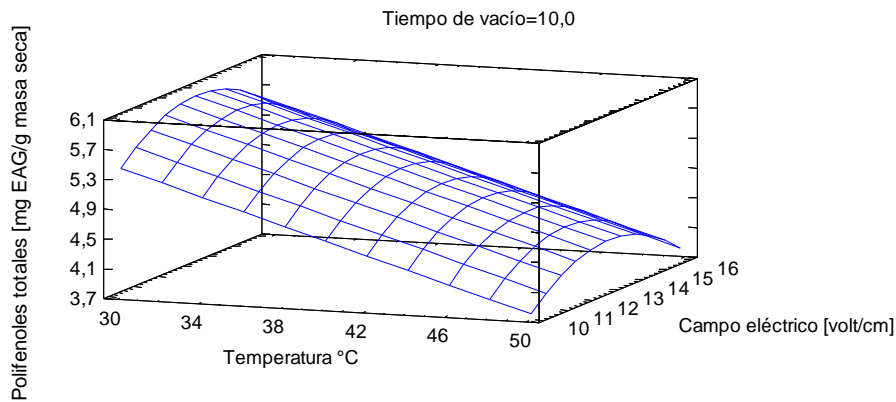


Figura 20 Efecto de la temperatura y el campo eléctrico en el contenido total de polifenoles a una impregnación con tiempo de vacío de 10 minutos

El valor del coeficiente de determinación ajustado R^2 provisto por STATHGRAPHICS en el mejor de los casos es 36,5084, por lo que no es suficiente utilizar un modelo cuadrático para determinar el contenido total de polifenoles de las experiencias. Tampoco se muestra una tendencia en el cambio de una de las variables que sea significativa en el contenido total de polifenoles.

4.1.2. Actividad antioxidante

A continuación, la Tabla 6 muestran los niveles máximos de actividad antioxidante que se cuantificaron en cada impregnación.

Tabla 6 Actividad antioxidante

N° Exp	Factores de diseño			Actividad antioxidante [$\mu\text{mol Trolox/g}$ muestra seca]
	Temperatura [°C]	Campo eléctrico [Volt/cm]	tiempo vacío [min]	
Control	-	-	-	$32,000 \pm 4,000^*$
1	40	10,5	5	$51,373 \pm 0,048^e$
2	40	10,5	15	$46,383 \pm 1,157^{bc}$
3	40	15,7	5	$54,272 \pm 2,094^f$
4	40	15,7	15	$48,272 \pm 1,257^{cd}$
5	30	13,1	5	$50,700 \pm 0,230^{de}$
6	30	13,1	15	$43,956 \pm 0,981^{ab}$
7	50	13,1	5	$59,214 \pm 0,537^g$
8	50	13,1	15	$44,945 \pm 0,798^{ab}$
9	30	10,5	10	$44,858 \pm 0,563^{ab}$
10	30	15,7	10	$43,643 \pm 1,751^{ab}$
11	50	10,5	10	$44,655 \pm 1,732^{ab}$
12	50	15,7	10	$45,252 \pm 2,723^{ab}$
13	40	13,1	10	$46,017 \pm 0,688^{bc}$
14	40	13,1	10	$42,772 \pm 0,992^a$
15	40	13,1	10	$44,205 \pm 0,331^{ab}$

^{a,b,...f} Letras diferentes indican diferencia significativa, con $P < 0,05$ en test de Duncan

* Manzana fresca

Los resultados muestran que en las 15 experiencias se muestra un aumento en la actividad antioxidante. De los resultados de la Tabla 6, hay una diferencia significativa en la actividad antioxidante en las experiencias con un tiempo de vacío de 5 minutos, que mostraron valores superiores al resto de los experimentos realizados con tiempos de vacío superiores. También se muestra una diferencia significativa en los valores de actividad antioxidante cuando hay cambios en la temperatura y el campo eléctrico cuando se comparan las experiencias con un tiempo de vacío de 5 minutos (Figura 21). El aumento de la actividad antioxidante se debe principalmente a la entrada de antioxidantes del jugo de granada en el interior de la matriz alimentaria de los discos de manzana, la actividad antioxidante de la punicalagina es de 5,8 [umol Trolox/mg Punicalagina] (Gil, Barberán, Hess, Holcroft, & Kader, 2000), valor mucho mayor que la actividad antioxidante de la manzana fresca.

De las 11 experiencias con un tiempo de vacío superior a 5 minutos, 8 tienen valores significativamente idénticos, pudiendo suponer que la temperatura y el campo eléctrico no tienen mayor efecto en la actividad antioxidante. Aun así, se muestra en la superficie de respuesta, que muestra que la temperatura y es un parámetro significativo para tiempos de vacío cortos.

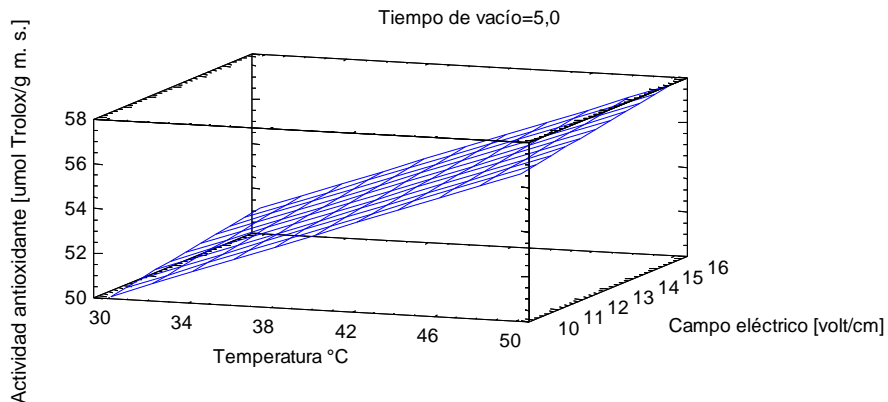


Figura 21 Efecto de la temperatura y el campo eléctrico en la actividad antioxidante a una impregnación con tiempo de vacío de 5 minutos

Al aumentar el tiempo de vacío, se observó que el efecto de la temperatura es menor, corroborando los resultados de la Tabla 6 y mostrando que los cambios de temperatura no son significativos en la actividad antioxidante para tiempos de vacío superiores a 5 minutos (.Figura 22). Los cambios de campo eléctrico no muestran ser significativos en cambiar los niveles de actividad antioxidante en la impregnación (Figura 23).

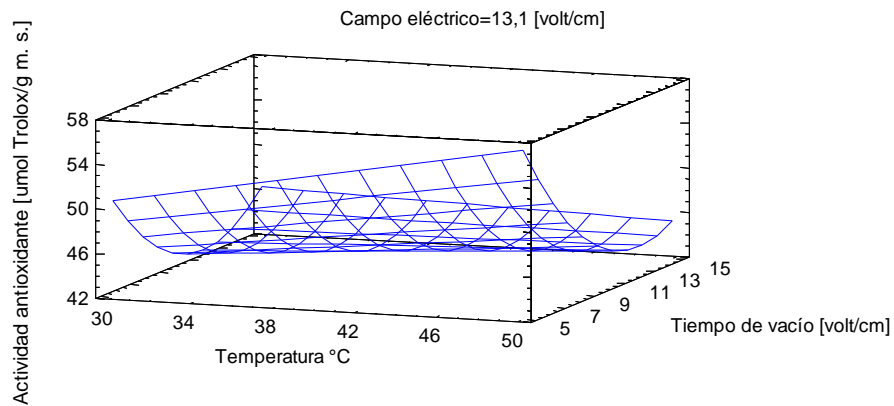


Figura 22 Efecto de la temperatura y el tiempo de vacío en la actividad antioxidante a una impregnación en un campo eléctrico de 13,1 [volt/cm]

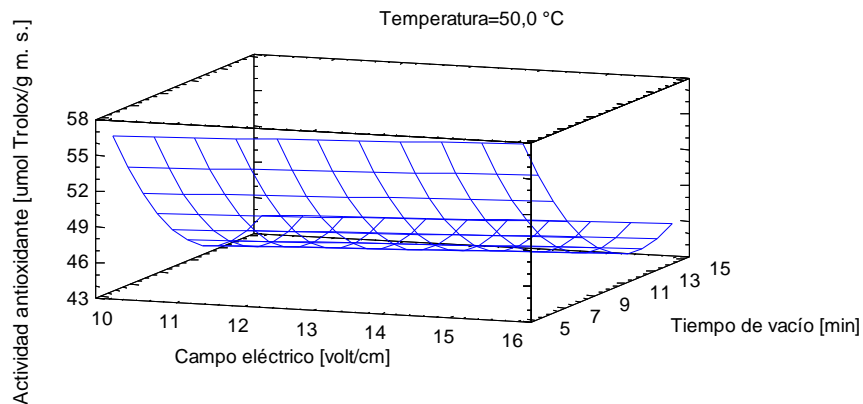


Figura 23 Efecto del campo eléctrico y el tiempo de vacío en la actividad antioxidante a una impregnación con una temperatura de 50 $^{\circ}\text{C}$

El mejor modelo provisto por STATGRAPHICS muestra que las 3 variables están presentes, la modelación queda de la siguiente forma.

$$\text{Actividad antioxidante} \left[\frac{\text{umol Trolox}}{\text{g masa seca}} \right] = 50,985 + 0,5127 * T[^\circ\text{C}] + 0,200529 * E \left[\frac{\text{volt}}{\text{cm}} \right] \\ - 3,61735 * T_v[\text{min}] - 0,0376325 * T[^\circ\text{C}] * T_v[\text{min}] + 0,216129 * T_v^2[^\circ\text{C}]$$

El valor del coeficiente de determinación ajustado R^2 es 83,4376, mostrando que no todos los datos se ajustan al modelo, pero es representativo para realizar estimaciones, además muestra también el mayor efecto del tiempo de vacío al tener coeficientes de correlación de mayor magnitud.

