



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO®



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Veracruz

**EFFECTO DEL TIPO Y CONCENTRACIÓN DEL MATERIAL DE SOPORTE SOBRE
LAS PROPIEDADES TERMODINÁMICAS DEL EXTRACTO DE VAINILLA
LIOFILIZADO**

TESIS

Que para obtener el grado de:

Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica

Presenta:

I.Q. Monserrat Gonzalez Gonzalez

Asesores:

Dra. Guadalupe del Carmen Rodríguez Jimenes

Dr. Miguel Ángel García Alvarado

Dr. Andrés Antonio Acosta Osorio

H. VERACRUZ, VER.

NOVIEMBRE 2019



"2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata"

H. Veracruz, Veracruz, 13/noviembre/2019

Div. Estudios de Posgrado e Investigación

OFICIO: ITV/DEPI/No.461/2019

Asunto: Autorización de Impresión de Tesis

C. MONSERRAT GONZALEZ GONZALEZ PRESENTE

Por este conducto se le comunica que su tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica titulada:

"Efecto del tipo y concentración del material de soporte sobre las propiedades termodinámicas del extracto de vainilla liofilizado"

Fue aprobada en su totalidad en cuanto a formato y calidad del contenido a satisfacción del H. Jurado del examen, por lo que está Usted autorizado a editar la presentación definitiva del trabajo.

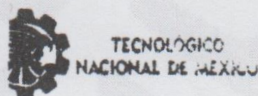
ATENTAMENTE

*Excelencia en Educación Tecnológica®
Antorcha y Luz de Fuego Permanente®*

EL. H. JURADO

BENIGNO ORTIZ MUÑIZ
JEFE DE LA DIV. EST. POSG. E INVEST.

DRA. GUADALUPE DEL CARMEN RODRÍGUEZ JIMENES
PRESIDENTE



DR. JOSÉ JOEL ESPINOSA DE LOS MONTEROS FERNÁNDEZ
SECRETARIO



DR. ZORBA JOSUE HERNÁNDEZ ESTRADA
VOCAL

25 NOV. 2019

DR. MIGUEL ANGEL GARCÍA ALVARADO
SUPLENTE 1

RECIBIDO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

DR. ANDRÉS ANTONIO ACOSTA OSORIO
SUPLENTE 2

c. p. Expediente del Estudiante
Archivo
BOM*





"2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata"

El presente trabajo de tesis titulado: **"Efecto del tipo y concentración del material de soporte sobre las propiedades termodinámicas del extracto de vainilla liofilizado"** presentado por el (la) **C. Monserrat Gonzalez Gonzalez** ha sido aprobado por su comité tutorial como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA BIOQUÍMICA

DIRECTOR

DRA. GUADALUPE DEL CARMEN RODRÍGUEZ JIMENES

CO-DIRECTOR

DR. MIGUEL ANGEL GARCÍA ALVARADO

CO-DIRECTOR

DR. ANDRÉS ANTONIO ACOSTA OSORIO

REVISOR

DR. JOSÉ JOEL ESPINOSA DE LOS MONTEROS FERNÁNDEZ

REVISOR

DR. ZORBA JOSUE HERNÁNDEZ ESTRADA

BOM*



DEDICATORIA

A Dios: Por su infinito amor

A mi madre: Por creer en mí, por cada oración, por cada desvelo, madre cada logro es para ti.

A mi padre: Por enseñarme el valor de la humildad, el trabajo, la honestidad. Quiero que estés orgulloso de mí.

A mis hermanos: Por todos los momentos de risas, por dale sabor a mi vida con sus ocurrencias, espero ser un buen ejemplo y que ustedes sean mejores.

A ti: Por ser luz en esta aventura que ha llegado a su fin.

A la Dra. Lupita: Por ser el ejemplo a seguir, por su apoyo, conocimientos y cariño brindado.

A Elizabeth y Jazmín: Gracias por acompañarme en esta aventura, por escucharme, por consolarme, juntas en las buenas y en las malas.

A Yuli y Vero: Por sembrar en mí las ganas de seguir preparándome, por todo lo bueno vivido a lo largo de estos años.

A mis compañeros del laboratorio: Por todas las anécdotas y buenos recuerdos que vivimos juntos, por las risas y el apoyo (Kari, Pau, Fer, Fany, Merce, Ana, Luci, Mon, Martita y Lau)

A Richard, Arturo y Carlita: Por ayudarme con sus conocimientos, por la paciencia y explicaciones. Gracias de corazón.

RECONOCIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología: Por el apoyo financiero que hizo posible este y muchos proyectos de investigación.

Dra. Guadalupe del Carmen Rodríguez Jiménez: Por sus conocimientos brindados, asesoría, apoyo y entusiasmo en el desarrollo de este trabajo. Con respeto y admiración, gracias.

Dr. Miguel Ángel García Alvarado: Por su gran trabajo de asesoría y revisión, por su paciencia y tolerancia, por su calidad como persona.

Dr. Andrés Antonio Acosta Osorio: Por su tiempo, charlas y conocimientos brindados.

Dr. Zorba: Por su valiosa cooperación y revisiones acertadas.

Dr. José Joel Espinosa de los Monteros Fernández: Por el tiempo brindado en las revisiones de esta investigación, por las buenas pláticas, mi admiración para usted.

Dr. Gerardo Barbero Fernández: Por ser un ejemplo de pasión por la investigación, por compartir risas y conocimientos, que su chispa nos ilumine por mucho tiempo.

A la Universidad de Cádiz: Por facilitar sus instalaciones y uso de equipo para el desarrollo de la cuantificación de los componentes aromáticos del presente trabajo.

Gonzalez Gonzalez Monserrat. M. C. en Ingeniería Bioquímica. Instituto Tecnológico de Veracruz. Octubre 2019. **“EFECTO DEL TIPO Y CONCENTRACIÓN DE MATERIAL DE SOPORTE SOBRE LAS PROPIEDADES TERMODINÁMICAS DEL EXTRACTO DE VAINILLA LIOFILIZADO”**. Asesores: Dra. Guadalupe del Carmen Rodríguez Jimenes, Dr. Miguel Ángel García Alvarado, Dr. Andrés Antonio Acosta Osorio.

RESUMEN

El extracto etanólico de vainilla ha sido ampliamente usado en diversas industrias como la refresquera, farmacéutica, tabacalera y alimentaria. Se reportan usos funcionales como agente antioxidante, antimicrobiano y anticancerígeno. El principal componente bioactivo es la vainillina (4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído), aunque también se han identificado ácido vainillínico, p-hidroxibenzaldehído y ácido p-hidroxibenzoico. Los extractos secos tienen las ventajas de mayor concentración de compuestos bioactivos, fácil manejo de producto y mayor estabilidad. Durante la deshidratación-desolventación, la percepción sensorial del extracto de vainilla puede cambiar como resultado de la oxidación o la volatilización de sus componentes. Un método de deshidratación que evita el problema referido es la liofilización. La funcionalidad de los extractos secos depende fuertemente del comportamiento termodinámico de sus componentes. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar las propiedades termodinámicas del extracto de vainilla libre de etanol sometido a liofilización como función del tipo y concentración de material de soporte. El extracto etanólico se evaporó hasta 20 % de sólidos (lo que garantiza la eliminación del etanol). Se liofilizaron tanto extracto evaporado como extracto evaporado con 3 tipos de material de soporte a diferentes concentraciones (maltodextrina DE-10, DE-6, y β -ciclodextrina), de acuerdo con un diseño experimental 3x3+1. Las cinéticas de liofilización que son la manifestación de propiedades termodinámicas irreversibles, muestran un efecto significativo de la concentración y tipo de material de soporte. El extracto sin material de soporte mostró la cinética de liofilización más lenta. El tipo y concentración de material de soporte mostró un efecto significativo en la retención de la vainillina, ácido vainillínico, p-hidroxibenzaldehído y ácido p-hidroxibenzoico hasta un 30 % mayor con respecto al extracto sin material de soporte. El análisis termogravimétrico demostró que el extracto liofilizado sin material de soporte es degradado a 130 °C en cambio la relación 2:1 con β -ciclodextrina presentó mayor estabilidad a los efectos de degradación térmica (181 °C). Las isotermas de adsorción mostraron que los extractos con soporte son mucho más estables en su estado físico que el extracto sin soporte. El extracto sin soporte licua a $a_w > 0.1130$, lo que compromete su funcionalidad. Este fenómeno indica que los sólidos de extracto de vainilla sin soporte son altamente solubles en agua y por lo tanto complejos de manejar en fase sólida.

Gonzalez Gonzalez Monserrat. M. C. en Ingeniería Bioquímica. Instituto Tecnológico de Veracruz. Octubre 2019. **“EFFECT OF THE TYPE AND CONCENTRATION OF SUPPORT MATERIAL ON THE THERMODYNAMIC PROPERTIES OF THE LIOFILIZED VANILLA EXTRACT”**. Asesores: Dra. Guadalupe del Carmen Rodríguez Jimenes, Dr. Miguel Ángel García Alvarado, Dr. Andrés Antonio Acosta Osorio.

ABSTRACT

Ethanollic vanilla extract has been widely used in various industries such as soft drinks, pharmaceutical, tobacco and food. Functional uses are reported as an antioxidant, antimicrobial and anticancer agent. The main bioactive component is vanillin (4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde), although vanillic acid, p-hydroxybenzaldehyde and p-hydroxybenzoic acid have also been identified. Dry extracts have the advantages of greater concentration of bioactive compounds, easy product handling and greater stability. During dehydration-dissolution, the sensory perception of vanilla extract may change as a result of oxidation or volatilization of its components. A dehydration method that avoids the referred problem is lyophilization. The functionality of dry extracts depends strongly on the thermodynamic behavior of its components. Therefore, the objective of this work was to evaluate the thermodynamic properties of the freeze-dried ethanol-free vanilla extract as a function of the type and concentration of support material. The ethanol extract was evaporated up to 20% solids (which guarantees the elimination of ethanol). Both evaporated extract and evaporated extract with 3 types of support material were lyophilized at different concentrations (maltodextrin DE-10, DE-6, and β -cyclodextrin), according to an experimental $3 \times 3 + 1$ design. The lyophilization kinetics that are the manifestation of irreversible thermodynamic properties showed a significant effect of the concentration and type of support material. The extract without support material showed the slowest lyophilization kinetics. The type and concentration of support material showed a significant effect on the retention of vanillin, vanillic acid, p-hydroxybenzaldehyde and p-hydroxybenzoic acid up to 30% with respect to the extract without support material. The thermogravimetric analysis showed that the lyophilized extract without support material is degraded at 130 ° C, however, the 2: 1 ratio with β -cyclodextrin showed greater stability to the effects of thermal degradation (181 ° C). Adsorption isotherms showed that extracts with support material are much more stable in their physical state than the extract without it. The extract without support material liquefies at $a_w > 0.1130$, which compromises its functionality. This phenomenon indicates that unsupported vanilla extract solids are highly soluble in water and therefore complex to handle in solid phase.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE TABLAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
1. INTRODUCCIÓN.....	11
2. ANTECEDENTES.....	13
2.1 Vainilla.....	13
2.2 Taxonomía de la vainilla	14
2.3 La vainilla en México	16
2.4 Proceso de beneficio de las vainas de vainilla	16
2.5 Principales compuestos aromáticos en las vainas de vainilla beneficiadas	20
2.6 Extracto de vainilla	21
2.6.2 Obtención del extracto de vainilla	21
2.6.2.1 Método de maceración	22
2.6.2.2 Extracción asistida por ultrasonido	22
2.6.2.3 Extracción asistida por microondas	22
2.6.2.5 Extracción en etapas múltiples.....	23
2.7 Extractos sin alcohol.....	24
2.8 Secado de extractos	24
2.9 Liofilización	25
2.9.1 Principio de liofilización:	26
2.9.2 Etapas del proceso de liofilización	26
2.9.2.1 Etapa 1: congelación.....	26

2.9.2.2 Etapa 2: secado primario	26
2.9.2.3 Etapa 3: secado secundario.....	27
2.10 Materiales de pared	28
2.11 Análisis termogravimétrico	30
2.12 Isotermas de sorción.....	31
2.13 Síntesis de antecedentes	32
3. OBJETIVOS	33
3.1 Objetivo general	33
3.2 Objetivos específicos	33
4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
4.1 Materia prima y reactivos	34
4.2 Obtención del extracto de vainilla libre de alcohol	35
4.3 Evaporación del etanol	35
4.4 Análisis del extracto.....	36
4.4.1 Determinación de vainillina, ácido vainílico, p-hidroxibenzaldehído, ácido p-hidroxibenzoico en el extracto de vainilla	36
4.4.2 Determinación del contenido de sólidos	38
4.5 Desarrollo experimental de la liofilización del extracto de vainilla con y sin soporte.....	38
4.5.1 Preparación de la muestra a liofilizar.....	38
4.5.2 Obtención de las cinéticas de temperatura del extracto de vainilla durante la liofilización.....	39
4.6 Determinación de contenido de humedad	40
4.7 Determinación de color	40

4.8	Determinación de vainillina, ácido vainílico, p-hidroxibenzaldehído, y ácido p-hidroxibenzoico en la muestra liofilizada	41
4.9	Retención de compuestos aromáticos en el extracto de vainilla liofilizado	41
4.10	Análisis termogravimétrico	42
4.11	Isotermas de sorción.....	42
4.12	Diseño experimental y análisis estadístico.....	43
5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	45
5.1	Caracterización del extracto etanólico y evaporado de vainilla.	45
5.2	Efecto del tipo y concentración del material de soporte sobre las cinéticas de temperatura y pérdida de peso del extracto de vainilla durante la liofilización.	45
5.3	Efecto del tipo y concentración del material de soporte sobre el espacio de color del extracto de vainilla	50
5.4	Efecto del tipo y concentración del material de soporte sobre las propiedades térmicas del extracto de vainilla liofilizado sin alcohol	52
5.5	Efecto del material de soporte en la retención de los principales compuestos aromáticos del extracto de vainilla liofilizado.	55
5.5.1.	Efecto de la concentración y tipo de material de soporte	55
5.6	Efecto del tipo y concentración de soporte sobre las isotermas de adsorción del extracto de vainilla liofilizado.....	57
6	CONCLUSIONES	66
7	BIBLIOGRAFIA.....	67
8	APÉNDICES	77

LISTA DE TABLAS

TABLA 2.1 Clasificación taxonómica de la vainilla (Mancilla, 1997). _____	14
TABLA 4.1 Humedad relativa de equilibrio de soluciones salinas saturadas (Roos, 1993) _____	43
TABLA 4.2 Niveles evaluados de los factores de estudio del proceso de liofilización de extracto de vainilla libre de alcohol _____	44
TABLA 5.1 Tiempo en que el extracto de vainilla con y sin soporte alcanza 0 °C durante la liofilización. _____	50
TABLA 5.2 Efecto del tipo y concentración del material de soporte sobre el espacio de color del extracto de vainilla _____	51
TABLA 5.3 Efecto del tipo y concentración del material de soporte sobre las propiedades termicas del extracto de vainilla liofilizado sin alcohol. _____	55
TABLA 5.4 Retención de los compuestos aromáticos del extracto de vainilla con diferentes materiales de soporte y distintas relaciones después del proceso de liofilización _____	57
TABLA 5.5 Parámetros de la ecuación de GAB ajustados al extracto de vainilla liofilizado utilizando MDE-6 como material de soporte. _____	60
TABLA 5.6 Parámetros de la ecuación de GAB ajustados al extracto de vainilla liofilizado utilizando MDE-10 como material de soporte. _____	63
TABLA 5.7 Parámetros de la ecuación de GAB ajustados al extracto de vainilla liofilizado utilizando MDE-6 como material de soporte. _____	65

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1 Planta de vainilla, fruto y flor (SIAP, 2017). _____	15
FIGURA 2.2 Principales estados productores de vainas de vainilla (SIAP, 2017). _	16
FIGURA 2.3 Formación de los compuestos de sabor de vainilla (Sreedhar et al., 2007). _____	18
Figura 2.4 Proceso de beneficio de la vaina de vainilla (SIAP, 2017)._____	19
FIGURA 2.5 Principales compuestos aromáticos presentes en las vainas beneficiadas _____	20
FIGURA 2.6 Flujo del proceso para la lixiviación a contracorriente en etapas múltiples (Castillo, 2016). _____	23
FIGURA 2.7 Partes del liofilizador (Fang, 2012). _____	27
FIGURA 4.1 Diagrama de la metodología general aplicada en la evaluación del efecto de la concentración y tipo del material de soporte sobre las propiedades termodinámicas del extracto de vainilla homogeneizado sometido a liofilización. __	34
FIGURA 4.2 Evaporación del extracto de vainilla _____	36
FIGURA 4.3 Liofilización del extracto de vainilla con supervisión de la temperatura	39
FIGURA 4.4 Espacio de color _____	41
FIGURA 5.1 Cinética de temperatura y humedad durante la liofilización del extracto de vainilla con maltodextrina DE-6 diferentes relaciones (maltodextrina: sólidos de extracto). _____	47
FIGURA 5.2 Cinética de temperatura y humedad durante la liofilización del extracto de vainilla con maltodextrina DE-10 diferentes relaciones (maltodextrina: sólidos de extracto). _____	48
FIGURA 5.3 Cinética de temperatura y humedad durante la liofilización del extracto de vainilla con β -ciclodextrina a diferentes relaciones (β -ciclodextrina: sólidos de extracto). _____	49
FIGURA 5.4 Color del extracto de vainilla liofilizado con distintos materiales de soporte _____	52
FIGURA 5.5 Etapas de descomposición del polvo de vainilla liofilizado con maltodextrina DE-10 como material de soporte (maltodextrina: sólidos de extracto). 53	

FIGURA 5.6 Etapas de descomposición del polvo de vainilla liofilizado con maltodextrina DE-6 como material de soporte (maltodextrina: sólidos de extracto).	54
FIGURA 5.7 Etapas de descomposición del polvo de vainilla liofilizado con β -ciclodextrina como material de soporte (β -ciclodextrina: sólidos de extracto).	54
FIGURA 5.8 Isotermas de adsorción usando MDE-6 como material de soporte	58
FIGURA 5.9 Extracto de vainilla liofilizado a 25 °C, 35 °C y 45 °C y diferentes a_w .	61
FIGURA 5.10 Isotermas de adsorción utilizando MDE-10 como material de soporte	62
FIGURA 5.11 Isotermas de adsorción utilizando β -ciclodextrina como material de soporte	64
FIGURA 8.1 Curva de calibración de p-hidroxibenzaldehído por UHPLC. Concentración de p-hidroxibenzaldehído (mg/l) versus área de los picos (en unidades definidas por procedimiento, p.d.u. por sus siglas en inglés).	77
FIGURA 8.2 Curva de calibración de vainillina por UHPLC. Concentración de p-vainillina (mg/l) versus área de los picos (en unidades definidas por procedimiento, p.d.u. por sus siglas en inglés).	77
FIGURA 8.3 Curva de calibración de ácido p-hidroxibenzoico por UHPLC. Concentración de ácido p-hidroxibenzoico (mg/l) versus área de los picos (en unidades definidas por procedimiento, p.d.u. por sus siglas en inglés).	78
FIGURA 8.4 Curva de calibración de ácido vainillíco por UHPLC. Concentración de ácido vainillíco (mg/l) versus área de los picos (en unidades definidas por procedimiento, p.d.u. por sus siglas en inglés).	78

1. INTRODUCCIÓN

La vainilla se comercializa en el mercado internacional como un extracto etanólico (Sinha *et al.*, 2009), el cual es una solución hidroalcohólica obtenida a partir de vainas de vainilla beneficiadas. Algunos autores han reportado que el extracto de vainilla contiene alrededor de 200 componentes (Boyce *et al.*, 2003), otros han identificado cerca de 116 componentes (Morales-Guillermo, 2016), muchos de los cuales están presentes en cantidades traza, siendo la vainillina (*4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído*) el componente principal (Sharma *et al.*, 2006). Adicional a este, se han reportado tres componentes que son liberados en la hidrólisis, responsables del sabor y aroma característico a vainilla (p-hidroxibenzaldehído, ácido vainílico y ácido p-hidroxibenzoico). La obtención de extractos secos es de gran importancia debido a las ventajas que estos presentan sobre sus formas líquidas: mayor concentración de compuestos bioactivos, fácil manejo del producto, mayor estabilidad y menor costo de almacenamiento (Runha *et al.*, 2001; Chaves *et al.*, 2009; Couto *et al.*, 2012; Oliveira, Bott y Souza, 2006). Existen diferentes procesos de secado que permiten obtener extractos secos, como el secado por aspersion, y la liofilización.

