



TLATEMOANI
Revista Académica de Investigación
Editada por Eumed.net
No. 29 – Diciembre 2018
España
ISSN: 19899300
revista.tlatemoani@uaslp.mx

Fecha de recepción: 03 de septiembre de 2018
Fecha de aceptación: 05 de diciembre de 2018

APLICACIÓN DE LA LIOFILIZACIÓN EN LA CONSERVACIÓN DE MICROEMULSIONES USADAS EN ALIMENTOS FUNCIONALES Y NUTRACÉUTICOS: UN CASO DE LA INGENIERÍA EN ALIMENTOS

AUTORES:

ENRIQUE FUENTES PRADO*
enrique.fuentes@uaslp.mx

MARÍA LUISA CARRILLO INUNGARAY*
maluisa@uaslp.mx

.IXCHEL GIJÓN ARREORTÚA**
ixarreortua@gmail.com

ROBERTO MACÍAS PÉREZ*
roberto.macias@uaslp.mx

**Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Universidad Autónoma de Yucatán**

RESUMEN

La liofilización como operación unitaria demanda el doble de energía que el secado convencional. Sin embargo, debido a la secuencia de cambios de estado del agua presente en el material, la liofilización permite un menor daño en la estructura sólida y conserva las propiedades de funcionalidad biológica de los compuestos bioactivos, por lo que su uso en microemulsiones es preferida.

Para la formulación y creación de alimentos funcionales y nutraceuticos, los cuales contienen compuestos bioactivos, se parte de la formación de sistemas dispersos y coloidales, como las microemulsiones. Estos sistemas deben considerar el comportamiento de los componentes durante los cambios producidos en la transferencia de energía y masa en las etapas de la liofilización. Las diferentes variables de operación y las características físicas de las microemulsiones se pueden tomar como variables experimentales, las cuales deben considerar las técnicas e instrumentos de medición más adecuados que brinden información para mejorar el proceso de liofilización.

El objetivo de esta revisión es analizar los factores que se han tomado en consideración para el estudio de los mecanismos de transferencia de calor en la liofilización y que puedan servir como base para la solución de problemas de diseño, adaptación, optimización, simulación y modelación experimental en la operación unitaria de liofilización aplicada en la conservación de microemulsiones de compuestos con actividad biológica.

ABSTRACT

APPLICATION OF LYOPHILIZATION IN THE CONSERVATION OF MICROEMULSIONS USED IN FUNCTIONAL FOODS AND NUTRACEUTICALS: A CASE OF FOOD ENGINEERING

Freeze drying as a unit operation demands twice the energy of conventional drying. However, due to the sequence of changes in the state of the water present in the material, lyophilization allows less damage to the solid structure and retains the biological functionality properties of the bioactive compounds, so its use in microemulsions is preferred.

For the formulation and creation of functional and nutraceutical foods, which contain bioactive compounds, we start from the formation of dispersed and colloidal systems, such as microemulsions. These systems must consider the behavior of the components during the changes produced in the transfer of energy and mass in the stages of lyophilization. The different operating variables and the

physical characteristics of the microemulsions can be taken as experimental variables, which should consider the most appropriate measurement techniques and instruments that provide information to improve the lyophilization process.

The objective of this review is to analyze the factors that have been taken into consideration for the study of heat transfer mechanisms in lyophilization and that can serve as a basis for the solution of design problems, adaptation, optimization, simulation and experimental modeling in the unit operation of lyophilization applied in the conservation of microemulsions of compounds with biological activity.

PALABRAS CLAVE: liofilización, microemulsiones, consumo energético, alimentos funcionales, nutracéuticos, agentes bioactivos

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la Ingeniería en Alimentos involucra la planeación, ejecución y evaluación de diversas actividades que tienen el objetivo general de contribuir al acceso y disponibilidad de alimentos, inocuos, nutritivos y sustentables que satisfagan las necesidades y preferencias alimenticias de los seres humanos (Floros *et al.*, 2010). Para lograr este objetivo en la industria alimentaria predominan las operaciones que implican la elevación o disminución de la temperatura. En procesos de alimentos donde se aplica un calentamiento, se reduce la población microbiana y la cantidad de agua, se inactivan enzimas, y se modifican la funcionalidad de ciertos compuestos, mientras que, si se aplica una disminución de temperatura, la tasa de deterioro de las reacciones químicas y enzimáticas se aminora, además de inhibir el crecimiento microbiano. El Ingeniero en Alimentos debe comprender los mecanismos de transferencia de energía para evitar el procesamiento insuficiente o excesivo de los alimentos (Sepúlveda y Barbosa-Cánovas, 2003).

La nanotecnología y la bioquímica de fitoquímicos, como ciencias de la Ingeniería de los Alimentos han contribuido a la creación de productos alimenticios en los cuales es central la adición de compuestos químicos que produzcan beneficios adicionales a los nutricionales, ejemplo de ello son los alimentos funcionales y los

nutracéuticos (Badui Dergal, 2012) los cuales son adicionados con compuestos que pueden tener efectos benéficos fisiológicos o actividad biológica similar a los fármacos. Los compuestos con actividad biológica (bioactivos) incluyen proteínas, lípidos, fitoesteroles, antioxidantes y vitaminas, entre otros (Abbas *et al.*, 2012). Con la finalidad de proteger la estructura química de los compuestos bioactivos y posibilitar su uso en alimentos conservando su funcionalidad, se realiza investigación, para la creación de sistemas dispersos a una escala nanométrica, que funjan como sistemas de protección e incluso de liberación regulada similar a los existentes en el área farmacéutica y cosmética (Abbas *et al.*, 2012; McClements, 2012).

