UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA
FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS INDUSTRIALES
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

"EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS, FUNCIONALES Y VIDA ÚTIL DEL CUSHURO (*Nostoc Sphaericum*) LIOFILIZADO"

Nancy Vironeca Quispe Cordova
Yuli Pilar Mamani Choque

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

ASESOR: M.Sc. Adaliht Jhony Arisaca Parillo
CO-ASESOR: M.Sc. Jose Manuel Prieto

JULIACA – PERÚ, 2026

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA

FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS INDUSTRIALES

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

"EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS, FUNCIONALES Y VIDA ÚTIL DEL CUSHURO *(Nostoc Sphaericum)* LIOFILIZADO"

Nancy Vironeca Quispe Cordova

Yuli Pilar Mamani Choque

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

ASESOR: M.Sc. Adaliht Jhony Arisaca Parillo

CO-ASESOR: M.Sc. Jose Manuel Prieto

JULIACA – PERÚ, 2026

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA

FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS INDUSTRIALES

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

“EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS, FUNCIONALES Y VIDA ÚTIL DEL CUSHURO *(Nostoc Sphaericum)* LIOFILIZADO”

Nancy Vironeca Quispe Cordova

Yuli Pilar Mamani Choque

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

ASESOR: M.Sc. Adaliht Jhony Arisaca Parillo

CO-ASESOR: M.Sc. Jose Manuel Prieto

Juliaca, 2026

FICHA CATALOGRÁFICA

Quispe, N. y Mamani, Y. (2026). *Evaluación de las propiedades físicoquímicas, funcionales y vida útil del cushuro (Nostoc sphaericum) liofilizado* [Tesis de pregrado en ingeniería, Universidad Nacional de Juliaca].

AUTOR: Nancy Veronica Quispe Cordova

Yuli Pilar Mamani Choque

TITULO: "Evaluación de las propiedades fisicoquímicas, funcionales y vida útil del cushuro (*Nostoc sphaericum*) liofilizado".

PUBLICACIÓN: Juliaca, 2026.

DESCRIPCIÓN: Cantidad de páginas (240pp)

NOTA: Tesis de la escuela profesional de ingeniería en industrias alimentarias-Universidad Nacional de Juliaca.

CODIGO: 03-000057-03/M21

NOTA: Incluye bibliografía

ASESOR: M.Sc. Adaliht Jhony Arisaca Parillo

CO-ASESOR: M.Sc. José Manuel Prieto

PALABRAS CLAVE: Algas, liofilización, isotermas, capacidad antioxidante, $ABTS^{+\bullet}$.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA

FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS INDUSTRIALES

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

"EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS, FUNCIONALES Y VIDA ÚTIL DEL CUSHURO (*Nostoc Sphaericum*) LIOFILIZADO"

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Presentada por:

Nancy Vironeca Quispe Cordova

Yuli Pilar Mamani Choque

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

D.Sc. ELIZABETH HUANATICO SUAREZ

PRESIDENTE DE JURADO

Dr. JULIO RUMUALDO GALLEGOS RAMOS

JURADO (secretario)

2° MIEMBRO

M.Sc. PITHER JHOEL JAVIER SUCARI

JURADO (Vocal)

3° MIEMBRO

M.Sc. ADALIHT JHONY ARISACA PARILLO

ASESOR DE TESIS

M.Sc. JOSÉ MANUEL PRIETO

CO-ASESOR DE TESIS

Nancy Vironeca Quispe Cordova Yuli Pilar Mamani ...

EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS, FUNCIONALES Y VIDA ÚTIL DEL CUSHURO (Nostoc Sphaeric...

Universidad Nacional de Juliaca

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid:::3117:650004407

Fecha de entrega
5 nov 2026, 10:20 a.m. GMT-5

Fecha de descarga
5 nov 2026, 10:24 a.m. GMT-5

Nombre del archivo
EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS, FUNCIONALES Y VIDA ÚTIL DEL CUSHURO (....pdf

Tamaño del archivo
6.3 MB

287 páginas

58.063 palabras

332.511 caracteres

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA

Firmado digitalmente por HUANCA SUAQUITA JHON RICHARD
DNI 40818674
Motivo: Doy V° B°
Fecha: 05.11.2026 10:48:42 -05:00

turnitin Página 1 de 295 - Portada Identificador de la entrega trn:oid:::3117:650004407

5% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

5% Fuentes de Internet
1% Publicaciones
0% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

Caracteres reemplazados
149 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

Texto oculto
133 caracteres sospechosos en N.º de página
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

UNJ
UNIVERSIDAD NACIONAL DE JULIACA

Firmado digitalmente por HUANCA SUAQUITA JHON RICHARD
DNI:40818674
Motivo: Doy V° B°
Fecha: 05.11.2026 10:49:12 -05:00

DEDICATORIA

A la memoria de mis queridos padres, Marcelo Quispe Calsin y Elisabeth Cordova Quispe, quienes desde el cielo guían cada uno de mis pasos. Aunque la vida no me permitió celebrar este logro con ustedes, sé que sonríen desde algún lugar del cielo. Su amor, sus enseñanzas y su sacrificio son la raíz de este logro. Cada esfuerzo, cada desvelo, lleva grabado sus nombres.

A mis hermanos, por ser mi soporte incondicional y compañeros de vida, por creer en mí cuando yo dudaba y por ser mi red cuando sentí caer. Gracias por impulsar me a seguir estudiando y recordarme que rendirse no era una opción. Sin su apoyo, este sueño no habría sido posible.

Y a ti, mi amor, mi cómplice, por tu paciencia, por sostener mi mano en los días difíciles, por entender mis ausencias y celebrar conmigo cada pequeño avance. Gracias por caminar conmigo por este camino.

Nancy Vironeca Quispe Cordova

Dedico este trabajo, ante todo, a Dios, por ser la luz que ilumina mi sendero y la fortaleza inagotable que sostuvo mi espíritu en cada etapa de este trayecto.

A mi padre, Juan Rene, por ser ejemplo de integridad y por transmitirme el valor del esfuerzo como cimiento de la superación. A mi madre, Lucia, por su amor incondicional, su fortaleza admirable y esa entrega constante que ha sido mi mayor refugio.

A mis hermanas, Deysi y Guadalupe, por la calidez de su afecto y por ser presencia constante, brindándome el aliento necesario en los momentos de incertidumbre.

A mi compañero de camino (Joel), por su paciencia infinita y por ser la fortaleza inquebrantable que me sostuvo en los momentos más difíciles de este trayecto.

Este logro representa la culminación de un esfuerzo compartido y es el testimonio fiel del amor y la fe que nos unen.

Yuli Pilar Mamani Choque

AGRADECIMIENTO

Expresamos nuestro más sincero agradecimiento a Dios, por brindarnos fortaleza, sabiduría y perseverancia para culminar satisfactoriamente esta etapa de formación profesional.

A la Universidad Nacional de Juliaca, por acogernos en sus aulas y contribuir significativamente a nuestro desarrollo académico y profesional.

A la Facultad de procesos industriales y de manera especial, a la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias, por proporcionarnos los conocimientos, herramientas y espacios necesarios para nuestra formación integral.

A nuestros asesores, por su orientación profesional, apoyo constante, dedicación y valiosos conocimientos compartidos durante el desarrollo de la presente investigación. Su acompañamiento fue fundamental para alcanzar los objetivos planteados.

Asimismo, agradecemos a los colaboradores y participantes que contribuyeron con su tiempo, experiencia y apoyo durante la ejecución de este trabajo de investigación.