Uno de los trabajos que reporta la obtención de extractos de vainilla deshidratado es el desarrollado por Aguirre-Alonso (2016), quien evaluó la viabilidad térmica de la obtención de polvo a partir de extracto de vainilla utilizando secado por aspersion, utilizando una T_{inaire} : de 170 y 180 °C y una $T_{outaire}$ 80 y 90 °C, como material de soporte utilizó almidón de papa modificado, maltodextrina DE-10, β -ciclodextrina y sílice precipitada, obteniendo mayor retención de los compuestos aromáticos utilizando maltodextrina DE-10: vainillina 82 %, p-hidroxibenzaldeído 82.90 %, ácido vainílico 95 %, y ácido p-hidroxibenzoico 94 %.

En lo que se refiere a la liofilización, Márquez *et al.* (2007) estudiaron el efecto de la velocidad de congelación y el tamaño de partícula del producto sobre el contenido

de vitamina C, la temperatura de transición vítrea (T_g), y la a_w del producto liofilizado, midieron la variación de la temperatura durante la liofilización y las cinéticas de pérdida de peso para diferentes tipos de muestras de acerola (*Malpighia glabra L.*). Ellos encontraron que durante la etapa del secado primario la temperatura del producto se mantuvo constante a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ mientras que en la etapa de secado secundario no se detectó ningún efecto del tipo de muestra en las velocidades de secado.

Ocampo Salinas *et al.* (2016) observaron el efecto de la homogeneización por microfluidización y la formulación de material de pared compuesta de mezclas de maltodextrinas en el encapsulado de extracto de vainilla sin alcohol por liofilización, obteniendo una mayor retención de vainillina en la mezcla de maltodextrina con equivalente de dextrosa (MDE-20, MDE-10) en una relación 95:5. En este trabajo no se evaluó la retención de los otros tres principales compuestos aromáticos ni las propiedades termodinámicas del producto.

La obtención de extractos libres de alcohol resulta en productos con un alto valor agregado y su producción tiene diferentes razones históricas, por ejemplo en 1919 y 1933 se prohibió elaborar, comercializar e ingerir alcohol, lo que aumentó la producción de productos con un bajo contenido de alcohol en Estados Unidos de América (Meussdoerffer, 2009). Los problemas de salud pública y creencias religiosas son otras razones por las cuales la obtención de extractos sin alcohol es relevante. Por la cual, esta investigación se centra en evaluar el efecto de la concentración y tipo del material de soporte sobre las propiedades termodinámicas del extracto de vainilla homogeneizado libre de alcohol sometido a liofilización.

2. ANTECEDENTES

2.1 Vainilla

La vainilla tiene su origen en México y Centroamérica (región Totonacapan), es la tercera especia más cara del mundo, después del azafrán y el cardamomo. De las 110 especies que han sido identificadas, la *Vanilla planifolia Andrews* es la única orquídea que es de directa importancia económica, porque es la principal fuente de sabor y aroma a vainilla, la cual es ampliamente utilizada en la industria de alimentos y perfumería (Pérez-Silva *et al.*, 2006). Fuentes menores de vainilla son *V. pompona* y *V. tahitensis* que solo se cultivan en pequeña escala y, por lo tanto, son de menor importancia económica. *Vanilla planifolia* tiene su origen en México, siendo utilizada en un inicio por los totonacas, quienes aprovechaban las virtudes aromáticas, siendo de valiosa importancia en sus vidas cotidianas, rituales y relaciones comerciales. Cuando el Totonacapan fue sometido por los aztecas, uno de los tributos fue la vainilla, ya que con ella agregaban sabor a diversos alimentos y bebidas, se utilizó para endulzar el *xocoatl* (una bebida con cacao) destinada sólo para la nobleza y los soldados. Para obtener la vainilla, los totonacas esperaban a que la orquídea fuera polinizada naturalmente y diera su fruto, pues solo entonces podían recolectar las vainas verdes, los totonacos exponían los frutos al sol sobre lienzos para que se secaran y cuando estaban calientes, se arrojaban con mantas para “hacerlas sudar” y adquirieran una textura rugosa y el color café oscuro que la caracteriza. Los españoles llevaron la vainilla a Europa en 1520 haciéndose muy popular. Desde entonces, la vainilla se ha extendido y cultivado (Dignum *et al.*, 2001). México produjo en 2017 un total de 514.94 toneladas de vainilla, lista encabezada por Veracruz con sus más de 394.63 toneladas (SAGARPA, 2017). Aunque México es el centro de origen de la vainilla contando con conocimientos técnicos, sociales y culturales de dicho cultivo, son Madagascar e Indonesia los principales países productores en el mundo. Actualmente aún se encuentran plantas en estado silvestre en los bosques tropicales de México, especialmente en áreas menos perturbadas desde el punto de

vista ecológico, como el valle de San Felipe Usila en Oaxaca, la región de los Tuxtlas en Veracruz y la selva Lacandona en Chiapas.

2.2 Taxonomía de la vainilla

La mayoría de las especies de vainilla poseen características específicas en su constitución, por ejemplo, sus hojas que pueden ser cortas, oblongas, de color verde oscuro y coriáceo, incluso carnosos en algunas especies. La clasificación taxonómica de la vainilla se muestra en la tabla 2.1:

TABLA 2.1 Clasificación taxonómica de la vainilla (Mancilla, 1997).

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden:	Orchidales
Familia	<i>Orchidaceae</i>
Género	<i>Vanilla</i>
Especie	Spp

La vainilla es ampliamente usada para dar sabor a alimentos y bebidas. La fuente y el costo de la vainilla varían desde costosos extractos naturales de vainas recolectados de la orquídea, a vainillina producida sintéticamente a un bajo costo, la mayor parte de la producción de vainillina es por síntesis química, en los últimos años su interés ha disminuido a favor de la obtención del producto a través de células

ANTECEDENTES

vegetales, enzimas y por microorganismos, que son aceptados como naturales. Espinosa *et al.* (2011) investigó la utilización de la lignina extraída de la *guadua Angustifolia Kunt* como fuente de materia prima para la producción de vainillina; la lignina fue oxidada en un reactor presurizado obteniendo concentraciones de vainillina producida de 0.7944 mg. Gonzalez *et al.* (2005) analizaron el aprovechamiento del bagazo de agave azul para la obtención de compuestos fenólicos a partir de la lignina presente en sus fibras, concluyendo, que el bagazo de agave tequilero es un material viable para ser usado como substrato en procesos fermentativos.

García *et al.* (2019) inmovilizaron eugenol oxidasa (EUGO) covalentemente sobre diferentes soportes para realizar la conversión de alcohol vanílico a vainillina, reutilizando el biocatalizador, para mejorar las métricas del proceso en comparación con la reacción usando enzima soluble.

Los extractos naturales tienden a ser una mezcla compleja de unos 100-200 componentes de sabor, muchos de los cuales están presentes en cantidades traza (Boyce *et al.*, 2003). En la figura 2.1 se muestra la planta y (orquídea de la vainilla.



FIGURA 2.1 Planta de vainilla, fruto y flor (SIAP, 2017).

2.3 La vainilla en México

En el periodo 2005-2017 se aumentó la producción de vainilla produciendo 514.94 toneladas, con ello el aumento del rendimiento promedio nacional de 71.07 % en el mismo periodo. En 2016, se sembraron 1,059 hectáreas, el 38.55 % de la superficie se encuentra mecanizada, 57.82 % cuenta con tecnología para la sanidad vegetal, mientras que 54.23 % del territorio sembrado con este cultivo contó con asistencia técnica. Mientras que, 99.9 % de la producción se realizó en temporal (SIAP, 2017). En la figura 2.2 se observan los principales estados productores.



FIGURA 2.2 Principales estados productores de vainas de vainilla (SIAP, 2017).

2.4 Proceso de beneficio de las vainas de vainilla

El fruto es cosechado antes de la maduración, por lo que carece de olor, color y sabor característico a vainilla, el aroma a vainilla se desarrolla en las vainas a través de un proceso denominado beneficio, cuyo objetivo principal es crear contacto entre los precursores del sabor y las enzimas que catalizan la hidrólisis de estos compuestos (Sreedhar *et al.*, 2007).

La vía del ácido shikímico que muestra la formación de compuestos de sabor de vainilla se observan en la figura 2.3, iniciando en una secuencia de reacciones que conduce a la síntesis de ácido shikímico y aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina). La mayoría de los compuestos fenólicos derivan de la fenilalanina, la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) cataliza la formación de ácido cinámico por

eliminación de una molécula de amonio de la fenilalanina. Las reacciones posteriores a la catalizada por PAL son básicamente adiciones de más grupos hidroxilo y otros sustituyentes. Los ácidos trans-cinámico y p-cumárico se metabolizan para formar ácido ferúlico y ácido caféico cuya principal función es ser precursores de otros derivados más complejos: cumarinas, lignina, taninos, flavonoides e isoflavonoides. Los ácidos cinámico y cumárico, son compuestos fenólicos simples llamados fenilpropanoides por contener un anillo de benceno (C6) y una cadena lateral de tres carbonos (C3). Entre los compuestos fenólicos también se encuentran los derivados del ácido benzoico que tienen un esqueleto formado por fenilpropanoides que han perdido un fragmento de dos carbonos de la cadena lateral, ejemplos de estos derivados son la vainillina y el ácido salicílico (García y Carril, 2011).

Cada país donde se produce vainilla ha desarrollado su propio proceso de beneficio, dividiéndose en cuatro pasos: escaldado, sudado, secado y acondicionamiento (Aguirre-Alonso, 2016). En la figura 2.4 se observan los pasos del proceso que se describen a continuación:

Escaldado: se detiene la fase vegetativa iniciando con las reacciones que son provocadas por enzimas, facilitando el desarrollo del aroma y sabor, y es reconocida mediante la aparición de manchas cafés en las vainas.

Sudado: Se estimulan las reacciones enzimáticas por el incremento de la temperatura de las vainas al ser envueltas en franelas o por la incubación en un horno a 38 °C en recipientes cerrados durante 2-3 meses, colocadas en un cuarto especial, que debe de contar con ventilación para evitar la formación de mohos. Con la aplicación de esta fase se promueve un secado inicial rápido para prevenir la fermentación dañina del producto lo que resulta en un aroma agradable. Algunas investigaciones han estudiado el efecto de condiciones de sudado (inmersión de las vainas en agua caliente a 65 °C, congelación a -10 °C, o inmersiones en NaOH al 1% y etanol) en los cambios estructurales de las vainas de vainilla sometidas al beneficio tradicional en México (Mariezcurrana *et al.*, 2008).

ANTECEDENTES

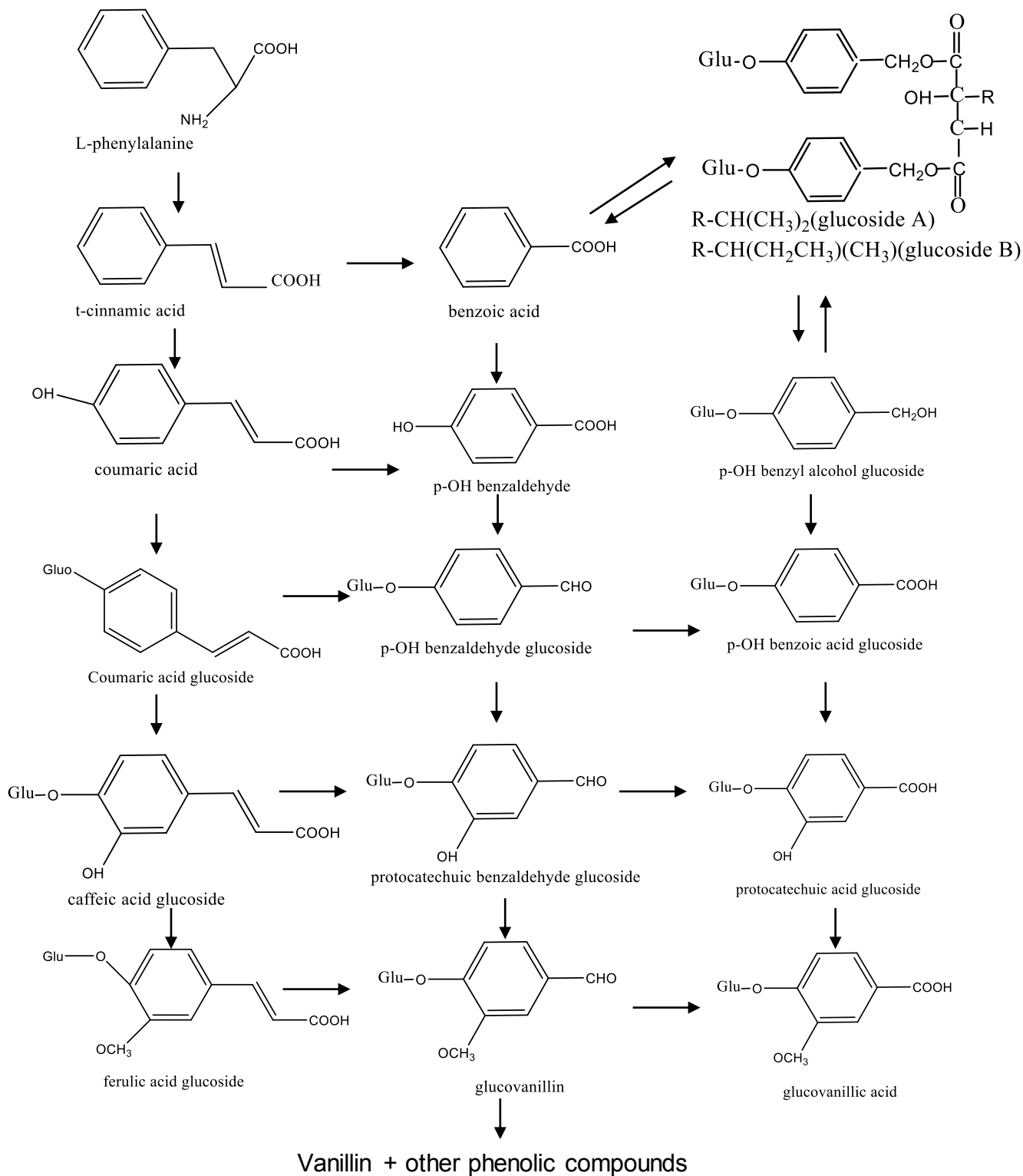


FIGURA 2.3 Formación de los compuestos de sabor de vainilla (Sreedhar et al., 2007).

ANTECEDENTES

Secado: las vainas se extienden al sol hasta que estén calientes, este proceso se repite de 1 a 2 semanas. El secado de las vainas evita que sean contaminadas por microorganismos obteniendo la disminución del peso de las vainas en un tercio de su peso inicial.

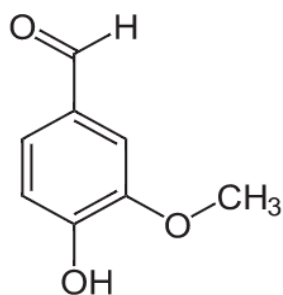
Acondicionamiento: En esta última fase se debe almacenar las vainas envueltas en papel encerado dentro de cajas, este periodo dura aproximadamente tres meses hasta alcanzar el aroma y sabor adecuado. Es importante que dentro el periodo de acondicionamiento se llevó a cabo una serie de revisiones visuales donde se busque la presencia de mohos para su tratado adecuado.



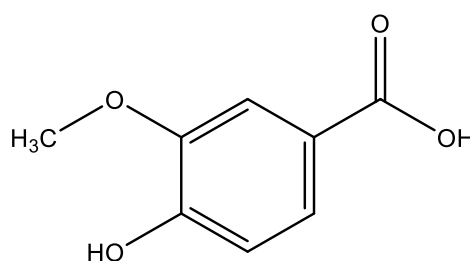
Figura 2.4 Proceso de beneficio de la vaina de vainilla (SIAP, 2017).

2.5 Principales compuestos aromáticos en las vainas de vainilla beneficiadas

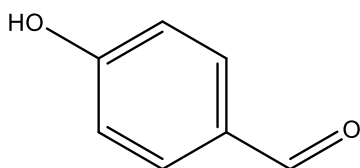
Los responsables del sabor y aroma característico a vainilla son sus componentes activos. El perfil de sabor de la vainilla contiene más de 200 componentes, de los cuales solo 26 ocurren en concentraciones superiores a 1 mg/kg. El nivel de los aldehídos, vainillina y p-hidroxibenzaldehído y sus respectivos ácidos (ácido vainíllico y ácido p-hidroxibenzoico) en vaina de vainilla beneficiadas es utilizado como un indicador de la calidad de la vaina de vainilla para propósitos comerciales (Ranadive, 1992).



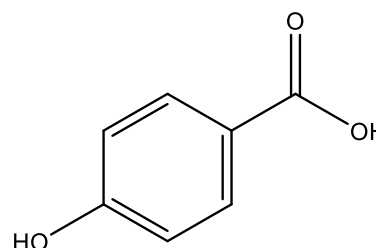
Vainillina



Ácido vainíllico



p-hidroxibenzaldehído



Ácido p-hidroxibenzoico

FIGURA 2.5 Principales compuestos aromáticos presentes en las vainas beneficiadas

El aroma y el sabor del extracto de vainilla se atribuyen principalmente a la presencia de la vainillina (*4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído*), que se produce en una concentración de 1.0 a 2.0% p/p en vainas de vainilla curadas (Westcott *et al.*, 1994; Bettazzi *et al.*, 2006; Sharma *et al.*, 2006).

2.6 Extracto de vainilla

La vainilla se comercializa en el mercado internacional como un extracto etanólico (Sinha *et al.*, 2009). Según la Norma Oficial Mexicana, el extracto de vainilla es una mezcla etanol-agua a partir de vainas de vainilla beneficiadas, es de color ámbar y obtenido mediante diferentes procesos como pueden ser, la lixiviación, percolación, filtración, entre otros. La concentración de etanol no debe ser menor al 35% (v/v) y debe contener por lo menos una Unidad de Concentración de Vainillina (UCV) equivalente a por lo menos 0.11 g de vainillina en 100 mL (NMX-F-188-SCFI-2012). Un extracto que contiene grandes cantidades de resinas retendrá compuestos aromáticos mucho más tiempo que uno que tenga una menor cantidad de ellas (Reineccius, 1997). Los componentes volátiles que son responsables del aroma y el sabor de la vainilla son ácidos, éteres, alcoholes, acetales, heterocíclicos, fenólicos, hidrocarburos, ésteres y carbonilos (Klimes y Lamparsky, 1976).

2.6.2 Obtención del extracto de vainilla

El extracto de vainilla es la forma más común del saborizante natural de vainilla utilizado. Por lo general, se prepara por lixiviación de las vainas de vainilla en una solución de alcohol-agua. La mezcla se puede almacenar durante varios meses para producir un líquido marrón claro con un fuerte aroma de vainilla. Calentar la mezcla puede acelerar el proceso, pero esto puede causar la pérdida de algunos de los componentes de sabor más volátiles, lo que altera el sabor. Una variedad de fabricantes utiliza un proceso de extracción "en frío" más lento utilizando la recirculación del solvente sobre las vainas para minimizar la pérdida de compuestos volátiles. Para cumplir con las regulaciones de la FDA, un extracto de vainilla debe contener una unidad de peso (378.46 g de vainas, a un contenido de humedad máximo de 25 % en peso, por 3.78 litros de disolvente) una solución acuosa de alcohol no inferior al 35 % de alcohol etílico.

En algunos casos, el extracto de vainilla también puede contener aditivos alimentarios tales como glicerina, propilenglicol, y/o jarabe de maíz (Bartnick, 2005). A continuación, se mencionan algunos métodos de extracción.

2.6.2.1 Método de maceración

La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido. El producto sólido posee una serie de compuestos solubles en el solvente que son los que se pretende extraer. Por lo general en la industria química se suele hablar de extracciones, mientras que cuando se trata de alimentos, hierbas y otros productos para consumo humano se emplea el término maceración (Hiscox y Hopkins, 1972).