4.1.3. Pérdida de agua

A continuación, la Figura 24 muestra los cambios en la pérdida de agua de las 15 experiencias de impregnación

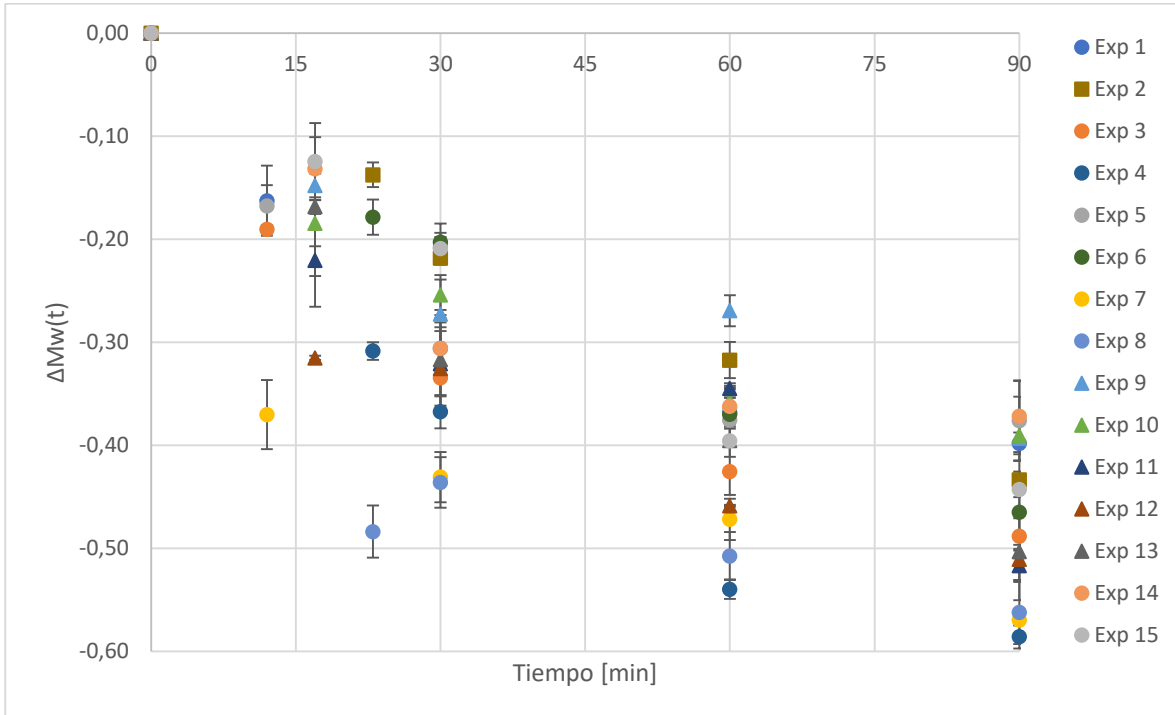


Figura 24 Cambios en la masa de agua

La Figura 24 muestra una disminución de la masa de agua en todas las experiencias, que aumenta a medida que la impregnación transcurre. Al final de los 90 minutos de impregnación, el rango de datos varió entre -0,586 a -0,372. Los valores de ΔM_t^w son similares a valores obtenidos en investigaciones similares (Moreno, et al., 2017), en los que se alcanzan valores de ΔM_t^w entre -0,584 a -0,445 en impregnaciones de 120 minutos.

Se observó que al final de las impregnaciones, los aumentos en la temperatura son significativos en mayores valores de ΔM_t^w , al igual que los aumentos del campo eléctrico muestran mayores valores de ΔM_t^w , los cambios del tiempo de vacío en general no muestran diferencias significativas en los valores de ΔM_t^w .

4.1.4. Ganancia de solidos solubles

A continuación, la Figura 25 muestra los cambios en la ganancia de solidos solubles de las 15 experiencias de impregnación

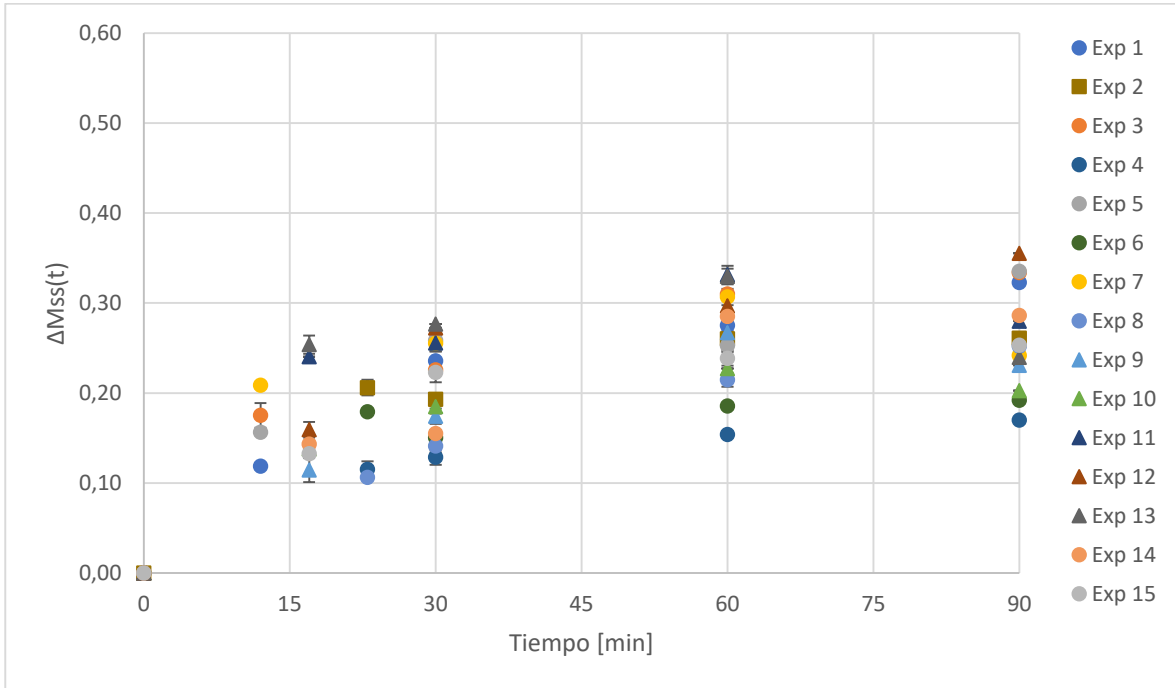


Figura 25 Cambios en la masa de solidos solubles

La Figura 25 muestra que hubo una menor ganancia de solidos comparado con una mayor pérdida de agua contenida en las manzanas. Al final de las impregnaciones, el rango de datos varió entre 0,170 a 0,355. Los aumentos de temperatura fueron significativos en mostrar mayores valores de ΔM_t^{SS} , se puede explicar debido a que la temperatura, favorece la difusión de sólidos de sólidos en el interior de la manzana (Moreno, et al., 2011). La disminución de los tiempos de vacío mostraron diferencias significativas en un aumento de los valores de ΔM_t^{SS} . Sin embargo, no hubo una diferencia significativa de los valores de ΔM_t^{SS} a cambios de la intensidad del campo eléctrico.

4.1.5. Actividad de agua

A continuación, la Figura 26 muestra los valores de actividad de agua obtenidos durante la impregnación.