-Ala memoria de mis padres, Marcelo Quispe Calsin y Elisabeth Cordova Quispe, por ser la luz que guió mi camino y la razón de este logro.

A mis hermanos, por su apoyo incondicional para seguir estudiando. Sin ustedes, este sueño no sería realidad. A mi esposo, por su amor y paciencia en cada desvelo. Y a mis bebés gatunos, Shanel y Albus, por su compañía silenciosa y ronroneos que calmaron mis noches de tesis.

Nancy Vironeca Quispe Cordova

.

-A mis padres, Juan Rene y Lucia, por ser mi base emocional y mi ejemplo de perseverancia; su amor incondicional y sacrificio han sido la piedra angular sobre la cual he construido este logro. A mis hermanas, Deysi y Guadalupe, por su cariño y aliento constante en cada etapa de este proceso.

A mi compañero de camino (Joel), por su compañía, motivación y apoyo incondicional, siendo un pilar fundamental en mi equilibrio personal y profesional.

A todos aquellos que, de forma directa o indirecta, formaron parte de este trayecto, les expreso mi más sincera y eterna gratitud.

Yuli Pilar Mamani Choque

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA iii

AGRADECIMIENTO iv

ÍNDICE GENERAL v

ÍNDICE DE TABLAS ix

ÍNDICE DE FIGURAS xi

ÍNDICE DE ANEXOS xiv

RESUMEN xv

ABSTRACT xvi

INTRODUCCIÓN xvii

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA 1

1.1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA GENERAL 3

1.1.2. PLANTEAMIENTO PROBLEMA ESPECIFICO 3

1.2. OBJETIVOS 4

1.2.1. OBJETIVO GENERAL 4

1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 4

1.3. JUSTIFICACIÓN 4

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES 8

2.2. MARCO TEÓRICO 18

2.2.1. ALGAS 18

2.2.2. CUSHURO (*Nostoc Sphaericum*) 20

2.2.3. MÉTODOS DE CONSERVACIÓN Y DESHIDRATACIÓN DE ALIMENTOS. 24

2.2.4. LIOFILIZACIÓN 26

2.2.5. LIOFILIZACIÓN EN EL CUSHURO 29

2.2.6. CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS EVALUADAS EN EL CUSHURO... 31

2.2.7. CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES 35

2.2.8. ISOTERMAS DE SORCIÓN 38

2.2.9. VITA ÚTIL DE ALIMENTOS 40

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO 41

3.2. MÉTODO DE LA INVESTIGACIÓN POBLACION Y MUESTRAS 42

3.3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS 42

3.4. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN 44

3.5. METODOLOGIA EXPERIMENTAL POR OBJETIVOS 50

3.5.1. PARA EL OBJETIVO 1. 50

3.5.2. PARA EL OBJETIVO 2. 65

3.5.3. PARA EL OBJETIVO 3 77

3.5.4. PARA EL OBJETIVO 4 83

3.6. FORMULACION DE HIPOTESIS 88

3.6.1. HIPÓTESIS GENERAL 88

3.6.2. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS 88

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. EFECTO DE LOS PARÁMETROS DE TEMPERATURA DE CONGELACIÓN Y LA PRESIÓN DE SUBLIMACIÓN SOBRE LAS PROPIEDADES FISICASMECÁNICAS (HUMEDAD, ACTIVIDAD DE AGUA, COLOR, TEXTURA, VOLUMEN Y REHIDRATACIÓN) DEL CUSHURO PARA ESTABLECER EL TRATAMIENTO ADECUADO 90

4.1.1. EFECTOS DE LOS PARÁMETROS DE CONGELADO Y SUBLIMACIÓN SOBRE LA HUMEDAD DEL CUSHURO LIOFILIZADO 92

4.1.2. EFECTOS DE LOS PARÁMETROS DE CONGELADO Y SUBLIMACIÓN SOBRE LA REHIDRATACIÓN DEL CUSHURO LIOFILIZADO 97

4.1.3. EFECTOS DE LOS PARÁMETROS DE CONGELADO Y SUBLIMACIÓN SOBRE EL VOLUMEN DEL CUSHURO LIOFILIZADO 103

4.1.4. EFECTOS DE LOS PARÁMETROS DE CONGELADO Y SUBLIMACIÓN

SOBRE LA ACTIVIDAD DE AGUA DEL CUSHURO LIOFILIZADO 109

4.1.5 EFECTOS DE LOS PARÁMETROS DE CONGELADO Y SUBLIMACIÓN SOBRE EL COLOR DEL CUSHURO LIOFILIZADO 115

4.1.6 EFECTOS DE LOS PARÁMETROS DE CONGELADO Y SUBLIMACIÓN SOBRE LA TEXTURA DEL CUSHURO LIOFILIZADO 122

4.1.7. DETERMINACIÓN DE UN TRATAMIENTO ADECUADO DEL CUSHURO LIOFILIZADO..... 148

4.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA (PROTEÍNAS, HIERRO, CALCIO) Y PROPIEDAD FUNCIONAL (CAPACIDAD ANTIOXIDANTE) DEL CUSHURO LIOFILIZADO DEL TRATAMIENTO ADECUADO..... 156

4.3. ISOTERMAS DE SORCIÓN DEL CUSHURO LIOFILIZADO DEL TRATAMIENTO ADECUADO 170

4.4. CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO (TEMPERATURA Y TIPO DE ENVASE) QUE MAXIMICEN LA VIDA ÚTIL Y PERMITAN PRESERVAR LA CALIDAD DEL CUSHURO LIOFILIZADO DEL TRATAMIENTO ADECUADO. 179

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES 202

5.2. RECOMENDACIONES 205

ANEXOS..... 224

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición fisicoquímica del cushuro (g/100g)..... 23

Tabla 2: Parámetros de color..... 33

Tabla 3: Diseño de experimentos..... 55

Tabla 4: Resultados de la humedad (%), actividad de agua, color, textura, volumen y rehidratación del cushuro liofilizado para los tratamientos..... 91

Tabla 5: Ajuste para establecer las variables de respuesta adecuada..... 149

Tabla 6: Composición química y funcionales del cushuro liofilizado (T5)..... 156

Tabla 7: Comparación de los modelos de isotermas de sorción..... 171

Tabla 8: Cuadro comparativo de las propiedades fisicoquímicas (proteínas, Aw, humedad, color) del (T5) a temperaturas de 25°C, 35°C y 45°C..... 180

Tabla 9: Vida útil proyectada en días y parámetros termodinámicos calculados por regresión lineal de Arrhenius para el tratamiento T5..... 184

Tabla 10: Resultados del ANOVA seleccionado para la humedad del cushuro liofilizado..... 258

Tabla 11: Resultados del ANOVA seleccionado para el IR del cushuro liofilizado..... 259

Tabla 12: Resultados ANOVA seleccionado para el volumen del cushuro liofilizado..... 260

Tabla 13: Resultados ANOVA seleccionado para la actividad de agua del cushuro liofilizado..... 261

Tabla 14: Resultados Anova para la diferencia de color del cushuro liofilizado..... 262

Tabla 15: Resultados Anova para la dureza del cushuro liofilizado..... 263

Tabla 16: Resultados Anova para la cohesividad del cushuro liofilizado 264

Tabla 17: Resultados Anova para la elasticidad del cushuro liofilizado 265

Tabla 18: Resultados Anova para la masticabilidad del cushuro liofilizado 266

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Cushuro (Nostoc sphaericum) 21