2.6.2.2 Extracción asistida por ultrasonido

La extracción asistida por ultrasonido (UAE) causa una cavitación acústica y la ruptura de las paredes celulares, la reducción del tamaño de partícula y la mejora en el contacto entre disolventes y compuestos específicos (Rostagno, Palma y Barroso, 2003). La UAE presenta un menor consumo de energía, disminución de consumo de solvente, aumenta la eficiencia de extracción y un mayor nivel de automatización (Hromádková *et al.*, 1999; Paniwnyk *et al.*, 2001; Hromádková y Ebringerová, 2003; Tor *et al.*, 2006).

2.6.2.3 Extracción asistida por microondas

La extracción asistida por microondas (MAE) es extensamente usada en el análisis y la extracción de compuestos bioactivos presentes en plantas, está conformado por un campo eléctrico y un campo magnético que oscila perpendicularmente entre sí en una frecuencia comprendida entre 0,3 y 300 GHz. El microondas puede penetrar en ciertos materiales e interactuar con los componentes polares generando calor, el calentamiento de la energía de microondas actúa sobre

las moléculas por conducción iónica y rotación dipolo. La eficiencia del calentamiento por microondas dependerá del factor de disipación del material, $\tan \delta$, que mide la capacidad de la muestra para absorber la energía de microondas y disipar el calor a las moléculas circundantes (Chan *et al.*, 2011).

2.6.2.4 Extracción en etapas múltiples

Según la literatura para transferir más soluto se puede repetir el contacto en una sola etapa mezclando la corriente de salida del refinado R_j con disolvente de una etapa anterior de extracción S_j , como se muestra en la figura 2.5, este modo de operación permite usar menos disolvente y, obtener una corriente de extracto de salida más concentrada, generalmente se usa el contacto a contracorriente en etapas múltiples (Geankoplis, 2010).

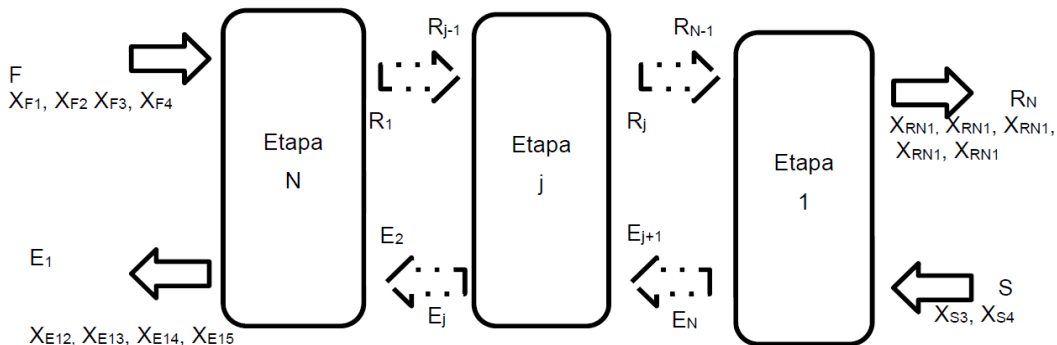


FIGURA 2.6 Flujo del proceso para la lixiviación a contracorriente en etapas múltiples (Castillo, 2016).

Castillo-Santos (2016) obtuvo el modelo general con relaciones de equilibrio no lineales y el modelo dinámico del proceso extracción sólido-líquido aplicada satisfactoriamente en el diseño del proceso de extracción en multietapas a contracorriente de vainilla.

2.7 Extractos sin alcohol

La obtención de extractos libres de alcohol resulta en productos con un alto valor agregado. Las ventajas de estos extractos son:

- Aumento de la producción al elaborar nuevos productos en países con mercados muy competitivos.
- Ofrecer a los consumidores productos alternativos antes o durante sus actividades (conducir vehículos u operar maquinaria, participar en deportes) o en condiciones no aptas con el consumo de alcohol (embarazo, medicamentos).
- Incluir en los mercados de bebidas en países donde el consumo de alcohol está prohibido por razones religiosas (Brányik *et al.*, 2012).

Huesca-Osorio (2014) construyó un modelo dinámico que representa la evaporación de una mezcla compleja: extracto natural de vainilla. El modelo matemático desarrollado para el sistema de evaporación considera las propiedades termo-físicas de un sistema experimental. Estas propiedades fueron evaluadas por ingeniería inversa.

2.8 Secado de extractos

La obtención de extractos secos presenta ventajas sobre sus formas líquidas mayor estabilidad, fácil manejo del producto, y una concentración precisa de sus componentes aromáticos. Las condiciones de operación utilizadas en el secado y procesamiento térmico de los extractos, puede afectar sus propiedades físico-químicas y los costos; además, se pueden originar diversos grados de pérdida de los compuestos aromáticos. Varios procesos de secado pueden ser utilizados para la producción de extractos secos, incluyendo el secado por aspersion y la liofilización (Bott *et al.*, 2010). La composición de los extractos originales dificulta el proceso de secado ya que los extractos contienen ingredientes que confieren alta viscosidad (por ejemplo, azúcares), por lo tanto, generalmente se secan junto con materiales de soporte destinados a facilitar el proceso de secado (Sollohub y Cal, 2010). Un

rendimiento de más del 50% con respecto a la mezcla alimentada, se considera satisfactorio en un proceso de secado por aspersion, Aguirre-Alonso (2016) evaluó la viabilidad térmica de la obtención de polvo a partir de extracto de vainilla utilizando secado por aspersion, utilizando una T_{inaire} : de 170 y 180 °C y una $T_{outaire}$ 80 y 90 °C, como material de soporte: utilizó almidón de papa modificado, maltodextrina DE-10, β -ciclodextrina y sílice precipitada, obteniendo mayor retención de los compuestos aromáticos utilizando maltodextrina DE-10: vainillina 82%, p-hidroxibenzaldeído 82.90%, ácido vainílico 95%, y ácido p-hidroxibenzoico 94%, pero no evaluó las propiedades termodinámicas del polvo de vainilla.

Ocampo Salinas *et al.* (2016) observaron el efecto de homogeneización por microfluidización y la formulación de material de pared compuesta de mezclas de maltodextrinas en el encapsulado de extracto de vainilla por liofilización, el extracto etanólico fue concentrado por evaporación al vacío (Buchi). Con una relación 1:6 del material de pared, las formulaciones fueron mezcladas en un ultra-turrax. microfluidización (microfluidics, M 110) obteniendo una retención del 98.61% de vainillina en la mezcla de MDE-20,MDE-10 en una relación 95:5, la retención de vainillina durante la liofilización con respecto al secado por aspersion fue mayor, sin embargo este porcentaje no representa los 4 compuestos principales y el proceso se evalúa empíricamente.

2.9 Liofilización

La liofilización es una técnica que resulta en productos deshidratados de alta calidad, debido a la temperatura baja y vacío requerido en el proceso. La sublimación del agua contenida en los alimentos durante la liofilización protege la estructura primaria y minimiza los cambios en la forma del producto, con una reducción mínima de volumen (George-Datta, 2002). Además, contribuye a preservar los constituyentes, retener el sabor y aroma original (Krokida-Maroulis, 2000). Este proceso de secado es aplicable para la fabricación de ciertos productos farmacéuticos y biológicos que son termolábiles y para la preservación de sus componentes principales (Lippincott y Remington, 2000).

2.9.1 Principio de liofilización:

El principio principal implicado en la liofilización es un fenómeno llamado sublimación, donde el agua pasa directamente de estado sólido (hielo) al estado de vapor sin pasar por el estado líquido. La sublimación del agua tiene lugar a presión y temperatura por debajo del punto triple del agua es decir 4.579 mmHg y 0.0099 °C (Chien y Yiew, 1981). El material por secar es congelado y después es sometido a vacío, de forma que se sublima el producto congelado, dejando sólo componentes sólidos, secos del líquido original. El gradiente de concentración de vapor de agua entre el secado frontal y condensador es la fuerza impulsora para la eliminación de agua durante la liofilización (Lieberman *et al.*, 1989).

2.9.2 Etapas del proceso de liofilización

El proceso de liofilización se puede dividir en tres etapas: congelación, secado primario y secado secundario:

2.9.2.1 Etapa 1: congelación

La congelación de los alimentos es importante ya que de ello dependerá la apariencia y cualidades de los productos finales, los cuales son enfriados a una temperatura baja (generalmente entre -20 °C y -40 °C) en el que el agua cristaliza al máximo junto con algunos componentes sólidos (Fang *et al.*, 2011), una congelación lenta fomentara la formación de grandes cristales de hielo y después de la sublimación la formación de estructuras abiertas, la congelación rápida producirá que el agua forme cristales más pequeños.

2.9.2.2 Etapa 2: secado primario

El secado primario, en el que el hielo formado durante la congelación se elimina por sublimación a presión y temperatura baja, dejando una estructura altamente

porosa en el soluto amorfo restante que es típicamente 30% de agua (Nireesha *et al.*, 2013). La etapa de secado primario consiste en transportar la energía para transformar el hielo en vapor de agua, y luego transporta el vapor de agua desde la superficie de sublimación en la cámara de secado al sistema de condensación o absorción (condensador) para el agua evaporada (figura 2.6).

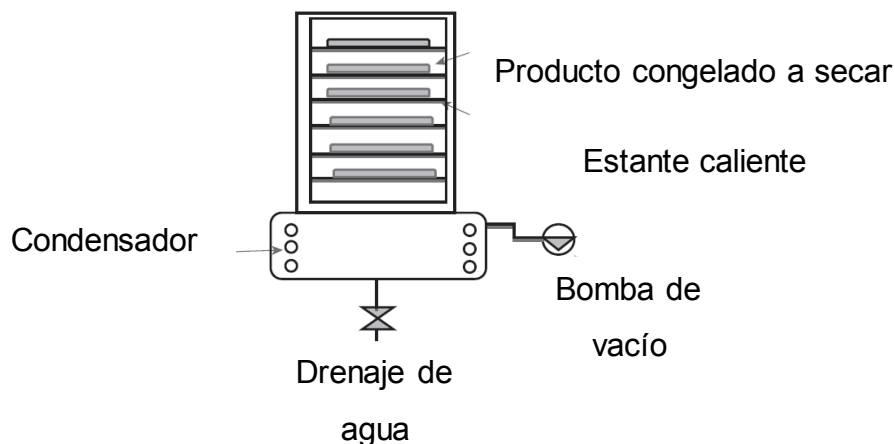


FIGURA 2.7 Partes del liofilizador (Fang, 2012).

2.9.2.3 Etapa 3: secado secundario

En el secado secundario, donde el hielo ha sido sublimado por completo, la energía es transportada para eliminar el agua adsorbida adicional (ligada sin congelar) de los sólidos. Esta es el agua que no se separó como hielo durante la congelación, y no se sublimaron (Oetjen y Haseley, 2004; Pikal *et al.*, 1990). Se han encontrado pocos reportes que sigan la evolución de la temperatura durante la liofilización a pesar de que la medición de esta, podría proporcionarnos información importante sobre el comportamiento del extracto con diferentes materiales de soporte.

Márquez *et al.* (2007) determinaron el contenido de vitamina C, la temperatura de transición vítrea (T_g), y la a_w del producto liofilizado, la variación de la temperatura durante la liofilización y las cinéticas de secado para diferentes tipos de muestras de acerola (*Malpighia glabra L.*), las condiciones de liofilización fueron 0.13 mbar y -30 °C, el termopar usado fue tipo K, rodajas de 1.5 cm de diámetro, congeladas durante 12

h en el congelador y 6 min con N₂, encontraron que durante la etapa del secado primario la temperatura del producto se mantuvo constante a -20 °C mientras que en la etapa de secado secundario no se detectó ningún efecto del tipo de muestra ya que las velocidades de secado fueron las mismas.

Xiaofan *et al.* (2018) evaluaron el potencial de los sensores inalámbricos de múltiples puntos de monitoreo en tiempo real así como el proceso de verificación y optimización del ciclo de liofilización farmacéutica, utilizando 8 sensores, una PC y un generador de señal de radiofrecuencia en viales de vidrio con una muestra de 4 mL , manitol 3 % y sacarosa 5 %, se midió el tiempo de secado desde el inicio del secado primario durante 3.9, 9.3,14.2, y 21 h. sus resultados sustentan que el sensor inalámbrico de múltiples puntos y el termopar presentan similitudes y mencionan el final del secado primario 40 h.

2.10 Materiales de pared

La homogeneización de ingredientes alimenticios y nutracéuticos por liofilización es lograda disolviendo, homogenizando o emulsionando estos materiales en sistemas de matriz de material de pared y luego liofilizando, lo que generalmente resulta en una estructura porosa, no encogida (Fang y Bhandari, 2011). Para obtener productos de alta calidad es necesario tomar en cuenta algunas consideraciones al elegir los materiales de la pared: estos deben ser adecuados para su propósito final antes de ser congelados y secados; sus propiedades deseadas deben conservarse después de congelar y liofilizar; y la vida útil del material es adecuada en condiciones de almacenamiento convenientes (Rowe, 1971). Los materiales de pared deben tener la función para actuar como un cierto grado de crioprotector para ayudar a estabilizar los agentes activos sensibles como los probióticos (Kailasapatía, 2002; Kailasapathy y Sureeta, 2004) o enzimas (Liu *et al.*, 2011). En la literatura se han encontrado diferentes procesos de secado de extracto de origen natural los cuales comparten condiciones como los que se muestran a continuación:

ANTECEDENTES

Laine *et al.* (2008) estudiaron la microencapsulación usando maltodextrina con equivalente de dextrosa 8 (DE-8) y MDE-18 con respecto a la estabilidad de almacenamiento así como cuantificaron el contenido fenólico en el extracto de *Rubus chamaemorus* siendo un extracto metanólico, evaporado previamente, posteriormente fue homogeneización en un ultra-turrax, proporción 3:1, y congelado a una temperatura de -20 °C, los parámetros de liofilización fueron -20 °C, 0.2 mbar durante 37 h, evaluando la retención de sus principales compuestos bioactivos (ácido hidroxicinámico, antocianinas, ácido hidroxibenzoico). Obteniendo como resultados una mayor retención con MD-8 para los compuestos de mayor peso molecular y con respecto a MD-18 para los compuestos de menor peso molecular.

Da Rosa *et al.* (2014) evaluaron la eficiencia de encapsulación de compuestos fenólicos microencapsulando en β -ciclodextrina (β -CD), quitosano(C), goma xantana(X) e hidrogel (xantana-quitosano, H), en el extracto de mora siendo un extracto metanólico con una evaporación previa, una homogeneización por sonicación. La proporción de material de soporte fue 1:1, el % de retención (ácido gálico, catequina, ácido p-hidroxibenzoico) y una congelación previa -80 °C durante 24 h y después se liofilizó. Obteniendo la siguiente eficiencia de encapsulación ácido gálico β -CD 52%, C 75.5%, X 46.5%, H 66%, catequina β -CD 51.5 %, C 24.5%, X 48.5%, H 41%, p-hidroxibenzoico β -CD 14.5%.

Aguirre-Alonso (2016) evaluó la viabilidad térmica de la obtención de polvo a partir de extracto de vainilla utilizando secado por aspersion, utilizando una T_{naire} : de 170 y 180 °C y una $T_{outaire}$ 80 y 90 °C como material de soporte: utilizó almidón de papa modificado, maltodextrina DE-10, β -ciclodextrina, sílice precipitada obteniendo mayor retención de los compuestos aromáticos utilizando maltodextrina DE-10: vainillina 82%, p-hidroxibenzaldeído 82.90%, ácido vainílico 95%, y ácido p-hidroxibenzoico 94%.

Ocampo Salinas *et al.* (2016) observaron el efecto de homogeneización por microfluidización y la formulación de material de pared compuesta de mezclas de

maltodextrinas en el encapsulado de extracto de vainilla por liofilización, el extracto etanólico fue concentrado por evaporación al vacío (Buchi). Con una relación 1:6 del material de pared, las formulaciones fueron mezcladas en un ultra-turrax. microfluidización (microfluidics, M 110.) Obteniendo una mayor retención (vainillina) en la mezcla de MD-20, MD-10 en una relación (95:5).

2.11 Análisis termogravimétrico

El análisis termogravimétrico (del acrónimo inglés TGA, Thermal Gravimetric Analysis), mide la cantidad y rapidez del cambio en peso de una muestra en función de la temperatura y/o del tiempo en una atmósfera controlada. De manera general, permite realizar medidas para determinar la composición de los materiales y predecir su estabilidad a temperaturas de hasta 1500 °C. Esta técnica puede, por tanto, caracterizar materiales que presentan pérdida o ganancia de peso debido a la descomposición, oxidación o deshidratación. Varios trabajos de la literatura han informado las etapas de pérdida de peso atribuidas a la deshidratación, volatilización y degradación de los materiales, Castro *et al.* (2016) estudiaron cinco tipos diferentes de maltodextrinas (DE-2, DE-6, DE-12, DE-17 y DE-19) caracterizándolas por sus propiedades fisicoquímicas (viscosidad, temperatura de transición vítrea, temperatura de degradación), en un thermo fisher scientific, por tecnología de análisis mecánico dinámico y mediante análisis termogravimétrico respectivamente, para evaluar el efecto del valor del equivalente de dextrosa (DE), observando que la viscosidad disminuye con el aumento del DE, la influencia del DE no fue lineal con respecto a la temperatura de transición vítrea, el análisis termogravimétrico mostró que las maltodextrinas presentaron una primera etapa (rango de temperatura de 25 °C a 150 °C) asociada a la deshidratación de la maltodextrina y la segunda etapa corresponde a la región donde tienen lugar las reacciones de descomposición y donde ocurrió la mayor pérdida de peso de las muestras (300 °C).

Lauren *et al.* 2011 desarrollaron un implante de pared abdominal artificial de polipropileno(PP) para la liberación prolongada de ciprofloxacina (CFX), mediante la

funcionalización de hidroxipropil-γ-ciclodextrina (HPγCD) o maltodextrina (MD) caracterizando por análisis termogravimétrico (TGA), se observó la deshidratación de CD y MD por encima de 100 °C, y luego se produjo degradación por encima de 300 °C para HPγCD, y por encima de 250 °C para MD, la degradación de las muestras funcionalizadas se produjo en dos pasos distintos que corresponden, en primer lugar, al polímero basado en polisacárido reticulado y luego al soporte.

2.12 Isotermas de sorción

Los isotermas de sorción de humedad son representaciones gráficas de p/p_0 (lo que representa la presión parcial de vapor de agua en una sustancia dividido por la presión de vapor de agua) versus el contenido de agua (expresado como masa de agua por unidad de masa de materia seca) a temperatura constante (Fennema, 1985). Dando criterios importantes para el procesamiento, la estabilidad y control de textura de sistemas de alimentos secos. Siendo una herramienta útil para seleccionar sistemas de empaque apropiados y condiciones de estabilidad de almacenamiento que optimicen o maximicen la retención de aroma, sabor, color, textura, nutrientes y minimicen las reacciones de deterioro microbiológico (Viganó *et al.*, 2012; Navia *et al.*, 2013).

Los datos obtenidos se ajustan a diferentes modelos de sorción comúnmente aplicados a productos con altas cantidades de azúcar, BET, Smith, Henderson, Halsey, Oswin y GAB. La calidad del ajuste se evalúa mediante el factor de regresión (R^2) y a través del por ciento de error relativo (%E) definido como:

$$\sum_{n=1}^n \left[\left| \frac{m_{e,i} - m_{p,i}}{m_{e,i}} \right| \right] \cdot \left[\frac{100}{n} \right] \dots \dots \dots (1)$$

Donde n es el número de puntos de datos, $(m_{e,i})$ y $(m_{p,i})$ se observan y predicen experimentalmente mediante los valores del modelo del contenido de humedad de equilibrio, respectivamente. El error porcentual relativo (%E) se ha reportado

ampliamente en la literatura para evaluar la bondad de ajuste de los modelos de sorción (Al-Muhtaseb *et al.*, 2004 ; Lomauro *et al.*, 1985).

2.13 Síntesis de antecedentes

El perfil de sabor y aroma de la vainilla contiene una mezcla compleja de 100 a 200 componentes (Boyce *et al.*, 2003), siendo la vainillina (*4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído*) el componente principal (Gu *et al.*, 2012; Sharma *et al.*, 2006). También se han reportado tres componentes que son liberados en la ruptura de los enlaces glucosídicos responsables del sabor y aroma a vainilla (*p*-hidroxibenzaldehído, ácido vainílico y ácido *p*-hidroxibenzoico).

