



# Trabajo Final de Grado

**Study of dehydration of whites eggs by lyophilization.  
Estudio de la deshidratación de claras de huevo por liofilización.**

Yassin Bouyaoumad

*Junio 2014*



Dos campus d'excel·lència internacional

**B:KC**

Barcelona  
Knowledge  
Campus

**HUB**

Health Universitat  
de Barcelona  
Campus



Aquesta obra esta subjecta a la llicència de:  
Reconeixement–NoComercial–SenseObraDerivada



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es/>



Not everything that can be counted counts, and  
not everything that counts can be counted.

Albert Einstein

I sincerely thank every single one of those who have accompanied me on this during those years and all mates for laboratory where I'm taking just the experimental part, especially my family for the unconditional and always support. I thank also my advisor Prof. Dr. José M. Gutierrez, for the opportunity given me to be my tutor, support and guidance.



**REPORT**



# CONTENTS

SUMMARY	3
RESUMEN	5
1. INTRODUCTION	7
1.1. Operating principles of freeze drying	8
1.2. Thermal stages of freeze drying	10
1.3. Freeze drying equipment subsystem	11
1.4. Albumin	11
1.4.1. Types albumin	11
1.4.2. Functions	12
1.4.3. Whites eggs (Ovoalbumin)	12
1.4.4. Marketing albumin	13
2. OBJECTIVES	15
3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	16
3.1. Materiales y equipos	16
3.1.1. Materiales	16
3.1.2. Equipos	16
3.2. Metodología	18
3.2.1. Congelación	18
3.2.2. Proceso de liofilización	19
3.2.3. Secado convencional	19
3.2.4. Hidratación	19
3.2.5. Estabilidad	19
3.2.6. Montado de claras	19
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES	20
4.1. Proceso de secado convencional	20
4.2. Diseño experimental	21

---

4.2.1.	Primer bloque	22
4.2.2.	Segundo bloque	28
4.3.	Comparativa productos	30
4.3.1.	Textura y color	30
4.3.2.	Transparencia	31
4.3.3.	Precipitación	31
4.4.	Estudio de la temperatura máxima y mínima de bandeja	32
4.5.	Curvas de secado a $T_{MIN}$ Y $T_{MAX}$	34
4.6.	Ensayo montado de claras	37
5.	CONCLUSIONS	41
6.	REFERENCES AND NOTES	43
ANEXOS		
ANEXO 1: DISEÑO EXPERIMENTAL		50
ANEXO 2: CURVAS DE SECADO A $T_{MAX}$ Y $T_{MIN}$		62
ANEXO 3: ESTUDIO COMPARATIVO		69
ANEXO 4: ENSAYO MONTADO DE CLARAS		70

## **SUMMARY**

Dried white eggs are products with high potential in the food industry as an alternative to market as needed by the sector. The objective of this work is to study the lyophilization of white eggs as a method of obtaining dehydrated albumin.

The study of the market in order to know the different ways to market the whites eggs, which has allowed for a comparison between the qualities of dehydrated white eggs on the market and the other obtained from lyophilization process (base on the work). Through an experimental study, it becomes a full factory design which consists of three factors, which experimental units cover all possible combinations of these levels factors. Such experiments allow the study of the effect of each factor on the response variable, and the effects of interactions between factors on these variables. We have studied the influence of: pressure, temperature and thickness of product on the features of obtained dried albumin. The response variable in the transmission allows you to analyze the quality of the dried product. Dehydrated product characterization was made in regard to the transparency of the reconstructed light, precipitation speed of the rehydrated solution and their ability to foam.

When it comes to clear newly opened batch no significant influence within the range studied, while the white eggs that was opened losses its quality. By analyzing the whole block, it can be seen that the influence of pressure and temperature on became significant. The weight of the sample has no significant influence on the various responses. Experiments were conducted to determine the high temperature of lyophilization on which lower the product quality (the transmission is less than 70 %) that is 8 ° C.

The corresponding experiments were conducted to establish the drying curves at the two temperatures, minimum and maximum of lyophilization. The curves showed that the sample at low temperature dehydrated faster than the maximum temperature, it has also been found there is an energy saving and lyophilization time by doubling the thickness of the samples.

Finally, they have been mounted meringues as direct application of the product obtained in the food industry. The result show low viscosity and small stability of meringues but confirmed

the other main characteristics of this type of drying: texture, color, transparency and precipitate formation.

## **RESUM**

Las claras de huevo deshidratadas son un producto con alto potencial en la industria alimentaria como alternativa de comercializar los huevos según la necesidad del sector. El objetivo del presente trabajo es el estudio de la liofilización de claras de huevo como método de obtención de albúmina deshidratada.

Se ha realizado un estudio de mercado con el fin de conocer las diferentes vías de comercializar las claras de huevo, lo que ha permitido hacer una comparativa entre la calidad de claras deshidratadas existentes en el mercado y la clara que se obtiene del proceso de liofilización (como base del trabajo). Mediante un estudio experimental, se hizo un diseño factorial completo cuyo diseño consta de tres factores, cuyas unidades experimentales cubren todas las posibles combinaciones de esos niveles en todo los factores. Este tipo de experimentos permiten el estudio del efecto de cada factor sobre la variable respuesta, así como el efecto de las interacciones entre factores sobre dicha variable. Se ha estudiado la influencia de las variables: presión, temperatura de bandeja y espesor de producto en la bandeja sobre las propiedades de albúmina deshidratada obtenida, la variable de respuesta es la transmisión que permite analizar la calidad del producto deshidratado. La caracterización del producto deshidratado se hizo respecto a la transparencia de las claras reconstruidas, velocidad de precipitación de la solución rehidratada y respecto a su capacidad de espumar.

Cuando se trata del lote de claras recién abierto no hay influencia significativa dentro del rango estudiado, mientras que a medida de que se envejecen las claras hay pérdida de calidad. Al analizar todo el bloque se ve que la influencia de la presión y la temperatura de la bandeja pasan a ser significativas. El peso de la muestra no tiene influencia significativa sobre la variable de respuesta. Se realizaron experimentos para determinar la temperatura alta de liofilización sobre la cual baja la calidad del producto (la transmisión es inferior a 70 %), se tarta de 8 °C.

Se hicieron los correspondientes experimentos para establecer las curvas de secado a las dos temperaturas, mínima y máxima, de liofilización. Las curvas mostraron que las muestras a

temperatura mínima se deshidratan en menos tiempo que las de máxima temperatura, también se ha comprobado que hay un ahorro energético y de tiempo de liofilización al duplicar los espesores de las muestras.

Finalmente, se ha realizado el montado de merengues como aplicación directa del producto obtenido en el sector alimentario. Los resultados muestran viscosidad baja y poca estabilidad de los merengues pero confirman las otras características principales de ese tipo de secado; textura, color, transparencia y formación de precipitado.

# 1. INTRODUCTION

The principles of freeze drying are known long time ago , residents of arctic climates have known that food left in the cold were dried and could be stored for long periods as a result of water properties in its various forms .

The first who practiced lyophilization were the Incas and Vikings requiring calories food, very soft and fresh, for his great journeys and military incursions.

Currently lyophilization is a drying method that could be useful for preserving various biological materials, drugs, vaccines and blood plasma. It is also used for dehydrating liquids sensitive and expensive foods, such as coffee and juices, or for drying solid foods, such as fruits, shrimp, chicken, sliced mushrooms, etc. (Figure 1). All these foods besides colors and delicate flavors have attributes of texture and appearance that can't be preserved by any other current method of drying.



Figure 1. Products of lyophilized. (<http://spanish.alibaba.com/product-gs/healthy-food-fd-freeze-dried-egg-yolk-496846436.html> 13/03/2014)

The lyophilization process was developed to dehydrate and preserve without making losses of compounds responsible for flavors in the food, the opposite happens in conventional drying operations. This type of drying is initially introduced on a large scale in the 1940s for the

production of dry products and blood plasma, antibiotics and biological materials were prepared on an industrial scale by freeze-drying.

Lyophilization is a drying of the product previously frozen by ice sublimation under vacuum, thus achieving directly ice (solid) steam (gas), but in no time the water appears in its liquid state. Results in a spongy more or less the same size as the original frozen though, improving its characteristics (stability, solubility ...) dryness.

The lyophilized products are retained with less weight (as fresh products) at room temperature and can recover its original structure by adding water. The spongy structure of the lyophilized product allows rapid rehydration thereof. Rehydrated product features are similar to those that had the fresh product. The porosity of lyophilized products allows a much more complete and faster than food air dried rehydration.

The expanded use of freeze drying is to conserve food products: stops the growth of microorganisms (fungi mold, etc.), inhibits the deterioration of flavor and color by chemical reactions, loss of physiological properties and facilitates storage and distribution.

## **1.1. OPERATING PRINCIPLES OF FREEZE DRYING**

Lyophilization principles are based on the properties of the substance in water when certain conditions of temperature and pressure are applied for moving from one phase of (liquid, solid and gas) to another (Figure 2) are given. Lyophilizing the water shift to the solid phase, gas without any presence of the liquid, the process is known as sublimation, and then to facilitate the representation of the thermodynamic diagram lyophilization water is used.

Substances like water have the property of expanding when frozen giving a specific temperature higher than the volume and pressure.

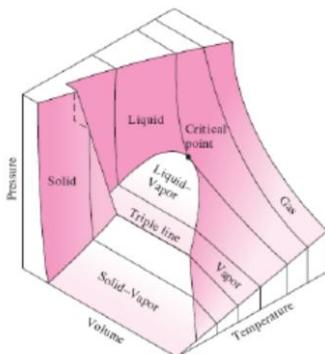


Figure 2. Superficie PVT phase water (Cengel, YA and Boles, MA, "Thermodynamics: An Engineering Approach", 3rd ed, WCB / McGraw-Hill, Boston, 1998.)

The diagram above identifies the triple point of water is at the pressure of 6,10 mbar and a temperature of 0,01 °C. Sublimation occurs only at a temperature below 0 °C and lower than the triple point (Figure 3) pressure, if the vacuum pressure of 6,10 mbar are maintained frozen water sensible heat is added, the first reaction that occurs is the sublimation of ice passing steam without loss of mass of solid water.

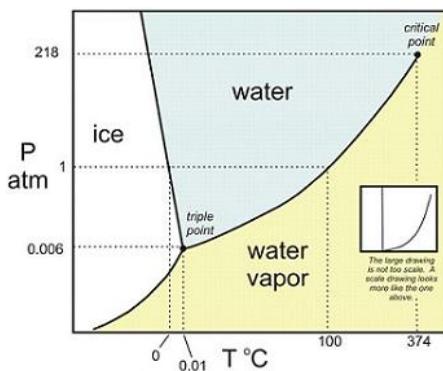


Figure 3. P-T phase diagram of the substances (<http://www.tecnologia-informatica.es/tecnologia/diagrama-de-fase.php> 03/13/2014)

Sublimation is a first shift (or state) endothermic involving a latent heat of 2800 KJ of Kg of ice sublimed, and therefore requires a heat source. As in any process of removal of water thermally, there is a simultaneous reaction of heat and weight transferred.

## 1.2. THERMAL STAGES OF FREEZE DRYING

The three distinguish stages of lyophilization process are in (Figure 4):

**Initial Freezing:** Is the first step of the lyophilization process, that only comes into operation the cooling system. It is responsible for lowering the temperature to  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  with the aim of reaching the eutectic temperature of all products. During this step, depends on the type of facility used and also on various factors like the amount of concentration and nature of the substance.

**Primary Drying:** Once the desired temperature of  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  surpassed begins the second stage, this is to make the vacuum thus lowering the pressure within the chamber to 680 mm Hg. Once at this pressure and at the temperature of

$-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  the substance starts to sublime.

**Secondary drying:** Begins when exhausted sublimation of frozen water and moisture produced comes partially bound in the material being dried. Its function is to remove the existing remains of evaporating water in the product. Is carried out by keeping the low pressure lyophilizer and raising the temperature to a value close to atmosphere.

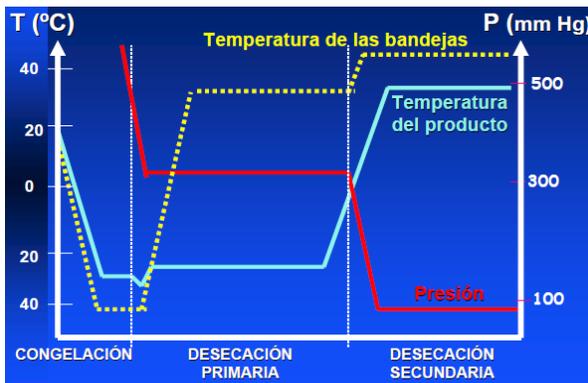


Figure 4. Stages lyophilization and water phase diagram

([http://personal.us.es/mfarevalo/recursos/tec\\_far/liofilizacion.pdf](http://personal.us.es/mfarevalo/recursos/tec_far/liofilizacion.pdf) , Mercedes Fernandez Arevalo

01/04/2014)

According to the operation, freeze dryers can be distinguish between batch and continuous operations.

In the case of discontinued, the shells are loaded with the product previously frozen, freeze-drying chamber is closed and the vacuum is brought to drying temperature for the time specified for the cycle.

In the case of continuous system the input and output lyophilization shell or tape substance is affected through security gate.

### **1.3. FREEZE DRYING EQUIPMENT SUBSYSTEM**

Lyophilization equipment are characterized by a compact construction forms, where various systems are used to fulfill particular function to the process, these systems are:

- Working chamber
- System shell
- Heating System Product
- Vacuum system (vacuum pump)
- Cooling System
- Control System
- Defrost System

### **1.4. ALBUMIN**

Albumin is a protein found in high proportion in the blood plasma, and the main protein in the blood, and one of the most abundant in the human. Protein synthesis takes place in the liver.

Typically the concentration of the protein in blood is between 3,5 and 5 g / dl, which represent 54,31% of the plasma protein. Protein subtraction form what is called hemoglobin. Albumin plays an important role in maintaining the oncotic pressure necessary for the proper distribution of body fluids between the intervascular and extravascular compartment, located between tissues.