Las microemulsiones son sistemas dispersos formados por aceite, agua y tensoactivos, su aplicación para la formación de estructuras de protección y de liberación de compuestos bioactivos en alimentos, es poca, ya que requieren de una alta concentración de tensoactivo y son pocos los tensoactivos permitidos como aditivos con los cuales se puedan formar glóbulos emulsionados dentro del intervalo de diámetro característico (de 10 a 100 nm). Son termodinámicamente estables, presentan poca agregación debida a efectos de la gravedad, dispersan débilmente la luz, esto último posibilita su uso en alimentos que requieren conservar sus características ópticas (McClements, 2012), y aumentan la biodisponibilidad y solubilidad de algunos compuestos bioactivos de naturaleza hidrófoba (He y Hwang, 2016; Huang, Yu y Ru, 2010). Su uso en alimentos plantea retos en su formulación, preparación, y en su conservación. Es necesario emplear procesos que permitan la conservación de la estructura de la gota emulsionada y la protección del compuesto bioactivo. Las microemulsiones como sistemas de protección y liberación de compuestos han usado a la liofilización para aumentar la estabilidad a largo plazo de materiales alimenticios sin dañar la estructura química de sus componentes, conservar su bioactividad, así como las microestructuras que forman (Hua *et al.*, 2010).

El principio de la liofilización se basa en la eliminación de agua congelada directamente por sublimación, combinando un proceso de calentamiento y de

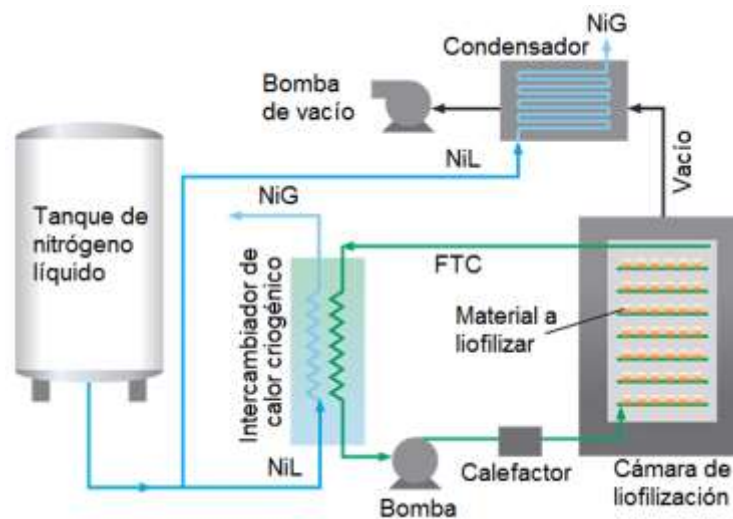
reducción de la presión de aire (Franks, 1998; Hua *et al.*, 2010; Jafar y Farid, 2003). El secado a baja temperatura mantiene los atributos de calidad de los alimentos debido a la mínima pérdida de sabor y aroma, a la contracción insignificante de la estructura y a la ausencia de agua que minimiza la posibilidad de crecimiento microbiano (Jafar y Farid, 2003). En las microemulsiones, mejora la solubilidad y dispersabilidad de los glóbulos emulsionados ante un proceso de rehidratación.

La liofilización se puede abordar desde el enfoque de los fenómenos de transporte como una operación en la cual se presenta una primera etapa (la congelación), en la que se da transferencia de energía, seguida de una etapa (el secado primario), en la que se presenta transferencia simultánea de energía y de masa, para finalizar con una etapa (el secado secundario), en la que se tiene un proceso de desorción de vapor de agua desde la superficie del material procesado. El calor se suministra al material por conducción, radiación o ambos, pero a un ritmo bajo para evitar la fusión local. El tiempo de secado en el laboratorio y los liofilizadores industriales es muy lento, del orden de varias horas en comparación con unas pocas horas en algunos de los otros tipos de secado (Hua *et al.*, 2010; Jafar y Farid, 2003). Aunado a lo anterior, se ha observado que en las microemulsiones liofilizadas al ser redispersadas en agua se pueden presentar aumentos en los diámetros de las gotas emulsionadas (Abdelwahed *et al.*, 2006), lo cual puede estar relacionado con el tamaño de los cristales de hielo formados durante la etapa de congelación (Hua *et al.*, 2010).

Por lo anterior, el objetivo de este documento es exponer una revisión sobre los factores que se han tomado en consideración para el análisis de los mecanismos de transferencia de calor en la liofilización y que puedan servir como base para la solución de problemas de diseño, adaptación, optimización, simulación y modelación experimental en la operación unitaria de liofilización aplicada en la conservación de microemulsiones de compuestos con actividad biológica.