Huesca-Osorio (2014) construyó un modelo dinámico que representó la evaporación de una mezcla compleja: extracto natural de vainilla, desarrollando un modelo matemático para el sistema de evaporación. La obtención de extractos secos presenta importantes ventajas sobre sus formas líquidas, por ejemplo: mayor concentración de compuestos bioactivos, fácil manejo de producto, mayor estabilidad y menor costo de almacenamiento. Existen reportes empíricos sobre extractos alcohólicos liofilizados con una evaporación previa, evaluando el tipo y concentración de material de soporte sobre la retención de sus compuestos aromáticos (Laine *et al.*, 2008; Sánchez *et al.*, 2011; Da Rosa *et al.*, 2014). Aguirre-Alonso (2016) evaluó la viabilidad térmica de la obtención de polvo a partir de extracto de vainilla utilizando secado por aspersion. Ocampo Salinas *et al.* (2016) observaron el efecto de homogeneización por microfluidización y la formulación de material de pared compuesta de mezclas de maltodextrinas en el encapsulado de extracto de vainilla por liofilización, pero no se han evaluado las propiedades termodinámicas de los polvos de vainilla liofilizados (análisis termogravimétrico e isothermas de adsorción). No se encontraron reportes que evalúen la retención de los compuestos aromáticos principales en el extracto de vainilla liofilizado.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la concentración y tipo del material de soporte sobre las propiedades termodinámicas del extracto de vainilla libre de alcohol sometido a liofilización.

3.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto del tipo y concentración de soporte sobre las cinéticas de temperatura y pérdida de peso durante la liofilización de extractos de vainilla libres de alcohol.
- Evaluar el efecto del tipo y concentración de soporte sobre la retención de los principales compuestos aromáticos (vainillina, ácido vainíllinico, p-hidroxibenzaldehído y ácido p-hidroxibenzoico) del extracto de vainilla liofilizado.
- Evaluar las propiedades termodinámicas de los extractos secos (comportamiento termogravimétrico e isothermas de adsorción).

4 MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo de investigación se desarrolló de acuerdo con las etapas representadas en la figura 4.1 con la finalidad de cumplir los objetivos planteados del proyecto:

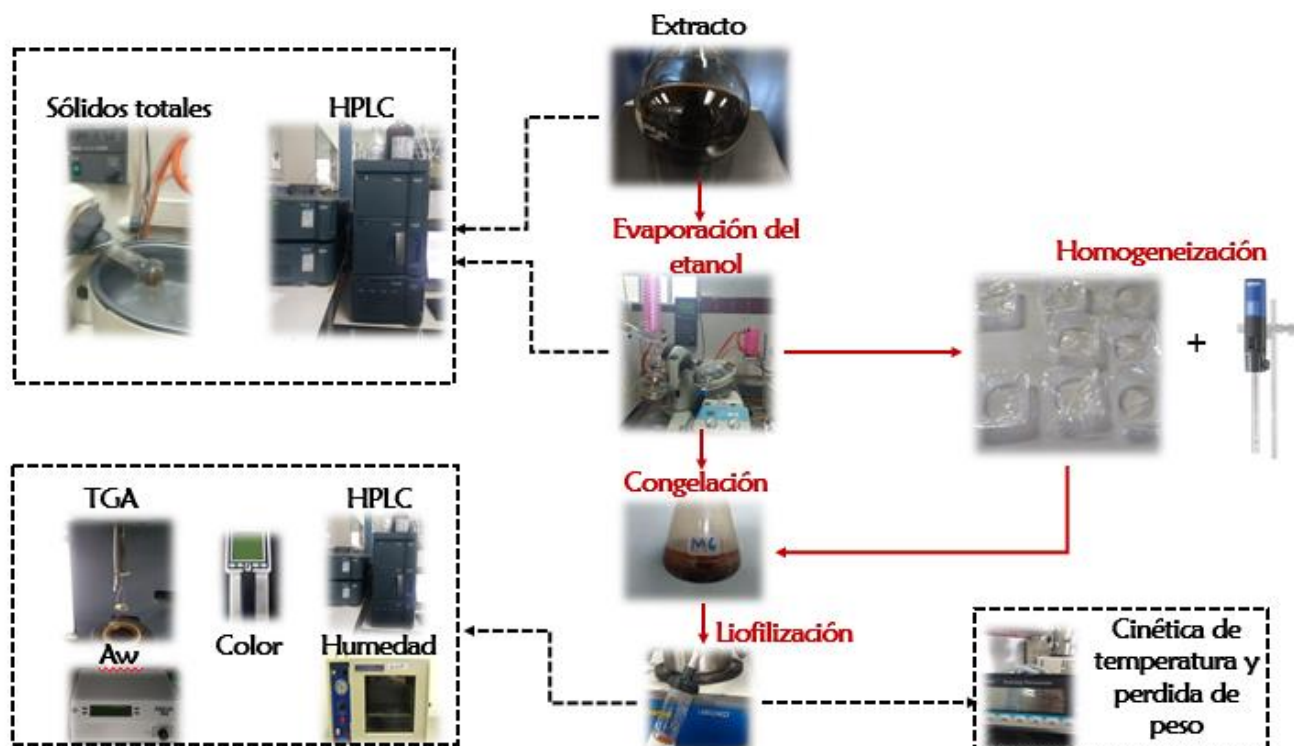


FIGURA 4.1 Diagrama de la metodología general aplicada en la evaluación del efecto de la concentración y tipo del material de soporte sobre las propiedades termodinámicas del extracto de vainilla homogeneizado sometido a liofilización.

4.1 Materia prima y reactivos

El extracto etanólico de vainilla fue proporcionado por el laboratorio de Ingeniería de Alimentos de la Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos (UNIDA) del ITVer obtenido a partir de vainas de vainilla beneficiadas de calidad picadura adquiridas en la región de San Juan Bautista Tuxtepec (Oaxaca, México). Los materiales de soporte (MS) que se utilizaron fueron maltodextrina DE-10(MDE-10)

y maltodextrina DE-6 (MDE-6), Industria Alimenticias FAPSA S.A. de C.V y β -ciclodextrina (β -C) Sigma-Aldrich México. Los estándares utilizados para la determinación de los compuestos aromáticos por HPLC (vainillina, ácido vainílico, p-hidroxibenzaldehído, ácido p-hidroxibenzoico) son de grado reactivo (Sigma-Aldrich México).

4.2 Obtención del extracto de vainilla libre de alcohol

La composición del extracto de vainilla depende de la calidad y tipo de vaina, así como el método de extracción, las condiciones en que será almacenado y la edad del extracto (Sinha *et al.*, 2009). El extracto fue preparado mediante una extracción sólido-líquido a contracorriente en multietapas, con una mezcla de etanol:agua al 60% (v/v) de acuerdo al modelo propuesto por (Castillo-Santos *et al.*, 2016), a partir de vainas beneficiadas con una humedad promedio de 16.27 % bs.

4.3 Evaporación del etanol

Se montó el equipo de evaporación como se muestra en la figura 5.2. En un rotaevaporador Buchi retirandole el baño para adaptar una mantilla, así como un termopar para seguir la temperatura, dicho termopar es conectado a un Digi-Sense 362591 como se muestra en la figura 4.2.

4.4 Análisis del extracto

Se analizó el contenido de sus principales compuestos aromáticos y contenido de sólidos totales del extracto etanólico tanto como el extracto evaporado.



FIGURA 4.2 Evaporación del extracto de vainilla

4.4 Análisis del extracto

Se analizó el contenido de sus principales compuestos aromáticos y contenido de sólidos totales del extracto etanólico tanto como el extracto evaporado. Estos análisis fueron realizados en el Centro Andaluz de Investigaciones Vitivinícolas, del Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Cádiz, Puerto Real, Cádiz, España

4.4.1 Determinación de vainillina, ácido vainílico, p-hidroxibenzaldehído, ácido p-hidroxibenzoico en el extracto de vainilla

Se extrajeron muestras de los extractos de vainilla liofilizado (0.25 g) usando 25 mL de una mezcla 40:60 (v/v) de metanol: agua. Cada muestra se sonicó en un procesador ultrasónico (Hielscher Ultrasonics Gmb; mod. UP200S; Berlín, Alemania) operado a 200 W y 24 kHz durante 10 min a 60 °C. Todas las muestras obtenidas a partir del extracto seco, y una alícuota del extracto de vainilla, se filtraron con un filtro de nylon de 0.2 μm (Membrane Solutions; Dallas, EE. UU.) y

se analizaron 3.0 μL mediante un sistema UHPLC (Waters Corp., ACQUITYTM, UHPLCTM H-Class; Milford, MA, EE. UU.) para determinar la concentración de compuestos aromáticos. El sistema UHPLC estaba equipado con un sistema de bomba cuaternaria, un muestreador automático con control de temperatura ajustado a 15 ° C, un horno de columna ajustado a 47 °C para la separación cromatográfica y un detector matriz de fotodiodos (Waters Corp., PDA100; Milford, MA, EE. UU.). El software Empower3TM (Waters Corp.; Milford, MA, EE. UU.) se usó para controlar el equipo y para la adquisición de datos. La columna analítica fue una Waters ACQUITY UPLC BEH C18 (100 mm de longitud 2.1 mm de diámetro interno, 1.7 μm de tamaño de partícula). El detector PDA se estableció en el rango de longitud de onda de 200-400 nm para el escaneo 3D, con una tasa de recopilación de datos de 40 pts \cdot s⁻¹ para la identificación de los compuestos. Para las integraciones de los picos y la cuantificación de los compuestos, el detector PDA se ajustó a 280 y 259 nm. Se empleó un método cromatográfico reportado previamente por Ruiz-Rodríguez et al. (2017). La fase móvil fue agua acidificada (ácido acético al 2 %, disolvente A) y acetonitrilo acidificado (ácido acético al 2 %, disolvente B), y se usó un flujo de disolvente de 0.6 mL \cdot min⁻¹. El gradiente utilizado para la separación cromatográfica fue el siguiente (tiempo, disolvente B): 0 min, 0 %; 3.0 min, 5 %; 4.0 min, 10 %; 4.5 min, 10 %; 5.0 min, 20 %; 7.0 min, 20 %; 8.0 min, 30 %; 10.0 min, 30 %; seguido de un lavado de la columna de 5 min con 100 % de B. La identificación de compuestos fenólicos en las muestras se logró inicialmente comparando los tiempos de retención y los espectros de absorción UV-Vis con los del estándar. Los compuestos fenólicos individuales (vainillina, ácido vainílico, p-hidroxibenzaldehído, y ácido p-hidroxibenzoico) se cuantificaron basándose en el área detectada del pico de las muestras frente a sus respectivas curvas de calibración del estándar puro (Apéndice C). Todas las determinaciones se llevaron a cabo por duplicado.

4.4.2 Determinación del contenido de sólidos

Las muestras del extracto se concentraron en un rotaevaporador al vacío (Büchi, Mod. R-205; Flawil, Suiza) a una presión manométrica de 110 mbar la temperatura del baño fue de 40 ± 1 °C. Se colocaron en charolas a peso constante para finalmente introducirlas en una estufa con vacío a 60 ± 1 °C y presión manométrica de 600 mbar. El porcentaje de sólidos se calculó por diferencia de peso. Se realizó la determinación de sólidos en el extracto con la ecuación 2, a partir de esta información se calculó la cantidad de material de soporte a adicionar al extracto.

$$\% \text{ Sólidos} = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \dots\dots\dots (2)$$

4.5 Desarrollo experimental de la liofilización del extracto de vainilla con y sin soporte.

En esta etapa se llevó a cabo el desarrollo experimental de la liofilización del extracto de vainilla para evaluar el efecto de la concentración y tipo del material de soporte. En este apartado se realizaron las determinaciones del contenido de humedad, color, actividad de agua y retención de compuestos aromáticos.

4.5.1 Preparación de la muestra a liofilizar.

El material de soporte fue elegido de acuerdo con trabajos previos relacionados con la obtención de polvo de vainilla mostrando retenciones altas y fácil manipulación del producto, el extracto tuvo una evaporación previa del etanol, la cual se describe en la sección 5.3. Para la preparación de la muestra se adicionaron los materiales de soporte a distintas relaciones 1:1, 2:1 y 3:1 (sólidos de material de soporte: sólidos de extracto de vainilla). A partir del porcentaje de sólidos del extracto sin alcohol, se

calculó la cantidad de material de soporte a adicionar. La mezcla fue homogenizada en un ultraturrax IKA. La suspensión se congeló a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 12 h. Los experimentos se llevaron a cabo por duplicado.

4.5.2 Obtención de las cinéticas de temperatura del extracto de vainilla durante la liofilización

El extracto se deshidrató mediante un equipo LABCONCO, Model FreeZone 1 a una temperatura de $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una presión 0.034 mbar, como se muestra en la figura 5.3 para el seguimiento de la temperatura durante la liofilización, se realizó mediante un termopar tipo K para colocar un termopar en el centro de la muestra el termopar en el centro de la muestra, se realizó la modificación del tubo que conecta el matraz donde se coloca el producto a liofilizar a la cámara de secado del liofilizador, como se muestra en la figura 5.3, el material de soporte fue maltodextrina DE-10, maltodextrina DE-6, y β -ciclodextrina en una relación 1:1, 2:1 y 3:1 (sólidos de material de soporte: sólidos en el extracto de vainilla).



FIGURA 4.3 Liofilización del extracto de vainilla con supervisión de la temperatura

4.6 Determinación de contenido de humedad

Se utilizó el método de la estufa al vacío “AOAC 32.1.03.2005” (AOAC 2005), se colocaron las muestras en charolas de aluminio a peso constante, se introdujeron a una estufa con vacío, a una temperatura de operación de 60 °C y 40 kPa, donde se mantuvieron las muestras hasta el peso constante, se retiraron y dejaron enfriar en un desecador. Al final se pesaron en una balanza analítica. Este procedimiento se realizó por triplicado para los polvos de vainilla obtenidos.

4.7 Determinación de color

Se utilizó un colorímetro Hunter Lab modelo Mini Scan. Se colocaron las muestras en charolas de plástico, se calibró el colorímetro en un principio con una teja blanca estándar y una trampa de luz, se realizó cada medición por triplicado. Los resultados de L, a* y b* serán el color total de la muestra, siendo L el grado de luminosidad, a* la tendencia de rojo a verde y b* la tendencia de amarillo a azul, el espacio de color se muestra en la figura. El ángulo de tono Hue (H°) y Cromo (C*) se calcularon con las ecuaciones 3 y 4 respectivamente:

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \dots\dots\dots (3)$$

$$H^* = \arctan (b^* / a^*) \dots\dots\dots (4)$$

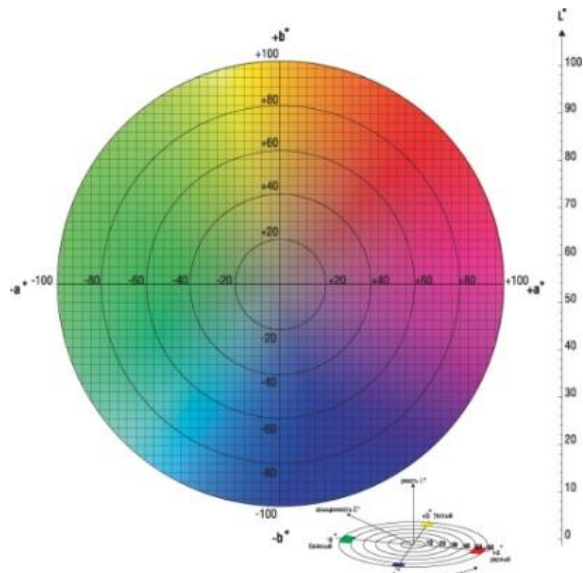


FIGURA 4.4 Espacio de color

4.8 Determinación de vainillina, ácido vainílico, p-hidroxibenzaldehído, y ácido p-hidroxibenzoico en la muestra liofilizada

Para la determinación de los compuestos aromáticos presentes en el extracto liofilizado se usó el método que se describe en el apartado 4.3.1.

4.9 Retención de compuestos aromáticos en el extracto de vainilla liofilizado

La retención de los compuestos aromáticos totales en el producto final se representó como el porcentaje de estos compuestos comparados con los contenidos en el extracto sin alcohol, para ello se utilizaron las ecuaciones 5-8.

Retención de vainillina:

$$V = \frac{\text{mg de vainillina en el extracto liofilizado /g sólidos secos}}{\text{mg de vainillina en la mezcla de alimentación /g sólidos secos}} \times 100 \dots \dots \dots (5)$$

Retención de ácido vainílico

$$AV = \frac{\text{mg de ácido vainílico en el extracto liofilizado /g sólidos secos}}{\text{mg de ácido vainílico en la mezcla de alimentación /g sólidos secos}} \times 100 \dots \dots \dots (6)$$

Retención de p-hidroxibenzaldehído

$$P- H = \frac{\text{mg de p-hidroxibenzaldehído en el extracto liofilizado /g sólidos seco}}{\text{mg de p-hidroxibenzaldehído en la mezcla de alimentación /g sólidos seco}} \times 100 \dots \dots \dots (7)$$

Retención de ácido p-hidroxibenzoico

$$AP = \frac{\text{mg de ácido p-hidroxibenzoico en el extracto liofilizado /g sólidos seco}}{\text{mg de ácido p-hidroxibenzoico en la mezcla de alimentación /g sólidos seco}} \times 100 \dots \dots \dots (8)$$

4.10 Análisis termogravimétrico

Se utilizó un TGA Q500 para la determinación de las temperaturas de degradación del extracto de vainilla y los polvos obtenidos con distintos materiales de soporte, se colocaron en una charola de platino con 8 a 10 mg de polvo en el equipo para iniciar el análisis. Las gráficas de la pérdida de peso de la muestra en función de la temperatura y del tiempo en la atmósfera controlada (nitrógeno) se obtuvieron en el PC, utilizando una rampa de calentamiento de 5 °C/min desde 30 °C hasta 400 °C, para los diferentes parámetros a analizar en relación a los pesos originales y final de la muestra alcanzados hasta peso constante, con los datos obtenidos del software de TA instruments se determinó la fracción de peso de la humedad total, de las cenizas y de los sólidos volátiles.

4.11 Isotermas de sorción

Para obtener las isotermas de sorción se pesaron (aproximadamente 0,5 g) de extracto liofilizado y se colocaron en charolas de aluminio (40 mm de diámetro) la humedad residual de las muestras se eliminó en un desecador con pentóxido de fosforo de 12 a 48 horas hasta observar que el pentóxido se mantenga sólido.

Posteriormente, las muestras se conservaron a 25 °C, 35 °C y 45 °C de 7 a 28 días en microclimas con varios tipos de soluciones de sales sobresaturadas hasta alcanzar el equilibrio (de 7 a 28 días aproximadamente) las cuales se presentan en la tabla 4.1. se muestra la a_w alcanzada a las diferentes temperaturas en función de la sal utilizada. Siendo $a_w = RH/100$. Todas las medidas se realizaron por duplicado.

TABLA 4.1 Humedad relativa de equilibrio de soluciones salinas saturadas (Roos, 1993)

Soluciones de sales sobresaturadas	Humedad relativa de equilibrio %		
	25 °C	35 °C	45 °C
LiCl	11.30±0.27	11.25±0.22	11.16±0.21
CH ₃ COO ₂ K	22.51±0.32	-----	-----
MgCl ₂	32.78±0.16	32.05±0.13	31.10±0.13
Mg(NO ₃) ₂	52.89±0.22	49.91±0.29	46.93±0.74
KI	68.86±0.24	66.90±0.23	65.26±0.24
NaCl	75.29±0.12	74.8±0.12	74.52±0.16
KCl	84.34±0.26	82.95±0.25	81.74±0.28

4.12 Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño factorial 3x3+1 para evaluar el efecto de la concentración y tipo de material de soporte sobre las propiedades termodinámicas del extracto de vainilla homogeneizado sometido a liofilización: 3 tipos de material de soporte a diferentes concentraciones (maltodextrina DE-6, DE-10, y β -ciclodextrina) con dos repeticiones. Como se muestra en la tabla 4.1 las variables de respuesta serán la retención de compuestos aromáticos (vainillina, ácido vainílico, p-hidroxibenzaldehído, ácido p-hidroxibenzoico), actividad de agua (a_w), el color (L, C* y H*), contenido de humedad (% H bs), análisis termogravimétrico y cinéticas de temperatura y pérdida de peso.