#### **1.4.1. Types albumin**

This article reviews three types of albumin:

- Albumin: serum protein
- Albumin: albumin white eggs (which is used in this study)
- lactalbumin: milk albumin

### 1.4.2. Functions

Below is a list of the most important functions of albumin is given:

- Maintenance of oncotic pressure
- Transport of thyroid hormones, fat-soluble hormones, free fatty acids, conglade bilirubin in many drugs...
- Competitive binding with calcium ions
- pH Control
- Regulator extracellular fluids, effect Donnan<sup>1</sup>

### 1.4.3. Whites eggs (Ovalbumin)

A "large" egg weighs about 58 g of which approximately 11 % is shell, 58% are white, while the rest 31% is yolk.

The egg is a viscous solution (colloidal), which surrounds the yolk and is contained between the shell membranes. Consists of 88 % water, 11% protein, 1 % carbohydrate and 0,5% is minerals.

Basically it is a solution of hemoglobin, proteins contained fibers ovomucin (there are over thirty different proteins). They are rich in essential amino acids. These three glycoproteins account for over 80 % of the total protein in the white egg.

OVALBUMIN: The main protein in white egg is more than the half of total, ovalbumin. This protein is easily denatured by heat, a feature of interest when eggs are used in food preparation.

CONALBUMIN: addition about 14 % of all proteins in the white eggs are coagulated by heat. It is a non-phosphorhydrated protein consists of two polypeptide chains.

OVOMUCOID: the third protein, representing 12 % of the total. Ovomuroid not coagulated by heat.

LYSOZYME: is additional egg protein contains approximately 7% of hemoglobin, including lysozyme, is an interesting protein which dissolves the cell wall of certain bacteria.

The remaining proteins in less percentage are: Ovomucin, Avidin and Ovoflavoproteína.

#### 1.4.4. Marketing albumin

A study of the market through large retail chains has a variety of products according to their use. Below we highlight some examples of products with your own applications:

- Pasteurized whites eggs are clear liquid. Of which has no ability to form stable foams, anti-crystallizing component and bind ingredients for ice cream or agglutinate.



(a)



(b)

Figure 5. Pasteurized whites eggs: a) MERCADONA product chain, b) product PASCUAL chain

- Albumin powder with wide application to power level, include among other macaroons, marshmallow, meringue, mousse and soufflé.

---

<sup>1</sup> When the electric potential difference is established, there is a balance in which a constant potential difference is achieved and is called Donnan potential. It used to record the effect of ions on an aqueous solution of water-soluble protein, to calculate the magnitude of the potential generated by ionized species.



Figure 6. Albumin powder for cooking (03/15/14 <http://www.sosa.cat/textures.php?codi=00200510> and <http://www.gastronomiaycia.com/2011/03/21/merengue-en-dust/> 03.15.15)

- Egg albumin protein that is treated as 94%, is ideal for athletes who want to increase performance and muscle weight.



Figure 7. Albumin powder for athletes (<http://soyavid.webcindario.com/suplementos.html> 15/03/14)

- Human albumin 20% is a sterile aqueous solution of albumin obtained by fractionation of human blood plasma with ethanol. This solution is osmotically equivalent to about 400 ml of normal plasma and contains no preservatives.



Figure 8. Aqueous solution of human albumin for sanitary applications ([http://www.farmedicalcorp.com/prod\\_01.php?id\\_gru=7&id\\_pro=39](http://www.farmedicalcorp.com/prod_01.php?id_gru=7&id_pro=39) 15/03/2014)

## **2. OBJECTIVES**

Dried white eggs are basic and interesting product in the food industry and gastronomy, as previously mentioned in the introduction of this work. Freeze drying is a dehydration process that ensures the maintenance of aromas, structure and texture of the initial substance among others.

The ultimate goal of this work is to study the lyophilization of white eggs as a method for obtaining albumin dehydrated to improve the structure as well as its solubility.

In order to achieve this, we have set specific targets to be met:

- Study of conventional drying of white eggs and determine the final water content of a normal egg.
- Experimental study to the influence of the variables: pressure, temperature and thickness of the substance shell, in the sell properties to obtained dehydrated albumin (variable response to the transmission).
- Determination of the transparency of clear reconstructed from normal product in the shop and compare with the product obtained by lyophilization.
- Determination of the maximum temperature of lyophilization, on which product is consider very poor in quality.
- Establish drying curves for high and low temperatures with respect to the pressure of lyophilization.
- Study the capacity of foaming to the commercial products with normal egg and clear lyophilized.

## 3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### 3.1. MATERIALES Y EQUIPOS

#### 3.1.1. Materiales

- Huevos normales
  - Una docena de huevos de la cadena “EROSKI”, de tamaño “L”.
  - Claras de huevo pasteurizadas.
  - Claras en estado líquido, de la marca “PASCUAL” (Figura 5) donde cada litro equivale a 30 huevos.
- Albúmina comercial
  - Albúmina en polvo, de la marca “SOSA” (Figura 6) con una equivalencia de 100 g/litro de agua o pulpas.
  - Albúmina en polvo, de la marca “CLAROU” (Figura 7) donde 30 g equivalen a 10 claras de huevo.

#### 3.1.2. Equipos

- Liofilizador de laboratorio de la serie LyoQuest -50.

Un sistema compacto, cuenta con una capacidad de condensación de 6kg/día, dos opciones de control del proceso ambas basadas en sistemas PLC, que permite la actuación en modo completamente automático y semi-automático, control de presión de vacío y una función automática de descongelación (Figura 9).



Figura 9. Liofilizador de laboratorio de la serie LyoQuest -50

- Turbiscan MA 2000 (Meunier, 1994; Meunier & Mengual, 1996).

Permite el análisis de estabilidad de dispersiones concentradas (cinéticas de floculación, coalescencia, sedimentación, flotación, separación de fases, etc.). Se compone de un cabezal que se mueve a lo largo de un tubo de cristal con fondo plano. El cabezal se dispone de infrarrojos que van por pulsos (con una longitud de onda de 850 nm), y dos detectores síncronos. El detector de transmisión recibe la luz que pasa a través de la muestra ( $0^\circ$  desde el haz incidente), mientras que el detector de retrodispersión o backscattering recibe la luz dispersada por la muestra a  $135^\circ$  desde el haz incidente. El cabezal de detección explora toda la longitud de la muestra (aproximadamente 80 mm), la adquisición de la transmisión y los datos de retrodispersión se realiza aproximadamente cada 40 micras. También permite hacer una medida cada 20 segundos hasta una por día en modo automático, con un total de 400 medidas programables (Figura 10).

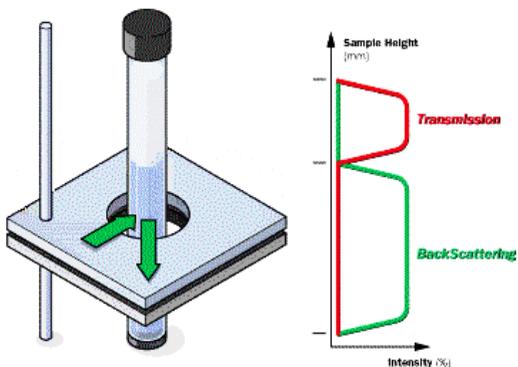


Figura 10. Funcionamiento del Turbiscan (<http://www.fullbrooksystems.co.uk/Turbiscan/how.html>.

13/03/2014)

- Sistema de agitación para poder llevar a cabo el proceso de hidratación de los productos liofilizados; consta de un agitador magnético y un vaso de precipitados (Figura 11).



Figura 11. Sistema de agitación para la deshidratación de los productos

- Robot de cocina KENWOOD, modelo MAJOR TITANIUM. Se emplea para montar las diferentes tipos de claras para obtener merengues (Figura 12).



Figura 12. Robot de cocina para el montado de las claras

- Dewar de 5 kg, un recipiente diseñado para proporcionar aislamiento térmico de líquidos fríos o calientes, en este trabajo es para almacenar el nitrógeno líquido.

## 3.2. METODOLOGÍA

### 3.2.1. Congelación

Una vez tomado el peso de las bandejas según el espesor que se quiere de la muestra, a continuación se lleva a cabo el proceso de congelación con nitrógeno líquido, se exigen medidas de seguridad (poner gafas de seguridad y guantes para evitar quemaduras por las bajas temperaturas que presenta el nitrógeno líquido), se vierten pequeñas cantidades del nitrógeno sobre las bandejas hasta asegurar que la muestra está totalmente congelada ( es cuando tarda más la evaporación del nitrógeno vertido sobre la muestra).

### **3.2.2. Proceso de liofilización**

Se programa el proceso de liofilización fijando la presión de vacío y la temperatura de bandeja, después se deja alcanzar la temperatura de congelación que rodea los  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ . A continuación se introducen las bandejas previamente congeladas a la cámara de trabajo y se da la marcha de la bomba de vacío. Una vez alcanzadas las condiciones de trabajo se considera como punto inicial del proceso. Al final del proceso se pesan las bandejas de nuevo a efecto de determinar la cantidad de agua eliminada.

### **3.2.3. Secado convencional**

Se lleva a cabo en el mismo liofilizador pero sin congelación previa. Se programa de la misma manera mencionada anteriormente, pero cuando se da la marcha de la bomba de vacío hay que dejar entrar una cantidad pequeña de aire hasta que la temperatura de trabajo este por debajo de los  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Después de tener la temperatura de trabajo a los  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  se cierra la llave y se permite el vacío total hasta las 24 horas.

### **3.2.4. Hidratación**

Se pesan 1,42 gramos de muestra (liofilizada, de secado convencional o comercial), se pasan a un vaso de precipitados al que se añaden 100 ml de agua destilada, con un sistema de agitación magnética (Figura 11) se agita la mezcla durante 5 minutos a 2500 rpm.

### **3.2.5. Estabilidad**

Una vez finalizado el proceso de hidratación, con una pipeta se añade suficiente volumen de la disolución en los tubos habilitados para el sistema de estudio de estabilidad "Turbscan MA 2000". Se hacen lecturas de transmisión a tiempo inicial ( $t=0$ ), a las 4 horas y a las 24 horas.

### **3.2.6. Montado de claras**

En este apartado se quiere hacer una comparativa de calidad del producto liofilizado, clara fresca y líquida pasteurizada a través de la técnica de montado para la formación de merengues. Esta parte se hizo con la colaboración de la estudiante María Fabián Alonso, que presento un TFG bajo título: "Preparación de espumas sólidas para alimentación. Estudio de su composición y estabilidad".

Los materiales utilizados para la realización esta parte del trabajo:

- ✓ Clara de huevos frescos
- ✓ Clara líquida pasteurizada *Pascual*
- ✓ Clara liofilizada a partir de la clara pasteurizada *Pascual*
- ✓ Azúcar glass marca *La azucarera*
- ✓ Azúcar blanco marca *La azucarera*

Los correspondientes experimentos se han realizado a una temperatura ambiente de unos 21 °C y una velocidad 5 del robot de montada de la cocina utilizado. Según las instrucciones para la elaboración del merengue francés se requieren 4 claras y 200 g de azúcar. Se ha determinado previamente que el peso medio de un huevo fresco es de 40 g, por lo tanto se necesitan 160 gramos de clara para la elaboración de los merengues. Sabiendo los porcentajes de proteína y agua de cada huevo, se calcula pues que se requieren 32 g de clara en polvo y liofilizada, además de los 128 g de agua para obtener las correspondientes disoluciones. Se determinaran los tiempos de montado y la estabilidad de los merengues.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1. PROCESO DE SECADO CONVENCIONAL

Las muestras numeradas de 1 a 6 vienen de huevos frescos, mientras que la muestra 7 y 8 son claras construidas a partir de clara deshidratada comprada. La relación de construcción es de 85 % en peso de agua.

Figura 13. Tabla de los resultados del proceso de secado convencional

Muestra	Peso Inicial (g)	Peso Producto (g)	% agua eliminada
1	21,032	2,473	88,24
2	18,518	2,212	88,05
3	19,215	2,573	86,61

4	20,999	2,810	86,62
5	19,140	3,541	81,50
6	18,696	2,487	86,70
7	11,134	1,589	85,73
8	11,710	1,730	85,23

## 4.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se trata de un diseño factorial, este tipo de diseño permite estudiar la interacción de los factores, además de un ahorro de tiempo y menos inversiones por el hecho de estudiar el efecto de los factores de una manera conjunta y no separada.

Todas las observaciones (respuestas) se pueden utilizar para estudiar los efectos de cada uno de los factores. El hecho de hacer los experimentos por separado lleva a multiplicar el número de experimentos que se hacen para un diseño factorial.

Se dice que hay interacción entre dos factores si un cambio de uno de los factores produce un cambio en la respuesta a un nivel del otro factor diferente al producido en otros niveles de ese factor. Es decir a un nivel de aplicación la respuesta puede ser mayor, por el contrario, a un nivel de aplicación un factor la respuesta es mayor.

A continuación se presentan los cinco experimentos del diseño experimental factorial 2x3 para determinar el efecto de las tres variables anteriormente mencionadas: peso, presión y temperatura.

Figura 14. Las especificaciones del diseño experimental

Experimento	Peso (g)	Temperatura (°C)	Presión (mbar)
1	20 y 40	-2	0,1
2	20 y 40	-5	0,1
3	20 y 40	-2	0,5
4	20 y 40	-5	0,5
5	30	-3,5	0,3

Se analizan los resultados como dos bloques, el primero contiene los cinco experimentos con sus replicas, mientras que el segundo bloque solo contiene los primeros experimentos sin replicas. Los resultados<sup>2</sup> son analizados con el programa: Statgraphics (Statistical Analysis and Data Visualization Software).