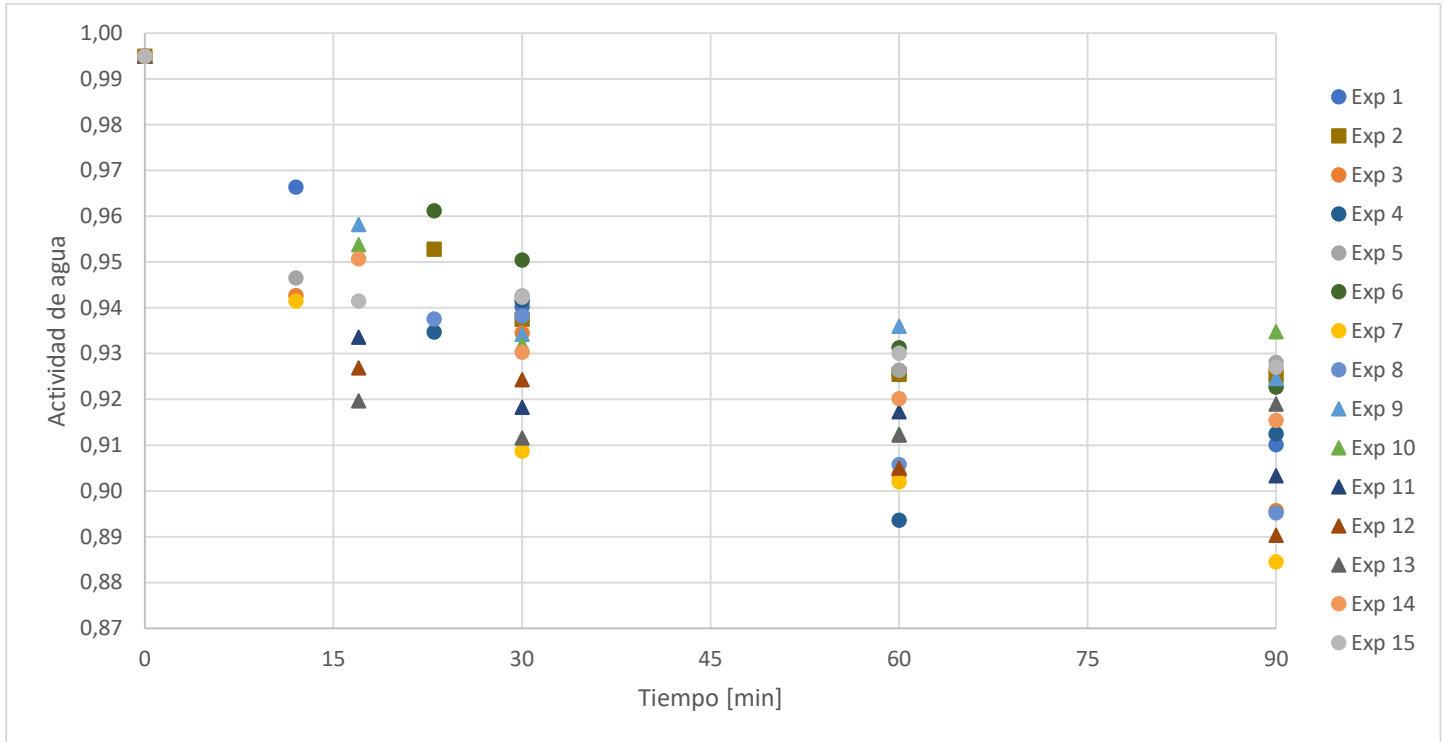


Figura 26 Actividad de agua de las muestras durante la impregnación

Los valores de actividad de agua disminuyeron en un rango desde 0,8845 hasta 0,9348 al final de las impregnaciones. Se observó que los aumentos de temperatura y de campo eléctrico son significativos en mostrar menores niveles de actividad de agua. Mientras que no hubo una diferencia significativa en los valores de actividad de agua a cambios de tiempos de vacío.

4.1.6. Diferencia de color

A continuación, la Tabla 7 muestra la diferencia de color de las muestras al final de cada impregnación

Tabla 7 Cambios de color

N° Exp	Factores de diseño			Cambio de color ΔE
	Temperatura [°C]	Campo eléctrico [Volt/cm]	Tiempo de vacío [min]	
1	40	10,5	5	34,592 ± 1,782 ^a
2	40	10,5	15	37,121 ± 1,942 ^{abcd}
3	40	15,7	5	39,766 ± 0,338 ^d
4	40	15,7	15	38,843 ± 1,282 ^{cd}
5	30	13,1	5	35,791 ± 0,239 ^{ab}
6	30	13,1	15	36,860 ± 1,879 ^{abc}
7	50	13,1	5	35,749 ± 0,755 ^{ab}
8	50	13,1	15	37,892 ± 1,607 ^{bcd}
9	30	10,5	10	36,543 ± 2,396 ^{abc}
10	30	15,7	10	38,177 ± 1,009 ^{bcd}
11	50	10,5	10	37,824 ± 2,439 ^{bcd}
12	50	15,7	10	42,954 ± 1,227 ^e
13	40	13,1	10	37,238 ± 0,544 ^{abcd}
14	40	13,1	10	38,642 ± 1,093 ^{cd}
15	40	13,1	10	38,194 ± 1,203 ^{bcd}

^{a,b,...e} Letras diferentes indican diferencia significativa, con $P < 0,05$ en test de Duncan

El rango de valores es similar a los que se han obtenido de otras impregnaciones en las que se aplica un campo eléctrico (Moreno, et al., 2017). Se observó que no hay un cambio significativo de ΔE ante los cambios de nivel de alguno de los 3 factores. Aun así, se observa que los aumentos de temperatura y de la intensidad del campo eléctrico muestran un valor de ΔE mayor. Las variaciones del tiempo de vacío no muestran un cambio significativo en los valores de ΔE . La impregnación al vacío deja un cambio de color significativo al retirar el aire del interior de los discos de manzana, restando el efecto de los cambios en el tiempo de vacío.

Se observa un cambio significativo en la luminosidad debido al mismo color de la solución de impregnación, las muestras impregnadas (Figura 27, A) poseen un color más propio del jugo de granada, al igual que una menor luminosidad que las manzanas frescas (Figura 27, B).

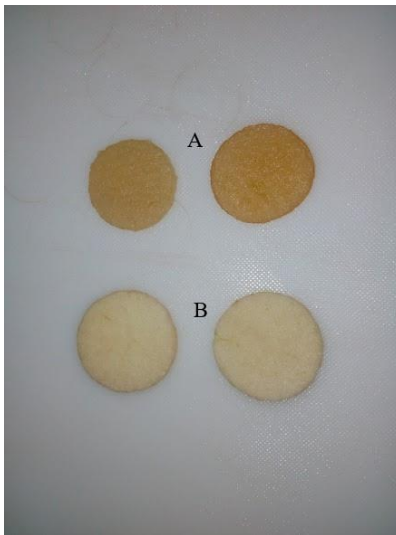


Figura 27 Discos de manzana impregnados y frescos

4.1.7. Dureza de las muestras impregnadas

A continuación, la Tabla 8 muestra los resultados de dureza obtenidos al final de cada impregnación

Tabla 8 Dureza de las muestras

N° Exp	Factores de diseño			Dureza [N]
	Temperatura [°C]	Campo eléctrico [Volt/cm]	Tiempo de vacío [min]	
Control	-	-	-	280,06 ± 15,53*
1	40	10,5	5	23,31 ± 4,17 ^{de}
2	40	10,5	15	32,08 ± 4,611 ^g
3	40	15,7	5	30,54 ± 2,675 ^{fg}
4	40	15,7	15	13,93 ± 1,954 ^{bc}
5	30	13,1	5	34,21 ± 1,015 ^g
6	30	13,1	15	20,48 ± 3,223 ^{cde}
7	50	13,1	5	5,67 ± 0,942 ^a
8	50	13,1	15	6,10 ± 0,573 ^a
9	30	10,5	10	15,46 ± 2,902 ^{bc}
10	30	15,7	10	17,45 ± 2,511 ^{bcd}
11	50	10,5	10	11,95 ± 1,252 ^{ab}
12	50	15,7	10	25,04 ± 12,16 ^{ef}
13	40	13,1	10	16,85 ± 1,579 ^{bcd}
14	40	13,1	10	21,30 ± 2,651 ^{cde}
15	40	13,1	10	11,40 ± 0,921 ^{ab}

^{a,b,..g} Letras diferentes indican diferencia significativa, con P < 0,05 en test de Duncan

* Manzana fresca

Se observó que la dureza de los discos de manzana disminuyó con respecto al control, la baja en la dureza se debe a cambios en la estructura de la manzana, producto de la deformación que ocurre en las células de esta cuando es puesta a cambios de presión durante el comienzo de la impregnación (Chiralt & Talens, Physical and chemical changes induced by osmotic dehydration in plant tissues, 2005). También queda a considerar que el grado de madurez de la manzana también disminuye la dureza de las muestras durante la impregnación (Guerra & Casquero, 2005).

4.2. Caracterización del producto final

El producto final, se realizó con las 3 experiencias con las que se obtuvieron los mayores niveles de actividad antioxidante, de las 15 experiencias, la Tabla 9 muestra cuales experiencias se repitieron para el secado mediante aire caliente y liofilización

Tabla 9 Experiencias elegidas para secado

N° Exp	Factores de diseño			Actividad antioxidante [umol Trolox/g masa seca]
	Temperatura [°C]	Campo eléctrico [Volt/cm]	Tiempo de vacío [min]	
1	40	10,5	5	51,373 ± 0,048
3	40	15,7	5	54,272 ± 2,094
7	50	13,1	5	59,214 ± 0,537

4.2.1. Contenido total de polifenoles

A continuación, la Figura 28 muestra el contenido total de polifenoles obtenidos durante la impregnación y al final de cada proceso de secado.

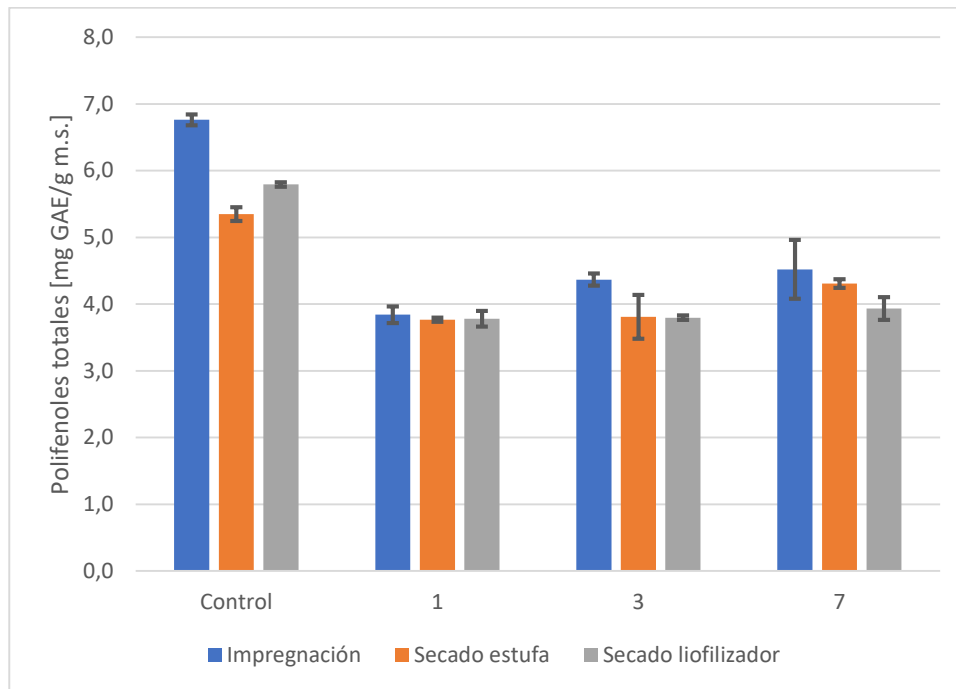


Figura 28 Polifenoles totales al final de la impregnación y secado

La Figura 28 muestra una diferencia significativa en el contenido total de polifenoles de la muestra control, debido a que la manzana sin ser impregnada no posee la misma capacidad de retener polifenoles que las manzanas que fueron tratadas en la impregnación. Se observó que el control disminuye significativamente una cantidad mayor de polifenoles al ser secada en la estufa. Los polifenoles tienden a reaccionar y polimerizar en tratamientos a altas temperaturas (Al-Rawahi, Rahman, Guizani, & Essa, 2013).