TABLA 4.2 Niveles evaluados de los factores de estudio del proceso de liofilización de extracto de vainilla libre de alcohol

Factores de estudio		Concentración del material de soporte
Material de soporte	Maltrodextrina DE-10	1:1 2:1 3:1
	Maltrodextrina DE-6	1:1 2:1 3:1
	β -Ciclodextrina	1:1 2:1 3:1
Sin material de soporte		0:1

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La finalidad de este trabajo fue estudiar el efecto del tipo y concentración de material de soporte sobre las propiedades termodinámicas del extracto de vainilla sometido a liofilización. Se realizaron cinéticas de temperatura para evaluar la temperatura de sublimación y las cinéticas de pérdida de peso, se determinaron también la retención de los 4 componentes aromáticos más importantes y finalmente se realizó el análisis termogravimétrico y se obtuvieron las isothermas de adsorción. Los resultados se presentan a continuación.

5.1 Caracterización del extracto etanólico y evaporado de vainilla.

La composición del extracto de vainilla depende de la calidad y tipo de vaina, así como el método de extracción, las condiciones en que fue almacenado y la edad del extracto (Sinha *et al.*, 2009). El extracto utilizado en este trabajo fue preparado mediante una extracción sólido-líquido a contracorriente en multietapas, con una mezcla de etanol:agua al 60% (v/v) de acuerdo al modelo propuesto por (Castillo-Santos *et al.*, 2016), a partir de vainas beneficiadas con una humedad promedio de 16.27 % bs usando la metodología descrita en la sección 4.4.2, se determinó que el porcentaje de sólidos totales contenido en el extracto etanólico es de 11 %.

Después del proceso de evaporación del alcohol descrito en la sección 5.3, se determinó el porcentaje de sólidos, esta prueba se realizó por triplicado obteniendo un porcentaje de $20\% \pm 0.15$.

5.2 Efecto del tipo y concentración del material de soporte sobre las cinéticas de temperatura y pérdida de peso del extracto de vainilla durante la liofilización.

Un ciclo típico de liofilización consiste en tres pasos, primero la congelación (generalmente entre $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$) en el que el agua cristaliza al máximo junto con algunos componentes sólidos (Fang *et al.*, 2011), segundo, el secado primario, en el

que el hielo formado durante la congelación se elimina por sublimación a presión y temperatura baja, la sublimación del agua tiene lugar a presión y temperatura por debajo del punto triple del agua es decir 4.579 mm Hg y 0.0099 °C (Chien y Yiew, 1981). En el secado secundario, donde el hielo ha sido sublimado por completo, la energía es utilizada para eliminar el agua adsorbida adicional (ligada sin congelar) de los sólidos, esta es el agua que no se separó como hielo durante la congelación, y no se sublimó (Oetjen y Haseley, 2004; Pikal *et al.*, 1990). En las figuras 5.1-5.3 A podemos observar las cinéticas de temperatura durante la liofilización del extracto de vainilla con diferentes materiales de soporte a distintas relaciones MS: SE, se puede apreciar un periodo en el cual la temperatura permanece constante, siendo este comportamiento más evidente para la relación 3:1 (material de soporte: sólidos de extracto de vainilla). Márquez y Freire (2007) reportan este comportamiento durante la etapa del secado primario. En la tabla 5.1 se pueden observar los tiempos en que cada uno de los extractos alcanzó la temperatura de 0 ° C. El extracto sin material de soporte fue el que tuvo un tiempo menor de la etapa de secado primario. A medida que la concentración de material de soporte aumenta, el tiempo en llegar al fin de la sublimación aumentó, esto podría ser debido a la difusividad térmica de cada material. Castro *et al.* (1986) reportan la difusividad de diferentes productos alimenticios, y se puede observar que la difusividad térmica del azúcar ($D= 1.126 \times 10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$), es mayor comparada con la de otros productos (camote en puré $D= 1.05 \times 10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$; manzana en puré $D= 1.06 \times 10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$), por lo que esto podría explicar la rápida evolución de la temperatura del extracto puro del cual se ha reportado que contiene 10 % de azúcares, constituido por el 8.0 % sacarosa, 1.5 % glucosa y 0.5 % fructosa (Odoux y Grisoni, 2011) con respecto a la de los extractos con diferentes proporciones de material de soporte. Pavlovic *et al.* (2013) reportan que la difusividad térmica está relacionada con la estructura molecular y el estado del polímero. Teniendo en cuenta que una alta difusividad permitirá que un material alcance un estado de equilibrio rápidamente.

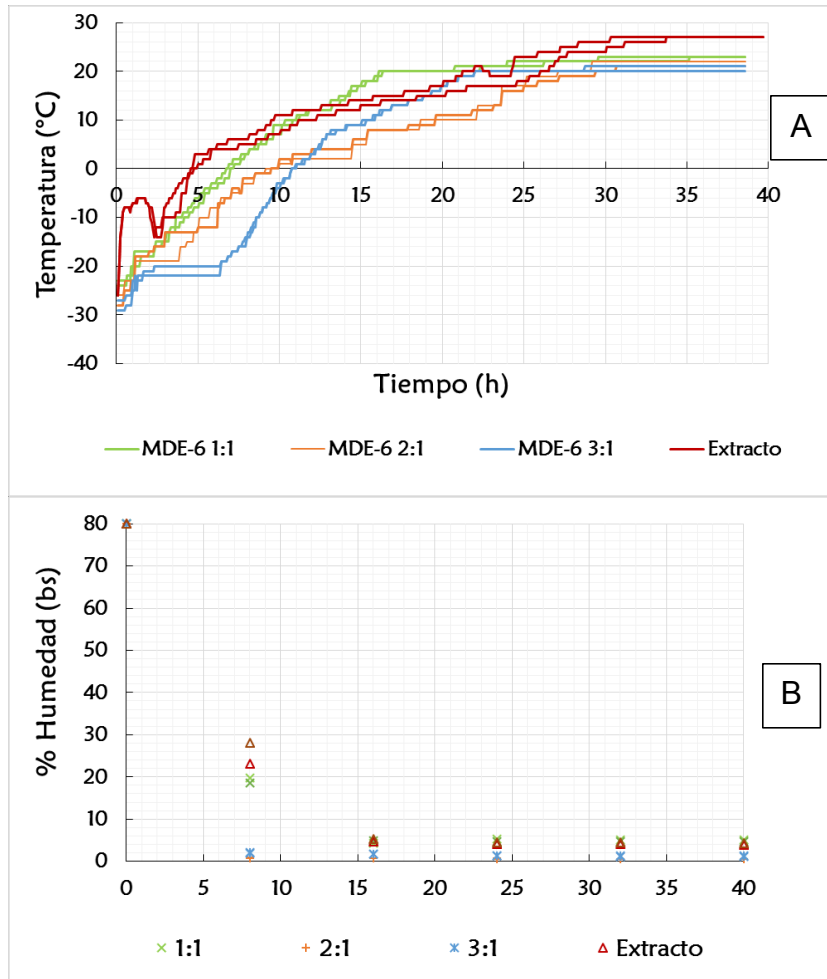


FIGURA 5.1 Cinética de temperatura y humedad durante la liofilización del extracto de vainilla con maltodextrina DE-6 diferentes relaciones (maltodextrina: sólidos de extracto).

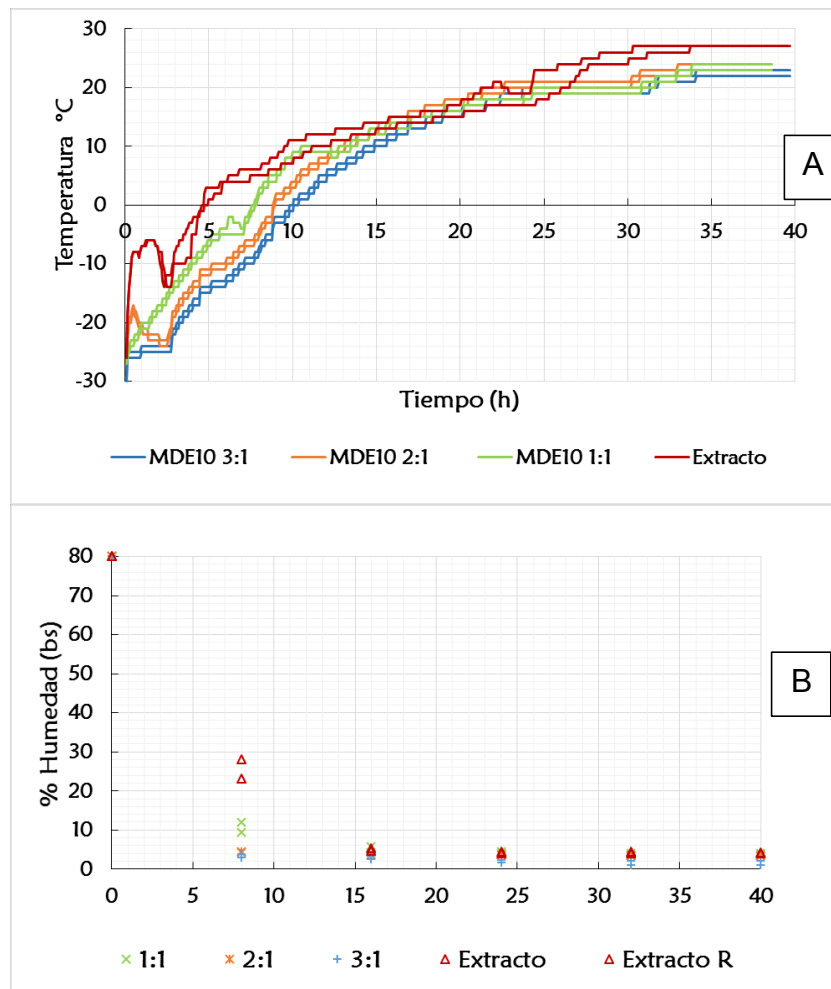


FIGURA 5.2 Cinética de temperatura y humedad durante la liofilización del extracto de vainilla con maltodextrina DE-10 diferentes relaciones (maltodextrina: sólidos de extracto).

Con respecto a las cinéticas de humedad se observa en la figura 5.1-5.3 B que el extracto sin material de soporte presentó una menor tasa de pérdida de humedad, con respecto a las diferentes concentraciones mostrando el efecto del uso del material de soporte. Wang y Brennan, (1992) mencionan que la sublimación del hielo comienza desde la superficie de la muestra hacia el fondo, así que el vapor sublimado se elimina por difusión a través de las capas porosas, dado que la difusividad está relacionada

con el tamaño de poro, que impide la transferencia de masa de vapor a través de la capa seca.

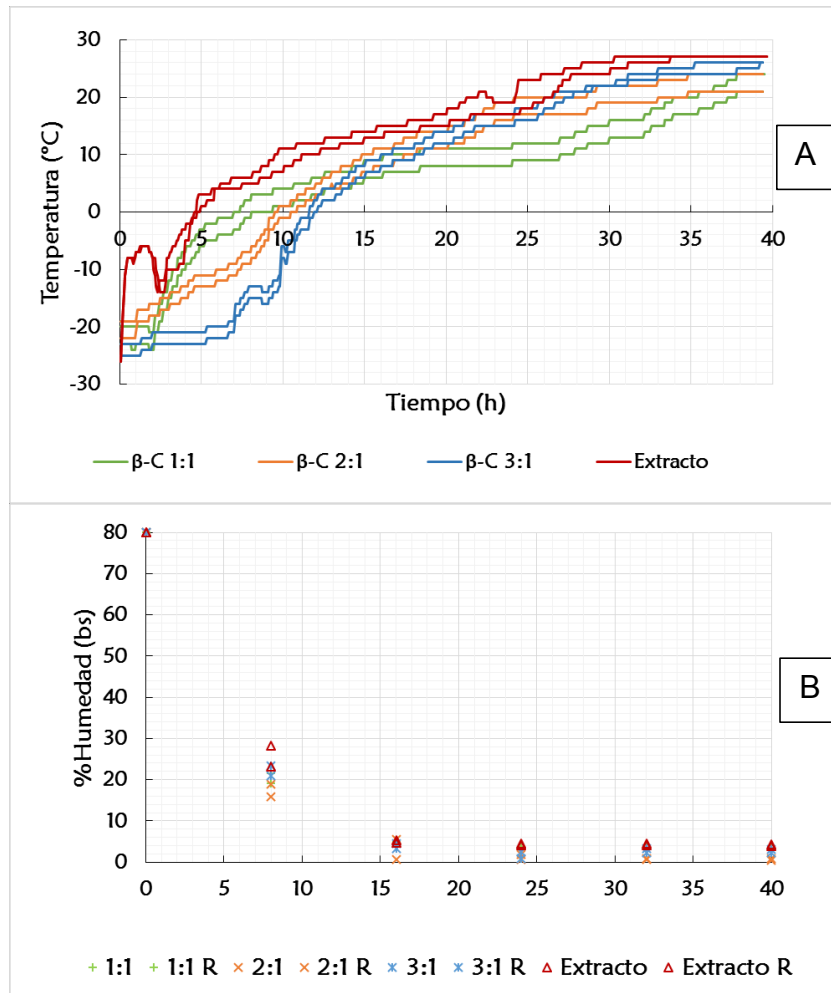


FIGURA 5.3 Cinética de temperatura y humedad durante la liofilización del extracto de vainilla con β -ciclodextrina a diferentes relaciones (β -ciclodextrina: sólidos de extracto).

TABLA 5.1 Tiempo en que el extracto de vainilla con y sin soporte alcanza 0 °C durante la liofilización.

Factores de estudio		[MS:SE]	Tiempo (h)
MS	β-C	1:1	7.535±0.176
		2:1	10.33±0.820
		3:1	11.25±0.353
	MDE-10	1:1	7.70±0.063
		2:1	8.87±0.056
		3:1	9.94±0.155
	MDE-6	1:1	7.12±0.054
		2:1	9.90±0.07
		3:1	10.74±0.014
Extracto	S/MS	0:1	4.80±0.31

5.3 Efecto del tipo y concentración del material de soporte sobre el espacio de color del extracto de vainilla

Las mediciones de color se realizaron 1 hora después que fueron liofilizadas, en la tabla 5.2. Podemos observar el espacio de color de los polvos obtenidos sin y con material de soporte. Uno de los principales atractivos sensoriales es el color, el cual es un factor de calidad importante para los alimentos secos, lo ideal es que el color de los productos alimenticios no se modifique después de la producción. Los resultados mostraron que el material de soporte tiene efecto significativo sobre el color (L, a * y b *) del extracto de vainilla liofilizado.

TABLA 5.2 Efecto del tipo y concentración del material de soporte sobre el espacio de color del extracto de vainilla

Factores de estudio		[MS:SE]	L	a*	b*	Hue	Croma
MS	β-C	1:1	58.4 ^{A,b}	7.50 ^{B,a}	21.28 ^{B,a}	70.56 ^{A,b}	22.57 ^{B,b}
		2:1	64.28 ^{A,a}	5.24 ^{A,b}	17.2 ^{B,b}	75.89 ^{A,a}	20.31 ^{B,a}
		3:1	65.71 ^{A,a}	4.80 ^{A,b}	19.28 ^{B,a}	76.60 ^{A,a}	17.98 ^{B,a}
	MDE-10	1:1	51.01 ^{AB,b}	8.62 ^{AB,a}	26.98 ^{A,a}	72.07 ^{A,b}	28.35 ^{A,a}
		2:1	46.53 ^{AB,a}	6.29 ^{A,b}	25.06 ^{A,a}	75.89 ^{A,a}	25.84 ^{A,b}
		3:1	61.83 ^{AB,a}	5.35 ^{A,b}	22.48 ^{A,b}	76.60 ^{A,a}	23.12 ^{A,c}
	MDE-6	1:1	49.13 ^{B,a}	9.95 ^{A,a}	26.14 ^{A,a}	68.86 ^{A,a}	28.03 ^{A,a}
		2:1	56.30 ^{B,b}	7.34 ^{A,a}	23.3 ^{A,a}	72.56 ^{A,a}	24.47 ^{A,a}
		3:1	63.23 ^{B,c}	6.12 ^{A,a}	21.70 ^{A,a}	74.46 ^{A,a}	22.58 ^{A,a}
Extracto	S/MS	0:1	35.82	13.55	20.16	55.98	24.30

Los valores que comparten letras del alfabeto (mayúscula: efecto del tipo de material de soporte, minúscula: efecto de la concentración) no son significativamente diferentes ($p < 0.05$) unos de otros. Los valores presentados son las medias de los duplicados.

Los parámetros de color del extracto de vainilla liofilizado se muestran en la Tabla 5.2. Los resultados mostraron que un aumento en la concentración del material de soporte, provoca un aumento en la luminosidad, es decir, el color de los polvos liofilizados se volvió más claro, pero los valores que identifican el amarillo (+ b), disminuyeron, lo que representa una disminución del tono café. Esto coincide con lo

observado por Grabowski *et al.* (2006) en el secado por aspersión de jugo de pitahaya usando diferentes concentraciones de maltodextrina.

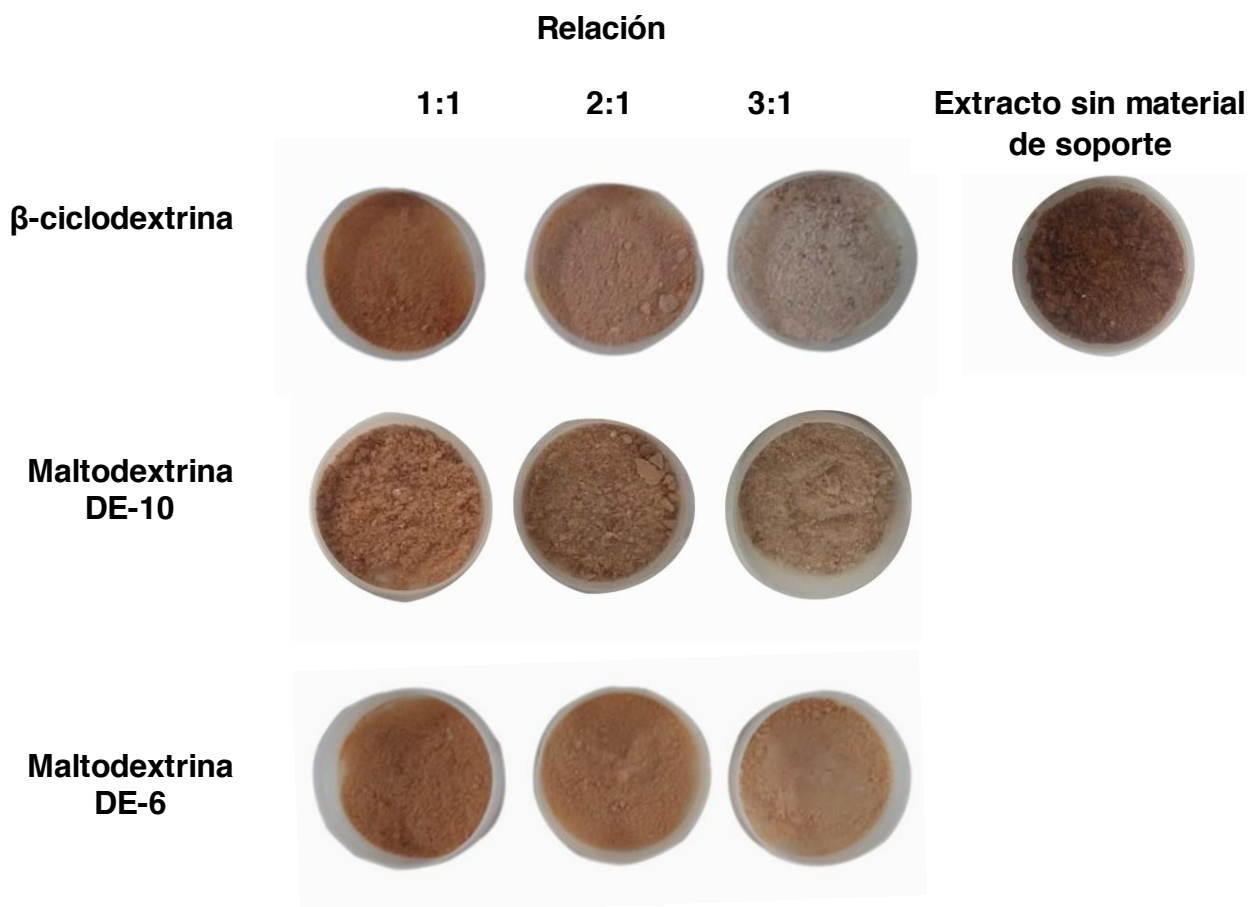


FIGURA 5.4 Color del extracto de vainilla liofilizado con distintos materiales de soporte

5.4 Efecto del tipo y concentración del material de soporte sobre las propiedades térmicas del extracto de vainilla liofilizado sin alcohol

El análisis termogravimétrico es una técnica precisa, la cual determina la temperatura de descomposición y el comportamiento durante el almacenamiento de los materiales poliméricos (Liu *et al.*, 2010). En las figuras 5.5-5.7, se presentan las etapas de pérdida de peso del extracto de vainilla liofilizado, con diferentes materiales

de soporte maltodextrina DE-10, maltodextrina DE-6 y β -ciclodextrina, respectivamente.