#### 4.2.1. Primer bloque

- Primera parte

Figura 15. Tabla de resultados de los cinco primeros experimentos que establecen el primer bloque

Presión (mbar)	Temperatura (°C)	Peso inicial (g)	Peso producto (g)	Agua eliminada (%)	Transmisión
0,1	-2	40,049	4,851	87,887	75,392
0,1	-2	20,034	2,455	87,795	76,370
0,1	-5	40,042	4,841	87,910	74,226
0,1	-5	20,016	2,421	87,905	75,102
0,5	-2	40,010	4,822	87,948	77,358
0,5	-2	20,022	2,439	87,818	75,572
0,5	-5	40,033	4,829	87,938	73,730
0,5	-5	20,016	2,438	87,820	75,690
0,3	-3,5	30,031	3,631	87,909	74,914
0,3	-3,5	30,018	3,650	87,841	74,312

<sup>2</sup> De hora en adelante cuando se habla de resultados, se diferencia de producto de buena calidad con un valor de trasmisión igual o superior a 70 % y un producto de baja calidad cuando ese mismo valor está por debajo de los 70%.

Los primeros experimentos, es decir, una vez abierto el lote de 1L de la materia prima (equivale a 30 claras). Los valores de la variable de respuesta (transmisión) están por encima del 70 %, un producto liofilizado de muy buena calidad. Pero no se ven cambios significativos al completar los cinco experimentos del diseño.

A continuación se presentan los tres gráficos que se obtienen del programa de análisis anteriormente mencionado.

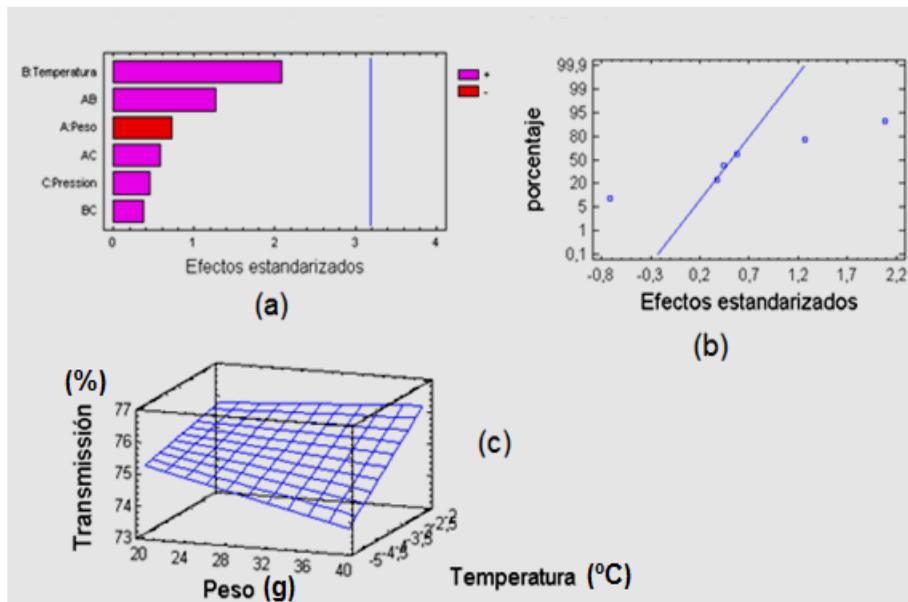


Figura 16. Gráficos del programa Statgraphics para los primeros experimentos: a) Grafico de pareto estandarizado para trasmisión, b) Grafico de probabilidad normal para transmisión, c) Superficie de respuesta estimada

Analizando el grafico de pareto estandarizado para transmisión, se observa que no hay ninguna influencia significativa de las tres variables que forman parte del diseño factorial. El grafico de probabilidad normal de la transmisión ilustra una desviación clara de los puntos respecto a la recta de tendencia.

Del grafico de respuesta estimada se observa que la variable respuesta tiene el máximo valor a temperatura alta y peso alto.

La ecuación siguiente relaciona la variable de la respuesta con las tres variables de diseño.

$$\text{Transmisión} = 74,8304 + 0,0498*\text{peso} - 0,5542*\text{temperatura} - 0,7708*\text{presión} + 0,0308*\text{peso}*\text{temperatura} + 0,1063*\text{peso}*\text{presión} + 0,4583*\text{temperatura}*\text{presión}$$

Los parámetros del ajuste:

R-cuadrado = 70,4501 por ciento  
 R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 11,3504 por ciento  
 Error Estándar de Est. = 1,03336  
 Error absoluto de la media = 0,524  
 Estadístico Durbin-Watson = 1,61718 (P=0,2504)  
 Autocorrelación residual Lag 1 = -0,0224052

- Segunda parte

Figura 17. Tabla de resultados de las replicas del primer bloque

Presión (mbar)	Temperatura (°C)	Peso inicial (g)	Peso producto (g)	Agua eliminada (%)	Transmisión
0,1	-2	40,000	4,776	88,060	71,552
0,1	-2	20,021	2,349	88,043	70,168
0,1	-5	40,036	4,862	87,856	60,604
0,1	-5	20,021	2,461	87,708	63,640
0,5	-2	40,034	4,827	87,943	68,510
0,5	-2	20,034	2,412	87,961	68,506
0,5	-5	40,018	5,053	87,373	70,398
0,5	-5	20,001	2,582	87,091	70,502
0,3	-3,5	30,032	3,624	87,933	69,770
0,3	-3,5	30,031	3,632	87,906	68,418
0,3	-3,5	30,003	3,623	87,925	67,894
0,3	-3,5	30,000	3,653	87,823	68,860

El tiempo necesario para completar los primeros cinco experimentos es de 9 días mínimo, es decir, que las replicas del mismo bloque se hacen a los 10 días de abrir el lote de claras que se han ido guardando en el frigorífico del laboratorio.

En este caso, una vez completadas las réplicas se observa que la calidad del producto bajó de manera significativa y sus valores oscilan de manera clara pasando de un experimento a otro, se habla de valores por debajo del 70 % en este caso. Este efecto se puede explicar por el hecho del envejecimiento de las claras que pasan un largo tiempo guardadas en el frigorífico a medida que se han ido haciendo los experimentos y sus réplicas.

A continuación se presentan los tres gráficos que se obtienen del programa de análisis anteriormente mencionado.

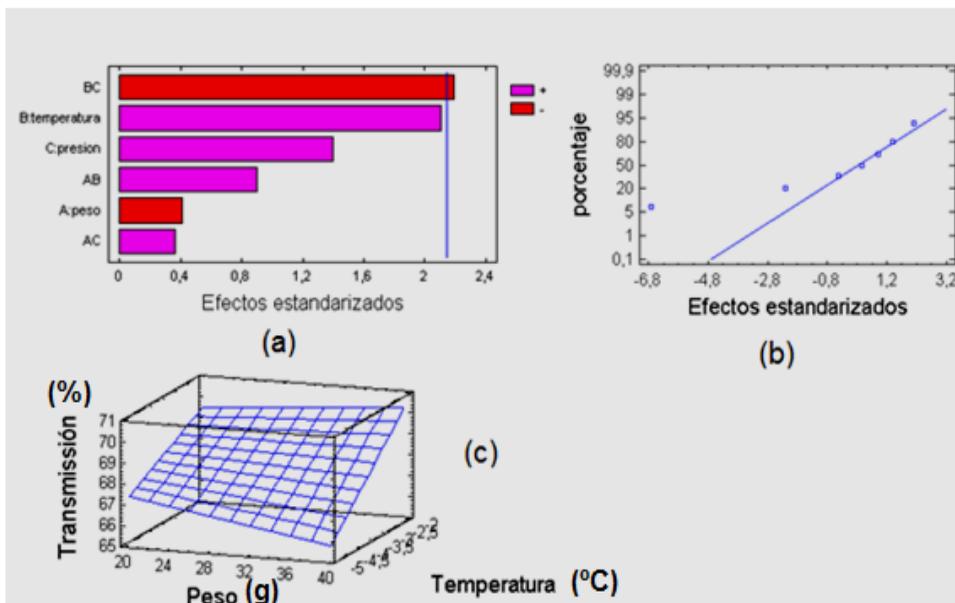


Figura 18. Gráficos del programa Statgraphics de las replicas del primer bloque: a) Grafico de pareto estandarizado para trasmisión, b) Grafico de probabilidad normal para trasmisión, c) Superficie de respuesta estimada

Analizando el grafico de pareto estandarizado para trasmisión, se observa que no hay ninguna influencia significativa de los tres variables estudiadas en el diseño, además de que la interacción de los dos factores temperatura-presión es negativa. Del grafico de probabilidad

normal de la transmisión se observa que la desviación en este caso es menos significativa a través de la posición de los puntos respecto a la recta de tendencia.

Del gráfico de respuesta estimada se observa que la variable de respuesta tiene el máximo valor a temperatura y peso alto.

A continuación se presenta la ecuación siguiente que relaciona la variable de la respuesta con las tres variables de diseño.

$$\text{Transmisión} = 76,8729 + 0,0839 \cdot \text{peso} + 2,6375 \cdot \text{temperatura} - 27,2292 \cdot \text{presión} + 0,0392 \cdot \text{peso} \cdot \text{temperatura} + 0,1063 \cdot \text{peso} \cdot \text{presión} - 8,9583 \cdot \text{temperatura} \cdot \text{presión}$$

Los parámetros del ajuste:

```
R-cuadrado = 93,408 por ciento
R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 85,4977 por ciento
Error Estándar de Est. = 1,26846
Error absoluto de la media = 0,6875
Estadístico Durbin-Watson = 1,2984 (P=0,1758)
Autocorrelación residual Lag 1 = 0,286125
```

- Primer bloque entero

Se pretende analizar los resultados de todo el bloque 1, experimentos y replicas. El hecho de analizar los primeros experimentos y las réplicas juntos, sabiendo que en el primer caso los valores de transmisión son altos, mientras que la calidad baja de manera significativa en el caso de las réplicas. En este caso existe una influencia significativa de algunas variables estudias pero con una integración nula o negativa.

Se analizan el conjunto de los resultados y se obtienen los gráficos siguientes.

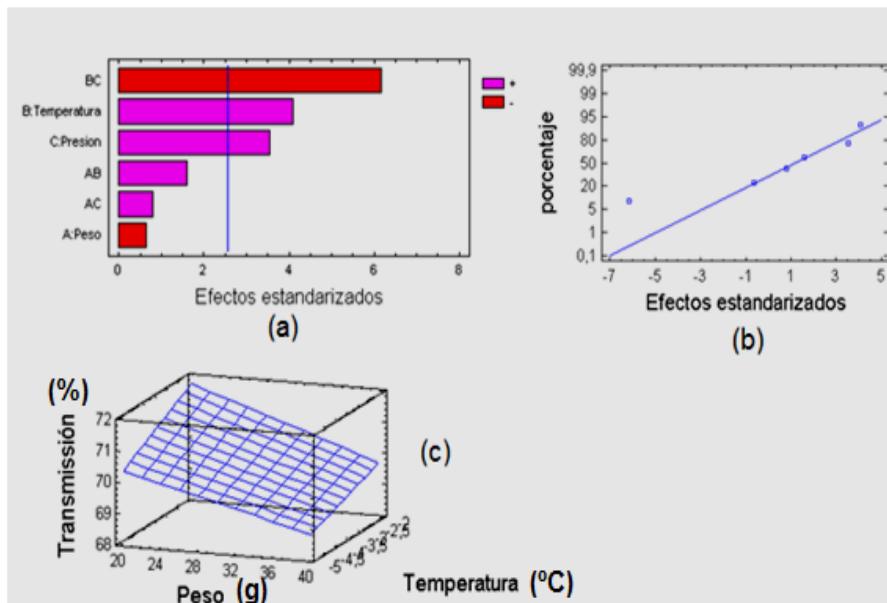


Figura 19. Gráficos del programa Statgraphics para el bloque uno entero: a) Grafico de pareto estandarizado para transmisión, b) Grafico de probabilidad normal para transmisión, c) Superficie de respuesta estimada

En este caso se pretende analizar los resultados del bloque 1 entero (primeros experimentos con sus réplicas), del gráfico de pareto estandarizado para transmisión se observa que hay una influencia significativa de dos variables del diseño: temperatura y presión y no hay ninguna influencia significativa del factor peso, además de que la interacción de los dos factores temperatura-presión es negativa. Del grafico de probabilidad normal de la transmisión se observa poca desviación de los puntos respecto a la recta de tendencia.

Para el bloque 1 entero se obtiene la ecuación siguiente que relaciona la variable de la respuesta con las tres variables de diseño.

$$\text{Transmisión} = 78,884 - 0,2458 \cdot \text{peso} + 1,2573 \cdot \text{temperatura} - 12,9219 \cdot \text{presión} - 0,0081 \cdot \text{peso} \cdot \text{temperatura} + 0,4297 \cdot \text{peso} \cdot \text{presión} - 2,0938 \cdot \text{temperatura} \cdot \text{presión}$$

Los parámetros del ajuste:

R-cuadrado = 80,4364 por ciento  
 R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 72,6109 por ciento  
 Error Estándar de Est. = 2,32631  
 Error absoluto de la media = 1,34442  
 Estadístico Durbin-Watson = 1,80026 (P=0,2873)

#### 4.2.2. Segundo bloque

A partir de los resultados obtenidos y analizados en el primer bloque, se hizo de nuevo los cinco experimentos del diseño pero con un lote nuevo de claras para poder explicar la bajada de la calidad del producto de una manera significativa al hacer las replicas del primer bloque. Pero con la excepción de que en este caso solo se estudia el efecto de la temperatura y la presión sobre la variable de respuesta al ver que en el espesor no tenia influencia significativa.