Las muestras que impregnadas, en cambio, tienen una mayor retención de polifenoles esta se puede explicar a que durante la impregnación los compuestos bioactivos se encuentran en el interior de las células mediante la electropermeabilización, previniendo su descomposición en los procesos de secado (Moreno, et al., 2016). Los tratamientos de secado no muestran una diferencia significativa en las muestras que fueron impregnadas, tanto el secado con estufa como la liofilización tienen un nivel similar de polifenoles totales en las muestras secas.

4.2.2. Actividad antioxidante

A continuación, la Figura 29 muestra los valores de actividad antioxidante obtenidos durante la impregnación y al final de cada proceso de secado

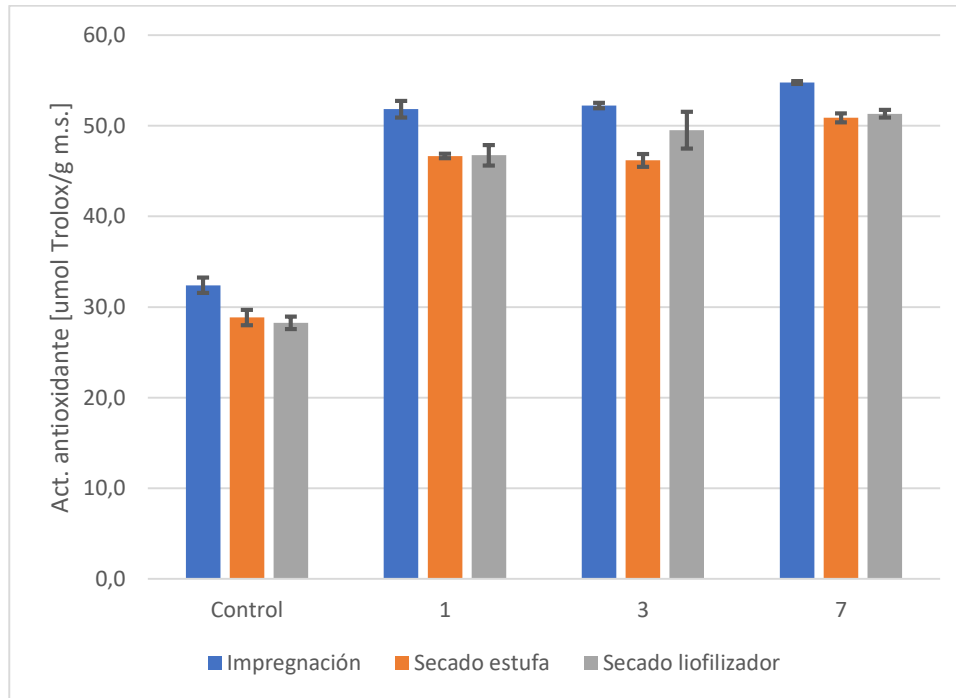


Figura 29 Actividad antioxidante al final de la impregnación y secado

La Figura 29 muestra que la actividad antioxidante disminuye después de que las muestras son secadas, si bien la baja del contenido total de polifenoles podría sugerir también una baja en la actividad antioxidante, existe la posibilidad de que compuestos bioactivos de baja capacidad antioxidante fueran degradados durante el secado, sin afectar en mayor medida la actividad antioxidante de las muestras (Galaz, et al., 2017).

Los niveles de actividad antioxidante, en ambos secados no presentan diferencias significativas, lo que demuestra que ambos tratamientos de secado son igual de efectivos en la retención de las capacidades antioxidantes de las muestras.

4.2.3. Diferencia de color en muestras secas

A continuación, la Tabla 10 muestra los valores de parámetros de color obtenidos durante la impregnación y al final de cada proceso de secado.

Tabla 10 Cambios de color en muestras secas

N° Exp	Tipo de secado	Parámetros de color			Cambio de color ΔE
		L	a	b	
Control	Estufa	69,73 \pm 0,19	5,67 \pm 0,45	24,47 \pm 2,18	17,93 \pm 0,48 ^{ab}
	Liofilizador	87,37 \pm 0,91	-6,41 \pm 1,29	19,23 \pm 2,51	15,26 \pm 2,09 ^a
1	Estufa	41,68 \pm 3,88	5,37 \pm 0,24	26,41 \pm 0,21	36,70 \pm 3,33 ^c
	Liofilizador	66,73 \pm 0,72	2,69 \pm 1,20	26,91 \pm 4,14	16,53 \pm 0,09 ^{ab}
3	Estufa	41,05 \pm 0,88	5,33 \pm 0,16	27,68 \pm 0,56	37,84 \pm 0,76 ^c
	Liofilizador	61,40 \pm 3,03	2,98 \pm 0,35	26,24 \pm 2,68	19,61 \pm 1,95 ^b
7	Estufa	40,69 \pm 1,65	4,88 \pm 0,56	24,04 \pm 5,04	37,45 \pm 1,67 ^c
	Liofilizador	61,72 \pm 0,10	2,24 \pm 0,30	25,57 \pm 2,58	18,73 \pm 0,44 ^{ab}

^{a,b,c} Letras diferentes indican diferencia significativa, con $P < 0,05$ en test de Duncan

Se observó que en la Tabla 10, las manzanas que son secadas en estufa presentan una diferencia significativamente mayor en los valores de ΔE comparados con las manzanas liofilizadas, a causa de que la exposición al calor tiende a degradar la superficie externa de las muestras. Al comparar las muestras de control, las muestras liofilizadas (Figura 30, A) presentan un menor cambio en el color que las muestras secadas en estufa (Figura 30, C), en la que también se muestra una clara diferencia en la luminosidad. En las muestras impregnadas hay un mayor cambio de color por el hecho de que las manzanas están impregnadas en jugo de granada, aun así, el proceso de liofilización (Figura 30, B) presenta un cambio de color menor con respecto a la muestra impregnada secada en estufa (Figura 30, D).

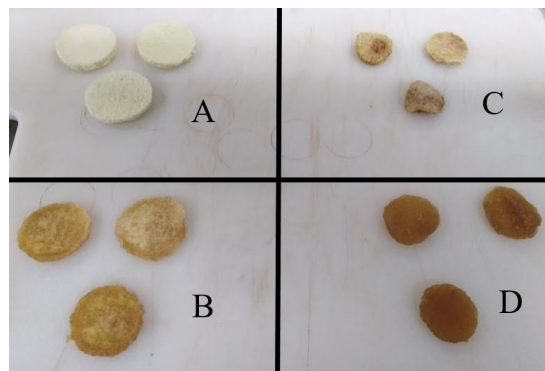


Figura 30 Manzanas control e impregnadas secadas mediante estufa y liofilización

5. CONCLUSIONES

Tomando en cuenta que el objetivo principal del trabajo es el diseño de un producto enriquecido en jugo de granada, en el que se busca incrementar las capacidades antioxidantes de este, todas las experiencias mostradas en el diseño experimental cumplieron con el objetivo de enriquecer las manzanas, aumentando los niveles de actividad antioxidante en el producto final.

Se determinó que el mayor nivel de actividad antioxidante, se obtiene en el proceso de impregnación de la experiencia a 50°C, 13,1 [volt/cm] y 5 minutos de tiempo de vacío, demostrando que la actividad antioxidante aumenta de forma significativa cuando aumentan los niveles de temperatura y/o disminuyen los tiempos de vacío. Los cambios en el campo eléctrico no fueron significativos en la variación de la actividad antioxidante.

Se pudo determinar un modelo para la estimación de la actividad antioxidante de las manzanas impregnadas, con un valor de R^2 ajustado de 83,44, el cual se puede utilizar para futuras impregnaciones.

Se concluye que ambos procedimientos de secado, no presentan una diferencia significativa en los niveles de actividad antioxidante y del contenido total de polifenoles del producto final, por lo que ambos secados son igualmente efectivos en la conservación de los compuestos antioxidantes de las manzanas impregnadas y en la elaboración del producto final. Al igual que en la impregnación, los niveles más altos de actividad antioxidante se obtuvieron en la impregnación a 50°C, 13,1 [volt/cm] y 5 minutos de tiempo de vacío. Las diferencias de color en los productos finales determinan que el secado por liofilización genera un producto con una menor diferencia de color con respecto a la manzana fresca. Aun así, se presentan diferencias en ambos secados que pueden ser determinantes a la hora de establecer el producto final en un formato comercial, por lo que queda para investigar una comparación en la textura de los productos finales en ambos tratamientos de secado.