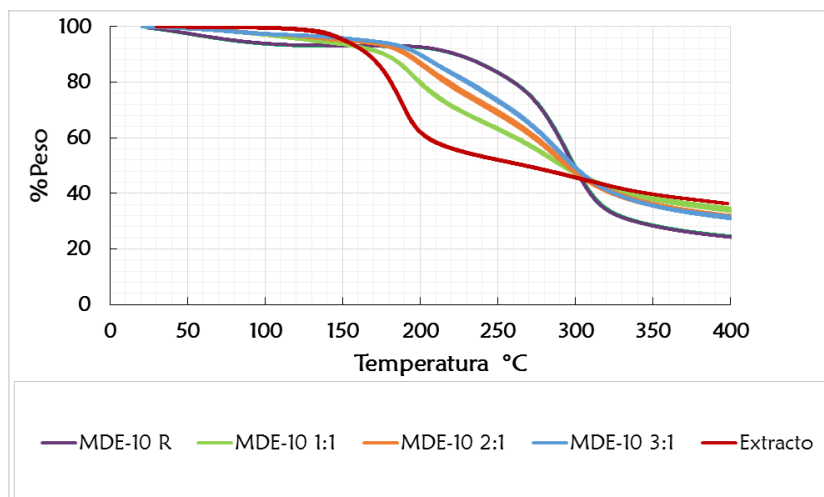


FIGURA 5.5 Etapas de descomposición del polvo de vainilla liofilizado con maltodextrina DE-10 como material de soporte (maltodextrina: sólidos de extracto).

Los tres materiales de soporte puros mostraron una primera etapa de pérdida de peso (rango de temperatura de 24 a 127 °C) asociada a la deshidratación, estos datos se encuentran dentro del rango mencionado por otros autores (Castro *et al.*, 2016; Saavedra-Leos *et al.*, 2012). La segunda etapa de pérdida de peso corresponde a la región donde se producen las reacciones de descomposición, donde se observó la mayor pérdida de peso de las muestras, la descomposición de la maltodextrina DE-10 empezó a los 225 °C, mientras que para la MDE-6 esta etapa inicia a una temperatura más alta (279 °C), lo cual podría ser debido a su equivalente de dextrosa, a menor equivalente de dextrosa mayor peso molecular debido a sus cadenas más largas resultado de la hidrólisis parcial del almidón. En el caso de la β -ciclodextrina la degradación inicio 289 °C, lo cual corresponde a lo reportado por otros autores (Trotta *et al.*, 2000; Zarif *et al.*, 2012). Mientras que la temperatura de descomposición del extracto de vainilla liofilizado con soporte varió según la relación, a mayor concentración de material de soporte se observa que la temperatura de degradación aumentó con respecto al extracto sin material, el cual presentó una temperatura de

degradación de 130 °C. Esto podría ser debido a la capa protectora que confiere cada material. En la tabla 5.3 podemos observar el rango de temperatura de la etapa de descomposición a diferentes relaciones. Como se puede observar, las maltodextrinas presentaron una etapa de degradación, mientras que la β -ciclodextrina presentó dos etapas de degradación, esto coincide con lo reportado por Abarca *et al.* (2015).

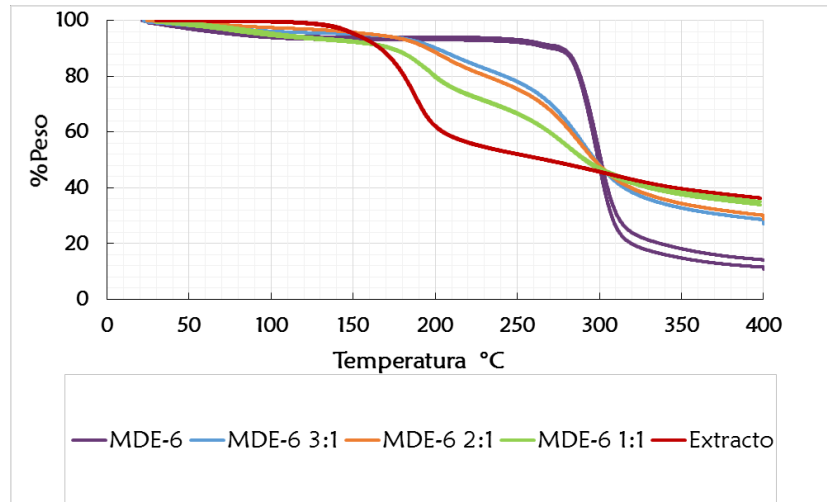


FIGURA 5.6 Etapas de descomposición del polvo de vainilla liofilizado con maltodextrina DE-6 como material de soporte (maltodextrina: sólidos de extracto).

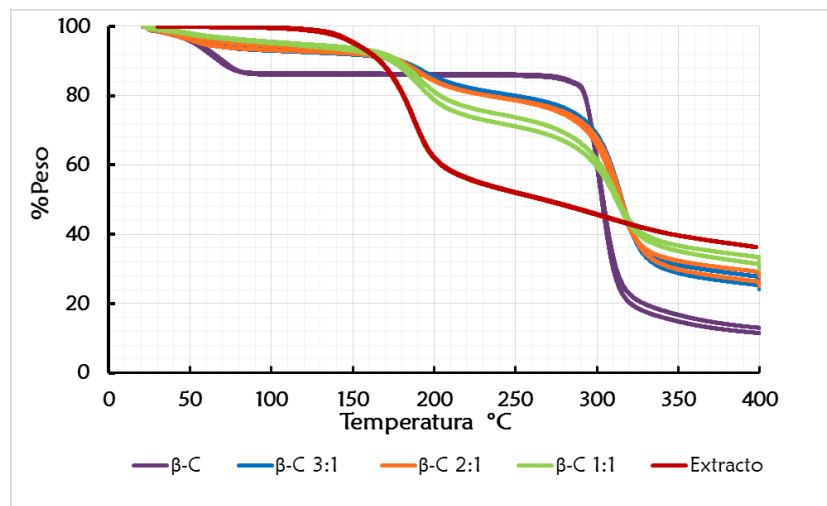


FIGURA 5.7 Etapas de descomposición del polvo de vainilla liofilizado con β -ciclodextrina como material de soporte (β -ciclodextrina: sólidos de extracto).

TABLA 5.3 Efecto del tipo y concentración del material de soporte sobre las propiedades termicas del extracto de vainilla liofilizado sin alcohol.

Factores de estudio		[MS:S]	1er etapa de degradación (°C)	2da etapa de degradación (°C)
MS	MDE-6	1:0	211.8±0.098	*
		1:1	181.1±0.063	*
		2:1	196.23±0.056	*
		3:1	197.43±0.042	*
	MDE-10	1:0	280±0.098	*
		1:1	179.6±0.063	*
		2:1	183.6±0.056	*
		3:1	186.2±0.042	*
	β-C	1:0	289.0±0.44	*
		1:1	177.52±0.53	288.54±1.18
		2:1	179.5±0.13	291.86±0.21
		3:1	181.16±0.36	293.61±0.61
EV	S/MS	0:1	130±.56	*

5.5 Efecto del material de soporte en la retención de los principales compuestos aromáticos del extracto de vainilla liofilizado.

En la Tabla 5.4 se presentan los resultados de la retención de los compuestos aromáticos al emplear como material de soporte maltodextrina DE-6, maltodextrina DE-10 y β-ciclodextrina, así como el extracto de vainilla sin material de soporte (EV). Para determinar la influencia del tipo y concentración del material de soporte sobre la retención, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y test de Tukey con un nivel de significancia del 5%.

5.5.1. Efecto de la concentración y tipo de material de soporte

Como se puede observar en la tabla 5.4 la retención de los compuestos aromáticos aumenta al aumentar la concentración del material de soporte, esto podría

ser debido al recubrimiento que brinda cada material. Aguirre-Alonso (2016) reporta retenciones por arriba del 80% para los compuestos aromáticos totales utilizando maltodextrina DE-10 como material de pared secando por aspersión. En el presente trabajo, se reportan retenciones por encima del 90% y hasta 30% más de retención con respecto al extracto sin material de soporte, lo que muestra la importancia del uso de materiales de pared. Comparando los resultados obtenidos con Aguirre-Alonso (2016), podemos observar un aumento en el rendimiento de los compuestos aromáticos en el polvo de vainilla liofilizado, esto debido a que este proceso evita la degradación por calor y por reacciones de oxidación.

Con respecto al uso de las maltodextrinas en la tabla 5.4 se observa que la maltodextrina DE-10 presentó mayor retención para el p-hidroxibenzaldehído el cual tiene un peso molecular menor con respecto a los otros tres compuestos aromáticos, esto podría estar asociado a los complejos supramoleculares que forman los compuestos fenólicos con la maltodextrina, mientras que la maltodextrina DE-6 mostró mayor retención con los compuestos aromáticos de mayor peso molecular, esto coincide con lo reportado por Da rosa *et al.* (2008). La β -ciclodextrina mostró mayor retención en comparación con las maltodextrinas esto podría ser debido a que es un oligosacárido cíclico que forma una estructura similar a una corona que da como resultado una cavidad hidrófoba que puede atrapar una molécula en su interior, este conjunto está estabilizado por fuerzas débiles de van de Waals de modo que el complejo es reversible (Lauren *et al.*, 2011).

TABLA 5.4 Retención de los compuestos aromáticos del extracto de vainilla con diferentes materiales de soporte y distintas relaciones después del proceso de liofilización

Factores de estudio		[MS:S]	p-hidroxibenzaldehído (%)	Vainillina (%)	Ácido p-hidroxibenzoico (%)	Ácido vainílico (%)
MS	MDE-6	1:1	72.6 ^{B,c}	92.92 ^{A,b}	66.58 ^{A,b}	78.16 ^{B,c}
		2:1	80.15 ^{C,b}	94.72 ^{B,ab}	90.90 ^{B,a}	94.51 ^{A,b}
		3:1	90.01 ^{A,a}	96.23 ^{C,a}	92.75 ^{B,a}	92.98 ^{A,a}
	MDE-10	1:1	83.84 ^{A,c}	72.99 ^{C,c}	65.09 ^{A,b}	72.87 ^{B,b}
		2:1	87.25 ^{B,b}	83.91 ^{C,b}	86.45 ^{C,a}	95.90 ^{A,a}
		3:1	98.40 ^{A,a}	97.34 ^{B,a}	89.29 ^{B,a}	96.94 ^{A,a}
	β-C	1:1	88.14 ^{A,c}	77.60 ^{B,c}	72.51 ^{A,b}	85.83 ^{A,b}
		2:1	91.98 ^{A,b}	97.99 ^{A,b}	92.44 ^{A,a}	93.79 ^{A,a}
		3:1	98.75 ^{A,a}	98.78 ^{A,a}	98.39 ^{A,a}	94.20 ^{A,a}
EV	S/MS	0:1	69.78	70.8	65.78	71.90

Los valores que comparten letras del alfabeto (mayúscula: efecto del tipo de material de soporte, minúscula: efecto de la concentración) no son significativamente diferentes ($p < 0.05$) unos de otros. Los valores presentados son las medias de los duplicados.

5.6 Efecto del tipo y concentración de soporte sobre las isotermas de adsorción del extracto de vainilla liofilizado.

La obtención de las propiedades físicas de los polvos de extracto de vainilla nos muestra el comportamiento durante el almacenamiento, la manipulación y el procesamiento.

a_w en que el extracto de vainilla se licua.

- Extracto sin soporte
- Relación 1:1
- Relación 2:1
- Relación 3:1

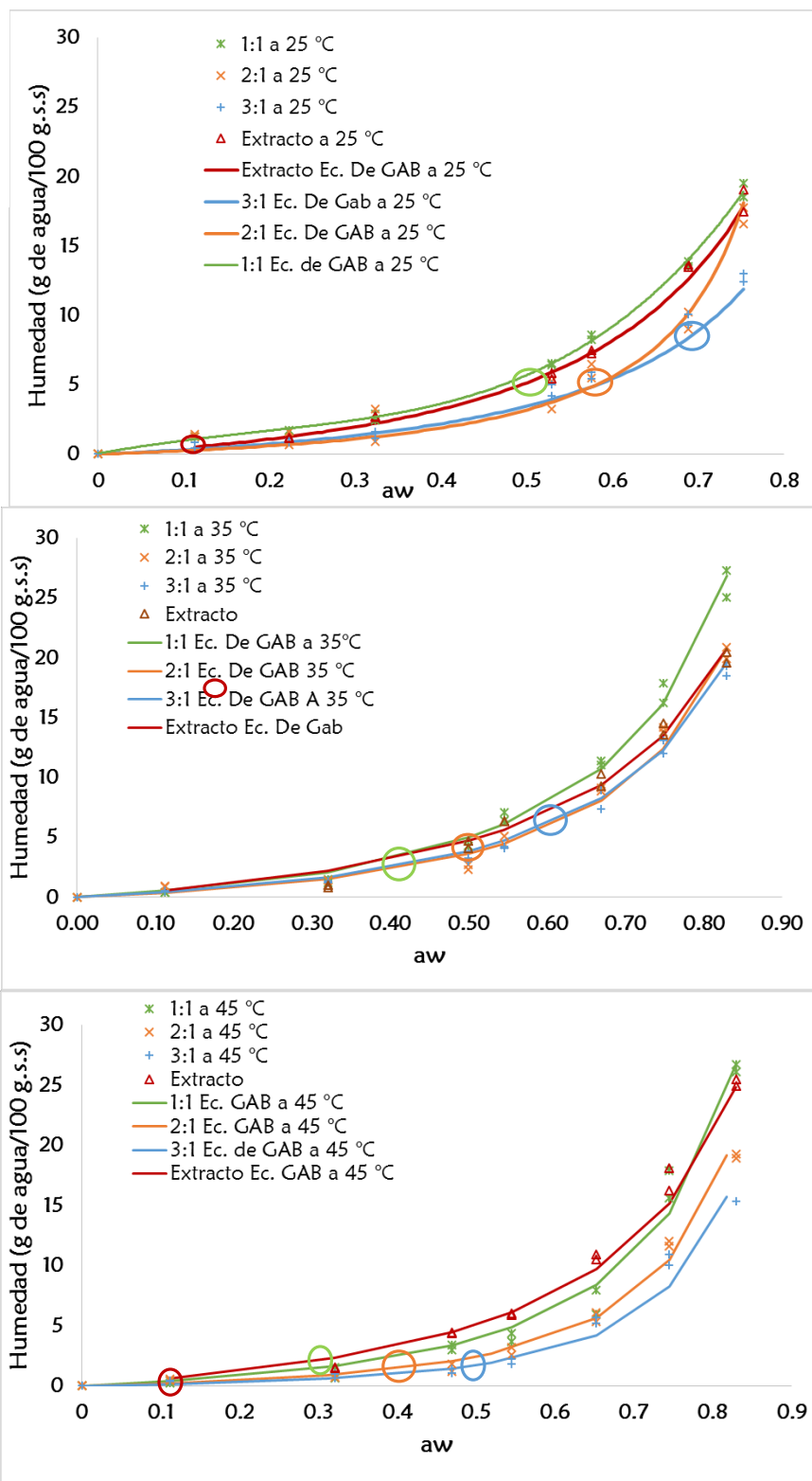


FIGURA 5.8 Isothermas de adsorción usando MDE-6 como material de soporte

Con la isoterma de adsorción obtenemos la capacidad del extracto de vainilla liofilizado para adsorber agua cuando se coloca en atmósferas a temperatura controlada. La presencia de agua en un polvo puede afectar significativamente su capacidad de fluidez y propiedades de apelmazamiento. Para muchos alimentos en polvo, existe un valor de humedad relativa (humedad relativa crítica) a una temperatura dada por encima de la cual el polvo se apelmazará, y esto generalmente es muy perjudicial para su fluidez (Teunow, Fitzpatrick y Synnot, 1999). En las figuras (5.8-5.11) se presentan las isotermas de adsorción del extracto de vainilla liofilizado, con diferentes materiales de soporte y distintas relaciones.

Se observan isotermas tipo III, "forma J", características de los alimentos con alto contenido de azúcar. Se pudo ver que pequeñas cantidades de agua se sorbían en actividades de agua baja, esto podría ser debido a que los sólidos extraídos de la vainilla tienen propiedades coligativas muy fuertes con el agua, manifestándose como licuefacción de los extractos a a_w 's en las cercanías de 0.3.

Los resultados para ajustar los datos experimentales obtenidos al modelo de GAB se muestran en las tablas (5.5.-5.7). Los datos obtenidos mostraron un coeficiente de regresión (r^2) cercano a 1 lo que indica un buen ajuste. El ajuste al modelo de GAB mostró un E_{rp} menor en comparación con el modelo de BET esto debido a que este modelo ajusta los valores de a_w dentro de un intervalo limitado (0 a 0.4), no obstante, el concepto de valor de monocapa de BET se acepta como referencia del contenido de humedad de mayor estabilidad para alimentos secos. La constante C muestra también la característica de la isoterma. Podemos observar que los valores de C son menores que 10, si $C < 10$, la isoterma es del tipo III para el azúcar y los productos con grandes cantidades de azúcar. Si $C > 10$, la isoterma es de tipo II (Medeiros *et al.*, 2005). También observamos que la medida de K fue menor a 1 lo que representa la medida de la diferencia de entalpia libre (potencial químico estándar).

La adición del soporte presentó propiedades mecánicas (menor pegajosidad y apelmazamiento) que hacen el producto más funcional. Las isotermas de adsorción mostraron que los sólidos del extracto de vainilla presentaron una alta solubilidad, aun en a_w bajas se licuan, lo que indica la necesidad de usar materiales de soporte.

TABLA 5.5 Parámetros de la ecuación de GAB ajustados al extracto de vainilla liofilizado utilizando MDE-6 como material de soporte.

MDE-6 RELACIÓN 1:1				
Modelo		25 °C	35 °C	45 °C
GAB	Xm	6.028	6.1273	5.957
	C	0.9128	0.7154	0.4618
	k	1.0094	0.9936	1.0144
	r ²	0.9989	0.9950	0.9972
	%E	10.024	16.6013	12.2971
MDE-6 RELACIÓN 2:1				
Modelo		25 °C	35 °C	45 °C
GAB	Xm	3.0143	5.8921	5.3517
	C	0.5975	0.4848	0.2644
	k	1.1523	0.9754	1.0259
	r ²	0.9961	.98963	0.9960
	%E	20.644	20.825	20.022
MDE-6 3:1				
Modelo		25°C	35°C	45°C
GAB	Xm	5.511	6.0307	7.8228
	C	0.5408	0.5512	0.1183
	k	0.9792	0.9544	1.0072
	r ²	0.99751	0.9956	0.9830
	%E	12.4380	14.2337	31.9946

En la figura 5.9 se observan las isotermas de adsorción del extracto sin material de soporte, se observó que aun en a_w de agua bajas, los polvos se licuan y esto podría

ser debido a que los sólidos del extracto de vainilla presentaron una alta solubilidad lo indica la necesidad de usar materiales de soporte.