Figura 2: Reproducción del Cushuro (Nostoc sphaericum) 22

Figura 3: Diagrama de fases de agua y sistemas de secado 27

Figura 4: Etapas del proceso de liofilización 28

Figura 5: Presión del vapor de agua en función de la temperatura 29

Figura 6: Ejemplo de isoterma de sorción de agua de un alimento 39

Figura 7: Flujograma de las operaciones previas a la liofilización del cushuro. 45

Figura 8: Flujograma para la obtención de cushuro liofilizado 47

Figura 9: Diagrama experimental para la obtención de tratamiento adecuado 51

Figura 10: Diagrama experimental utilizado para el objetivo 2 66

Figura 11: Diagrama experimental utilizado para el objetivo 3 78

Figura 12: Diagrama experimental utilizado para el objetivo 4 84

Figura 13: Humedad del cushuro liofilizado entre tratamientos 93

Figura 14: Gráfico de interacción de los efectos de la temperatura de liofilización y la presión de vacío en la humedad del cushuro liofilizado 96

Figura 15: Índice de rehidratación del cushuro liofilizado entre tratamientos 98

Figura 16: Gráfico de interacción de los efectos de la temperatura de liofilización y la presión de vacío en el (IR) del cushuro liofilizado 102

Figura 17: Volumen del cushuro liofilizado entre tratamientos 104

Figura 18: Superficie de respuesta analítica para el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre el volumen del cushuro liofilizado 108

Figura 19: Actividad del agua del cushuro liofilizado entre tratamientos 110

Figura 20: Superficie de respuesta analítica para el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre la actividad del agua del cushuro liofilizado..... 114
Figura 21: Diferencia de color del cushuro liofilizado entre tratamientos..... 116
Figura 22: Superficie de respuesta analítica para el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre la diferencia de color del cushuro liofilizado..... 121
Figura 23: Dureza del cushuro liofilizado entre tratamientos..... 123
Figura 24: Superficie de respuesta analítica para el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre la dureza del cushuro liofilizado 127
Figura 25: Cohesividad del cushuro liofilizado entre tratamientos 129
Figura 26: Superficie de respuesta analítica para el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre la cohesividad del cushuro liofilizado 133
Figura 27: Elasticidad del cushuro liofilizado entre tratamientos..... 135
Figura 28: Superficie de respuesta analítica para el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre la elasticidad del cushuro liofilizado 140
Figura 29: Masticabilidad del cushuro liofilizado entre tratamientos..... 142
Figura 30: Superficie de respuesta analítica para el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre la masticabilidad del cushuro liofilizado 146
Figura 31: Criterios de ajuste para obtener mejor tratamiento de liofilización..... 148

Figura 32: Gráfico de resumen de los valores adecuados de factores y respuestas de liofilización del cushuro 150
Figura 33: Efectos de los parámetros de liofilización en la deseabilidad 151
Figura 34: Gráfico de superficie 3D de función deseabilidad de las características fisicoquímicas del cushuro liofilizado 152
Figura 35: Curva de sorción experimental y ajustada mediante el modelo de GAB para el cushuro liofilizado 172
Figura 36: Curva de sorción linealizada mediante el modelo de BET para el cushuro liofilizado. 173
Figura 37: Curva de sorción y predicción del comportamiento higroscópico mediante el modelo de Oswin para el cushuro liofilizado. 175
Figura 38: Vida útil del cushuro liofilizado según estabilidad de proteínas 191
Figura 39: Vida útil del cushuro liofilizado según la humedad 194
Figura 40: Vida útil del cushuro liofilizado según actividad de agua (Aw) 195

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Base de datos características fisicoquímicas 224

Anexo 2. Base de datos composición química y funcional..... 234

Anexo 3. Base de datos de los cálculos para las curvas de los isotermas de sorción..... 237

Anexo 4. Base de datos y muestra de cálculos para obtener la vida útil..... 238

Anexo 5. Panel fotográfico 242

Anexo 6. Resultados de ANOVA seleccionados de las características fisicoquímicas del cushuro liofilizado 258

RESUMEN

El cushuro es una cianobacteria altoandina de alto valor nutricional; sin embargo, su elevada humedad en estado fresco limita su conservación e industrialización. El estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de los parámetros de congelación y sublimación en la liofilización sobre las propiedades del cushuro, determinando sus isotermas de sorción y vida útil bajo el tratamiento adecuado. Se aplicó un diseño factorial evaluando temperaturas de congelación (-20 a -50°C) y presiones de sublimación (16 a 24 Pa). En la primera etapa, las propiedades físico-estructurales y cromáticas se procesaron en Design-Expert®, identificando al tratamiento T5 (-30 °C y 20 Pa) como el adecuado, luego se sometió a una caracterización química. Los resultados evidenciaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) debido al proceso. El tratamiento adecuado físico (T5) registró una humedad de 8.01 %, un Aw de 0.29, rehidratación de 49.30 %, elasticidad de 0.70 a 0.89 y cohesividad de 0.24 a 0.30. En la evaluación química (b.s.), el liofilizado adecuado retuvo 38.76 g/100 g de proteínas, 48.22 mg/100 g de hierro, 3249.08 mg/100 g de calcio y una capacidad antioxidante de 66.20%. Respecto al comportamiento higroscópico, el modelo de Oswin exhibió el mejor ajuste experimental absoluto ($R^2 = 0.99$; %E = 2.45%) y el de GAB demostró alta predictividad ($R^2 = 0.91$; %E = 7.15%), definiendo una humedad en la monocapa protectora (Xm) de 6.1%. Finalmente, la cinética de Arrhenius proyectó una vida útil de 100.68 días en envases de vidrio a 25 °C, mientras que a 45°C en envases de PET la matriz se desestabilizó, elevando su humedad crítica a 7.8% y colapsando su coordenada cromática a* hasta 0.21. Se concluye que la liofilización adeacuada y el envasado hermético en vidrio garantizan la conservación integral.

Palabras clave: Algas, liofilización, isotermas, capacidad antioxidante, $ABTS^{+\bullet}$.

ABSTRACT

Cushuro is high-altitude Andean cyanobacteria with a high nutritional value; however, its elevated moisture content in the fresh state limits its preservation and industrialization. This study aimed to evaluate the effect of freezing and sublimation parameters during freeze-drying on the properties of cushuro, determining its sorption isotherms and shelf life under the selected treatment. A factorial design was applied to evaluate freezing temperatures (-20 to -50°C) and sublimation pressures (16 to 24Pa). In the first stage, physical-structural and chromatic properties were processed using Design-Expert®, identifying treatment T5 (-30°C and 20 Pa) as the most suitable, which was subsequently subjected to chemical characterization. The results showed statistically significant differences ($p < 0.05$) due to the process. The physically suitable treatment (T5) recorded a moisture content of 8.01%, a water activity 0.29, a rehydration capacity of 49.30%, springiness from 0.70 to 0.89, and cohesiveness from 0.24 to 0.30. In the chemical evaluation (d.b.), the selected freeze-dried matrix retained 38.76 g/100 g of proteins, 48.22mg/100 g of iron, 3249.08 mg/100 g of calcium, and an antioxidant capacity of 66.20%. Regarding the hygroscopic behavior, the Oswin model exhibited the best absolute experimental fit ($R^2 = 0.99$; %E = 2.45%), and the GAB model demonstrated high predictability ($R^2 = 0.91$; %E = 7.15%), defining a monolayer moisture content (Xm) of 6.1%. Finally, the Arrhenius kinetics projected a shelf life of 100.68 days in glass containers at 25 °C, whereas at 45 °C in PET containers, the matrix destabilized, raising its critical moisture content to 7.8% and collapsing its chromatic coordinate a* down to 0.21. It is concluded that adequate freeze-drying and hermetic glass packaging guarantee comprehensive preservation.