Figura 20. Tabla de resultados del segundo bloque

Presión (mbar)	Temperatura (°C)	Peso inicial (g)	Peso producto (g)	Agua eliminada (%)	Transmisión
0,1	-2	40,042	4,840	87,913	69,900
0,1	-2	40,013	4,841	87,901	71,922
0,1	-5	40,026	4,977	87,566	73,416
0,1	-5	40,063	4,989	87,547	74,384
0,5	-2	40,035	4,871	87,833	75,154
0,5	-2	40,034	4,887	87,793	72,082
0,5	-5	40,047	4,819	87,966	71,842
0,5	-5	40,027	4,875	87,821	71,610
0,3	-3,5	40,052	4,938	87,671	74,166
0,3	-3,5	40,072	4,947	87,955	72,420
0,3	-3,5	40,084	4,952	87,646	73,938
0,3	-3,5	40,052	4,956	87,626	73,404

Los resultados del segundo bloque han dejado claro la teoría anteriormente mencionada sobre la variación significativa de los valores de transmisión y en este caso de la calidad del producto. Los valores de transmisión obtenidos vuelven a ser altos y del mismo nivel que los obtenidos cuando se hizo la primera parte del bloque 1. Eso confirma que la bajada de los valores de transmisión y pérdida de calidad al hacer las replicas es causa del envejecimiento de las claras que llegan a estar como mínimo 9 días abiertas y guardadas en el frigorífico antes de empezar hacer las replicas.

El análisis de los resultados de este bloque de diseño, permite obtener los gráficos siguientes.

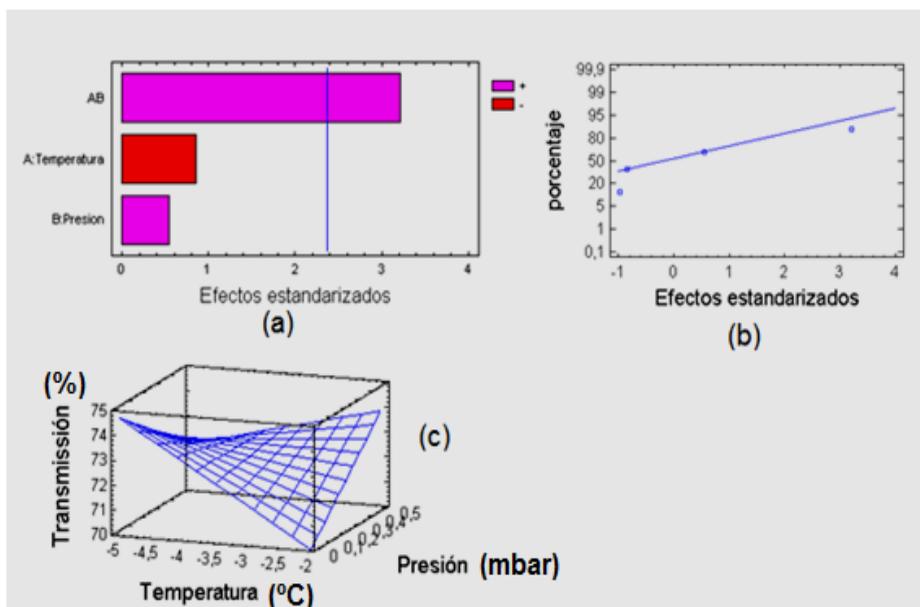


Figura 21. Gráficos del programa Statgraphics para el segundo bloque: a) Gráfico de pareto estandarizado para transmisión, b) Gráfico de probabilidad normal para transmisión, c) Superficie de respuesta estimada

Analizando el gráfico de pareto estandarizado para transmisión se observa que no hay ninguna influencia significativa de las dos variables estudiadas, pero se ve que la interacción de las dos variables es más significativa. El gráfico de probabilidad normal para transmisión muestra desviaciones de los puntos respecto la recta de tendencia, mientras que del gráfico de

respuesta estimada se puede ver que el valor máximo de transmisión se obtiene a temperatura y presión bajas.

La ecuación que relaciona la variable de respuesta y las dos variables estudiadas es la siguiente.

**Transmisión** = 66,8833 – 1,5583\*temperatura + 16,5833\*presión + 4,4167\*temperatura\*presión

Los parámetros del ajuste:

```
R-cuadrado = 63,7122 por ciento
R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 50,1043 por ciento
Error Estándar de Est. = 1,16696
Error absoluto de la media = 0,804167
Estadístico Durbin-Watson = 2,69079 (P=0,0627)
Autocorrelación residual Lag 1 = -0,449318
```

Analizando todo el diseño experimental realizado, se puede ver que dentro del rango estudiado no hay una influencia significativa de las tres variables, además de que la interacción es negativa y que el producto pierde su calidad por el hecho de envejecimiento de las claras.

### 4.3. COMPARATIVA DE PRODUCTOS

#### 4.3.1. Textura y color

Se trata de una comparativa del aspecto final de los diferentes productos obtenidos y existentes en el mercado, se puede ver (Figura 22) que el producto liofilizado (a) es más blanco y es un polvo más fino que el resto, el producto que proviene del secado provisional (b) tiene una estructura cristalina amarilla poco compacta, mientras que los dos productos existentes en el mercado (c) y (d) tienen la misma apariencia polvorosa y un color amarillo.

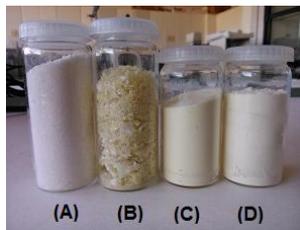


Figura 22. Los cuatro productos de albúmina deshidratada: a) liofilizada, b) secado convencional, c) producto de la marca SOSA, d) producto de la marca CLAROY

### 4.3.2. Transparencia

Una vez hecha la hidratación de las diferentes claras según el protocolo de hidratación anteriormente mencionado en la parte de metodología, se intentó hacer una lectura detrás de los tubos que contienen la disolución de los diferentes productos.

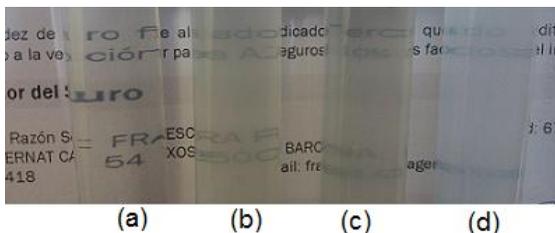


Figura 23. Ensayo de transparencia de las disoluciones de los productos: a) liofilizado, b) secado convencional, c) comercial para deportistas, d) comercial para la cocina

Como se puede observar (Figura 23) que hay un gradiente de transparencia empezando por el producto (d) que no se puede leer detrás del tubo, el producto (c) empieza a ser visible y con un grado de transparencia bajo, el producto (b) aumenta su visibilidad respecto los dos anteriores y su grado de transparencia es alto también y finalmente el producto (a) que se ve claro, transparente y se puede leer perfectamente.

### 4.3.3. Precipitación

Del mismo experimento (Figura 24) se puede observar que al dejar reposar las cuatro disoluciones durante 4 horas, de los productos (d) ha precipitado una cantidad importante del producto, después el producto (c) que deja precipitar menos, el producto (b) que precipita un poco menos que (c) y el producto (a) se observa que continua siendo claro, transparente y no hay ninguna precipitación.

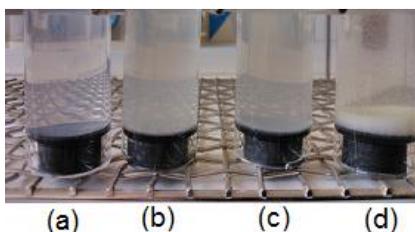


Figura 24. Ensayo de la velocidad de precipitación de las diferentes disoluciones

Para poder comprobar la evolución de las disoluciones de los cuatro productos que se tienen, una vez hecha la hidratación de cada producto según el protocolo anteriormente mencionado en la parte de metodología. Se tomo los valores de transmisión con el TURBISCAN al acabar la hidratación, a las 4 y 24 horas. La siguientes grafica resume los resultados obtenidos para cada producto.

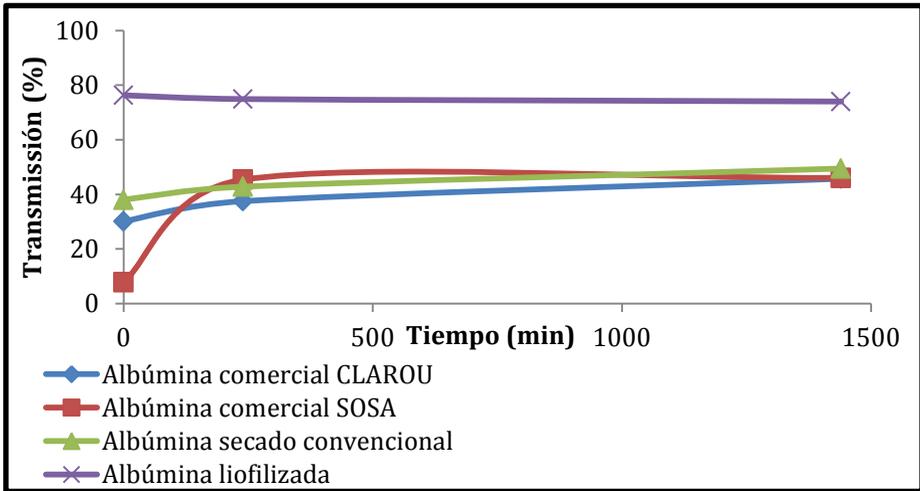


Figura 25. Gráfica de la evolución de la transmisión de las disoluciones con el tiempo

Analizando el gráfico de las transmisiones, se observa al inicio una clara diferencia respecto la transparencia y calidad entre los tres productos y la clara liofilizada.

A medida que va pasando el tiempo se observa que la albúmina comercial SOSA que presentaba unos valores muy bajos de transmisión ha ido mejorando hasta llegar por encima de los otros productos, pero conservando siempre un margen muy grande que llega a ser el doble respecto a los valores de la clara liofilizada que se ha mantenido estable pasados las 24 horas.

#### 4.4. ESTUDIO DE LA TEMPERATURA MÁXIMA Y MÍNIMA DE BANDEJA

Una vez finalizados los experimentos del diseño experimental y hechos los experimentos de hidratación de los productos para hacer la comparativa de transmisión y calidad, se hizo los experimentos para determinar la temperatura máxima de liofilización. El criterio para su determinación ha sido considerar que el valor 70 % de transmisión como el mínimo para hablar

de buena calidad del producto y por debajo del cual se pierde la calidad del producto o se habla de producto de bajo calidad. La presión de vacío es 0,5 mbar (Figura 26).

Figura 26. Tabla de los resultados para la obtención de la temperatura máxima de liofilización

Temperatura (°C)	Transmisión (%)
-2,00	75,57
0,00	72,79
2,00	71,83
4,00	70,22
6,00	69,91
8,00	69,00

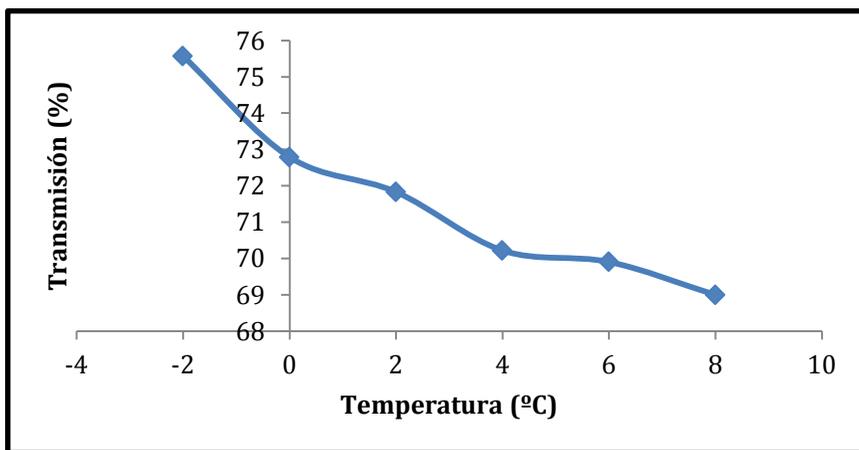


Figura 27. Grafica influencia de la temperatura sobre la transmisión

Como muestran los resultados de la tabla y el grafico, la temperatura máxima de liofilización determinada es 8 °C según el criterio anteriormente mencionado. Es la temperatura por debajo de la cual el producto empieza a perder su calidad.

#### 4.5. CURVAS DE SECADO A $T_{\text{MIN}}$ Y $T_{\text{MAX}}$

Una vez determinada la temperatura máxima de liofilización y se toma como temperatura baja de liofilización  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  dentro del rango estudiado. Se pretende establecer las curvas de secado a las dos temperaturas extremas.

- Temperatura de bandeja:  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$

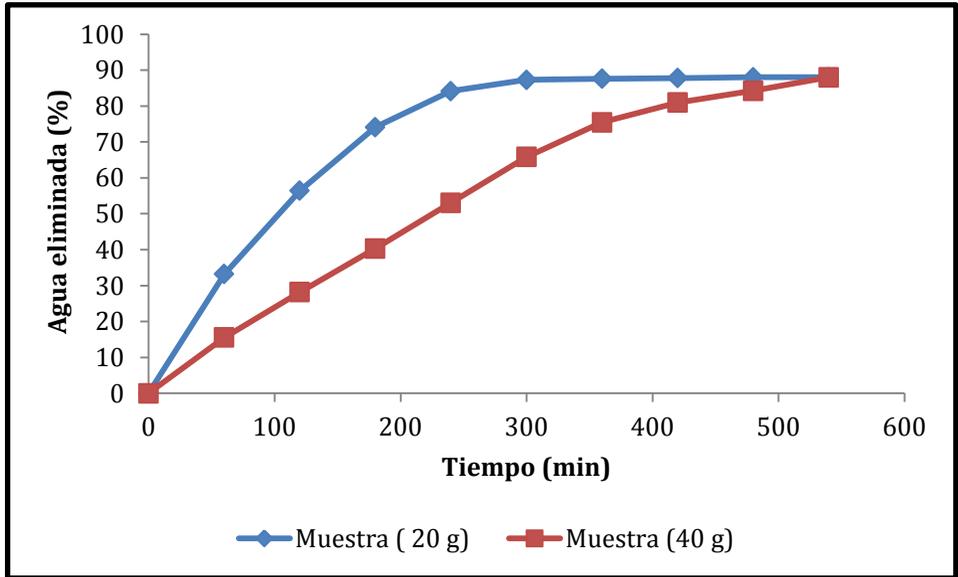


Figura 28. Grafica de la evolución de la cantidad de agua eliminada con el tiempo a temperatura de bandeja de  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$

Del gráfico (Figura 28) se observa que la muestra de 20 g se deshidrata más rápido que la de 40 g, pero las dos muestras acaban el proceso de liofilización en el mismo tiempo. El hecho de que la muestra que tiene el doble de espesor se ve afectada a la hora de deshidratarse comparando con la otra muestra, se explica bajo el criterio de que en la primera etapa de liofilización, el hielo se sublima desde la superficie del producto y a medida que avanza el proceso, el nivel de sublimación retrocede dentro de él, teniendo entonces que pasar el vapor por capas ya secas para salir del producto. Eso hace que la muestra del espesor pequeño acaba la parte de desecación primaria antes de la que tiene su doble espesor.