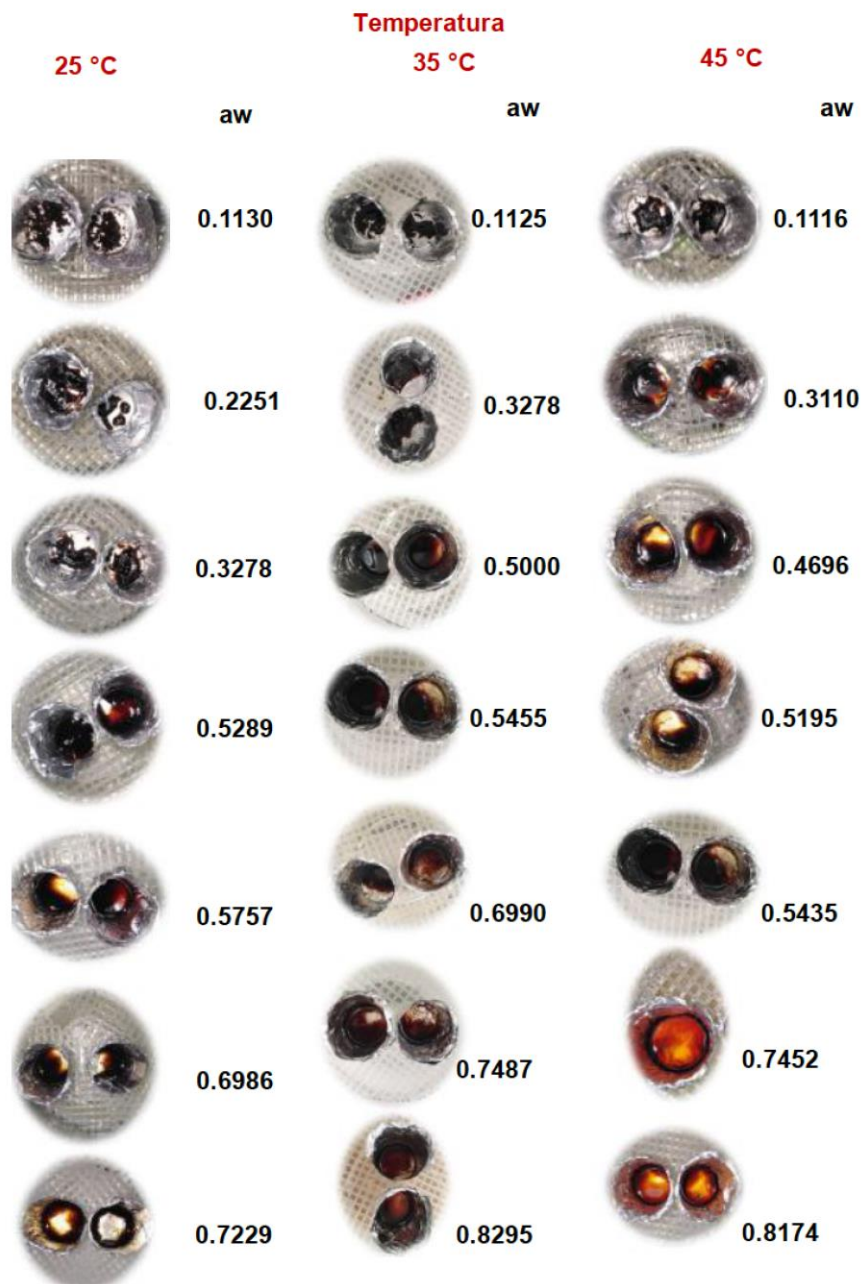


FIGURA 5.9 Extracto de vainilla liofilizado a 25 °C, 35 °C y 45 °C y diferentes aw.

a_w en que el extracto de vainilla se licua.

- Extracto sin soporte
- Relación 1:1
- Relación 2:1
- Relación 3:1

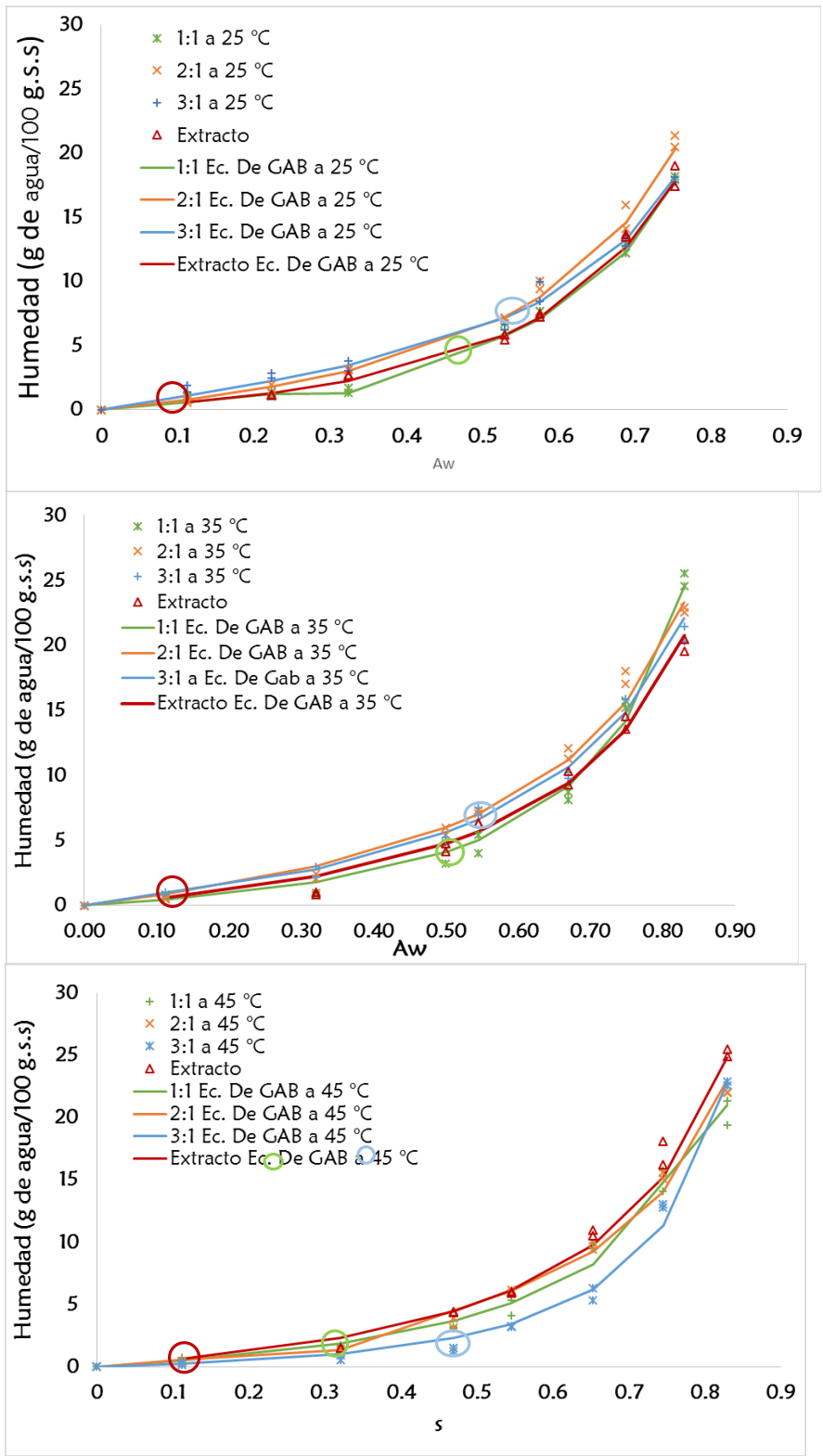


FIGURA 5.10 Isothermas de adsorción utilizando MDE-10 como material de soporte

TABLA 5.6 Parámetros de la ecuación de GAB ajustados al extracto de vainilla liofilizado utilizando MDE-10 como material de soporte.

MDE-10 RELACIÓN 3:1				
Modelo	Constantes	25 °C	35 °C	45 °C
GAB	Xm	5.541	4.0825	4.311
	C	2.0085	1.0669	0.0785
	k	1.0371	0.9424	0.7993
	r ²	0.9992	0.9944	0.9955
	%E	7.6036	7.6379	12.270
MDE-10 RELACIÓN 2:1				
Modelo		25 °C	35 °C	45 °C
GAB	Xm	7.1183	5.8049	5.9875
	C	0.8323	1.2782	0.8089
	k	0.9958	0.9560	0.9593
	r ²	0.9985	0.9953	0.9938
	%E	9.4959	11.1951	9.5994
MDE-10 1:1				
Modelo		25°C	35°C	45°C
GAB	Xm	5.1815	5.727	5.6041
	C	0.8060	0.5583	0.2830
	k	1.0412	0.9992	1.0233
	r ²	0.9924	0.9967	0.9936
	%E	9.3542	14.2585	10.8206

a_w en que el extracto de vainilla se licua.

- Extracto sin soporte
- Relación 1:1
- Relación 2:1
- Relación 3:1

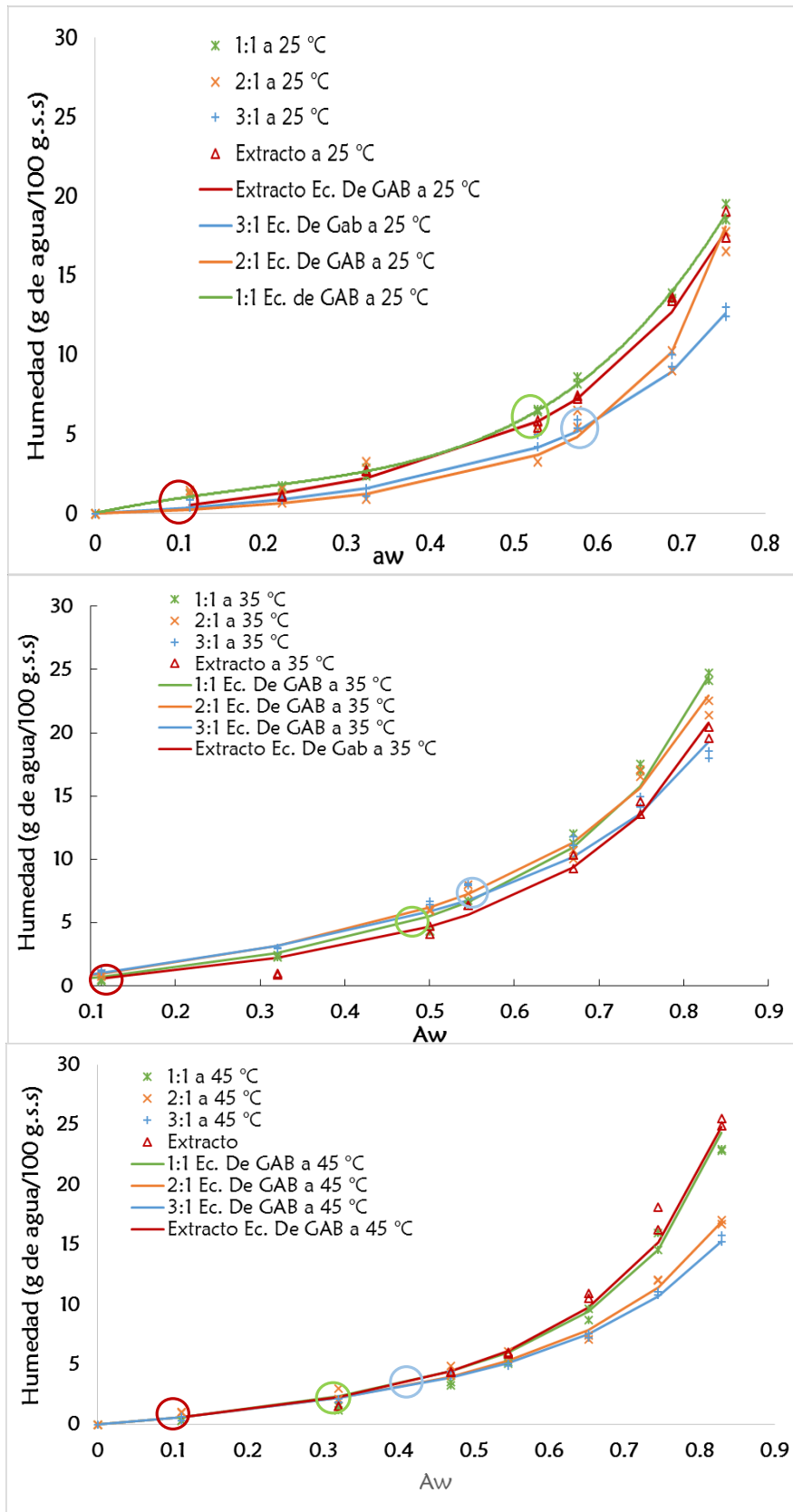


FIGURA 5.11 Isothermas de adsorción utilizando β -ciclodextrina como material de soporte

TABLA 5.7 Parámetros de la ecuación de GAB ajustados al extracto de vainilla liofilizado utilizando MDE-6 como material de soporte.

β -CICLODEXTRINA RELACIÓN 1:1				
Modelo		25 °C	35 °C	45 °C
GAB	Xm	4.1602	6.0625	5
	C	1.2495	0.9490	1
	k	1.1163	0.9682	1
	r ²	9.971	9.942	9.904
	%E			
β -CICLODEXTRINA RELACIÓN 2:1				
Modelo		25 °C	35 °C	45 °C
GAB	Xm	5.7529	5.8431	5.2962
	C	1.6844	1.4028	0.9881
	k	0.9714	0.9480	0.9179
	r ²	6.2234	7.6978	11.3456
	%E			
β -CICLODEXTRINA RELACIÓN 3:1				
Modelo		25°C	35°C	45°C
GAB	Xm	5.5948	5.0381	5.2307
	C	3.9806	1.8766	1.0662
	k	0.8687	0.9326	0.8939
	r ²	1.3123	3.9157	0.4679
	%E	4.73489	12.9956	8.5439

6 CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos a partir de las cinéticas de liofilización complementados con las isotermas de sorción muestran que los sólidos extraídos de la vainilla tienen propiedades coligativas muy fuertes con el agua, manifestándose como licuefacción de los extractos a a_w 's en las cercanías de 0.3 y temperaturas mayores a 0 °C durante la liofilización, cuando aún existe pérdida de peso. La naturaleza química de los sólidos es por lo tanto desconocida y fuera de los objetivos de esta tesis, pero indican la necesidad de utilizar materiales de soporte para los extractos secos. Las maltodextrinas y la β -ciclodextrina disminuyeron las relaciones coligativas con el agua, haciendo los sólidos obtenidos más manejables; además de aumentar la retención de los compuestos volátiles. La aplicación de MDE-10 y la B-ciclodextrina (en todas sus concentraciones) resultaron en aumentos de retención de vainillina, alcanzando hasta un 98 %. El análisis termogravimétrico demuestra que el extracto liofilizado sin material de pared es degradado rápidamente, mientras que todos los demás adicionados con material de pared muestran una mayor estabilidad térmica, siendo la relación 2:1 con β -ciclodextrina la que presenta una mayor estabilidad a los efectos de degradación térmica. La adición del soporte hace el producto más funcional. Las isotermas de adsorción mostraron que los sólidos del extracto de vainilla presentaron una alta solubilidad, aun en a_w bajas se licuan, lo que indica la necesidad de usar materiales de soporte.

7 BIBLIOGRAFIA

- Aguilera, J.M. (2003). Solid-liquid extraction. In: Tzia, C. y Liadakis, G. Extraction optimization in food engineering. Edition by Atenas Marcel Dekker, Inc. p. 35-55.
- Aguirre-Alonso, R.O. (2016). Optimización térmica del secado por aspersion de extracto etanólico de vainilla en ciclo cerrado. Veracruz, México: Tesis de Doctorado. Instituto Tecnológico de Veracruz.
- Al-Muhtaseb, A. H., McMinn, W. A. M., & Magee, T. R. A. (2004). Water sorption isotherms of starch powders: Part 1: Mathematical description of experimental data. *J. Food Eng.* **61**(3):297-307.
- AOAC. (2006). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.
- AOAC. (2005). Official Methods of Analysis AOAC International: AOAC International.
- Bartnick DD, Mohler CM, Giel TH. 2005. Method for the production of natural botanical extracts. US Patent 20,050,074,519.
- Bettazzi F, Palchetti I, Sisalli S, Mascini M. (2006). A disposable electrochemical sensor for vanillin detection. *Anal. Chim. Acta.* **555**(1):134-138.
- Bott, R.F., Labuza, T.P. y Oliveira, W.P. (2010). Stability testing of spray-and spouted bed-dried extracts of *Passiflora alata*. *Dry Technol.* **28**(11):1255-1265.
- Boyce, M.C., Haddad, P.R. and Sostaric, T. (2003). Determination of flavour components in natural vanilla extracts and synthetic flavourings by mixed micellar electrokinetic capillary chromatography. *Anal. Chim. Acta.* **485**(2): 179-186.
- Brányik, T., Silva, D. P., Baszczyński, M., Lehnert, R., & e Silva, J. B. A. (2012). A review of methods of low alcohol and alcohol-free beer production. *J. Food Eng.* **108**(4): 493-506.

- Bruneton, J., (1991). Elementos de Fitoquímica y da Farmacognosia. Editora Acribia, Zaragoza. p.594.
- Castillo-Santos, K., Aguirre-Alonso, R.O., Rodríguez-Jimenes, G.C., Robles-Olvera, V.J., Salgado- Cervantes, M.A. y García-Alvarado, M.A. (2016). An optimization based algorithm for solving design problems of counter-current multistage batch solid–liquid extractors for complex systems: Application to vanilla extract. *Comput. Aided. Chem. Eng.* **89**: 53-61.
- Castro, N., Durrieu, V., Raynaud, C., & Rouilly, A. (2016). Influence of DE-value on the physicochemical properties of maltodextrin for melt extrusion processes. *Carbohydr polym.* **144**: 464-473.
- Chan, C. H., Yusoff, R., Ngoh, G. C., & Kung, F. W. L. (2011). Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants. *J. Chromatogr. A.* **1218**(37): 6213-6225.
- Chaves, J. S., Da Costa, F. B., & Freitas, L. A. P. D. (2009). Development of enteric coated tablets from spray dried extract of feverfew (*Tanacetum parthenium L.*). *Brazilian. J. Pharm. Sci.* **45**(3): 573-584.
- Chien & Yiew W. (1981) Pharmaceutical Dosage forms: Parenteral Medications. *Indian J. Pharm. Sci.* **35**: 106-118.
- Couto, R. O., Conceição, E. C., Chaul, L. T., Oliveira, E. M., Martins, F. S., Bara, M. T. F., & Paula, J. R. (2012). Spray-dried rosemary extracts: Physicochemical and antioxidant properties. *Food Chem.* **131**(1): 99-105.
- Da Rosa, C. G., Borges, C. D., Zambiasi, R. C., Nunes, M. R., Benvenutti, E. V., da Luz, S. R. & Rutz, J. K. (2013). Microencapsulation of gallic acid in chitosan, β -cyclodextrin and xanthan. *Ind. Crop. Prod.* **46**:138-146.
- Dignum, M. J. W., Kerler, J., & Verpoorte, R (2001). Vainilla production: technological, chemical, and biosynthetic aspects. *Food Rev. Int.* **17**(2): 119-20.

- Dignum, M. J. W., Kerler, J., & Verpoorte, R (2002). Vainilla curing under laboratory conditions. *Food Chem.* **79**(2): 165-171.
- Espinosa, J. A. R., & Toro, P. C. D. (2011). Obtención de Vainillina a Partir de la Lignina de la Guadua. *Scientia et Technica*, **2**(48): 305-309.
- Fang, Z., & Bhandari, B. (2011). Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. *Food Chem.* **129**(3): 1139-1147.
- Fazaeli, M., Emam-Djomeh, Z., Kalbasi-Ahstari, A., & Omid, M. (2012). Effect of process conditions and carrier concentration for improving drying yield and other quality attributes of spray dried black mulberry (*Morus nigra*) juice. *Int. J. Food Eng.* **8**(1): 1-20.
- Fenema, R. Owen. (1996). Food Chemistry. Editor Owen R. Fennema. University of Wisconsin-Madison. Third Edition. Marcel Dekker, Inc.
- Fernández, M.P.R., Gracia, I., de Lucas, A. y Rodríguez, J.F. (2012). Extraction of *Capsicum annum* Oleoresin by Maceration and Ultrasound-Assisted Extraction: Influence of Parameters and Process Modeling. *J. Food Process Eng.* **36**(3): 343-352.
- Food and Drugs Administration (FDA). 2005. Food Dressing and Flavorings. Code of Federal Regulations **21**:543-548.
- Fongin S., Kawai K., Harnkarnsujarit N., Hagura Y. (2017) Effects of water and maltodextrin on the glass transition temperature of freeze-dried mango pulp and an empirical model to predict plasticizing effect of water on dried fruits. *J. Food Eng.* **210**: 91-97.
- Franks F (1998). Freeze-drying of bioproducts: putting principles into practice. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **45**: 221–229.
- García, A. Á., & Carril, E. P. U. (2011). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (biología)*, **2**(3): 17-23.