Keywords: Algae, freeze-drying, isotherms, antioxidant capacity, ABTS+•.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, ha crecido notablemente el interés por utilizar recursos naturales con alto valor nutricional y propiedades funcionales, sobre todo en zonas andinas donde existen especies subutilizadas con gran potencial como alimentos estratégicos contra la desnutrición (Jacobsen *et al*., 2003). En este contexto, el cushuro (*Nostoc sphaericum*), una cianobacteria colonial nitrógeno-fijadora que habita en los ecosistemas de lagunas altoandinas, sobresale por su notable densidad molecular rica en proteínas, polisacáridos estructurales y compuestos bioactivos, lo que lo convierte en un alimento funcional con amplias aplicaciones en la industria agroalimentaria (Quispe *et al*., 2019; Rivera & Huamán, 2021). Diversos estudios han demostrado que esta especie presenta importantes concentraciones de aminoácidos esenciales, antioxidantes naturales y macrominerales, atributos que favorecen su incorporación en formulaciones alimentarias con alto valor agregado (Beltrán *et al*., 2020; Caicedo *et al*., 2021). Asimismo, las cianobacterias representan una fuente sostenible de nutrientes para la seguridad alimentaria mundial debido a su elevada productividad biológica, eficiencia fotosintética and adaptabilidad a ambientes extremos (Becker, 2013; Pulz & Gross, 2018). No obstante, el cushuro fresco posee un elevado contenido de humedad nativa y un marcado carácter perecedero que limitan drásticamente su conservación y comercialización, haciendo indispensable implementar tecnologías de procesamiento avanzadas que permitan prolongar su vida útil sin alterar su matriz fisicoquímica y celular (Huaraz *et al*., 2020).

La liofilización, o secado por congelación, se ha establecido como una de las técnicas de deshidratación más eficaces para conservar matrices biológicas delicadas, gracias a su capacidad para mantener la microestructura porosa, el valor nutricional y las propiedades

funcionales de los productos mediante la eliminación de agua por sublimación directa del hielo (Ratti, 2019; Zhang *et al*., 2020). Este método minimiza las pérdidas por desnaturalización de compuestos termosensibles debido a que opera bajo condiciones estrictas de baja temperatura y presiones de vacío reducidas (Fellows, 2018). Investigaciones previas demuestran que los productos liofilizados conservan de mejor manera atributos críticos como la textura, el color y la capacidad antioxidante en comparación con los métodos de secado térmico convencionales, los cuales provocan el colapso estructural del alimento (Karam *et al*., 2019; Ciurzyńska & Lenart, 2019; Nowak & Jakubczyk, 2020). Asimismo, el control riguroso de variables cinéticas como la velocidad de congelación, la presión de vacío y la temperatura de placas influye significativamente en los atributos finales del producto terminado (Vega-Gálvez *et al*., 2021; Shishir & Chen, 2017). Al ser un proceso que implica transiciones de fase secuenciales, las variaciones paramétricas operacionales afectan de forma directa la humedad residual, la actividad de agua (Aw) y la estabilidad termodinámica durante el almacenamiento prolongado (Fellows, 2018; Karam *et al*., 2019). Por ende, resulta fundamental el ajuste multivariable de estas corridas experimentales empleando herramientas de software avanzadas como Design-Expert para identificar las condiciones adecuadas de procesamiento de la cianobacteria (Carlos *et al*., 2009).

Por otro lado, las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los alimentos liofilizados están estrechamente relacionadas con su comportamiento frente a la humedad, siendo las isotermas de sorción una herramienta clave para comprender la interacción entre el producto y el ambiente (Iglesias & Chirife, 2020; Tonon *et al*., 2019). Estas permiten predecir la estabilidad del alimento, así como establecer condiciones adecuadas de almacenamiento que eviten fenómenos como la rehidratación no deseada o el deterioro microbiológico (Labuza

& Altunakar, 2020). La actividad de agua es uno de los parámetros más importantes en la conservación de alimentos deshidratados debido a su influencia sobre la estabilidad química, enzimática y microbiológica (Rahman, 2020). Autores como Barbosa-Cánovas *et al*. (2020), Mathlouthi (2018) y Al-Muhtaseb *et al*. (2019) destacan que la reducción de la Aw disminuye significativamente las reacciones de oxidación y el crecimiento microbiano, permitiendo prolongar la vida útil de los alimentos. Del mismo modo, Chirife y Fontana (2020) sostienen que las isotermas de sorción constituyen herramientas esenciales para el diseño de empaques y sistemas de almacenamiento en productos deshidratados.

En relación con el almacenamiento, factores como la temperatura, la humedad relativa y el tipo de envase desempeñan un papel determinante en la conservación de la calidad de los alimentos liofilizados (Azeredo *et al*., 2019; Sablani *et al*., 2020). Cambios controlados en la humedad ambiental favorecen la absorción de agua por parte del producto, generando modificaciones indeseables en la textura, apelmazamiento y pérdida de estabilidad (Goula & Adamopoulos, 2019; Singh & Heldman, 2020; Robertson, 2016). Por ello, el uso de materiales de empaque con alta barrera al vapor de agua y oxígeno permite conservar de mejor manera las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de las matrices liofilizadas (Han, 2020; Robertson, 2016). Un almacenamiento inadecuado puede acelerar procesos de degradación oxidativa y reducir el contenido de compuestos bioactivos en productos funcionales (Sablani *et al*., 2020; Tonon *et al*., 2019). En el caso específico del cushuro, aún existe limitada información científica respecto al comportamiento cinético de sus propiedades fisicoquímicas después de la liofilización y durante su evaluación en condiciones de estabilidad acelerada, lo que evidencia la necesidad de desarrollar investigaciones orientadas a su aprovechamiento industrial.

Por lo tanto, la presente investigación surge ante la necesidad de caracterizar de manera rigurosa los efectos de los parámetros cinéticos de liofilización en la matriz de *Nostoc sphaericum*, modelar matemáticamente su comportamiento higroscópico mediante isotermas de sorción y evaluar su estabilidad fisicoquímica bajo diferentes sistemas de envasado y almacenamiento acelerado. Con ello, se busca proveer una base científica y tecnológica sólida que viabilice la transformación industrial de esta cianobacteria altoandina en un ingrediente funcional estable y de alto valor agregado.

La presente tesis se estructura en cinco capítulos. El primer capítulo aborda el planteamiento del problema, donde se describen los antecedentes, la formulación del problema y los objetivos de la investigación. El segundo capítulo presenta la revisión bibliográfica, que sustenta teóricamente el estudio. El tercer capítulo corresponde a materiales y métodos, donde se detalla el diseño experimental y los procedimientos aplicados. El cuarto capítulo expone los resultados y su respectiva discusión. Finalmente, el quinto capítulo presenta las conclusiones y recomendaciones derivadas del estudio.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Actualmente, el interés por los alimentos funcionales de alto valor biológico va en aumento, impulsando a los consumidores a buscar matrices que vinculen la calidad nutricional con métodos de procesamiento adecuados. Paralelamente, la malnutrición y la inseguridad alimentaria global representan crisis críticas que afectan a más de 820 millones de personas, especialmente en América Latina (FAO *et al*., 2019). En el Perú, esta problemática impacta severamente en la salud infantil; para el año 2022, la desnutrición crónica afectó al 14.8% de niños menores de tres años, registrándose además un alarmante 29.6% de prevalencia de anemia en este mismo grupo etario (Minsa, 2023). Asimismo, en menores de cinco años la anemia alcanzó el 25.0% y la desnutrición crónica se situó en 15.3%, evidenciando un incremento de la desnutrición aguda en los últimos periodos (MINSA *et al*., 2022). Ante este escenario, el cushuro (*Nostoc sphaericum*) surge como una alternativa estratégica y un alimento del futuro debido a su excepcional concentración de proteínas y minerales, idóneo para mejorar el estado nutricional de la población (Gutiérrez, 2010; Quispe *et al*., 2020). Su demanda actual se encuentra en franca expansión tanto en la gastronomía tradicional como en el desarrollo de nuevos productos (Corpus-Gómez *et al*., 2021).