2. El proceso de liofilización

La liofilización ha permitido obtener productos de mayor calidad comparada con el secado, sin embargo, requiere altos costos de operación, de mantenimiento, y presenta un alto consumo de energía. La energía requerida para remover un kilogramo de agua mediante liofilización demanda el doble de energía que el secado (Duan *et al.*, 2016). Un liofilizador está conformado básicamente por: un sistema de congelación y uno de vacío, por una cámara de secado y por un condensador, como muestra la Figura 1. Respectivamente cada uno de estos componentes requieren del 4%, 26%, 45% y 25% del consumo total de energía en un ciclo de liofilización (Ratti, 2001). El tiempo de secado en un liofilizador es muy lento, del orden de varias horas en comparación con otros tipos de secado (Hua, Liu y Zhang, 2010; Jafar y Farid, 2003). Una velocidad de congelación y presiones de vacío inadecuadas durante el ciclo de liofilización son responsables de un producto de mala calidad (Bosca *et al.*, 2017).



FTC: Fluido de intercambio de calor

NiL: Nitrógeno líquido

NiG: Nitrógeno gaseoso

Figura 1. Sistema de liofilización empleando nitrógeno líquido como refrigerante mediante vía un fluido secundario de transferencia de energía (adaptada de Beteta e Ivanova, 2015).

2.1. Etapas del ciclo de liofilización

Un ciclo típico consta de tres etapas: congelación, secado primario y secado secundario (Tang y Pikal, 2004), en cada etapa se miden las diversas variables como muestra la Figura 2.

2.1.1. Congelación

Un adecuado proceso de congelación está relacionado a la velocidad de nucleación y al crecimiento de los cristales, a la proporción de material congelado, y con la temperatura de transición vítrea (T_g) y eutéctica (T_{eu}). En la T_{eu} la mezcla de sólidos cristalinos presenta las mismas propiedades que sus componentes individuales. La T_g representa la temperatura a la cual los materiales amorfos se transforman de un estado viscoso a uno vítreo (Levi y Karel, 1995). Diferentes valores de T_g pueden existir en la misma muestra, y dependen del contenido de humedad (Fissore *et al.*, 2011; Tang y Pikal, 2004). El material amorfo congelado toma la forma sólida (vítrea) conservando la estructura molecular desordenada de un líquido. La T_g y la T_{eu} son importantes debido a la desorganización estructural que ocurre cuando la temperatura del proceso se eleva por encima de estas temperaturas. La congelación rápida conduce a la formación de numerosos cristales de hielo, mientras que la congelación lenta forma cristales grandes y menos numerosos. El área superficial de estos cristales influirá en los pasos adicionales de liofilización (Ingvarsson *et al.*, 2011), a mayor área superficial mayor área de transferencia de masa o de energía. La estructura de la emulsión liofilizada depende de un adecuado proceso de congelación.

El agua forma una compleja red de hielo, puede estar incrustada en estructuras vítreas o permanecer unida dentro de las estructuras intersticiales. La expansión volumétrica del sistema puede inducir tensiones mecánicas que se combinan con el choque osmótico dado por la concentración del fluido intersticial. La formación de cristales de hielo puede provocar la agregación de las gotas emulsionadas (Tang y Pikal, 2004; Wang, 2000) y los cambios de pH debido a la concentración de las sales tampón (Wang, 2000).

Un estado de máxima concentración de material congelado garantiza que la fase no congelada soporte su propio peso y resista el flujo (colapso) durante la

sublimación del hielo. Para la congelación de materiales a liofilizar se ha empleado la producción mecánica de frío, sin embargo, el nitrógeno líquido permite un mejor control del proceso (Beteta e Ivanova, 2015).