Se recomienda hacer un mayor análisis de los polifenoles durante la impregnación, midiendo la concentración de Punicalagina y de polifenoles propios de la manzana, determinando si la disminución del contenido total de polifenoles se debe al reemplazo de los compuestos fenólicos de la manzana por Punicalagina o por la polimerización de estos. Finalmente, se recomienda tomar como factor el porcentaje de sólidos solubles de la solución de impregnación, con el objeto de lograr obtener un producto final enriquecido con la menor cantidad de azúcares posible.

REFERENCIAS

- Aghilinategh, N., Rafiee, S., Gholikhani, A., Hosseinpour, S., Omid, M., Mohtasebi, S., & Maleki, N. (2015). A comparative study of dried apple using hot air, intermittent and continuous microwave: evaluation of kinetic parameters and psychochemical quality attributes. *Food science and nutrition*, 3(6), 519-526.
- Al-Rawahi, A., Rahman, M., Guizani, N., & Essa, M. (2013). Chemical composition, water sorption isotherm, and phenolic contents in fresh and dried pomegranate peels. *Drying technology: An international journal*(31), 257-263.
- Association of Official Analytical Chemists. (1996). AOAC Official Method 934.06.
- Blanda, G., Cerretani, L., Bendini, A., Cardinali, A., Scarpellini, A., & Lercker, G. (2008). Effect of vacuum impregnation on the phenolic content of Granny Smith and Stark Delicious frozen apple cvv. *Eur Food Res Technol*, 226, 1229-1237.
- Castagnini, J., Betoret, N., Betoret, E., & Fito, P. (2015). Vacuum impregnation and air drying temperature effect on individual anthocyanins and antiradical capacity of blueberry juice included into an apple matrix. (64), 1289-1296.
- Chiralt, A., & Talens, P. (2005). Physical and chemical changes induced by osmotic dehydration in plant tissues. *Journal of food engineering*(67), 167-177.
- Chiralt, A., Fito, P., Barat, J., Andrés, A., Gonzales, C., Escriche, I., & Camacho, M. (2001). Use of vacuum impregnation in food salting process. *Journal of food engineering*(49), 141-151.
- CIE. (1976). *CIELAB Color models*. Retrieved from http://dba.med.sc.edu/price/irf/Adobe_tg/models/cielab.html
- Espín, J., Larrosa, M., García-Conesa, M., & Barberán, F. (2013). Biological significance of Urolithins, the gut microbial ellagic acid-derived metabolites: The evidence so far. *Evidence based-complementary and alternativre medicine*.
- Fito, P. (1994). Modelling of vacuum osmotic dehydration of food. *Journal of food engineering*, 22, 313-328.
- Fito, P., Chiralt, A., Barat, J., Andrés, A., Martinez, J., & Martinez, N. (2001). Vacuum impregnation for development of new dehydrated products. *Journal of food engineering*(49), 297-302.

- Fito, P., Chiralt, A., Betoret, N., Gras, M., Cháfer, M., Martínez-Monzó, J., . . . Vidal, D. (2001). Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering: Application in functional fresh food development. *Journal of food engineering*(49), 175-183.
- Galaz, P., Valdenegro, M., Ramirez, C., Nuñez, H., Almonacid, S., & Simpson, R. (2017). Effect of drum temperature on drying kinetic and polyphenol contents in pomegranate peel. *Journal of food engineering*(208), 19-27.
- Gil, M., Barberán, F., Hess, B., Holcroft, D., & Kader, A. (2000). Antioxidant Activity of Pomegranate Juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of agricultural food chemistry*(48), 4581-4589.
- Gras, M., Vidal, D., Betoret, N., Chiralt, A., & Fito, P. (2003). Calcium fortification of vegetables by vacuum impregnation Interactions with cellular matrix. *Journal of food engineering*(56), 279-284.
- Guerra, M., & Casquero, P. (2005). Development of ripeness of apple and pear varieties in a cold storage room with an ethylene absorbent system. *Información tecnológica*(4), 11-16.
- Henriquez, M., Almonacid, S., Lutz, M., Simpson, R., & Valdenegro, M. (2013). Comparison of three drying processes to obtain an apple peel food ingredient. *CyTA Journal of food*(11), 127-135.
- Kusnadi, C., & Sastry, S. (2012). Effect of moderate electric fields on salt diffusion into vegetable tissue. *Journal of food engineering*(110), 329-336.
- Lebovka, N., Praporscic, I., Ghnimi, S., & Vorovieb, E. (2005a). Temperature enhanced electroporation under the pulsed electric field treatment of food tissue. *Journal of food engineering*(69), 177-184.
- Lebovka, N., Praporscic, I., Ghnimi, S., & Vorovieb, E. (2005b). Does electroporation occur during the ohmic heating of food? *Food engineering and physical properties*, 70(5), 308-311.
- Lebovka, N., Shinkaryk, M., & Vorobiev, E. (2007). Moderate electric field treatment of sugarbeet tissues. *Biosystems engineering*, 96(1), 47-56.
- Li, R., Huang, L., Zhang, M., Mujumdar, A., & Wang, Y. (2014). Freeze drying of apple slices with and without application of microwaves. *Drying technology*(32), 1769-1776.

- Mensor, L., Menezes, F., Leitão, G., Reis, A., dos Santos, T., Coube, C., & Leitão, S. (2001). Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy research*(15), 127-130.
- Moreno, J., Espinoza, C., Simpson, R., Petzold, G., Nuñez, H., & Gianelli, M. P. (2016). Application of ohmic heating/vacuum impregnation treatments and air drying to develop an apple snack enriched in folic acid. *Innovative Food Science and emerging technologies*, 381-386.
- Moreno, J., Gonzales, M., Zuñiga, P., Petzold, G., Mella, K., & Muñoz, O. (2016). Ohmic heating and pulsed vacuum effect on dehydration processes and polyphenol component retention of osmodehydrated blueberries (cv. Tifblue). *Innovative food science and emerging technologies*, 36, 112-119.
- Moreno, J., Simpson, R., Estrada, D., Lorenzen, S., Moraga, D., & Almonacid, S. (2011). Effect of pulsed-vacuum and ohmic heating on the osmodehydration kinetics, physical properties and microstructure of apples (cv. Granny Smith). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12, 562-568.
- Moreno, J., Zuñiga, P., Dorvil, F., Petzold, G., Mella, K., & Bugueño, G. (2017). Osmodehydration assisted by ohmic heating/pulse vacuum in apples (cv. Fuji): retention of polyphenols during refrigerated storage. *International journal of food science and technology*(52), 1203-1210.
- Nanuva. (2018). *Nanuva ingredients*. Obtenido de Productos Nanuva Ingredients: <http://www.nanuva.cl>
- NOS Magazine. (2015). Alimentos deshidratados Un emprendimiento saludable. *Zona Agro Ñuble* 164. Retrieved from Zona Agro Ñuble.
- ODEPA. (Mayo de 2018). Boletín de frutas y hortalizas procesadas.
- ProChile*. (2012). Obtenido de El mercado de alimentos funcionales cierra el ejercicio 2011 con unas ventas de 2.900 millones de euros.
- Schulze, B., Hubbermann, E., & Schwarz, K. (2014). Stability of quercetin derivatives in vacuum impregnated apple slices after drying (microwave vacuum drying, air drying, freeze drying) and storage. *Food science and technology*(57), 426-433.

- Silveira, A., Sautter, C., Tonetto de Freitas, S., Galiotta, G., & Brackmann, A. (2007). Determination of some quality parameters of the Fuji cultivar and their mutants at harvest. *Food science and Technology*, 149-153.
- Simpson, R., Ramirez, C., Birchmeier, V., Almonacid, A., Moreno, J., Nuñez, H., & Jaques, A. (2015). Diffusion mechanisms during the osmotic dehydration of Granny Smith. *Journal of food engineering*(166), 204-211.
- Sun-Waterhouse, D., Teoh, A., Massarotto, C., Wibisono, R., & Wadhwa, S. (2010). Comparative analysis of fruit-based functional snack bars. *Food Chemistry*(119), 1369-1379.
- Tipler, P., & Mosca, G. (2005). *Física para la ciencia y la tecnología* (quinta ed., Vol. 2).
- Turrini, E., Ferruzzi, L., & Fimognari, C. (2014). Potential effects of pomegranate polyphenols in cancer prevention and therapy. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015.
- Wang, X., Li, C., Liang, D., Zou, Y., Li, P., & Ma, F. (2014). Phenolic compounds and antioxidant activity in red-fleshed apples. *Journal of functional foods*, 1-9.