No obstante, en la sociedad moderna, el aprovechamiento y la distribución de esta cianobacteria enfrentan severas limitaciones técnicas. A pesar de sus extraordinarios beneficios, el cushuro en estado fresco es altamente susceptible al deterioro microbiológico y a la degradación fisicoquímica debido a su elevado contenido hídrico, lo que dificulta su conservación en comunidades con recursos limitados (Jara, 2013). La falta de infraestructura de refrigeración y de métodos de almacenamiento adecuados para alimentos tan perecederos agrava este desafío, restringiendo su transporte hacia los mercados urbanos donde se necesita (Johnson, 2019). Por lo tanto, se observa una marcada tendencia hacia el uso de la liofilización como tecnología de deshidratación avanzada. Sin embargo, este proceso también enfrenta desafíos críticos en términos de funcionalidad, textura y estabilidad de la matriz debido a la compleja interacción de sus variables operativas de congelación y sublimación.

Con relación a la investigación, esta se centra en la generación de evidencia técnica que permita definir las condiciones adecuadas para el procesamiento del cushuro (*Nostoc sphaericum*) mediante liofilización, dado que la elección de los parámetros del proceso puede determinar las características finales y la estabilidad del producto liofilizado. Por lo tanto, el principal objetivo se orienta a determinar el efecto de los parámetros de liofilización sobre las propiedades físicas del cushuro y establecer un tratamiento adecuado, a partir del cual se caracterizará su composición química, propiedades funcionales, el comportamiento de las isotermas de sorción y la vida útil del producto. De acuerdo con lo expuesto surgen las siguientes interrogantes:

1.1.1. Planteamiento del problema general

- ¿Cuál es el efecto de los parámetros de liofilización sobre las propiedades físicas del cushuro (*Nostoc sphaericum*) para la determinación de un tratamiento adecuado, y cómo se comportan la composición química, las características funcionales, las isotermas de sorción y la vida útil en dicha condición adecuada?

1.1.2. Planteamiento problema especifico

- ¿Cuál es el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre las propiedades físicas y mecánicas (humedad, actividad de agua, color, textura, volumen y rehidratación) del cushuro para la determinación del tratamiento adecuado?
- ¿Cuáles son los componentes químicos (proteínas, hierro, calcio) y las características funcionales (capacidad antioxidante) del cushuro liofilizado del tratamiento adecuado?
- ¿Cómo se comportan los isotermas de sorción del cushuro liofilizado del tratamiento adecuado?
- ¿Cuáles son las condiciones de almacenamiento (temperatura y tipo de envase) que maximizan la vida útil y preservan la calidad del cushuro liofilizado del tratamiento adecuado?

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo general

- Determinar el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre las propiedades físicas y mecánicas del cushuro (*Nostoc sphaericum*) liofilizado, seleccionando el tratamiento que presente las condiciones más favorables, para caracterizarlo según composición química, propiedades funcionales, isotermas de sorción y vida útil bajo diferentes condiciones de almacenamiento.

1.2.2. Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre las propiedades fisicomecánicas (humedad, actividad de agua, color, textura, volumen y capacidad de rehidratación) del cushuro liofilizado, a fin de identificar el tratamiento con las condiciones más favorables.
- Determinar la composición química (proteínas, hierro y calcio) y la propiedad funcional (capacidad antioxidante) del cushuro liofilizado obtenido mediante el tratamiento seleccionado.
- Determinar las isotermas de sorción del cushuro liofilizado del tratamiento adecuado.
- Determinar las condiciones de almacenamiento (temperatura y tipo de envase) que maximicen la vida útil y permitan preservar la calidad del cushuro liofilizado del tratamiento adecuado.

1.3. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, la búsqueda de alternativas sostenibles que contribuyan a mejorar la alimentación y nutrición constituye uno de los principales desafíos a nivel mundial. En este

contexto, la presente investigación encuentra su factibilidad en la disponibilidad de recursos naturales con alto potencial alimentario, como el cushuro (*Nostoc sphaericum*), una cianobacteria propia de los ecosistemas altoandinos que destaca por su elevado valor nutricional y por su capacidad para contribuir a la seguridad alimentaria y a la diversificación de la dieta humana (Gutiérrez, 2010). Al respecto, Pajares (2015), en su obra *Algas toda una vida*, destacó el potencial del cushuro como una alternativa estratégica para enfrentar problemas de salud pública relacionados con la desnutrición y para combatir los elevados índices de anemia existentes en el país, señalando que el Perú cuenta con aproximadamente 12 300 lagunas altoandinas que albergan estas cianobacterias, constituyendo una fuente alimentaria de gran relevancia aún subutilizada. Asimismo, diversos estudios han demostrado que *Nostoc sphaericum* presenta un contenido proteico cercano al 30%, superando a alimentos tradicionalmente reconocidos como la quinua y la kiwicha, aportando además cantidades importantes de hierro, calcio y fibra; características que lo convierten en una materia prima ideal para el desarrollo de alimentos funcionales y sostenibles (Quispe *et al*., 2020).

El Perú posee una gran biodiversidad de recursos nativos que, pese a sus beneficios, aún son poco aprovechados y consumidos debido a la falta de tecnologías que permitan ampliar su conservación. Ante esta problemática, la liofilización surge como una alternativa tecnológica de gran interés, ya que permite eliminar el agua del alimento a bajas temperaturas y condiciones de vacío, conservando en gran medida sus características nutricionales, físicas y sensoriales. La liofilización aplicada al cushuro bajo los parámetros establecidos por Bautista *et al*. (2014) constituye una base técnica confiable, demostrando una eliminación eficiente del agua mediante sublimación que reduce al mínimo el deterioro térmico de

compuestos sensibles al calor. El valor tecnológico de esta investigación radica en evaluar y fijar un tratamiento adecuado de congelación y sublimación que asegure una baja humedad final y reducida actividad de agua (Aw), maximizando la capacidad de rehidratación y la estabilidad estructural de la matriz biológica frente a los métodos de secado convencionales.

Desde la perspectiva científica, esta investigación genera conocimiento técnico y riguroso aplicable al aprovechamiento industrial de este recurso. Comprender los efectos de la liofilización sobre las propiedades físicas, composición química y características funcionales del cushuro permitirá mejorar los procesos de conservación en la industria alimentaria (Sánchez-Abanto, 2012). Por otro lado, la evaluación de las propiedades del producto resulta fundamental para determinar su calidad y potencial de aplicación. Se consideraron parámetros como el contenido de humedad y la actividad de agua debido a que estos indicadores permiten evaluar la estabilidad microbiológica y química, garantizando una mayor conservación del alimento (Quispe *et al*., 2020). Asimismo, el comportamiento higroscópico mediante las isotermas de sorción resulta esencial para establecer las condiciones de envasado y transporte, mientras que el estudio de estabilidad en almacenamiento a través de la cinética de Arrhenius proporciona información científica inédita para predecir y estimar la vida útil real del producto.