- García-Bofill, M., Sutton, P. W., Guillén, M., & Álvaro, G. (2019). Enzymatic synthesis of vanillin catalyzed by an eugenol oxidase. *Appl. Catal. A*. **23**:117-117.
- García, M., Díaz, R., Martínez, Y., & Casariego, A. (2010). Effects of chitosan coating on mass transfer during osmotic dehydration of papaya. *Food Res Int.* **43**(6):1656-1660.
- García, Y. G., Reynoso, O. G., & Arellano, J. N. (2005). Potencial del bagazo de agave tequilero para la producción de biopolímeros y carbohidrasas por bacterias celulolíticas y para la obtención de compuestos fenólicos. *e-Gnosis*.(3):10.
- Geankoplis, C. 2010. Procesos de transporte y operaciones unitarias. México: Ed. CECSA.
- 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**(1): 89–93.
- Giordano, F., Novak, C., & Moyano, J. R. (2001). Thermal analysis of cyclodextrins and their inclusion compounds. *Thermochim. Acta* **380**(2): 123-151.
- Göktüş, f., Maskan, m., & Kaya, A. (1998). Sorption isotherms of Turkish delight. *J. of Food Processi. and Pres.* **22**(5): 345-35.
- Hiscox, G. & Hopkins, A. (1972). Recetario Industrial (2th ed.). Barcelona: Gustavo Gili S.A.
- Hromadkova, Z., & Ebringerová, A. (2003). Ultrasonic extraction of plant materials— investigation of hemicellulose release from buckwheat hulls. *Ultrason. Sonochem.* **10**(3): 127-133.
- Hromadkova, Z., Ebringerova, A., & Valachovič, P. (1999). Comparison of classical and ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from *Salvia officinalis L.* *Ultrason. Sonochem.* **5**(4): 163-168.

- Jiang, X., Zhu, T., Kodama, T., Raghunathan, N., Alexeenko, A., & Peroulis, D. (2018). Multi-Point Wireless Temperature Sensing System for Monitoring Pharmaceutical Lyophilization. *Front Chem.* **6**:12-45.
- Kailasapathy k (2002). Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. *Curr. Iss. Intest. Microbiol.* **3**(2): 39-48.
- Kailasapathy k and sureeta bs (2004). Effect of storage on shelf life and viability of freeze-dried and microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium infantis* cultures. *Aust J Dairy Technol.* **59**(3): 204-208.
- Kalogeropoulos, N., Yannakopoulou, K., Gioxari, A., Chiou, A., & Makris, D. P. (2010). Polyphenol characterization and encapsulation in β -cyclodextrin of a flavonoid-rich *Hypericum perforatum* (St John's wort) extract. *Food Sci. Technol.* **43**(6): 882-889.
- Klimes I, Lamparsky D. 1976. Vanilla volátiles a comprehensive analysis. *Int. Flavours Food Additive* **7**:272-291.
- Krokida, M., & Maroulis, Z. (2000). Quality changes during drying of food materials. Pp. 1-44. En Drying technology in agriculture and food sciences, (Ed. Mujumdar A.S.), Science Publishers, Enfield, NH, USA.
- Laine, P., Kylli, P., Heinonen, M., & Jouppila, K. (2008). Storage stability of microencapsulated cloudberry (*Rubus chamaemorus*) phenolics. *J. Agric. Food Chem.* **56**(23): 11251-11261.
- Laurent, T., Kacem, I., Blanchemain, N., Cazaux, F., Neut, C., Hildebrand, H. F., & Martel, B. (2011). Cyclodextrin and maltodextrin finishing of a polypropylene abdominal wall implant for the prolonged delivery of ciprofloxacin. *Acta biomaterialia.* **7**(8): 3141-3149.
- Lippincott, Williams K. Remington. (2000). The Science & practice of pharmacy, Parenteral Preparation, 20th ed, ISE publication, Philadelphia. **1**: 804-819.

- Lieberman HA, Lachman L and Schwartz BJ.(1989) Pharmaceutical dosage form: Parenterals, Marcel Dekker publisher, 1.
- Liu, H., Nakagawa, K., Kato, D. I., Chaudhary, D., & Tadé, M. O. (2011). Enzyme encapsulation in freeze-dried bionanocomposites prepared from chitosan and xanthan gum blend. *Mater Chem Phys.* **129**(1-2): 488-494.
- Mancilla R. T. (1997) Descripción taxonómica de Orquídeas. Puerto Rico.
- Marqués, L. G., Ferreira, M. C., & Freire, J. T. (2007). Freeze-drying of acerola (*Malpighia glabra L.*). *Chem. Eng. Process Intensif.* **46**(5): 451-457.
- Mariezcurrana, M. D., Zavaleta, H. A., Waliszewski, K. N., & Sánchez, V. (2008). The effect of killing conditions on the structural changes in vanilla (*Vanilla planifolia*, Andrews) pods during the curing process. *Int. J. Food Sci. Technol.* **43**(8):1452-1457.
- Medeiros, M. L., Ayrosa, A. M. I. B., de Moraes Pitombo, R. N., & da Silva Lannes, S. C. (2006). Sorption isotherms of cocoa and cupuassu products. *J. Food Eng.* **73**(4): 402-406.
- Meussdoerffer, F. G. (2009). A comprehensive history of beer brewing. Pp. 1-42 Handbook of brewing: Processes, technology, (Ed. H. M. Eßlinger Copyright ©), Wiley-VCH, Weinheim, Alemania.
- Navia, D. P., Aponte, A. A. A., & Castillo, H. S. V. (2013). Determinación de Isotermas de Adsorción de agua en biocompuestos de harina termoplástica y fique. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial.* **11**(1):144-153.
- Neema S, Washkuhn RJ and Brendel RJ. (1997) Excipients and their use in injectable products. *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* **51**(4):166-171.
- Nireesha, G. R., Divya, L., Sowmya, C., Venkateshan, N. N. B. M., Babu, M. N., & Lavakumar, V. (2013). Lyophilization/freeze drying-an review. *Int. J. Novel Trends Pharm. Sci.* **3**(4): 87-98.

- NMX-F-188-SCFI-2012. Extracto natural de vainilla (vainilla spp.), derivado y sustituto especificaciones y métodos de prueba. Secretaria de economía.
- NMX-F-527-1992. Alimentos. Determinación de solidos totales, sólidos disueltos y sólidos en suspensión en agua. Dirección general de normas.
- Ocampo-Salinas, I. O., Jiménez-Aparicio, A., Perea-Flores, M. J., Tapia-Ochoategui, A., Salgado-Cruz, M. P., Jiménez-Martínez, C. & Ortiz, G. D. (2017). Homogeneización a alta presión y mezclas de maltodextrinas para microencapsular extracto de vainilla (*vanilla planifolia*) mediante liofilización. *Rev. Mex. Ing. Quim.* **16**(1):131-146.
- Oetjen, G. W., & Haseley, P. (2004). *Freeze-drying*. John Wiley & Sons.
- Oliveira, W. P., Bott, R. F., & Souza, C. R. (2006). Manufacture of standardized dried extracts from medicinal Brazilian plants. *Dry. Technol.* **24**(4):523-533.
- Paniwnyk, L., Beaufoy, E., Lorimer, J. P., & Mason, T. J. (2001). The extraction of rutin from flower buds of *Sophora japonica*. *Ultrason. Sonochem.* **8**(3):299-301.
- Pavlović, S. S., Stanković, S. B., Popović, D. M., & Poparić, G. B. (2014). Transient thermal response of textile fabrics made of natural and regenerated cellulose fibers. *Polym. Test.* **34**: 97-102.
- Pérez-Silva, A., E. Odoux, P. Brat, F. Ribeyre, G. Rodriguez-Jimenes, V. Robles-Olvera, M.A. Garcia Alvarado and Z. Günata. (2006). GC-MS and GC-olfactometry analysis of aroma compounds in a representative organic aroma extract from cured vanilla (*Vanilla planifolia* G. J) beans. *Food Chem.* **99**(4): 728-735.
- Pikal, M. J., Shah, S., Roy, M. L., & Putman, R. (1990). The secondary drying stage of freeze drying: drying kinetics as a function of temperature and chamber pressure. *Int. J. Pharm.* **60**(3): 203–217.
- Radadive, A. (1992). Vanillin and Related Flavor Compounds in Vanilla Extracts Made from Beans of Various Global Origins. *J. Agr. Food Chem.* **40**(19):1922-1924.

- Ramachandra Rao, S., & Ravishankar, G. A. (2000). Vanilla flavour: production by conventional and biotechnological routes. *J. Sci. Food Agric.* **80**(3):289-304.
- Reineccius G. 1997. Source book of flavours. 2nd ed. New Delhi: CBS Publishers and Distributors, New York: Chapman & Hall, Inc. p. 351-360.
- Remington: The science and practice of pharmacy, 21st ed, Gennaro RA, Lippincott Williams & Wilkins publisher, 2000, 1.
- Rowe T.W. (1971). Machinery and methods in freeze-drying. *Cryobiol.* **8**(2):153-172.
- Rostagno, M. A., Palma, M., & Barroso, C. G. (2003). Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones. *J. Chromatogr. A.* **1012**(2):119-128.
- Ruiz-Rodríguez, A., Carrera, C., Setyaningsih, W., Barbero, G., Ferreiro-González, M., Palma, M., & Barroso, C. (2017). Tryptophan levels during grape ripening: effects of cultural practices. *Molecules* **22**(6): 941.
- Runha, F. P., Cordeiro, D. S., Pereira, C. A. M., Vilegas, J., & Oliveira, W. P. (2001). Production of dry extracts of medicinal Brazilian plants by spouted bed process: development of the process and evaluation of thermal degradation during the drying operation. *Food Bioprod. Process* **79**(3):160-168.
- SAGARPA. (2017). Comité estatal sistema producto Vainilla Puebla, A. C. Estudio de oportunidades de Mercado Internacional para la Vainilla Mexicana.
- Sanchez, V., Baeza, R., Galmarini, M. V., Zamora, M. C., & Chirife, J. (2013). Freeze-drying encapsulation of red wine polyphenols in an amorphous matrix of maltodextrin. *Food Bioproc Tech.* **6**(5):1350-1354.
- Saavedra-Leos, Z., Leyva-Porras, C., Araujo-Díaz, S., Toxqui-Terán, A., & Borrás-Enríquez, A. (2015). Technological application of maltodextrins according to the degree of polymerization. *Molecules* **20**(12): 21067-21081
- Saravacos, G. D., & Charm, S. E. (1962). Effect of surface-active agents on dehydration of fruits and vegetables. *Food Technol.* **16**(1):91.

- Sharma, A., Verma, S. C., Saxena, N., Chadda, N., Singh, N. P., & Sinha, A. K. (2006). Microwave and ultrasound assisted extraction of vanillin and its quantification by high performance liquid chromatography in *Vanilla planifolia*. *J. Sep. Sci.* **29**(5): 613-619.
- SIAP. (2017). Sistema de Informacion Agroalimentaria y Pesquera. Anuario estadístico de la producción agrícola. SAGARPA. Retrieved Diciembre 2013.
- Sinha, A. K., Sharma, U. K., & Sharma, N. (2008). A comprehensive review on vanilla flavor: extraction, isolation and quantification of vanillin and others constituents. *J. Food Sci. Nutr.* **59**(4): 299-326.
- Souza, C. R., & Oliveira, W. P. (2006). Powder properties and system behavior during spray drying of *Bauhinia forficata* link extract. *Dry. Technol.* **24**(6):735-749.
- Sreedhar, R. V., Roohie, K., Venkatachalam, L., Narayan, M. S., & Bhagyalakshmi, N. (2007). Specific pretreatments reduce curing period of vanilla (*Vanilla planifolia*) beans. *J. Agr. Food Chem.* **55**(8): 2947-2955.
- Stolwijk, N. A., Heddier, C., Reschke, M., Wiencierz, M., Bokeloh, J., & Wilde, G. (2013). Salt-concentration dependence of the glass transition temperature in PEO–NaI and PEO–LiTFSI polymer electrolytes. *Macromolecules* **46**(21): 8580-8588.
- Teunow, E. Fitzpatrick, J.J. Synnot, E.C. (1999). Characterization of food powder flowability. *J. Food Eng.* **39**: 31-37.
- Timmermann, E. O., Chirife, J., & Iglesias, H. A. (2001). Water sorption isotherms of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters. *J. Food Eng.* **48**(1):19-31.
- Trotta, F., Zanetti, M., & Camino, G. (2000). Thermal degradation of cyclodextrins. *Polym. Degrad. Stab.* **69**(3): 373-379.
- Tor, A., Aydin, M. E., & Özcan, S. (2006). Ultrasonic solvent extraction of organochlorine pesticides from soil. *Anal. Chim.* **559**(2):173-180.

- Viganó, J., Azuara, E., Telis VRN., Beristain C I., Jiménez, M J., Telis- Romero. (2012). Role of enthalpy and entropy in moisture sorption behavior of pineapple pulp powder produced by different drying methods. *Thermochim. Acta* **528**: 63-71.
- Wang, N., & Brennan, J. G. (1992). Effect of water binding on the drying behaviour of potato. Proceedings of the 8th International Drying Symposium. Montreal, Quebec, Canada. pp 1350-1359.
- Westcott, R. J., Cheetham, P. S. J., & Barraclough, A. J. (1993). Use of organized viable vanilla plant aerial roots for the production of natural vanillin. *Phytochemistry*. **35**(1):135-138.
- Zarif, M. S., Afidah, A. R., Abdullah, J. M., & Shariza, A. R. (2012). Physicochemical characterization of vancomycin and its complexes with-cyclodextrin. *Biomed. Res.* **23**(4): 970-938.

8 APÉNDICES

APENDICE A. Rectas de calibración para cuantificación de compuestos aromáticos principales.

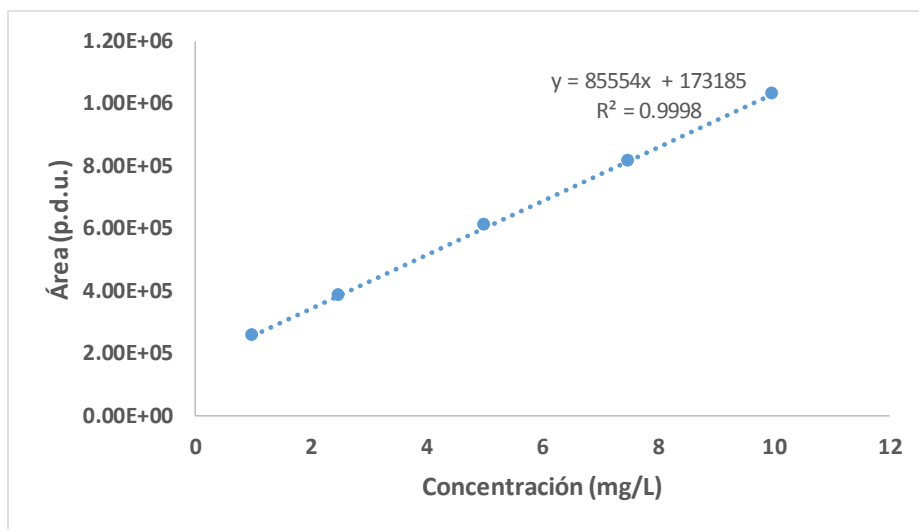


FIGURA 8.1 Curva de calibración de p-hidroxibenzaldehído por UHPLC. Concentración de p-hidroxibenzaldehído (mg/L) versus área de los picos (en unidades definidas por procedimiento, p.d.u. por sus siglas en inglés).

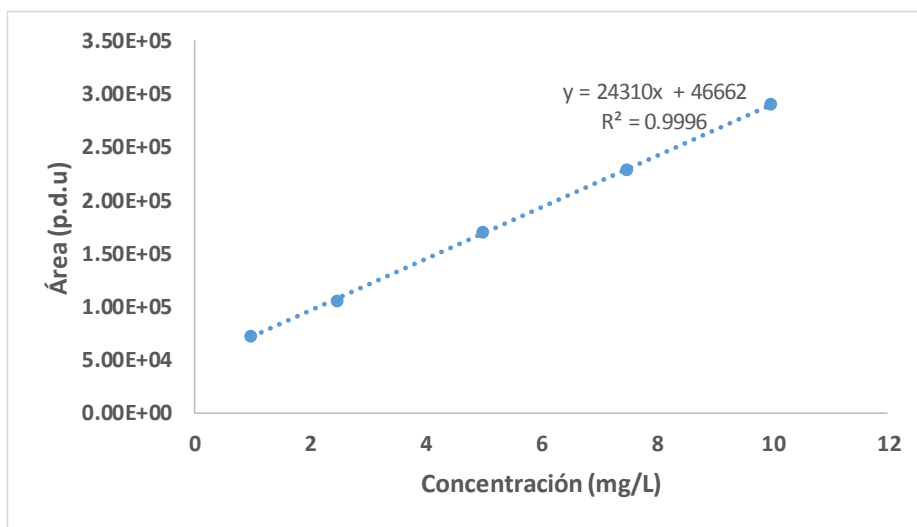


FIGURA 8.2 Curva de calibración de vainillina por UHPLC. Concentración de p-vainillina (mg/L) versus área de los picos (en unidades definidas por procedimiento, p.d.u. por sus siglas en inglés).

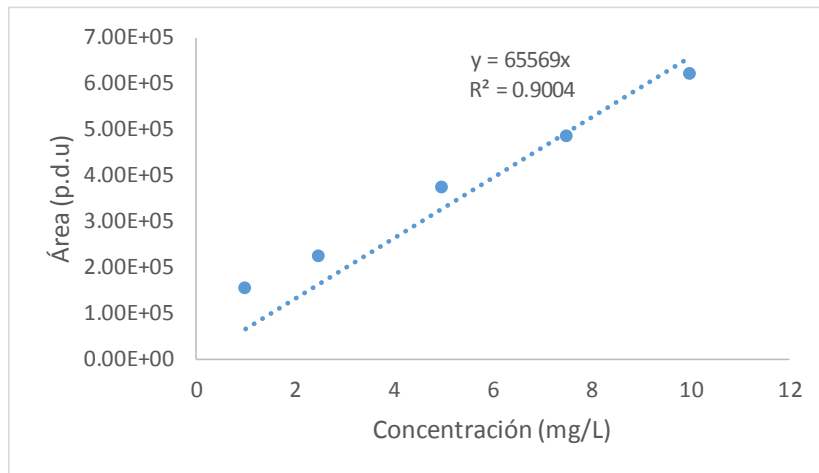


FIGURA 8.3 Curva de calibración de ácido p-hidroxibenzoico por UHPLC. Concentración de ácido p-hidroxibenzoico (mg/L) versus área de los picos(en unidades definidas por procedimiento, p.d.u. por sus siglas en inglés).

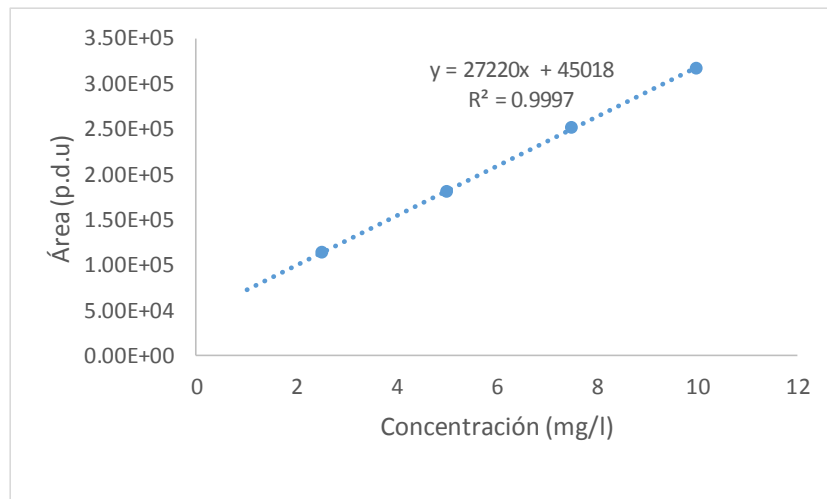


FIGURA 8.4 Curva de calibración de ácido vainillíco por UHPLC. Concentración de ácido vainillíco (mg/L) versus área de los picos (en unidades definidas por procedimiento, p.d.u. por sus siglas en inglés).