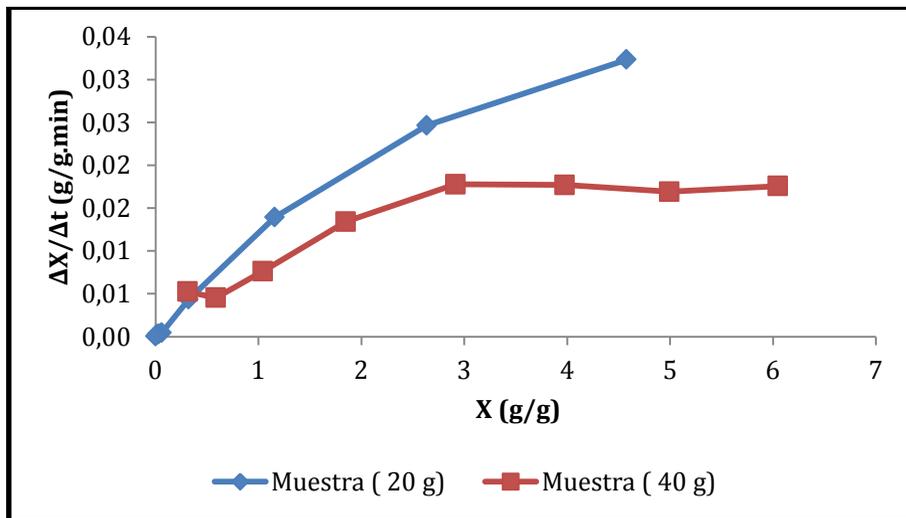


Figura 29. Curva de secado de las dos muestras a temperatura de bandeja -2 °C

Además de que la velocidad de secado es diferente para una muestra y otra, cabe destacar y como se observa de los gráficos que las dos muestras tardan el mismo tiempo en deshidratarse, sabiendo que una es el doble de espesor de la otra eso lleva a sacar la conclusión de que hay un ahorro de tiempo y energético.

- Temperatura de bandeja: 8 °C

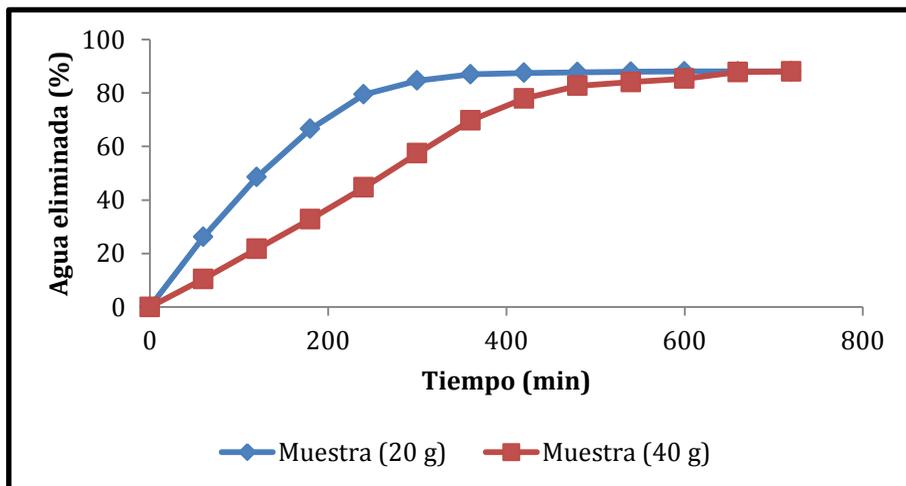


Figura 30. Gráfica de la evolución de la cantidad de agua eliminada con el tiempo a temperatura de bandeja de 8 °C

Del gráfico (Figura 30) se observa que el comportamiento de las dos muestras es similar al grafico anterior que se hizo a la temperatura de -2 °C, pero con la excepción de que en este caso el tiempo que se necesita para llegar a deshidratar las dos muestras bajo el mismo criterio (contenido final de agua en la muestra) es de 720 minutos comprado con el anterior que era de 540 minutos.

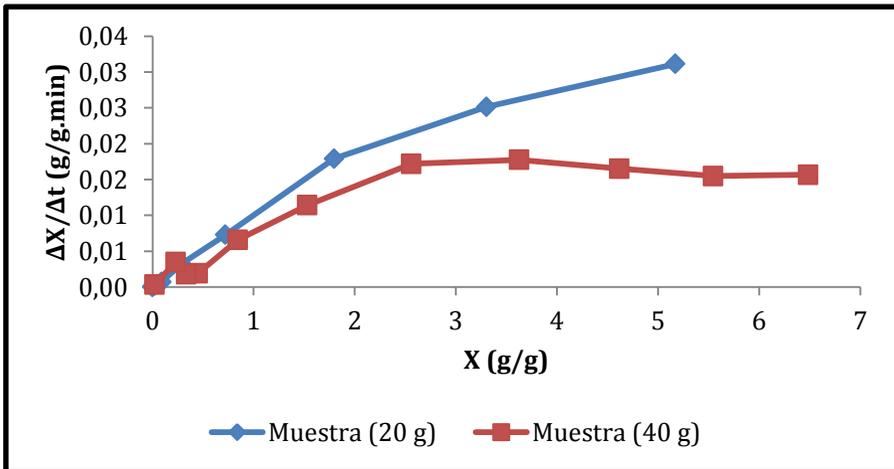


Figura 31. Curvas de secado de las dos muestras a temperatura de bandeja de 8 °C

Comparando la textura de la muestra obtenida a -2 °C y a 8 °C se ve una diferencia clara, donde el caso de la temperatura máxima de liofilización (8°C) los cristales formados son más pequeños y su densidad es pequeña también. Esa diferencia de 220 minutos entre la temperatura mínima y máxima de liofilización se explica por el hecho de que cuando se forman cristales pequeños, la densidad es pequeña y la porosidad es baja también. Esos tres aspectos anteriormente mencionados llevan a que la resistencia al flujo del vapor de agua es alta y mayor duración de la desecación primaria.

- Estudio conjunto a  $T_{\min}$  y  $T_{\max}$

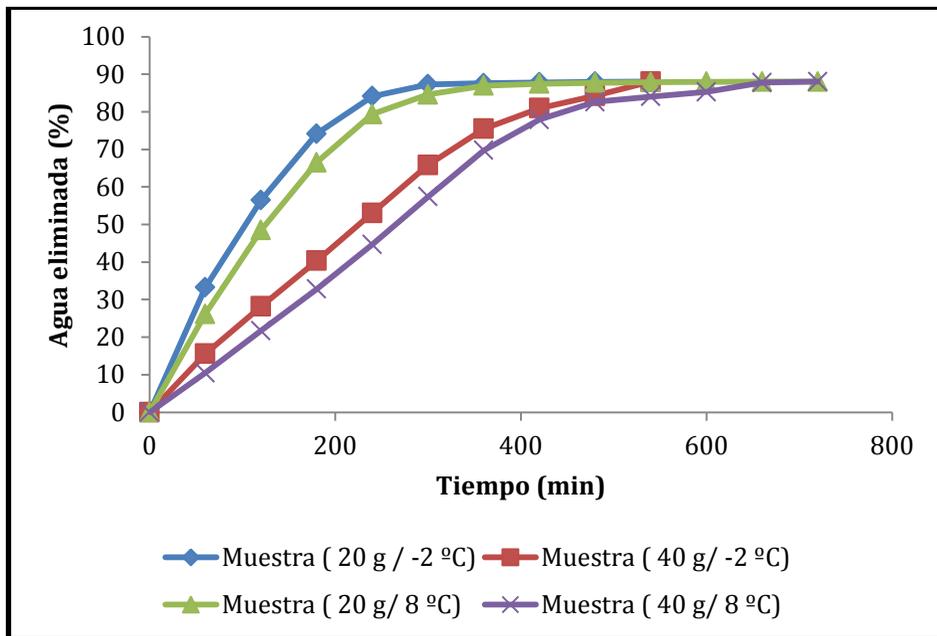


Figura 32. Grafica comparativa sobre la evolución de la cantidad de agua eliminada con el tiempo de las dos temperaturas de bandeja  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $8\text{ }^{\circ}\text{C}$

El presente grafico muestra esa diferencia clara entre el tiempo de desecación primaria de las dos muestras de la temperatura mínima y máxima de liofilización. La estructura de las claras liofilizadas a temperatura máxima es más resistente, eso hace que su hidratación es lenta y su calidad es baja.

#### 4.6. ENSAYO MONTADO DE CLARAS

Como último experimento para poner en prueba la calidad del producto liofilizado comparando con los productos existentes en el mercado en el momento de su aplicación en la industria alimentaria. Una aplicación alimentaria de esos productos es el montaje de los merengues.

Las proteínas también tienen la capacidad de formar espumas; esta característica depende de la facilidad de establecer una partícula interfacial cohesiva a una concentración muy baja y que sea capaz de atrapar y retener el aire, así como de soportar esfuerzos mecánicos. En este fenómeno influyen muchos factores que al modificar las proteínas alteran la capacidad de

espumado: pH, sales, azúcares, lípidos, temperaturas elevadas, viscosidad, grado de ionización, etc.

No todas las espumas que se producen son estables; algunas de ellas tienen una duración muy corta y tienden inmediatamente al colapso; otras, sin embargo, presentan una vida mucho más larga y son, como las de la clara del huevo, las que más se emplean. Parece ser que las características de las proteínas y los factores externos que influyen en ellas cambian la capacidad de espumado y la estabilidad de las espumas.

El tiempo necesario para montar los merengues no se ha podido fijar de modo general, ya que los tiempos necesitados en cada caso oscilan bastante los unos de los otros, tal y como se puede observar (Figura 33). Si se fija un único tiempo, los merengues montados con clara de huevo en polvo y frescas, sufren efectos sobrebatido mientras los merengues montados con claras liofilizadas y pasteurizadas, aún no conseguirían alcanzar su textura necesaria.

Figura 33. Tabla de los tiempos fijados para la obtención de las diferentes espumas

Tipo clara	Tiempo montado (min)
En polvo	2
Fresca	2
Pasteurizada	10
Liofilizada	10

Las claras pasteurizadas están sometidas a un previo proceso de pasteurización basado en alcanzar las temperaturas óptimas requeridas para la destrucción de microorganismos tales como la bacteria *Salmonella*<sup>3</sup>.

Por lo tanto, después del tratamiento de pasteurización, algunas de las proteínas de estas claras pueden haberse desnaturalizado si en el proceso de pasteurización se han superado los 65°C. Como consecuencia, según el rango estudiado, necesitarán más tiempo de montado.

<sup>3</sup> *Salmonella* es un género de bacterias que pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Es un agente productor de zoonosis de distribución universal. Se transmite por contacto directo o contaminación cruzada durante la manipulación, en el procesador de alimentos o en el hogar, también por vía sexual.

La siguiente figura muestra el aspecto de las claras liofilizadas una vez iniciado el proceso de montaje y también al finalizar el mismo.



Figura 34. Ensayo de montaje de las claras a) proceso de montaje y formación de espuma, b) claras liofilizadas y montadas.

La gráfica siguiente muestra las medidas realizadas por el Turbiscan, donde se analizan los merengues montados con diferentes tipos de clara.

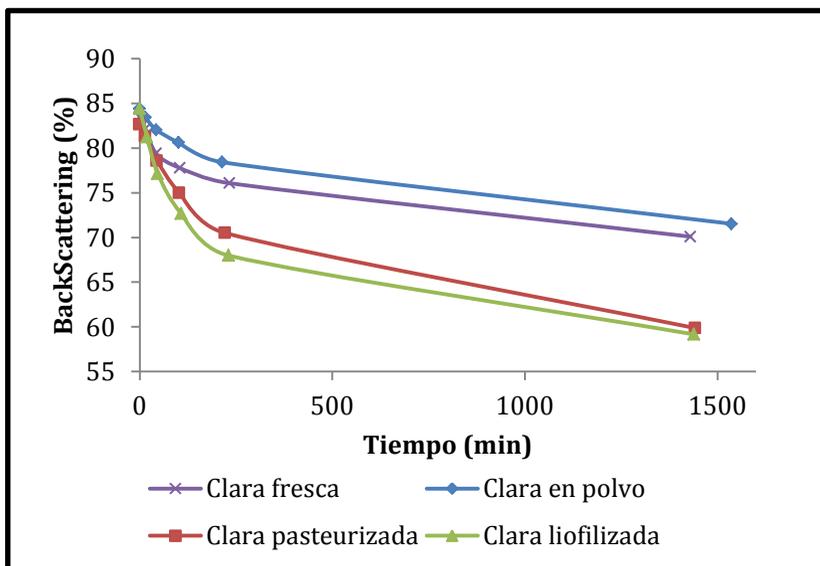


Figura 35. Gráfica de la representación del BackScattering de los merengues montados con diferentes tipos de clara

El hecho de que la solubilidad de las claras liofilizadas es la más alta y la formación de precipitados es despreciable en las 24 horas, indica que el grado de desnaturalización de las

proteínas es bajo. La baja estabilidad de las claras liofilizadas se explica por el hecho de que las claras frescas y la disolución que forman las claras en polvo tienen viscosidad alta comparada con las liofilizadas, eso lleva a que la diferencia de tensión superficial de la solución-capa superficial es baja también. La estabilidad depende mucho de la viscosidad de la disolución sometida al proceso de montado para formar espumas estables.