Según Adrián (2018), el cushuro es un producto de bajo costo cuya importancia nutricional aún no ha sido suficientemente difundida, razón por la cual su comercialización actual se limita principalmente a los mercados locales de las zonas altoandinas en su estado fresco y altamente perecedero. En este sentido, la liofilización representa una estrategia económica clave para otorgarle alto valor agregado a este recurso, prolongando su vida útil, mejorando su transporte y facilitando su almacenamiento a temperatura ambiente de manera segura.

Este conocimiento técnico no solo promueve la incorporación del cushuro en nuevos mercados industriales de mayor rentabilidad, sino que también contribuye directamente al fortalecimiento económico y desarrollo local sostenible de las comunidades altoandinas dedicadas a su recolección y comercialización primarias.

Finalmente, la brecha científica que aborda la investigación se produce por la escasa evidencia que existe en la actualidad respecto a la relación que existe entre las condiciones de operación de la liofilización y las características físicas y la estabilidad del cushuro (Nostoc sphaericum); si bien se disponen de trabajos sobre su composición nutricional, funciones funcionales y uso en productos alimenticios, todavía resulta escasísima la evidencia que permite determinar de forma experimental de qué forma puede influir la variación de los parámetros de la liofilización sobre las características físicas del producto y qué combinación permitiría obtener un tratamiento suficientemente adecuado. También existe escasa información que integre la selección de las condiciones anteriores con la posterior caracterización química y funcional, con el comportamiento de las isotermas de sorción y con la estimación de la vida útil del cushuro liofilizado.

CAPÍTULO II

REVISION DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

Delgado y Quiroz (2022), en su investigación titulada *"Potencial proteico de la cianobacteria gelatinosa en polvo cushuro (Nostoc sphaericum): un análisis de su calidad proteica"*, tuvieron como objetivo determinar la calidad proteica, el contenido de humedad y el perfil de aminoácidos del cushuro deshidratado. A partir de la molienda de la matriz seca, determinaron mediante análisis proximal y cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) que el cushuro presenta un contenido proteico de 30.48% y una humedad residual de 1.62%. Aunque identificaron que los aminoácidos cisteína y metionina actúan como limitantes frente al patrón de la WHO/FAO/ONU, concluyen que su versatilidad y alto porcentaje de proteína total lo convierten en un recurso con excelente potencial para el desarrollo de módulos proteicos y formulaciones alimentarias de origen vegetal.

Este antecedente, además de dar valores de referencia sobre la composición proteica y de humedad residual del cushuro deshidratado, hace que quede justificada la necesidad de caracterizar la composición química del producto que se obtiene tras la liofilización. De la misma manera será capaz de mostrar el potencial nutricional que tiene esta matriz cuando se le disminuye la humedad, el cual es un aspecto relevante para determinar la calidad del tratamiento escogido en la presente investigación.

Sosa (2021) evaluó la calidad nutricional y la aceptabilidad de un producto obtenido a partir de la deshidratación osmótica de *Nostoc sphaericum*. Empleando soluciones de sacarosa a 45, 50 y 55 °Brix, determinó que el tratamiento adecuado a temperatura ambiente requirió 8 días de inmersión seguido de un secado complementario por aire caliente a 45 °C por 8 horas. El producto final en base seca reportó un contenido de 20.33 g/100 g de proteínas, 1581 mg/100 g de calcio y 121 mg/100 g de hierro, demostrando que los procesos de deshidratación controlados conservan el elevado valor mineral característico de esta cianobacteria altoandina.

Esta investigación pone de manifiesto que las condiciones a las que es sometido el cushuro durante la operación de deshidratación son determinantes para lograr un producto estable y con conservación de sus componentes nutricionales en el que se encuentra: (i) las proteínas, (ii) el calcio y (iii) el hierro. La implicación de su aporte hacia la investigación que se lleva a cabo en la actualidad consiste en proveer antecedentes para la posterior caracterización química del cushuro al que se le ha sometido a un tratamiento de liofilización.

Quispe (2021) caracterizó la composición fisicoquímica y microbiológica del hidrocoloide extraído de *Nostoc sphaericum*. Mediante un proceso de extracción controlado a 85 °C con una relación alcohol:solución de 1.5:1 (v/v), el polvo seco obtenido reportó 23.86% de proteína, 40.12 mg/100 g de hierro, 1950 mg/100 g de calcio y una humedad del 15%. Su aplicación como agente tecnológico en la formulación de gomitas demostró que una sustitución del 30% mejora los atributos sensoriales de color, sabor y textura, cumpliendo rigurosamente con los límites microbiológicos de la normativa sanitaria peruana.

Este antecedente transforma constructivamente y ayuda a sostener el valor químico y tecnofuncional de Nostoc sphaericum - particularmente a dinamismo por su contenido en

proteínas, hierro y calcio, por la posibilidad del aprovechamiento de sus componentes estructurales en matrices alimentarias. Estos resultados apoyan el propuesto de seleccionar indicadores químicos y funcionales para caracterizar el cushuro liofilizado en este estudio investigativo.

Vásquez (2018) evaluó la influencia del liofilizado de cushuro (*Nostoc commune*) como agente estabilizante en la aceptabilidad y reología del néctar de piña. In su caracterización de la materia prima, determinó que el proceso de liofilización concentró significativamente el contenido de proteínas (pasando de 1.99 ± 0.12% en fresco a 27.51 ± 0.77% en seco) y cenizas (9.64 ± 0.21%), manteniendo la integridad de minerales esenciales como calcio y hierro. Tecnológicamente, el cushuro liofilizado reportó una viscosidad media de 30.78 cP, demostrando un comportamiento prometedor como estabilizante orgánico viable para la sustitución de hidrocoloides sintéticos en la industria de bebidas.

Siendo un antecedente particularmente vinculado con la investigación debido a la utilización de cushuro liofilizado, mostrando que este proceso puede servir para obtener una materia prima deshidratada a elevadas concentraciones de proteínas, cenizas y minerales y con propiedades tecnológicas aprovechables. Por lo que pone en evidencia la viabilidad de la liofilización como un método de procesamiento y conservación del cushuro.

Rubio (2018) desarrolló un diseño experimental del proceso de secado de *Nostoc sphaericum* empleando un secador rotatorio discontinuo. Determinó que, fijando las condiciones de operación a una temperatura de 60 °C durante un tiempo de 90 minutos, la humedad se redujo eficientemente hasta un 1.91%. El análisis químico-bromatológico de la muestra adecuada evidenció una notable retención de sus propiedades esenciales, registrando 30.02% de

proteína total y 145 340.8 ppm de calcio, consolidando al cushuro como una matriz termoestable bajo condiciones controladas de deshidratación.

El estudio tiene la finalidad de poner en contraste la liofilización que se propone en el presente trabajo de investigación con otro proceso de deshidratación que se aplica directamente a Nostoc sphaericum. Los resultados obtenidos dejan claro que las condiciones bajo las que se procesa el alimento determinan la humedad final del mismo y la conservación de los componentes químicos. Esto pone de manifiesto la necesidad de realizar un estudio con la técnica experimental de las condiciones de deshidratación que permitan conseguir un cushuro con las características deseadas.