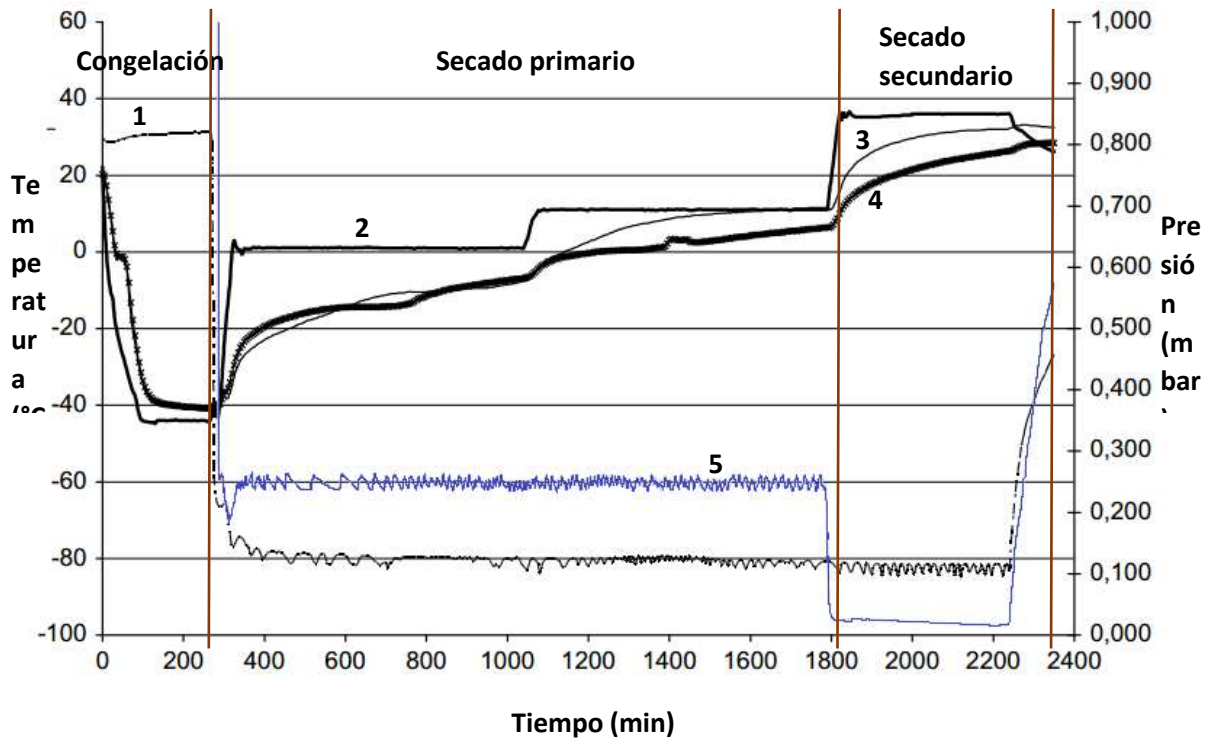


Figura 2. Evolución de los parámetros relevantes durante la operación de un liofilizador: 1 Temperatura del condensador, 2 Temperatura del fluido, 3 Temperatura de un material de menor espesor, 4 Temperatura de un material de mayor espesor y 5 Presión de la cámara (Adaptado de Babic *et al.*, 2009).

2.1.3. Secado primario

En esta etapa se provoca la sublimación del hielo empleando bajas presiones y temperaturas (Tang y Pikal, 2004). La transferencia de energía debe ser a bajas velocidades para evitar la fusión local del hielo en vez de su sublimación. En función del espacio de la cámara de secado y de la forma en que el material a liofilizar entre en contacto con la superficie de secado, el mecanismo predominante puede ser por conducción, radiación o ambos (Jafar y Farid, 2003).

Cuando el principal mecanismo es el de radiación, la liofilización es un proceso controlado por la transferencia de energía. Esto es evidente a partir del mantenimiento de una temperatura de sublimación constante, además de que la resistencia interna a la transferencia de masa es pequeña en comparación con la resistencia interna a la transferencia de energía (Jafar y Farid, 2003).

Las muestras congeladas rápidamente forman pequeños cristales de hielo que dificultan la transferencia de masa de vapor a través de la capa seca, por lo cual el secado principal será largo. Por otro lado, la congelación lenta forma grandes cristales de hielo que facilitan el movimiento del vapor de agua como resultado, el tiempo de secado primario se reduce, pero se produce daño a la estructura. En esta etapa la presión es la fuerza motriz para el transporte del vapor de agua. La presión de la cámara inferior de un liofilizador conduce a una sublimación de hielo más rápida (Ingvarsson *et al.*, 2011). La T_g generalmente aumenta a medida que se elimina el agua. Por lo tanto, con el contenido de humedad más bajo se alcanza el valor más alto de T_g (Fissore *et al.*, 2011; Tang y Pikal, 2004).

La temperatura de colapso (T_c) debe controlarse, ya que marca el cambio de un estado de matriz sólida vítrea a uno amorfo gomoso. La estructura del producto se pierde o daña cuando ocurre el colapso durante el secado primario y esto podría afectar la calidad del producto. Esta temperatura está relacionada con la T_g , aunque una disminución de la viscosidad no puede inducir el colapso; han demostrado que la T_c es pocos grados más alta que la T_g . Por lo tanto, la temperatura de las muestras debe permanecer por debajo de su T_c para evitar estos inconvenientes.

El colapso en la liofilización es el resultado del flujo viscoso por encima de la temperatura inicial de fusión del hielo en un sistema de concentración máxima de material congelado, (T_c) (Roos, 2010). Los materiales liofilizados sin problemas estructurales pueden producirse solo en las condiciones de secado en las que la temperatura del hielo se mantiene más baja que la T_c , normalmente mediante el control de la presión de deshidratación que a su vez determina la temperatura de sublimación del hielo.

2.1.4. Secado secundario

En esta etapa el agua residual se elimina por desorción de la fase de soluto (Wang, 2000) y su objetivo es reducir el contenido de humedad a un nivel óptimo de estabilidad, ya que incluso después de la sublimación durante el secado primario, el producto todavía contiene 10-35% de agua. El factor más importante es el equilibrio de adsorción-desorción de la humedad y el medio poroso. La temperatura y el contenido de humedad deben controlarse para obtener una calidad de producto aceptable. El área de superficie afecta la velocidad de secado (Rey y May, 2004). Las muestras sometidas a congelación rápida producen numerosos cristales pequeños con una gran área de superficie, lo que favorece la desorción del agua durante el secado, así como la reducción de la alteración de la estructura de la bicapa. Sin embargo, con una tasa de congelación lenta, el área superficial del polvo seco es pequeña, perjudicando la desorción del agua, lo que resulta en una velocidad de secado lenta. La rehidratación del producto seco debe ser lentamente debido a su estado anhidro. La rápida adición del agua podría alterar la estructura porosa, provocando el colapso de la matriz del sistema que podría comprometer la calidad del producto (Wang, 2000).

El Cuadro 1 muestra las variables de control, clasificadas por etapa del proceso de liofilización, mencionando las técnicas empleadas para ello, las cuales deben ser precisas, escalables y eficientes para la medición y control de las variables que determinarán las características de calidad del producto liofilizado (Geidobler y Winter, 2013).