El experimento pone de manifiesto la calidad del producto respecto a la transparencia, viscosidad, formación de precipitado entre otras.

## 5. CONCLUSIONS

From the results obtained in this studied, the main findings on the design variables for the dehydration process of the whites eggs into the range studied were:

- No significant influence of the three variables studied when it is clear that the newly opened batch and its quality is high.
- No significant influence of the three variables when it comes to the timing of whites eggs opened and the quality of product is low significanktly.
- The significant influence of shell temperature and pressure on the response variable (Transmission) becomes manifest when the entire block is analyzed as a cause of significant quality differences between the first experiments and their duplicate.
- A high shell temperature of ( 8°C) in the drying process leads to lower quality of the product obtained by lyophilization at a lower temperature (-2 °C ) is significantly improved quality .
- The lyophilized product or sum unique features that are summarized in the solution transparency, texture, color (white), low density and medium term negligible precipitation.
- At low temperatures it reduces the time required to complete the lyophilization process and comes to significant energy savings.
- The fact is the thickness of the samples leads to a double saving time and energy costs.
- The lyophilized products at high temperatures are characterized by their low density and porosity, this fact makes the steam flows in high duration of primary drying is higher.
- The dehydrated by lyophilization whites eggs have a high stability, but this stability is lost rapidly by the fact that proteins undergoos denaturation process, so that the difference of surface tension - coating solution is too low.



## 6. REFERENCES AND NOTES

1. FELLOWS, P. (1994). Tecnología del procesado de los alimentos, Principios y Prácticas. Editorial ACRIBIA, S.A. Zaragoza España.
2. BARBOSA, G. (2000). Deshidratación de alimentos. Editorial ACRIBIA, S.A. Zaragoza España.
3. POTTER, N. (1970). La Ciencia de los Alimentos. The AVI Publishing Company, Inc. Westport Connecticut. Second Printing.
4. PITA, E. (1998). Principios y sistemas de refrigeración, Editorial LIMUSA S.A. Balderas, México, D.F.
5. DOSSAT J, R. (1998). Principios de Refrigeración, Compañía editorial Continental,S.A. México,
6. CENGEL, Yunus A. Transferencia de Calor, Mc Graw Hill, segunda edición.
7. HAWTHORN, J. (1981). Recent Advances in Food Science, Vol II. Ed. Butter Worths. Londres.
8. DESROSIER, W. (1983). Elementos de Tecnología de Alimentos. Editorial Continental S.A. CV, México.
9. Douglas, C. Design and analysis of experiments. Arizona State University.
10. Ana, S., Oiga, L. (1995). Liofilización, Revista de Química. Vol. IX. W 2.
11. Mengual, O., Meunier, I., Cayré, I., Puech, K., Snabre, P. (1999). TURBISCAN MA 2000: multiple light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis, 50,445-456.
12. Julia, C., Gerhard, W. (2013). Recent advances and further challenges in lyophilization, 85, 162-169.
13. David, J., Daniel, T. (2013). Liquid egg white pasteurization using a centrifugal UV irradiator, 162, 43-47.

14. Valérie, L., Romain, J., Abedallah, A., Jack, L., Franc, O. (2007). Egg White drying: Influence of industrial processing steps on protein structure and functionalities, 83, 404-413.
15. Fabio, L., Pierangelo, F., Janine, L., Giuseppe, M., Mteo, A. (2012). Effect of sugar, citric acid and egg white type on the microstructural and mechanical properties of meringues, 108, 453-462.
16. Estefania, L., Luis, T., Antonio, A. (2012). Time-scale modeling and optimal control of freeze-drying, 111, 655-666.
17. Wenjia, Z., Fang, L., Caleb, N., Juming, T. (2013). Physical properties of egg whites and whole eggs relevant to microwave pasteurization, 118, 62-69.
18. Lu, G., Chen, T. (1999). Application of egg white and plasma powders as muscle food binding agents, 42, 147-151.
19. Qinchun, R., Jeancarlo, R., Theodore, P. (2013). Storage stability of hen egg white powders in three protein/water dough model systems, 138, 1087-1094.
20. Adrian, V., Natalia, H., Magdalena, W., Arno, D., Gerard, D. (2012). The impact of freeze-drying on microstructure and rehydration properties of carrot, 49, 687-693.
21. Sorayya, A., Joyce, I., Vanessa M., Hassan, S. (2013). Detection of ovalbumin in eggwhite, whole egg and incurred pasta using LC-ESI-MS/MS and ELISA, 52, 526-534.





**ANEXOS**





## ANEXO 1: DISEÑO EXPERIMENTAL



Figura 36. Dispositivo experimental (Liofilizador)



Figura 37. Aspecto del producto durante el proceso de liofilización



Figura 38. Aspecto del producto durante el proceso de secado convencional

- Primer bloque

Figura 39. Tabla de los resultados de transmisión para los primeros experimentos del primer bloque

Peso (g)	Presión (mbar)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Transmisión
			0	70,632
40,049	0,1	-2	240	75,392
			1440	75,154
			0	74,408
20,034	0,1	-2	240	76,370
			1440	74,002
			0	71,040
40,042	0,1	-5	240	74,226
			1440	74,106
			0	71,992
20,016	0,1	-5	240	75,102
			1440	72,952
			0	68,952
40,010	0,5	-2	240	77,358
			1440	77,860
			0	66,518
20,022	0,5	-2	240	75,572
			1440	76,314
			0	67,820
40,033	0,5	-5	240	73,730
			1440	72,342
			0	73,132

20,016	0,5	-5	240	75,690
			1440	75,390
			0	73,204
30,031	0,3	-3,5	240	74,914
			1440	72,390
			0	73,422
30,018	0,3	-3,5	240	74,312
			1440	72,818

Figura 40. Tabla de los resultados de transmisión para las replicas del primer bloque

Peso (g)	Presión (mbar)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Transmisión
			0	70,514
40,000	0,1	-2	240	71,552
			1440	71,458
			0	65,626
20,021	0,1	-2	240	70,168
			1440	71,598
			0	59,332
40,063	0,1	-5	240	60,604
			1440	64,070
			0	64,464
20,021	0,1	-5	240	63,640
			1440	65,606
			0	68,116

40,034	0,5	-2	240	68,510
			1440	68,634
			0	63,026
20,034	0,5	-2	240	68,506
			1440	65,810
			0	69,432
40,018	0,5	-5	240	70,398
			1440	70,390
			0	70,352
20,001	0,5	-5	240	70,502
			1440	70,614
			0	69,056
30,032	0,3	-3,5	240	69,770
			1440	68,688
			0	64,704
30,031	0,3	-3,5	240	68,418
			1440	69,032
			0	66,532
30,003	0,3	-3,5	240	67,894
			1440	67,428
			0	68,010
30,000	0,3	-3,5	240	68,860
			1440	69,870

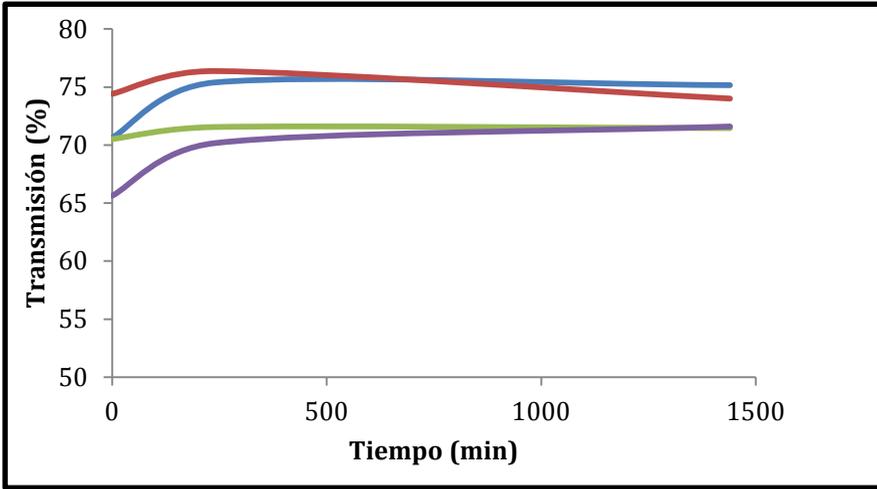


Figura 41. Evolución de la transmisión durante las 24 horas de las muestras a 0,1 mbar y -2 °C

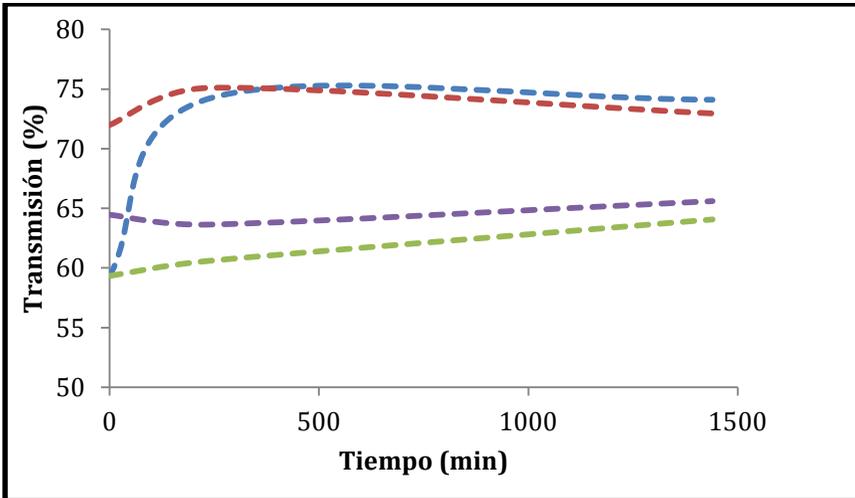


Figura 42. Evolución de la transmisión durante las 24 horas de las muestras a 0,1 mbar y -5 °C

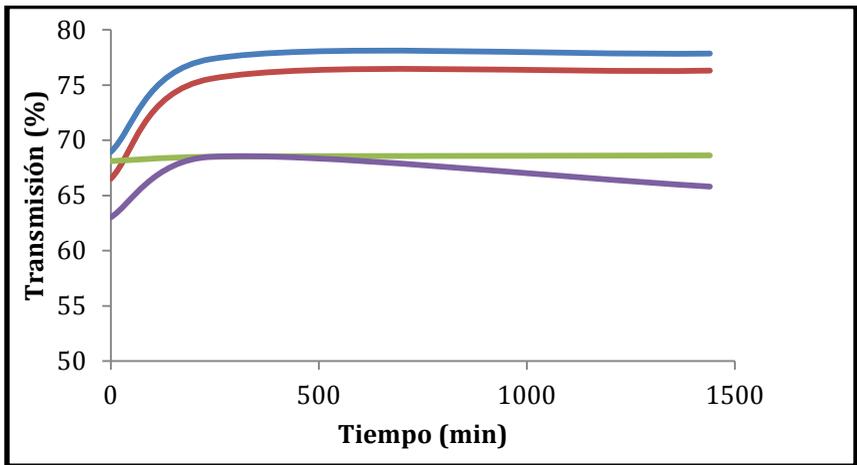


Figura 43. Evolución de la transmisión durante las 24 horas de las muestras a 0,5 mbar y -2 °C

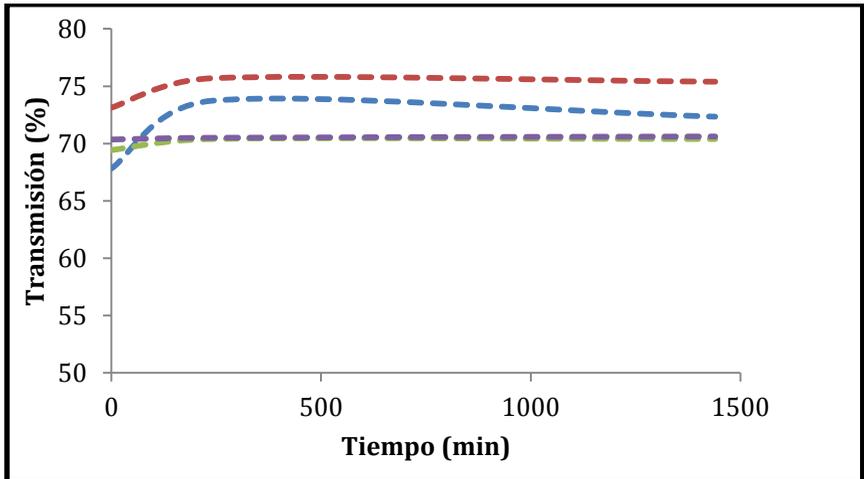


Figura 44. Evolución de la transmisión durante las 24 horas de las muestras a 0,5 mbar y -5 °C

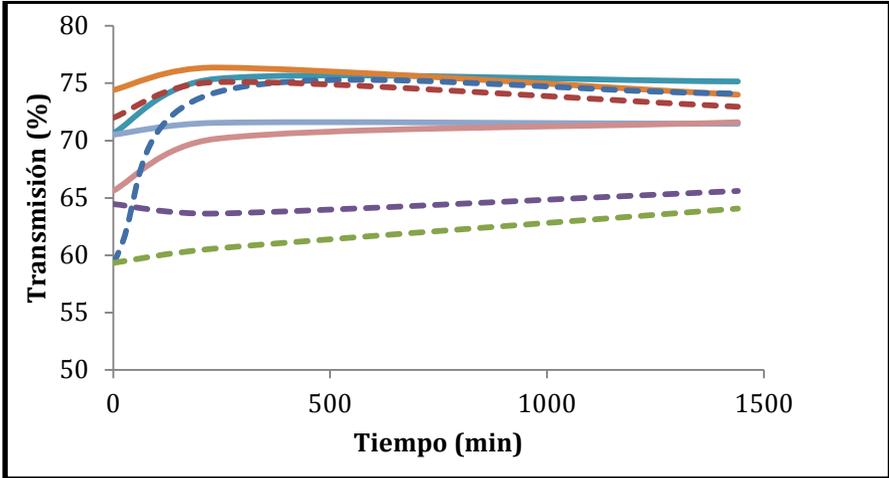


Figura 45. Comparativa de la evolución de la transmisión durante las 24 horas de las muestras a 0,1 y 0,5 mbar, temperatura -2°C