Arenas (2025) caracterizó las propiedades reológicas y funcionales de hidrogeles alimentarios formulados con polisacáridos de *Nostoc sphaericum* combinados con extractos antioxidantes de maíz morado y tuna roja. Evaluando concentraciones entre 0.5% y 3.5% (p/v), los hidrogeles de cushuro exhibieron un comportamiento de fluidificación por cizallamiento y un incremento del límite elástico proporcional a la concentración del hidrocoloide. Asimismo, destacaron por su elevada actividad antioxidante y retención de compuestos fenólicos, demostrando las excelentes propiedades tecnofuncionales de los carbohidratos estructurales del cushuro para el diseño de matrices viscoelásticas avanzadas.

Este antecedente muestra las propiedades funcionales y antioxidantes de componentes obtenidos a partir de Nostoc sphaericum, avalando la importancia de controlar su funcionalidad durante el procesamiento. En la presente investigación aporta los fundamentos de base para pensar el potencial antioxidante dentro de la caracterización del cushuro obtenido a partir del tratamiento de liofilización.

Anchayhua (2024) evaluó la aceptabilidad sensorial y el valor nutricional de un snack deshidratado a partir de *Nostoc sphaericum*. Mediante un diseño de cribado, sometió la cianobacteria a deshidratación osmótica con agentes reguladores de pH e hidrocoloides. El producto final reportó un contenido de carbohidratos de 78.03% y un valor energético de 324.92 kcal/100 g, concluyendo que el ajuste de los azúcares y acidulantes en la formulación es la variable crítica para maximizar la aceptabilidad y palatabilidad de derivados procesados de cushuro.

Los resultados obtenidos en este antecedente, prueba la posibilidad de obtener productos alimentarios de valor añadido a partir del cushuro mediante procesos de deshidratación. El vínculo con el presente trabajo reside en la importancia de determinar las condiciones de procesamiento para la obtención de características finales favorables. Sin embargo, en la presente investigación se estudia concretamente el efecto de los parámetros de liofilización del cushuro o incluso, esos aspectos en las propiedades del cushuro con base en el estudio de la literatura.

Muñoz (2017) evaluó el efecto de las condiciones de liofilización sobre las propiedades fisicoquímicas y la capacidad de rehidratación en rodajas de fruta. Utilizando un diseño factorial, combinó temperaturas de congelación (-5 y -20 °C) y presiones de sublimación (0.05 y 0.1 mbar). Los resultados demostraron que la presión de sublimación fue la variable determinante sobre la cinética de remoción de agua, logrando humedades residuales inferiores a 0.02 g H2O/g s.s., mientras que la temperatura de congelación previa afectó de manera significativa la actividad de agua y la luminosidad (L*) del producto, debido a las modificaciones estructurales generadas por el tamaño de los cristales de hielo en la matriz sólida.

Este precedente tiene una relación metodológica directa con la experiencia aquí propuesta porque estudia en forma conjunta temperatura de congelación y presión de sublimación, los mismos factores que se considera en la investigación que se presenta. Además, el antecedente proporciona información acerca de su repercusión sobre humedad, actividad de agua y propiedades estructurales, razones por las cuales se ha considerado estudiar estas variables para determinar el comportamiento de los parámetros de liofilización sobre las propiedades físicas del cushuro.

Caballero *et al*. (2020) estudiaron la liofilización de matrices vegetales (*Capsicum pubescens*) evaluando el impacto de la velocidad de calentamiento durante la etapa de sublimación primaria (tasas entre 0.02 y 0.05 °C/min). Determinaron que el control riguroso de estas variables operativas permitió obtener un producto final homogéneo con valores máximos de humedad de 8.62% y una actividad de agua (Aw) de 0.33. Estas condiciones de baja energía molecular garantizaron la estabilidad estructural y química de la matriz, favoreciendo una adecuada conservación de las propiedades físicas necesarias para los posteriores mecanismos de rehidratación.

Esta investigación respalda la importancia de controlar las variables operativas a lo largo de la sublimación, ya que solo así se conseguirán productos liofilizados con poca humedad, agua de actividad restringida y adecuadas propiedades estructurales que faciliten la rehidratación. Tal importancia radica en el hecho de que respalda la verificación de humedad, Aw y aquella capacidad de rehidratación que se consideran respuestas significativas para poder seleccionar el tratamiento de liofilización del cushuro.

Munzón (2019) adecuo los pretratamientos de congelación previos a la liofilización para maximizar la retención de compuestos funcionales termosensibles en frutas (*Physalis*

peruviana L.). Aplicando la metodología de Taguchi, comparó la congelación lenta (-25 °C) frente a la congelación ultrarrápida con nitrógeno líquido (-196 °C), seguida de una liofilización a 0.22 mbar y -50 °C durante 24 horas. Las muestras sometidas a congelación ultrarrápida presentaron una retención de vitamina C significativamente mayor (73.33 ± 2.07 mg/100 g), demostrando que la nucleación rápida del hielo evita el colapso estructural de la matriz y preserva los componentes bioactivos y funcionales.

El antecedente da el soporte de que las condiciones de congelación que preceden a la sublimación pueden alterar la estructura de la matriz y la conservación de los compuestos funcionales. Por lo que este hallazgo justifica la presencia de la temperatura de congelación como variable experimental de la investigación, así como la posible relación que puede tener la temperatura con las propiedades físicas y funcionales del cushuro liofilizado.

Huachuhuillca (2020) evaluó el efecto de los parámetros cinéticos de liofilización sobre la pulpa concentrada de *Physalis peruviana L.* El proceso contempló una congelación inicial a -36 °C y una etapa de sublimación conducida a 30 °C bajo una presión de vacío controlada de 0.110 mbar durante un periodo de 19 horas. Tras el proceso, se logró una reducción drástica de la humedad desde un 80.73% en fresco hasta un 6.80 ± 1.05%, alcanzando una actividad de agua (Aw) de 0.40. El estudio concluye que el mantenimiento estricto del vacío previene las reacciones de pardeamiento y asegura la estabilidad microbiológica del polvo liofilizado.

Esta investigación aporta evidencia sobre el efecto de la sublimación y las condiciones de vacío sobre la deshidratación/deshidratación/ baja de la humedad y la actividad de agua (Aw) en matrices de alimentos. Su conexión con esta investigación consiste en defender el control de la presión a lo largo del proceso de liofilización y la aplicación de humedad y Aw como

elementos de referencia/índices/indicadores para valorar la estabilidad de cushuro liofilizado.

Taipe (2022) investigó las propiedades fisicoquímicas comparativas entre frutos frescos y liofilizados de tres variedades de cactáceas (*Opuntia ficus indica*). Mediante análisis estadísticos de ANOVA y pruebas t de Student, demostró que la liofilización reduce la actividad de agua y la humedad a niveles críticos de estabilidad sin alterar de manera significativa los parámetros espectrofotométricos de los pigmentos funcionales, validando que la remoción de agua por sublimación preserva la integridad química de compuestos esenciales propensos a la degradación oxidativa durante el almacenamiento prolongado.

Este antecedente pone de relieve cómo liofilizar conforma un proceso que puede reducir significativamente la humedad y la actividad del agua mientras se preservan determinados componentes funcionales de matrices vegetales. A nivel metodológico justificaría la comparación estadística de las propiedades del producto procesado y la de tomar en consideración parámetros de estabilidad y conservación de calidad sobre el cushuro liofilizado.

Espinoza (2022) desarrolló un protocolo de liofilización orientado a la conservación de materias primas biológicas, analizando la correlación entre las variables de proceso y la estabilidad del producto terminado. Mediante la aplicación de una congelación controlada y una sublimación a presiones de vacío rigurosas, obtuvo un ingrediente con baja higroscopicidad. El estudio concluye que fijar una actividad de agua reducida es la condición operativa fundamental para mitigar las cinéticas de deterioro químico y el crecimiento microbiológico, mejorando de esta manera las propiedades mecánicas y la posterior capacidad de rehidratación del polvo.