ANEXOS

ANEXO 1: RESULTADOS EXPERIMENTALES

Tabla 11 Resultado experimentales Contenido total de polifenoles

Experiencia	Temperatura [°C]	Factores		Tiempo [min]	Polifenoles totales [mg EAG/g masa seca]
		Campo eléctrico [volt/cm]	Tiempo de vacío [min]		
1	40	10,5	5	12	6,352 ± 0,041
				30	6,597 ± 0,052
				60	5,552 ± 0,147
				90	6,247 ± 0,159
2	40	10,5	15	22	2,554 ± 0,210
				30	2,688 ± 0,141
				60	2,901 ± 0,095
				90	2,507 ± 0,074
3	40	15,7	5	12	5,010 ± 0,062
				30	5,919 ± 0,284
				60	5,805 ± 0,133
				90	5,740 ± 0,282
4	40	15,7	15	22	2,294 ± 0,125
				30	2,776 ± 0,062
				60	2,836 ± 0,135
				90	2,779 ± 0,100
5	30	13,1	5	12	4,784 ± 0,150
				30	5,853 ± 0,258
				60	5,689 ± 0,206
				90	5,062 ± 0,276
6	30	13,1	15	22	4,404 ± 0,181
				30	5,479 ± 0,119
				60	5,189 ± 0,232
				90	5,759 ± 0,142
7	50	13,1	5	12	3,059 ± 0,115
				30	2,756 ± 0,200
				60	2,684 ± 0,296
				90	2,670 ± 0,261
8	50	13,1	15	22	6,195 ± 0,216
				30	5,727 ± 0,484
				60	5,667 ± 0,020
				90	5,391 ± 0,020
9	30	10,5	10	17	4,803 ± 0,189
				30	4,950 ± 0,301
				60	5,881 ± 0,181
				90	5,702 ± 0,364

Universidad Técnica Federico Santa María

10	30	15,7	10	17	5,040 ± 0,270
				30	5,940 ± 0,163
				60	6,471 ± 0,153
				90	5,935 ± 0,226
11	50	80	10	17	3,129 ± 0,147
				30	3,558 ± 0,175
				60	3,441 ± 0,200
				90	4,296 ± 0,213
12	50	15,7	10	17	3,697 ± 0,031
				30	4,371 ± 0,191
				60	3,312 ± 0,000
				90	4,490 ± 0,081
13	40	13,1	10	17	4,436 ± 0,109
				30	4,904 ± 0,145
				60	5,049 ± 0,095
				90	5,047 ± 0,071
14	40	13,1	10	17	5,197 ± 0,063
				30	5,330 ± 0,127
				60	4,710 ± 0,196
				90	5,693 ± 0,071
15	40	13,1	10	17	3,746 ± 0,142
				30	4,813 ± 0,210
				60	4,544 ± 0,031
				90	4,853 ± 0,092

EAG: Equivalente de Ácido gálico

Universidad Técnica Federico Santa María

Tabla 12 Resultados experimentales Actividad antioxidante

Experiencia	Temperatura [°C]	Factores		Tiempo [min]	Actividad antioxidante [$\mu\text{mol Trolox/g masa seca}$]
		Campo eléctrico [volt/cm]	Tiempo de vacío [min]		
1	40	10,5	5	12	50,587 \pm 1,229
				30	51,373 \pm 0,048
				60	47,935 \pm 0,195
				90	48,433 \pm 0,554
2	40	10,5	15	22	41,314 \pm 0,279
				30	46,383 \pm 1,157
				60	46,128 \pm 0,886
				90	48,738 \pm 1,622
3	40	15,7	5	12	48,451 \pm 1,148
				30	48,825 \pm 0,731
				60	54,272 \pm 2,094
				90	52,368 \pm 0,327
4	40	15,7	15	22	35,247 \pm 1,111
				30	34,494 \pm 0,193
				60	46,632 \pm 0,530
				90	48,272 \pm 1,257
5	30	13,1	5	12	48,744 \pm 2,087
				30	50,700 \pm 0,230
				60	49,197 \pm 0,479
				90	52,551 \pm 1,578
6	30	13,1	15	22	36,802 \pm 0,665
				30	36,591 \pm 1,177
				60	34,674 \pm 0,337
				90	41,363 \pm 1,103
7	50	13,1	5	12	44,737 \pm 1,250
				30	59,214 \pm 0,537
				60	54,992 \pm 0,524
				90	55,320 \pm 0,560
8	50	13,1	15	22	42,244 \pm 0,717
				30	35,632 \pm 2,686
				60	40,170 \pm 0,331
				90	44,945 \pm 0,798
9	30	10,5	10	17	43,427 \pm 1,123
				30	37,217 \pm 0,678
				60	40,950 \pm 0,280
				90	44,858 \pm 0,563

Universidad Técnica Federico Santa María

10	30	15,7	10	17	31,738 ± 1,614
				30	43,643 ± 1,751
				60	41,168 ± 0,344
				90	40,170 ± 2,214
11	50	80	10	17	34,848 ± 0,828
				30	33,992 ± 2,055
				60	37,450 ± 1,302
				90	44,655 ± 1,732
12	50	15,7	10	17	32,790 ± 0,523
				30	39,619 ± 1,917
				60	38,554 ± 1,636
				90	45,252 ± 2,723
13	40	13,1	10	17	34,626 ± 0,304
				30	38,786 ± 1,976
				60	46,017 ± 0,688
				90	42,261 ± 1,406
14	40	13,1	10	17	33,847 ± 0,439
				30	40,557 ± 0,786
				60	38,876 ± 0,758
				90	42,772 ± 0,992
15	40	13,1	10	17	33,632 ± 0,939
				30	37,691 ± 0,390
				60	44,205 ± 0,331
				90	41,088 ± 1,095

Tabla 13 Resultados experimentales contenido total de polifenoles al final de la impregnación y del secado

	N° Exp	Contenido total de polifenoles [mg EAG/g masa seca]	Retención [%]
Impregnación	Control	6,7610 ± 0,0820	100,0
	1	3,8402 ± 0,1231	100,0
	3	4,3671 ± 0,0901	100,0
	7	4,5188 ± 0,4414	100,0
Secado estufa	Control	5,3501 ± 0,1030	79,1
	1	3,7653 ± 0,0328	98,0
	3	3,8081 ± 0,3294	87,2
	7	4,3074 ± 0,0661	95,3
Secado liofilizador	Control	5,7930 ± 0,0336	85,7
	1	3,7802 ± 0,1167	98,4
	3	3,7964 ± 0,0322	86,9
	7	3,9330 ± 0,1717	87,0

EAG: Equivalente de Ácido Gálico

Tabla 14 Resultados experimentales actividad antioxidante al final de la impregnación y del secado

	N° Exp	Actividad antioxidante [umol Trolox/g masa seca]	Retención [%]
Impregnación	Control	32,400 ± 0,849	100,0
	1	51,829 ± 0,917	100,0
	3	52,226 ± 0,316	100,0
	7	54,780 ± 0,162	100,0
Secado estufa	Control	28,837 ± 0,848	89,0
	1	46,662 ± 0,240	90,0
	3	46,179 ± 0,705	88,4
	7	50,869 ± 0,483	92,9
Secado liofilizador	Control	28,253 ± 0,698	87,2
	1	46,743 ± 1,121	90,2
	3	49,504 ± 2,023	94,8
	7	51,319 ± 0,430	93,7

Universidad Técnica Federico Santa María

Tabla 15 Resultados experimentales humedad

Experiencia	Temperatura [°C]	Factores		Tiempo [min]	Humedad [%]
		Campo eléctrico [volt/cm]	Tiempo de vacío [min]		
1	40	10,5	5	12	72,9 ± 2,5%
				30	59,8 ± 2,2%
				60	55,4 ± 1,2%
				90	51,4 ± 0,8%
2	40	10,5	15	22	68,9 ± 0,8%
				30	64,6 ± 0,1%
				60	59,6 ± 1,3%
				90	53,0 ± 0,7%
3	40	15,7	5	12	67,4 ± 0,3%
				30	61,0 ± 2,2%
				60	53,1 ± 0,0%
				90	44,8 ± 3,6%
4	40	15,7	15	22	70,7 ± 0,8%
				30	66,4 ± 1,5%
				60	51,6 ± 1,1%
				90	47,7 ± 1,4%
5	30	13,1	5	12	71,2 ± 1,4%
				30	67,0 ± 0,7%
				60	52,8 ± 0,5%
				90	47,8 ± 2,7%
6	30	13,1	15	22	70,9 ± 1,2%
				30	66,7 ± 4,1%
				60	61,2 ± 4,1%
				90	54,6 ± 3,6%
7	50	13,1	5	12	59,8 ± 2,9%
				30	52,6 ± 2,1%
				60	47,5 ± 1,7%
				90	42,4 ± 0,5%
8	50	13,1	15	22	59,9 ± 2,8%
				30	55,6 ± 2,2%
				60	48,1 ± 2,2%
				90	43,7 ± 3,1%
9	30	10,5	10	17	80,5 ± 0,9%
				30	64,5 ± 2,6%
				60	61,4 ± 3,6%
				90	57,9 ± 1,9%

Universidad Técnica Federico Santa María

10	30	15,7	10	17	71,7 ± 1,7%
				30	66,0 ± 1,5%
				60	58,0 ± 0,3%
				90	56,3 ± 3,1%
11	50	80	10	17	62,8 ± 3,1%
				30	57,6 ± 2,4%
				60	51,4 ± 0,1%
				90	44,0 ± 1,4%
12	50	15,7	10	17	60,8 ± 0,2%
				30	60,3 ± 3,1%
				60	46,7 ± 0,1%
				90	42,5 ± 3,4%
13	40	13,1	10	17	61,9 ± 4,2%
				30	56,7 ± 3,5%
				60	49,6 ± 3,9%
				90	44,5 ± 0,6%
14	40	13,1	10	17	73,1 ± 0,0%
				30	63,2 ± 2,0%
				60	53,6 ± 0,1%
				90	50,4 ± 2,5%
15	40	13,1	10	17	69,9 ± 2,5%
				30	60,7 ± 1,0%
				60	51,7 ± 1,2%
				90	51,5 ± 0,6%