2.1.5. Modelado de la transferencia de energía

Para comprender la etapa de secado primario, la cual requiere el mayor tiempo y por lo tanto más energía, se han establecido diversos modelos matemáticos. La transferencia de calor ha sido modelada bajo dos enfoques, el modelo de estado cuasi estacionario, que se basa en ignorar el efecto de calor sensible y el enfoque basado en la resolución de la ecuación transitoria de conducción de calor tanto en la región congelada como en la seca (Jafar y Farid, 2003).

Cuadro 1. Variables empleadas para el diseño de procesos de secado por liofilización			
Etapa	Propiedad física	Técnicas para determinación/control	Impacto en calidad de producto
Congelación	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura de nucleación ² 	<ul style="list-style-type: none"> • Técnica de niebla de hielo¹ • Despresurización¹ • Preenfriamiento de estante¹ • Electrocongelación ¹ • Apagado de temperatura de congelación¹ 	
Secado primario	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura de producto ² • Tiempo de secado ² • Presión ² • Velocidad de sublimación ² • Velocidad de flujo de gas² • Resistencia de producto • Coeficiente de transferencia de calor² 	<ul style="list-style-type: none"> • Medición manométrica de temperatura ² • Medidor pirani ² • Sistemas de control ² • Técnicas espectroscópicas ² • Analizar de gas residual² 	<ul style="list-style-type: none"> • Agua residual • Volumen de sólido • Tiempo de reconstitución • Estabilidad física
Secado secundario	<ul style="list-style-type: none"> • Contenido residual de agua ² • Presión ² • Temperatura de producto ² • Tiempo de secado ² 	<ul style="list-style-type: none"> • Diodo desmontable de espectroscopia de absorción de láser ² 	

Fuente: ¹Geidobler y Winter, 2013; ²Patel *et al.*, 2013.

Se ha supuesto que el secado ocurre a partir de la superficie no calentada del material. Esto implica que el calor debe conducirse a través del material congelado antes de que se absorba en la interfaz de sublimación. Lo anterior comienza desde la superficie de la muestra y continúa hasta el fondo de la sublimación del hielo, de esta forma, el vapor sublimado se elimina por difusión o convección a través de las capas porosas (Jafar y Farid, 2003).

El análisis de estado cuasi estacionario considera dos posibilidades durante liofilización con calentamiento de placas. Una supone que el secado puede ocurrir

a partir de la superficie de calentamiento (Figura 3A), donde la tasa de transferencia de calor se expresa por la Ecuación 1:

$$q = \frac{T_p - T_{sub}}{\frac{Y}{k_{cr}} + \frac{1}{h_c}} = \rho \varepsilon \lambda \frac{dY}{dt} \quad \text{Ec. 1}$$

dónde q es la tasa de transferencia de calor, T_p es la temperatura del plato ($^{\circ}\text{C}$), T_{sub} la temperatura de sublimación ($^{\circ}\text{C}$), Y el espesor de la costra de secado (m), K_{cr} la conductividad térmica de la corteza (W/mK), h_c es el coeficiente de transferencia de calor de contacto ($\text{W/m}^2\text{K}$), ε el contenido de humedad (kg de agua/kg de material) ρ es la densidad (kg/m^3), λ calor latente de sublimación (J/kgK)

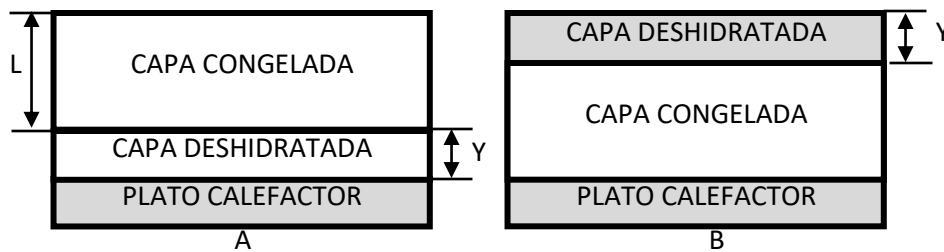


Figura 3. Los dos posibles mecanismos de liofilización con calentamiento de placas (Jafar y Farid, 2003).

El otro mecanismo, supone que el secado ocurre desde la superficie no calentada (Figura 3B). Por lo tanto, el calor debe transferirse a través de la capa congelada a la interfaz de sublimación donde se absorbe. El vapor generado debe fluir a través de la corteza formada y la transferencia de calor y masa puede describirse mediante la Ecuación 2.

$$q = \frac{T_p - T_{sub}}{\frac{(L-Y)}{k_{hielo}} + \frac{1}{h_c}} = \frac{P_{sub} - P_c}{\frac{1}{k_m} + \frac{Y}{\beta_{cr}}} = \rho \varepsilon \lambda \frac{dY}{dt} \quad \text{Ec. 2}$$

dónde L es la tasa de transferencia de calor k_{hielo} es la conductividad térmica del hielo (W/mK), P_{sub} la presión de vapor de agua a la temperatura de sublimación (bar), P_c la presión de vapor de agua a la temperatura del condensador (bar), Y el espesor de la costra de secado (m), β_{cr} la conductividad térmica de la corteza (W/mK).