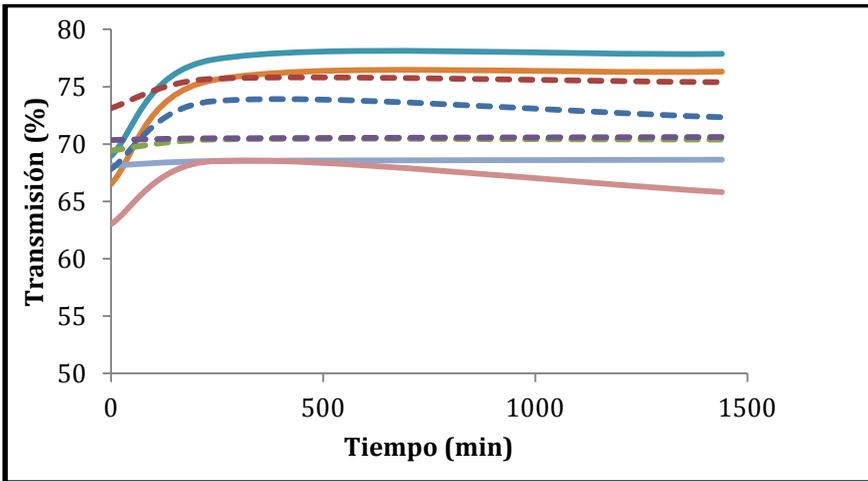


Figura 46. Comparativa de la evolución de la transmisión durante las 24 horas de las muestras a 0,1 y 0,5 mbar, temperatura -5 °C

- Segundo bloque

Figura 47. Tabla de los resultados de transmisión para los experimentos del segundo bloque

Peso (g)	Presión (mbar)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Transmisión
			0	70,050
40,042	0,1	-2	240	69,900
			1440	70,810
			0	72,658
40,013	0,1	-2	240	71,922
			1440	73,138
			0	71,792
40,026	0,1	-5	240	73,416
			1440	72,340
			0	74,282
40,063	0,1	-5	240	74,384
			1440	74,442
			0	73,552
40,035	0,5	-2	240	75,154
			1440	75,978
			0	72,154
40,034	0,5	-2	240	72,082
			1440	70,242
			0	71,430

40,047	0,5	-5	240	71,842
			1440	72,756
			0	70,042
40,027	0,5	-5	240	71,610
			1440	73,164
			0	74,690
40,052	0,3	-3,5	240	74,166
			1440	74,442
			0	71,992
40,072	0,3	-3,5	240	72,420
			1440	72,918
			0	74,186
40,084	0,3	-3,5	240	73,938
			1440	73,940
			0	72,284
40,052	0,3	-3,5	240	73,404
			1440	73,878

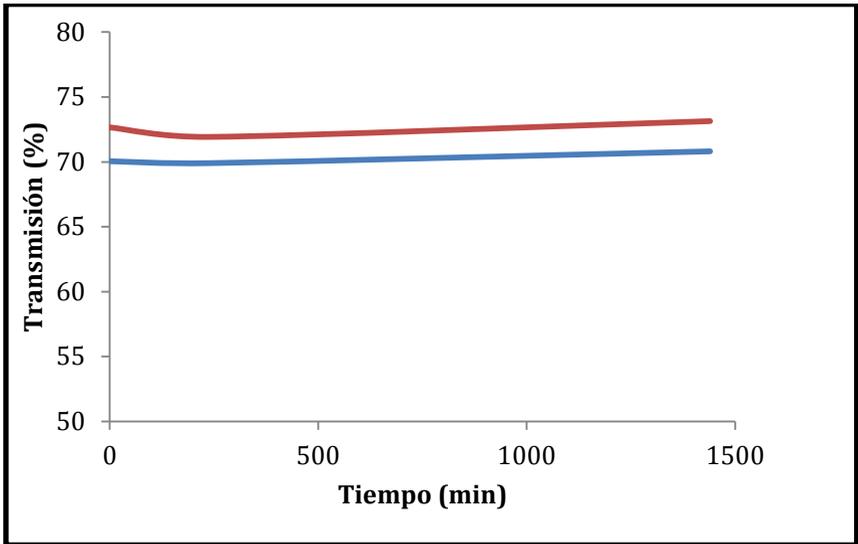


Figura 48. Evolución de la transmisión durante las 24 horas de las muestras a 0,1 mbar y -2 °C

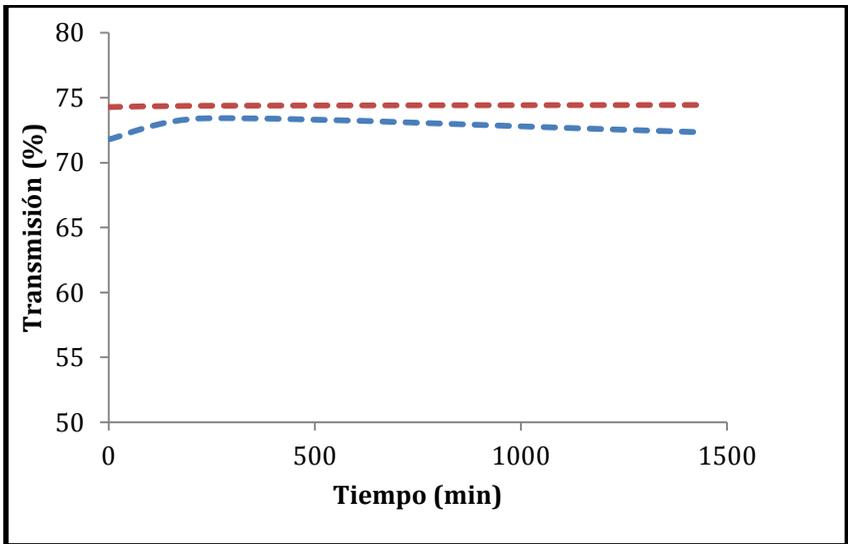


Figura 49. Evolución de la transmisión durante las 24 horas de las muestras a 0,1 mbar y -5 °C

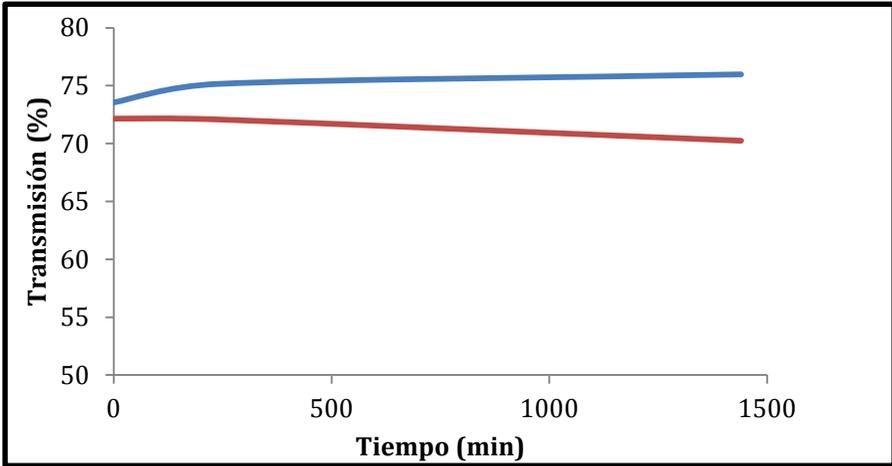


Figura 50. Evolución de la transmisión durante las 24 horas de las muestras a 0,5 mbar y  $-2^{\circ}\text{C}$

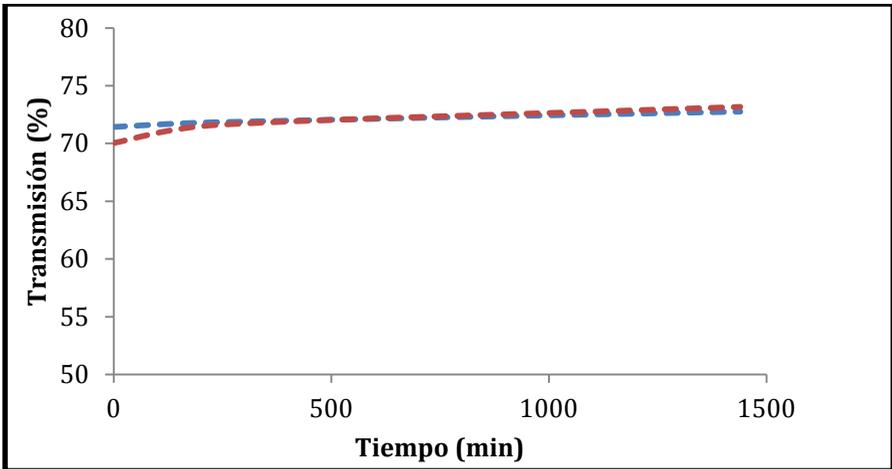


Figura 51. Evolución de la transmisión durante las 24 horas de las muestras a 0,5 mbar y  $-5^{\circ}\text{C}$

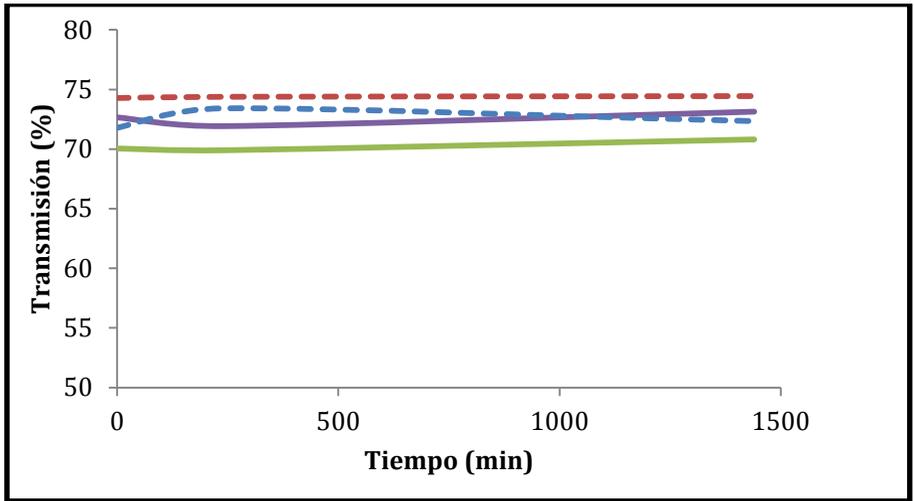


Figura 52. Comparativa de la evolución de la transmisión durante las 24 horas de las muestras a 0,1 y 0,5 mbar, temperatura -2 °C

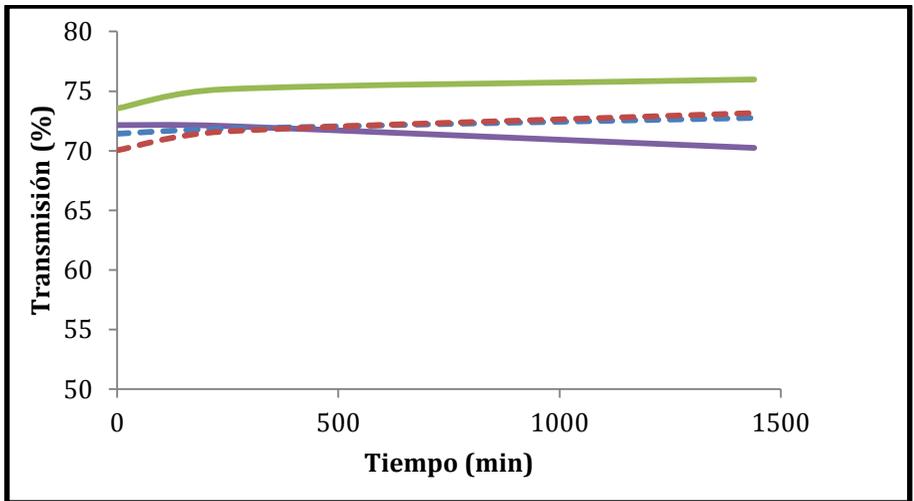


Figura 53. Comparativa de la evolución de la transmisión durante las 24 horas de las muestras a 0,1 y 0,5 mbar, temperatura -5 °C

## ANEXO 2: CURVAS DE SECADO A $T_{MAX}$ Y $T_{MIN}$

Figura 54. Tabla de los resultados para la obtención de la curva de secado a temperatura de bandeja de

-2 °C

Tiempo (min)	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Agua eliminada (g)	Agua eliminada (%)
60	20,023	136,906	6,650	33,212
60	40,002	157,728	6,227	15,567
120	20,023	132,255	11,301	56,440
120	40,002	152,677	11,278	28,194
180	20,023	128,711	14,845	74,140
180	40,002	147,812	16,143	40,355
240	20,023	126,706	16,850	84,153
240	40,002	142,724	21,231	53,075
300	20,023	126,077	17,479	87,295
300	40,002	137,615	26,340	65,847
360	20,023	126,013	17,543	87,614
360	40,002	133,756	30,199	75,494
420	20,023	125,971	17,585	87,824
420	40,002	131,559	32,396	80,986
480	20,023	125,934	17,622	88,009
480	40,002	130,255	33,700	84,246

540	20,023	125,930	17,626	88,029
540	40,002	128,745	35,210	88,021

Figura 55. Tabla de los cálculos para la obtención de la curva de secado de la muestra con espesor de 20 gramos y temperatura de bandeja de -2 °C

Tiempo (min)	Agua eliminada (%)	Albúmina (g)	X (g/g)	$\Delta X / \Delta t$ (g/g.min)
0	0	20,023		
60	33,212	13,373	4,5791	
120	56,440	8,722	2,6387	0,03234
180	74,140	5,178	1,1602	0,02464
240	84,153	3,173	0,3237	0,01394
300	87,295	2,544	0,0613	0,00437
360	87,614	2,480	0,0346	0,00045
420	87,824	2,438	0,0171	0,00029
480	88,009	2,401	0,0017	0,00026
540	88,029	2,397	0	0,00003