Tabla 16 Resultado experimentales porcentaje de solidos solubles

Experiencia	Factores			Tiempo [min]	Solidos solubles [%]
	Temperatura [°C]	Campo eléctrico [volt/cm]	Tiempo de vacío [min]		
1	40	10,5	5	12	24,2 ± 0,00%
				30	37,4 ± 0,00%
				60	43,3 ± 0,00%
				90	48,1 ± 0,06%
2	40	10,5	15	22	30,3 ± 0,06%
				30	30,7 ± 0,00%
				60	40,7 ± 0,06%
				90	46,0 ± 0,06%
3	40	15,7	5	12	28,9 ± 0,10%
				30	39,0 ± 0,00%
				60	51,2 ± 0,00%
				90	53,1 ± 0,00%
4	40	15,7	15	22	29,2 ± 0,06%
				30	32,4 ± 0,06%
				60	42,4 ± 0,00%
				90	48,4 ± 0,00%
5	30	13,1	5	12	27,7 ± 0,00%
				30	38,0 ± 0,06%
				60	39,5 ± 0,06%
				90	43,9 ± 0,00%
6	30	13,1	15	22	30,3 ± 0,00%
				30	26,7 ± 0,06%
				60	37,0 ± 0,00%
				90	41,7 ± 0,00%
7	50	13,1	5	12	38,9 ± 0,00%
				30	44,7 ± 0,06%
				60	50,7 ± 0,06%
				90	50,9 ± 0,06%
8	50	13,1	15	22	34,6 ± 0,00%
				30	33,1 ± 0,06%
				60	44,1 ± 0,06%
				90	52,6 ± 0,07%
9	30	10,5	10	17	25,7 ± 0,10%
				30	31,4 ± 0,06%
				60	39,3 ± 0,06%
				90	42,2 ± 0,02%

Universidad Técnica Federico Santa María

10	30	15,7	10	17	26,6 ± 0,00%
				30	32,3 ± 0,06%
				60	39,0 ± 0,00%
				90	37,6 ± 0,00%
11	50	10,5	10	17	34,6 ± 0,00%
				30	39,1 ± 0,06%
				60	43,9 ± 0,06%
				90	49,7 ± 0,00%
12	50	15,7	10	17	30,2 ± 0,06%
				30	43,1 ± 0,00%
				60	47,1 ± 0,06%
				90	56,1 ± 0,00%
13	40	13,1	10	17	32,7 ± 0,06%
				30	40,4 ± 0,00%
				60	46,8 ± 0,06%
				90	43,4 ± 0,00%
14	40	13,1	10	17	25,7 ± 0,00%
				30	30,4 ± 0,00%
				60	42,5 ± 0,00%
				90	40,8 ± 0,00%
15	40	13,1	10	17	23,3 ± 0,00%
				30	31,2 ± 0,06%
				60	38,8 ± 0,06%
				90	44,8 ± 0,06%

Universidad Técnica Federico Santa María

Tabla 17 Resultados experimentales actividad de agua

Experiencia	Temperatura [°C]	Factores		Tiempo [min]	Actividad de agua [Aw]
		Campo eléctrico [volt/cm]	Tiempo de vacío [min]		
1	40	10,5	5	12	0,9664
				30	0,9402
				60	0,9254
				90	0,9101
2	40	10,5	15	22	0,9528
				30	0,9375
				60	0,9255
				90	0,9251
3	40	15,7	5	12	0,9427
				30	0,9345
				60	0,9036
				90	0,8957
4	40	15,7	15	22	0,9347
				30	0,9415
				60	0,8936
				90	0,9125
5	30	13,1	5	12	0,9465
				30	0,9426
				60	0,9264
				90	0,9281
6	30	13,1	15	22	0,9612
				30	0,9504
				60	0,9313
				90	0,9227
7	50	13,1	5	12	0,9415
				30	0,9087
				60	0,902
				90	0,8845
8	50	13,1	15	22	0,9376
				30	0,9382
				60	0,9058
				90	0,8952
9	30	10,5	10	17	0,9582
				30	0,9342
				60	0,936
				90	0,9246

Universidad Técnica Federico Santa María

10	30	15,7	10	17	0,9538
				30	0,932
				60	0,9124
				90	0,9348
11	50	10,5	10	17	0,9336
				30	0,9183
				60	0,9173
				90	0,9033
12	50	15,7	10	17	0,9269
				30	0,9243
				60	0,905
				90	0,8903
13	40	13,1	10	17	0,9197
				30	0,9116
				60	0,9122
				90	0,9190
14	40	13,1	10	17	0,9507
				30	0,9303
				60	0,9202
				90	0,9154
15	40	13,1	10	17	0,9415
				30	0,9423
				60	0,9301
				90	0,9270

Tabla 18 Resultado experimentales perdida de agua y aumento de solidos solubles

Experiencia	Factores			Tiempo [min]	ΔM_t^w	ΔM_t^{SS}
	Temperatura [°C]	Campo eléctrico [volt/cm]	Tiempo de vacío [min]			
1	40	10,5	5	12	0,163 ± 0,034	0,119 ± 0,000
				30	-0,306 ± 0,030	0,236 ± 0,000
				60	-0,368 ± 0,016	0,275 ± 0,000
				90	-0,398 ± 0,011	0,323 ± 0,000
2	40	10,5	15	22	-0,137 ± 0,012	0,206 ± 0,009
				30	-0,218 ± 0,002	0,193 ± 0,000
				60	-0,317 ± 0,018	0,260 ± 0,008
				90	-0,433 ± 0,008	0,261 ± 0,000
3	40	15,7	5	12	-0,190 ± 0,004	0,175 ± 0,014
				30	-0,335 ± 0,027	0,226 ± 0,000
				60	-0,425 ± 0,000	0,310 ± 0,000
				90	-0,488 ± 0,043	0,334 ± 0,000
4	40	15,7	15	22	-0,308 ± 0,009	0,115 ± 0,009
				30	-0,367 ± 0,016	0,129 ± 0,008
				60	-0,540 ± 0,010	0,154 ± 0,000
				90	-0,586 ± 0,011	0,170 ± 0,000
5	30	13,1	5	12	-0,168 ± 0,020	0,156 ± 0,000
				30	-0,208 ± 0,010	0,258 ± 0,009
				60	-0,375 ± 0,007	0,253 ± 0,007
				90	-0,376 ± 0,039	0,335 ± 0,000
6	30	13,1	15	22	-0,179 ± 0,017	0,179 ± 0,000
				30	-0,203 ± 0,018	0,150 ± 0,009
				60	-0,370 ± 0,030	0,186 ± 0,000
				90	-0,465 ± 0,037	0,192 ± 0,000
7	50	13,1	5	12	-0,370 ± 0,034	0,209 ± 0,000
				30	-0,431 ± 0,024	0,255 ± 0,009
				60	-0,472 ± 0,020	0,307 ± 0,009
				90	-0,569 ± 0,005	0,242 ± 0,000
8	50	13,1	15	22	-0,484 ± 0,025	0,106 ± 0,000
				30	-0,436 ± 0,024	0,141 ± 0,007
				60	-0,507 ± 0,023	0,215 ± 0,008
				90	-0,562 ± 0,031	0,252 ± 0,000
9	30	10,5	10	17	-0,148 ± 0,011	0,114 ± 0,013
				30	-0,273 ± 0,033	0,174 ± 0,009
				60	-0,269 ± 0,015	0,267 ± 0,009
				90	-0,393 ± 0,022	0,231 ± 0,000

Universidad Técnica Federico Santa María

10	30	15,7	10	17	$-0,185 \pm 0,022$	$0,138 \pm 0,000$
				30	$-0,254 \pm 0,019$	$0,185 \pm 0,008$
				60	$-0,357 \pm 0,003$	$0,227 \pm 0,000$
				90	$-0,390 \pm 0,037$	$0,203 \pm 0,000$
11	50	10,5	10	17	$-0,221 \pm 0,045$	$0,240 \pm 0,000$
				30	$-0,321 \pm 0,032$	$0,256 \pm 0,009$
				60	$-0,345 \pm 0,001$	$0,331 \pm 0,010$
				90	$-0,517 \pm 0,016$	$0,280 \pm 0,000$
12	50	15,7	10	17	$-0,315 \pm 0,002$	$0,159 \pm 0,009$
				30	$-0,325 \pm 0,040$	$0,272 \pm 0,000$
				60	$-0,459 \pm 0,001$	$0,297 \pm 0,008$
				90	$-0,510 \pm 0,040$	$0,355 \pm 0,000$
13	40	13,1	10	17	$-0,168 \pm 0,067$	$0,254 \pm 0,010$
				30	$-0,317 \pm 0,048$	$0,277 \pm 0,000$
				60	$-0,395 \pm 0,053$	$0,330 \pm 0,009$
				90	$-0,503 \pm 0,007$	$0,240 \pm 0,000$
14	40	13,1	10	17	$-0,132 \pm 0,000$	$0,143 \pm 0,000$
				30	$-0,306 \pm 0,025$	$0,155 \pm 0,000$
				60	$-0,362 \pm 0,002$	$0,285 \pm 0,000$
				90	$-0,372 \pm 0,035$	$0,286 \pm 0,000$
15	40	13,1	10	17	$-0,125 \pm 0,037$	$0,133 \pm 0,000$
				30	$-0,209 \pm 0,015$	$0,223 \pm 0,011$
				60	$-0,396 \pm 0,016$	$0,239 \pm 0,008$
				90	$-0,443 \pm 0,007$	$0,253 \pm 0,000$