Si la radiación es el mecanismo dominante se ha propuesto la Ecuación 3 para un estado estacionario:

$$q = \frac{T_p - T_{sub}}{\frac{1}{h_r} + \frac{Y}{k_{cr}}} = \frac{P_{sub} - P_c}{\frac{1}{k_m} + \frac{Y}{\beta_{cr}}} = \rho \varepsilon \lambda \frac{dY}{dt} \quad \text{Ec. 3}$$

Este análisis supone que el calor sensible del material es despreciable en comparación con el calor latente de la sublimación. El calentamiento sensible no representa más del 4% del calentamiento total requerido. En las primeras etapas de secado, la corteza aún no está formada y la ecuación (1) se simplifica a:

$$q = h_r(T_r - T_{sub}) = k_m(P_{sub} - P_c) \quad \text{Ec. 4}$$

Estos modelos han permitido la estimación de la distribución de temperatura durante la liofilización. Además, ofrecen información sobre el mecanismo de secado que ocurre desde la superficie del material, para determinar qué proceso de transferencia es el predominante (Jafar y Farid, 2013).

3. Microemulsiones

Las microemulsiones son sistemas dispersos formados por aceite, agua y tensoactivos, estables termodinámicamente (McClements, 2012), se presentan como soluciones transparentes isotrópicas, con un intervalo de tamaños de partícula dispersada de 5 a 100 nm y surgen del autoensamblaje espontáneo de las partes hidrofóbicas o hidrofílicas del tensoactivo empleado en su formulación (Flanagan y Singh, 2006). Por la importancia de la funcionalidad de los

compuestos bioactivos, se ha incrementado la investigación sobre el uso de sistemas dispersos para crear estructuras específicas que los protejan y además permitan su liberación (Abbas *et al.*, 2012). Las microemulsiones se han empleado en tecnología de alimentos para producir partículas a escala nanométrica que sirvan como sistemas de liberación de compuestos bioactivos, estas sufren poca agregación debida a efectos de la gravedad, además dispersan débilmente las longitudes de onda de entre 380 y 780 nm, posibilitando su uso en alimentos que requieren conservar sus características ópticas (McClements, 2012). El Cuadro 2 resume las propiedades de las microemulsiones comparadas con otros sistemas emulsionados.

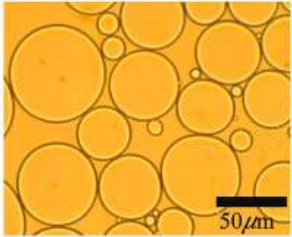
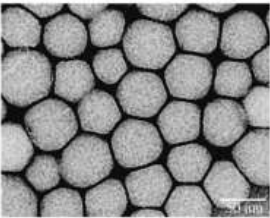
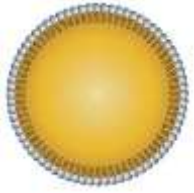
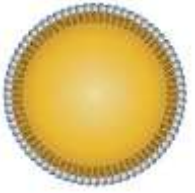

3.1. El efecto de parámetros relacionados a las microemulsiones sobre la liofilización

Un producto liofilizado aceptable debe tener las mismas propiedades físicas y químicas que el sistema antes de someterse al proceso. Para lograr esto, es importante analizar todos los parámetros que podrían influir en el producto liofilizado final (Rey y May, 2004).

La formulación influye en cuán estable será el sistema frente al estrés impuesto por las etapas del proceso. Los parámetros más importantes son (1) la naturaleza de los surfactantes, debido a las diferentes interacciones que pueden tener con los bioactivos y los crioprotectores, así como los diferentes reordenamientos que ocurren durante la liofilización y la rehidratación; (2) las características de solubilidad y reparto del bioactivo que determinarán si puede romperse la capa de tensoactivo y provocar la pérdida del compuesto bioactivo durante los procesos de liofilización y reconstitución; y (3) el tipo y la concentración de crioprotectores, ya que tienen diferentes mecanismos de protección y ejercen su mejor actividad protectora en concentraciones específicas (Chen *et al.*, 2010).

Efecto de los crioprotectores

Los crioprotectores son compuestos usados para prevenir las tensiones que ocurren entre las bicapas de lípidos formadas por dos distintas gotas emulsionadas durante los pasos de congelación y secado que pueden conducir a daños físicos y químicos. El crioprotector ideal causaría un estrés mínimo al sistema y proporcionaría una protección total durante el proceso (Abdelwahed *et al.*, 2006a).

Cuadro 2. Propiedades de las microemulsiones comparadas con otros sistemas emulsionados, de mayor uso en alimentos.			
	Macroemulsión	Nanoemulsión	Microemulsión
Aspecto microscópico (microscopio óptico)			
Estructura de gota emulsionada			
Tamaño	100 μm	20-500 nm	10- 100 nm
Forma	Esférica	Esférica	Esférica, lamelar
Tensoactivos comúnmente empleados	Proteínas Polisacáridos Tensoactivos de bajo peso molecular	Tensoactivos de bajo peso molecular	Tensoactivos de bajo peso molecular
Estabilidad	Termodinámicamente inestables, débilmente estables cinéticamente	Termodinámicamente inestables, estables cinéticamente	Termodinámicamente estables
Método de preparación	Métodos de baja y alta energía	Métodos de alta y baja energía	Métodos de baja energía
Polidispersidad	Frecuentemente alta (>40%)	Típicamente baja (<10-20%)	Típicamente baja (<10%)
Fuente: Gupta <i>et al.</i>, 2016.			