Figura 56. Tabla de los cálculos para la obtención de la curva de secado de la muestra con espesor de 40 gramos y temperatura de bandeja de -2 °C

Tiempo (min)	Agua eliminada (%)	Albúmina (g)	X (g/g)	$\Delta X / \Delta t$ (g/g.min)
0	0	40,002		
60	15,567	33,775	6,0482	
120	28,194	28,724	4,9942	0,01757
180	40,355	23,859	3,9789	0,01692

240	53,075	18,771	2,9172	0,01770
300	65,847	13,662	1,8510	0,01777
360	75,494	9,803	1,0457	0,01342
420	80,986	7,606	0,5872	0,00764
480	84,246	6,302	0,3151	0,00454
540	88,021	4,792	0	0,00525

Figura 57. Pérdida de peso frente tiempo de las dos muestras a temperatura de bandeja -2 °C

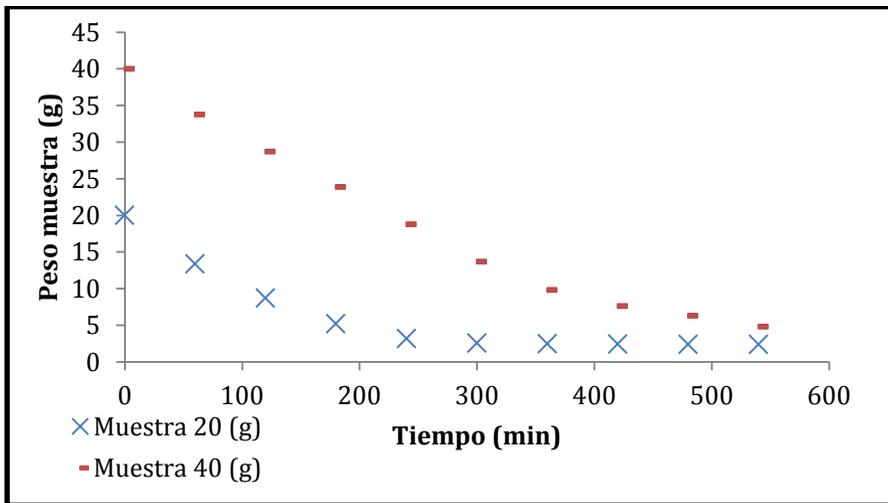


Figura 58. Tabla de los resultados para la obtención de la curva de secado a temperatura de bandeja de

8 °C

Tiempo (min)	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Agua eliminada (g)	Agua eliminada (%)
60	20,025	138,318	5,240	26,167
60	40,048	159,811	4,190	10,462
120	20,025	133,845	9,713	48,504
120	40,048	155,310	8,691	21,701

180	20,025	130,233	13,325	66,542
180	40,048	150,859	13,142	32,816
240	20,025	127,659	15,899	79,396
240	40,048	146,114	17,887	44,664
300	20,025	126,612	16,946	84,624
300	40,048	141,012	22,989	57,404
360	20,025	126,146	17,412	86,951
360	40,048	136,074	27,927	69,734
420	20,025	126,044	17,514	87,461
420	40,048	132,795	31,206	77,921
480	20,025	125,988	17,570	87,740
480	40,048	130,902	33,099	82,648
540	20,025	125,957	17,628	88,030
540	40,048	128,750	35,251	88,022
600	20,030	125,940	17,620	88,005
600	40,050	129,840	34,160	85,293
660	20,030	125,930	17,630	88,030
660	40,050	128,840	35,160	87,790
720	20,030	125,930	17,630	88,040
720	40,050	128,740	35,260	88,039

Figura 59. Tabla de los cálculos para la obtención de la curva de secado de la muestra con espesor de 20 gramos y temperatura de bandeja de 8 °C

Tiempo (min)	Agua eliminada (%)	Albúmina (g)	X (g/g)	$\Delta X / \Delta t$ (g/g.min)
0	0	20,025		
60	26,167	14,785	5,17328	
120	48,504	10,312	3,30564	0,03113
180	66,542	6,700	1,79749	0,02514
240	79,396	4,126	0,72276	0,01791
300	84,624	3,079	0,28559	0,00729
360	86,951	2,613	0,09102	0,00324
420	87,461	2,511	0,04843	0,00071
480	87,740	2,455	0,02505	0,00039
540	87,895	2,424	0,01211	0,00022
600	88,005	2,402	0,00292	0,00015
660	88,030	2,397	0,00084	0,00003
720	88,040	2,395	0	0,00001

Figura 60. Tabla de los cálculos para la obtención de la curva de secado de la muestra con espesor de 40 gramos y temperatura de bandeja de 8 °C

Tiempo (min)	Agua eliminada (%)	Albúmina (g)	X (g/g)	$\Delta X / \Delta t$ (g/g.min)
0	0	40,048		
60	10,462	35,858	6,48601	
120	21,701	31,357	5,54635	0,01566
180	32,816	26,906	4,61712	0,01549
240	44,664	22,161	3,62651	0,01651
300	57,404	17,059	2,56138	0,01775

360	69,734	12,121	1,53048	0,01718
420	77,921	8,842	0,84593	0,01141
480	82,648	6,949	0,45073	0,00659
540	84,034	6,394	0,33486	0,00193
600	85,293	5,890	0,22965	0,00175
660	87,790	4,890	0,02088	0,00348
720	88,039	4,790	0	0,00035

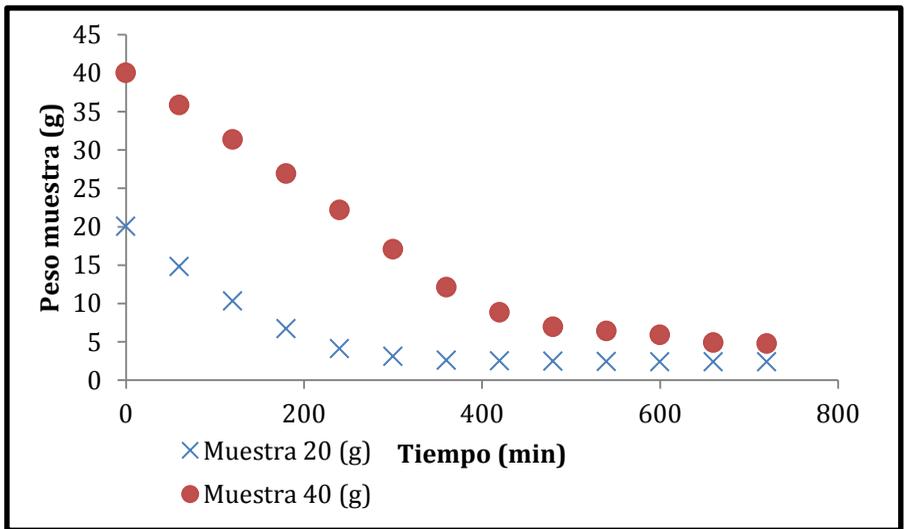


Figura 61. Pérdida de peso frente tiempo de las dos muestras a temperatura de bandeja de 8 °C

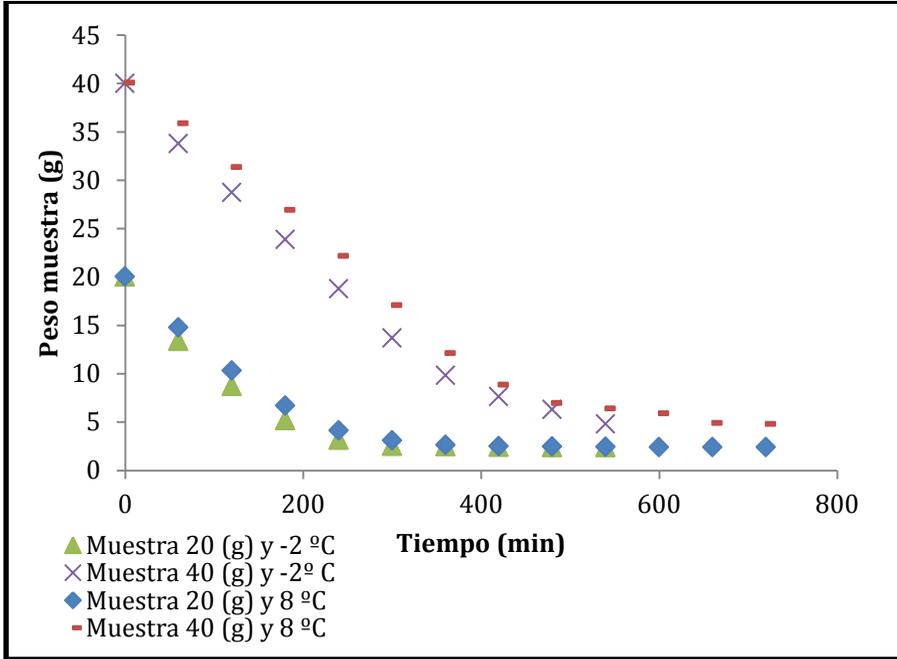


Figura 62. Comparativa perdida peso frente tiempo de las dos muestras a temperatura de bandeja -2 °C y 8 °C

Curva de secado comparativa de las dos temperatura

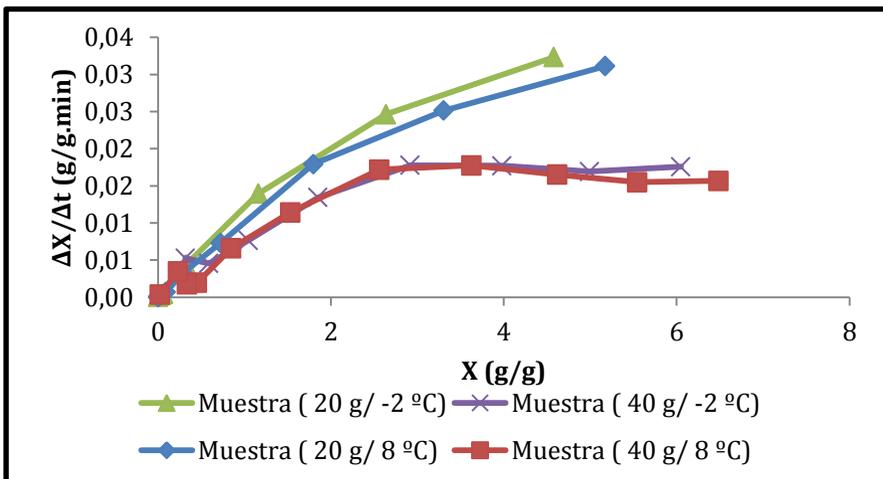


Figura 63. Gráfica comparativa de las dos curvas de secado a temperatura baja y alta de liofilización

## ANEXO 3: ESTUDIO COMPARATIVO

### Prueba de hidratación de los 4 productos a las 24 horas

Figura 64. Tabla de las transmisiones obtenidas del ensayo de la hidratación: a) albúmina comercial CLAROY, b) albúmina comercial SOSA

(a)		(b)	
Tiempo (min)	Transmisión (%)	Tiempo (min)	Transmisión (%)
0	30,13	0	7,86
240	37,50	240	45,37
1440	45,73	1440	46,01

Figura 65. Tabla de las transmisiones obtenidas del ensayo de la hidratación: a) albúmina secado convencional, b) albúmina liofilizada

(a)		(b)	
Tiempo (min)	Transmisión (%)	Tiempo (min)	Transmisión (%)
0	38,03	0	76,29
240	42,81	240	74,90
1440	49,45	1440	74,00

## ANEXO 4: ENSAYO MONTADO DE CLARAS

### Definición y tipos

Los merengues son espumas de clara de huevo que pueden ser blandas, masticables o quebradizas, dependiendo del contenido de azúcar y de cómo se preparan.

Se podemos ver la complejidad que supone hacer un merengue. Si añadimos más o menos azúcar, si la añadimos en forma molida o en almíbar, si batimos de una forma u otra, si cocemos más o menos tiempo y a más o menos temperatura se obtienen diferentes merengues.

### Merengue italiano

Se cuece con almíbar. Por cada litro de claras (cantidad que se puede usar en una pastelería) utilizaríamos 200 g de azúcar más un almíbar compuesto de 800 ml de agua y 2 kg de azúcar. Para hacer menos cantidad habría que hacer lo proporcional por unos 120-150 g de claras de huevo.

En este caso el almíbar se cuece a punto de bola floja. Es decir, si mojamos una espumadera en el almíbar y la sacamos y soplamos por los agujeros tendría que salir una bola que se rompe. Y este almíbar se añade una vez montadas las claras con el azúcar restante.

Este merengue se utiliza tal cual, se pueden hacer formas con una manga pastelera, se pone en cápsulas directamente y se espolvorea con café, chocolate, etc., o para cubrir tartas o pasteles.

### Merengue suizo

Creo que el merengue suizo es el más sencillo de todos. Se usa la misma cantidad de claras que de azúcar. Aunque si se quiere un merengue de más consistencia le añadiremos más o si lo queremos con menos, le añadiremos menos.

Este tipo de merengue se utiliza como decoración en tartas, bizcochos, helados, etc. Y en ocasiones la terminación que se hace es el gratinado en el horno.

Para que salga mejor este merengue podemos dejar las claras en la nevera el día antes. Así han perdido un poco de humedad y la concentración de proteína es mayor por lo que montarán mejor.

### Merengue cocido

Este es un tipo de merengue que lleva el doble de azúcar que de claras y además se le añaden unas gotas de zumo de limón. La particularidad es que se cuece al baño María sin rebasar los 60 °C. Llegado ese punto se retiran y siguen batiéndose hasta que quede frío.

De esta forma el merengue alcanza su densidad óptima. Se suelen hacer figuras decorativas con él. O para hacer decoraciones que requieren un moldeamiento mayor en tartas.

### Merengue seco

Es un merengue similar al italiano, lo único que se añade azúcar glass al almíbar. Pero este es del mismo punto y se añade de la misma forma. El batido es igual.

La diferencia es que se hacen figuritas y después se cuecen en el horno, a baja temperatura durante mucho tiempo para evitar que se dore o queme.