Tabla 19 Resultados experimentales color

N° Exp	Factores			L	a	b	ΔE
	Temperatura [°C]	Campo eléctrico [Volt/cm]	Tiempo de vacío [min]				
1	40	10,5	5	44,4 ± 0,5	2,673 ± 0,80	19,58 ± 1,04	34,592 ± 1,782
2	40	10,5	15	41,1 ± 1,0	0,11 ± 0,45	18,74 ± 1,43	37,121 ± 1,942
3	40	15,7	5	38,3 ± 0,8	4,10 ± 0,56	18,15 ± 0,28	39,766 ± 0,338
4	40	15,7	15	39,0 ± 1,1	2,97 ± 0,21	17,55 ± 0,55	38,843 ± 1,282
5	30	13,1	5	43,8 ± 1,6	4,40 ± 0,13	21,07 ± 0,20	35,791 ± 0,239
6	30	13,1	15	40,9 ± 1,3	1,60 ± 1,02	17,62 ± 0,14	36,860 ± 1,879
7	50	13,1	5	44,2 ± 2,3	3,76 ± 0,00	21,35 ± 1,34	35,749 ± 0,755
8	50	13,1	15	39,7 ± 1,0	2,95 ± 1,00	17,92 ± 1,13	37,892 ± 1,607
9	30	10,5	10	41,6 ± 1,2	-0,91 ± 0,16	19,57 ± 0,22	36,543 ± 2,396
10	30	15,7	10	40,7 ± 0,4	-0,69 ± 0,16	20,07 ± 0,93	38,177 ± 1,009
11	50	10,5	10	39,9 ± 1,0	0,99 ± 1,63	19,20 ± 1,21	37,824 ± 2,439
12	50	15,7	10	33,3 ± 0,4	2,33 ± 0,45	11,74 ± 0,66	42,954 ± 1,227
13	40	13,1	10	38,3 ± 0,0	2,29 ± 0,29	11,43 ± 0,81	37,238 ± 0,544
14	40	13,1	10	39,4 ± 0,1	2,90 ± 0,30	17,56 ± 1,40	38,642 ± 1,093
15	40	13,1	10	39,2 ± 0,3	2,47 ± 0,53	15,69 ± 1,07	38,194 ± 1,203

Universidad Técnica Federico Santa María

Tabla 20 Resultados experimentales textura

Experiencia	Temperatura [°C]	Factores Campo eléctrico [volt/cm]	Tiempo de vacío [min]	Dureza [N]	Altura cilindro [mm]	Elasticidad [N/mm]
1	40	10,5	5	27,51	20,440	4,486
				19,17	19,760	3,234
				23,26	20,090	3,860
2	40	10,5	15	30,35	25,300	3,999
				37,31	24,300	5,118
				28,59	23,800	4,004
3	40	15,7	5	32,26	22,180	4,848
				27,46	23,140	3,956
				31,91	24,160	4,402
4	40	15,7	15	12,90	23,000	1,870
				12,70	22,350	1,894
				16,18	22,900	2,355
5	30	13,1	5	35,21	21,880	5,364
				33,18	22,180	4,986
				34,24	22,060	5,174
6	30	13,1	15	17,55	24,090	2,428
				23,93	23,400	3,409
				19,95	22,780	2,919
7	50	13,1	5	6,72	22,060	1,015
				4,90	22,260	0,734
				5,39	21,680	0,829
8	50	13,1	15	5,98	21,200	0,940
				6,72	22,600	0,991
				5,59	20,980	0,889
9	30	10,5	10	25,30	22,350	3,773
				15,59	22,100	2,351
				12,50	21,610	1,928
10	30	15,7	10	14,71	22,230	2,206
				18,00	22,850	2,626
				19,64	19,110	3,426
11	50	10,5	10	12,36	22,450	1,835
				12,94	22,420	1,924
				10,54	20,280	1,732
12	50	15,7	10	18,14	22,790	2,653
				39,08	24,220	5,378
				17,90	15,450	3,862

Universidad Técnica Federico Santa María

				15,05	21,540	2,329
13	40	13,1	10	18,00	23,450	2,559
				17,50	22,050	2,646
				22,76	23,000	3,299
14	40	13,1	10	22,90	25,400	3,005
				18,24	18,900	3,217
				10,40	24,100	1,438
15	40	13,1	10	11,60	23,700	1,632
				12,21	23,800	1,710

ANEXO 2: CURVAS DE CALIBRACIÓN

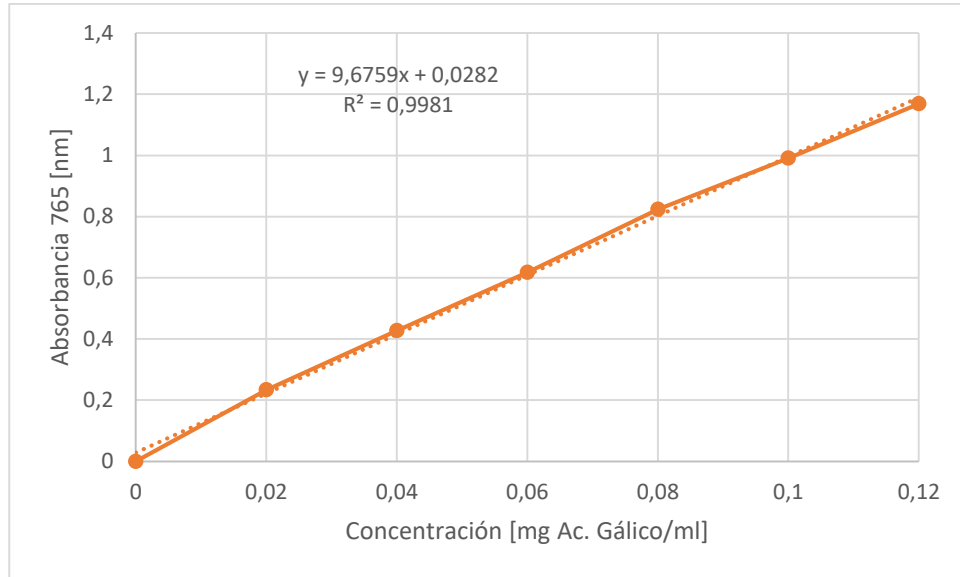


Figura 31 Curva de calibración de equivalente de Ácido gálico

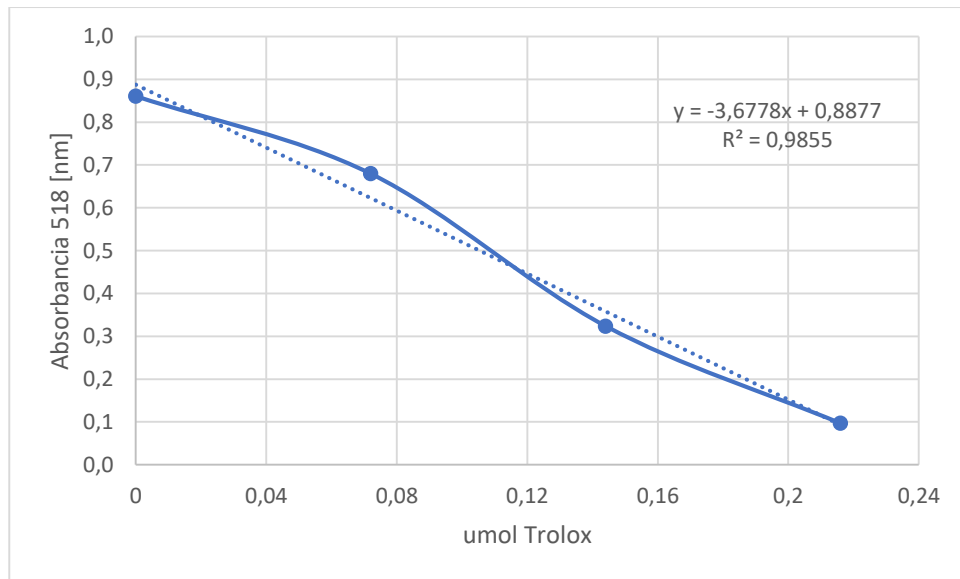


Figura 32 Curva de calibración de equivalente de Trolox

ANEXO 3: COEFICIENTES DE CORRELACIÓN

Tabla 21 Coeficientes de correlación de modelación de contenido de polifenoles totales

Coeficiente	Valor estimado
Constante	6,35487
A:Temperatura	-0,258169
B:Campo eléctrico	-1,5395
C:Tiempo de vacío	-0,796112
AC	0,017545
BB	-0,0587595
R ² ajustado [%]	36,5084

$$\begin{aligned} \text{Contenido total de polifenoles } \left[\frac{\text{mg EAG}}{\text{g masa seca}} \right] &= 6,35487 - 0,258169 * T [^{\circ}\text{C}] \\ &- 1,5395 * E \left[\frac{\text{volt}}{\text{cm}} \right] - 0,796112 * T_v [\text{min}] + 0,017545 * T [^{\circ}\text{C}] * T_v [\text{min}] - 0,0587595 \\ &* E^2 [\text{volt/cm}] \end{aligned}$$

Tabla 22 Coeficientes de correlación de modelación de actividad antioxidante

Coeficiente	Valor estimado
Constante	50,965
A:Temperatura	0,5127
B:Campo eléctrico	0,200529
C:Tiempo de vacío	-3,61735
AC	-0,0376325
CC	0,216129
R ² ajustado [%]	83,4376

$$\begin{aligned} \text{Actividad antioxidante } \left[\frac{\text{umol Trolox}}{\text{g masa seca}} \right] &= 50,965 + 0,5127 * T [^{\circ}\text{C}] + 0,200529 * E \left[\frac{\text{Volt}}{\text{cm}} \right] \\ &- 3,61735 * T_v [\text{min}] - 0,0376325 * T [^{\circ}\text{C}] * T_v [\text{min}] + 0,216129 * T_v^2 [^{\circ}\text{C}] \end{aligned}$$