A partir de la congelación del agua, las gotas altamente concentradas pueden comenzar a agregarse y fusionarse irreversiblemente, lo que lleva a la desestabilización del sistema. Sin embargo, en presencia de crioprotectores, se

puede evitar este daño durante la congelación. A una velocidad lenta de congelación, el crioprotector puede migrar al líquido de fase concentrada y evitar la agregación de gotitas. Este mecanismo no puede ocurrir durante la congelación rápida, cuando los crioprotectores no tienen suficiente tiempo para difundirse por completo, lo que produce una redispersión deficiente. Sin embargo, la adición de una cantidad adecuada de crioprotectores a una alta tasa de congelación puede mejorarlos problemas (Lee *et al.*, 2009). La adición de crioprotectores puede disminuir la interacción entre las cadenas de hidrocarburos del tensoactivo, evitando la desestabilización, ya que puede aumentar la distancia entre estas cadenas debido a su intercalación entre los lípidos. Por lo tanto, las fuerzas de atracción de van der Waals se reducen, reduciendo la temperatura de la transición de fase (Ingvarsson *et al.*, 2011).

La concentración ideal de crioprotector depende de otros factores además de la composición del sistema, como la velocidad de enfriamiento y la temperatura de congelación (Sussich *et al.*, 2001). Los crioprotectores para sistemas emulsionados son trehalosa, sacarosa, maltosa, glucosa y manitol, que tienen propiedades químicas similares (Tabla 1).

Efecto de los tensoactivos

La eliminación de agua durante las etapas de secado causa la transición de fase del tensoactivo totalmente hidratado del líquido a la fase de gel. El espaciamiento de los grupos de la cabeza hidrófila entre los tensoactivos disminuye, lo que resulta en un aumento en la temperatura de transición de fase debido a interacciones más fuertes de van der Waals (Koster *et al.*, 2000). Sin embargo, durante la rehidratación, hay otra transición de fase de tensoactivos del gel a la fase líquida, que conduce a una transposición transitoria de los mismos, que puede causar la agregación; esta es la razón más importante para la fuga de compuestos bioactivos.

3.2. Caracterización de un producto liofilizado

El Cuadro 3 resume las diferentes técnicas empleadas para monitorear el proceso de liofilización enfocándose en las características del proceso más que en las condiciones de procesamiento. La caracterización de los sistemas liofilizados es importante para verificar si el procedimiento ha sido exitoso y si se ha producido una matriz congelada, parcialmente liofilizada o completamente liofilizada. Es necesario evaluar si el proceso no ha modificado las propiedades de la muestra. Además, estos métodos de caracterización se pueden usar para validar las condiciones de proceso óptimas, así como la formulación optimizada.

Cuadro 3. Técnicas para la caracterización de los materiales procesados agrupadas por etapa de la liofilización		
Etapa	Propiedad física	Técnicas para determinación/control
Congelación	<ul style="list-style-type: none"> • Nucleación • Cristalización ² 	<ul style="list-style-type: none"> • Calorimetría diferencial de barrido • Microscopía de liofilización • Difracción de rayos X
Secado primario (Parcialmente congelado/parcialmente secado)	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura de transición vítrea (T_g) ² • Temperatura de colapso (T_c) ² • Sublimación ² 	<ul style="list-style-type: none"> • Calorimetría diferencial de barrido • Microscopía de liofilización • Infrarrojo cercano <i>in-situ</i> • RAMAN <i>in-situ</i>
Secado secundario (Seco)	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura de transición vítrea • Sorción/desorción de agua 	<ul style="list-style-type: none"> • Calorimetría diferencial de barrido • Sorción dinámica de vapor
Producto liofilizado	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura de transición vítrea • Agua residual • Área superficial específica • Cristalinidad • Morfología de liofilizado • Velocidad de sorción de agua (relajación α y β) • Densidad 	<ul style="list-style-type: none"> • Calorimetría diferencial de barrido • Karl Fisher • Infrarrojo cercano • Isotermas de sorción modelo de BET • Difracción de rayos X • Microscopía de barrido electrónico • Sorción dinámica de vapor • Monitoreo de actividad térmica • Dispersión de neutrones • Picnómetro de helio
Fuente: ¹ Geidobler y Winter, 2013; ² Patel, Lobo y Shah, 2013.		

Las mejoras en la liofilización incluyen optimizar la transferencia de energía durante la congelación y la etapa de sublimación, lograr un menor tiempo de secado para la reducción de los requerimientos de vacío y evitar el uso de un condensador como sistema de recuperación del agua sublimada (Ratti, 2001).

Algunos métodos propuestos para optimizar esta operación incluyen el método de calidad por diseño, superficies de respuestas y modelado de la escala de tiempo que consigan un bajo consumo de energía sin el menoscabo de la calidad del producto liofilizado (Duan *et al.*, 2016).

CONCLUSIONES

En la literatura existen diversos enfoques empleados para buscar la optimización de las diferentes etapas de la liofilización con la finalidad de disminuir el tiempo sobre todo del secado primario que es la etapa con un mayor consumo de energía. Sin embargo, la etapa de congelación es determinante para las características finales del producto liofilizado pues la formación de tamaños de cristales de un mayor tamaño afecta la estructura y puede llevar a la pérdida del compuesto bioactivo, a consecuencia del rompimiento de la estructura de la gota microemulsionada.

La liofilización aplicada a microemulsiones que sirvan como contenedores de compuestos bioactivos requiere considerar en el proceso de optimización las características estructurales y el comportamiento de cada uno de los componentes de la emulsión (tensoactivos, crioprotectores y fase oleosa), ya que son determinantes para la calidad del producto y finalmente condicionan también la operación de un liofilizador.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abbas. S., Da Wei, C., Hayat, K., Xiaoming, Z. (2012). Ascorbic Acid: Microencapsulation Techniques and Trends—A Review, *Food Reviews International*, 28:4, 343-374.
2. Abdelwahed, W., Degobert, G., Stainmesse, S., Fessi, H. (2006). Freeze-drying of nanoparticles: formulation: process and storage considerations. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 58, 1688–1713
3. Aguilera, J. M. (2002). Structure and Food Engineering. En *Engineering and Food for the 21st Century*. Weltri-Chanes, J., Barbosa-Cánovas, G. V., Aguilera, J. M. (eds) Boca Raton: CRC Press.

4. Babic, J., Cantalejo, M. J., Arroqui, C. (2009). The effects of freeze-drying process parameters on Broiler chicken breast meat. *LWT - Food Science and Technology*, 42(2009) 1325–1334.
5. Badui Dergal, S. (2012) La ciencia de los alimentos en la práctica. México: Pearson Educación
6. Beteta, O., Ivanova, S. (2015). Cool down with liquid nitrogen. *CEP Magazine*. [En línea] <https://www.aische.org>.
7. Burton, L. V. (1937). Importance of the unit operation concept in food engineering. *Journal of Food Science* (3):1-2, 79-89.
8. Duan, X., Yang, X., Ren, G., Pang, Y., Liu, L., Liu, Y. (2016). Technical aspects in freeze-drying of foods. *Drying Technology*, 34(11) 1271–1285.
9. Flanagan, J., Singh, H. (2006). Microemulsions: A potential Delivery System for bioactives in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46:3, 221-237.
10. Floros, J. D., Newsome, R., Fisher, W., Barbosa-Cánovas, G. V., Chen, H., Dunne, C. P., German, J. B., Hall, R. L., Heldman, D. R., Karwe, M.V., Knabel, S. J., Labuza, T. P., Lund, D. B., Newell-McGloughlin, M., Robinson, J. L., Sebranek, J. G., Shewfelt, R. L., Tracy, W. F., Weaver, C. N., Ziegler, G. R. (2010). Feeding the World Today and Tomorrow: The Importance of Food Science and Technology. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 0, 1-28. doi: 10.1111/j.1541-4337.2010.00127.x
11. Franks, F. (1998). Freeze-drying of bioproducts: putting principles into practice. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 45, 221–229.
12. Geidobler, R., Winter, G. (2013). Controlled ice nucleation in the field of freeze-drying: Fundamentals and technology review. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 85 (2013) 214–222.
13. Gupta, A. A., Eral, H. B., Hatton, T A., Doyle, P. S. (2016). Nanoemulsions: formation, properties and applications. *Soft Matter*. DOI: 10.1039/c5sm02958a
14. He, X., Hwang, H. (2016). Nanotechnology in food science: Functionality, applicability, and safety assessment. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24 (2016)671-681.
15. Huang, Q., Yu, H., Ru, Q. (2010). Bioavailability and Delivery of Nutraceuticals Using Nanotechnology. *Journal of Food Science*, 75(1) R50-R57.
16. Ibarz, A., Barbosa-Cánovas, G. V. (2003). Unit Operations in Food Engineering. Boca Raton: CRC Press.

17. Ingvarsson, P.T., Yang, M., Nielsen, H.M., Rantanen, J., Foged, C. (2011). Stabilization of liposomes during drying. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 8, 375–388.
 18. Jafar, F., Farid, M. (2003). Analysis of Heat and Mass Transfer in Freeze Drying, *Drying Technology*, 21:2, 249-263,
 19. McClements, D. J. (2012). Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *Soft Matter*, 2012, 8, 1719–1729.
 20. Ratti, C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. *Journal of Food Engineering*, 49 (2001) 311-319.
 21. Rey, L. (1999). Glimpses into the Realm of Freeze-Drying: Classical Issues and New Ventures. En *Freeze-Drying/Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products*. Rey, L., May, J. C. (eds.) New York: Marcel Dekker.
 22. Sepúlveda, D. R., Barbosa-Cánovas, G.V. (2003). 2 Heat Transfer in Food Products. En *Transport phenomena in food processing* Welti-Chanes, J. y Vélez-Ruiz, J. F. (eds.) Boca Raton: CRC Press.
 23. Shahidi, F. (2009). Nutraceuticals and functional foods: whole versus processed foods. *Trends in Food Science & Technology*, 20 (2009) 376-387.
 24. Bosca, S., Fissore, D., Demichela, M. (2017). Reliability Assessment in a Freeze-Drying Process. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 56, 6685–6694.
 25. Tang, X., Pikal, M.J. (2004). Design of freeze-drying processes for pharmaceuticals: practical advice. *Pharmaceutical Research*, 21, 191–200.
 26. Wang, W., (2000). Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals. *International Journal of Pharmaceutics*, 203, 1–60.
 27. Patel, S. M., Lobo, B. y Shah, A. (2013). Practical Considerations for Freeze-Drying Process Design, Development and Scale-Up. *American Pharmaceutical Review*, [En línea] <http://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles>
- Roos, Y. H. (2010). Glass Transition Temperature and Its Relevance in Food Processing. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1:469-4