El trabajo relaciona las condiciones de congelación y de sublimación con propiedades importantes del producto terminado (higroscopicidad, actividad de agua, propiedades mecánicas, capacidad de rehidratación). Su relevancia radica en que halla la relación parámetros de proceso–propiedades del producto–estabilidad, que supuso uno de los hilos conductores de la presente investigación.

Maldonado *et al*. (2022) evaluaron matemáticamente el comportamiento higroscópico de polvos alimentarios deshidratados mediante la construcción de isotermas de sorción a tres temperaturas (20, 30 y 40 °C) dentro de un rango de actividad de agua (Aw) de 0.11 a 0.84. Ajustaron los datos experimentales a los modelos matemáticos de BET y GAB mediante regresión no lineal. El modelo de GAB presentó el mayor coeficiente de determinación (R^2 > 0.992) y el menor error medio relativo porcentual (E < 4.5%). Determinaron que el contenido de humedad de la monocapa molecular (Xm) varió de 0.054 a 0.041 g H2O/g s.s. a medida que se elevó la temperatura, lo que demuestra un mecanismo exotérmico de sorción. Concluyen que el modelamiento de las isotermas permite identificar las zonas críticas de transición vítrea y aglomeración, sirviendo como criterio de ingeniería predictivo para la selección de envases con barrera al vapor de agua.

Dicha referencia aporta sustento metodológico para la determinación y la modelización de las isotermas de sorción del cushuro liofilizado. La utilización de modelos como el de BET y GAB permite caracterizar su comportamiento higroscópico, así como distinguir condiciones críticas de humedad y de actividad de agua, circunstancias que se puede utilizar posteriormente para fijar requerimientos de almacenamiento y para la selección de envases.

Gómez y Villa (2023) estudiaron la cinética de degradación de compuestos funcionales y macronutrientes en matrices liofilizadas durante el almacenamiento prolongado en cámaras

de estabilidad controlada a temperaturas de 25, 35 y 45 °C por un periodo de 90 días. Utilizando la ecuación de Arrhenius, calcularon la energía de activación (Ea) para evaluar la termosensibilidad de los componentes de calidad. La cinética de pérdida de retención proteica y el cambio de color global (ΔE*) siguieron un modelo de orden cinético cero y primer orden, reportando una energía de activación (Ea) de 64.2 kJ/mol y 78.5 kJ/mol, respectivamente. Los resultados demuestraron que el incremento de la temperatura de almacenamiento acelera exponencialmente la constante de velocidad de degradación (k), sirviendo estos parámetros termodinámicos para estimar científicamente la vida útil y predecir las condiciones adecuadas de envasado y almacenamiento industrial.

La metodología que esta investigación aporta como referencia para la estimación de vida útil se fundamenta en la ocupación de distintas temperaturas de almacenamiento, así como de diversos modelos cinéticos y de Arrhenius que reflejan la degradación de los parámetros de calidad. La investigación que se expone en estas líneas se apoya en la evaluación del seguimiento de las propiedades de proteínas y color durante el almacenamiento de cushuro liofilizado para estimar su estabilidad y vida útil.

Rodríguez (2024) determinó las condiciones de envasado y el comportamiento cinético de la vida útil de un polvo hidrobiológico empleando envases de polietileno de baja densidad (PEBD) y laminados de aluminio (PET/Al/PE) expuestos a condiciones de almacenamiento acelerado (35 °C y 75% HR). Monitoreó de forma continua variables críticas como ganancia de humedad, elevación de la actividad de agua (Aw) y degradación proteica. El uso del envase laminado redujo la tasa de permeabilidad al vapor de agua en un 92.5% en comparación con el PEBD, logrando extender la vida útil predictiva del producto de 45 días a más de 180 días a temperatura ambiente, garantizando la preservación de las propiedades fisicoquímicas y funcionales requeridas por las normativas técnicas agroindustriales.

Esta referencia avala la introducción del modelo de envasado y la temperatura de conservación como variables importantes para evaluar la durabilidad y la estabilidad de productos deshidratados. Especialmente, pone en evidencia que las propiedades de barrera del envase condicionan la ganancia de humedad, actividad de agua y degradación proteica, variables que igualmente consideraremos para evaluar la conservación del cushuro liofilizado durante su conservación.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Algas

2.2.1.1. Generalidades

Las algas constituyen un grupo muy diverso de organismos autótrofos fotosintéticos que abarcan tanto a procariotas, como las cianobacterias, como a eucariotas, consideradas las algas en sentido estricto. Su clasificación en distintos filos y clases se realiza a partir de características como el tipo de pigmentos que poseen, las sustancias de reserva, la estructura de sus paredes celulares y los mecanismos de división celular, entre otros aspectos (Fleitas Ramírez, 2021).

Desde tiempos antiguos, las algas han estado presentes en la cultura oriental, especialmente en Japón, China y Corea, donde se incorporaron en la alimentación a través de diversas preparaciones culinarias. Con el paso del tiempo, su uso se expandió a otras regiones, hasta alcanzar reconocimiento mundial por sus propiedades y beneficios (Mascarós y Teresa, 2015).

En la actualidad se reconocen miles de especies de algas distribuidas en todo el mundo, con una amplia variedad de usos y aplicaciones. Estas se clasifican en tres grandes grupos: verdes

(*Chlorophyceae*), pardas (*Phaeophyceae*) y rojas (*Rhodophyceae*), cada una con propiedades particulares. Para el consumo humano se emplean alrededor de 200 especies, con una producción anual estimada en 90.000 toneladas de peso seco. Entre las más conocidas y consumidas destacan el nori (*Porphyra*), el kombu (*Laminaria*), el wakame (*Undaria*) y, más recientemente, el espagueti de mar (*Himanthalia*) (Mascarós y Teresa, 2015).

2.2.1.2. Usos en la industria alimentaria

El uso de algas en la industria alimentaria actual destaca por mantener las propiedades físicas, reológicas y organolépticas de los alimentos procesados como ingrediente funcional y sustituto de aditivos sintéticos. En matrices complejas, compuestos como fucoidanos y ácido algínico estabilizan el pH, mientras que sus antioxidantes retrasan la autoxidación lipídica y el deterioro sensorial. Además, su riqueza mineral permite reducir el cloruro de sodio, incrementando la capacidad de retención de agua (CRA) y disminuyendo las grasas saturadas sin afectar la calidad del producto (Quitral *et al.*, 2019).

De manera específica, la aplicación industrial de las algas se ha concentrado en la obtención de ficocoloides, los cuales son polisacáridos estructurales presentes en la pared celular (tales como alginatos, carragenatos y agar). Estos biopolímeros cumplen funciones cruciales como agentes espesantes, gelificantes y estabilizadores de emulsiones, suspensiones y espumas, además de regular la cinética de formación de cristales de hielo en productos congelados. Complementariamente, desde el punto de vista nutricional, tecnológico, los ficocoloides constituyen una fracción significativa de la fibra dietaria total, lo que les confiere la propiedad de mejorar la viscosidad, favorecer el atrapamiento de agua y mantener los

mecanismos de unión de las grasas en matrices cárnicas y de panificación (Fleitas Ramírez, 2021).

2.2.1.3. Composición de las algas

Entre las principales propiedades de las algas, se incluyen efectos antioxidantes, antimutagénicos, antitumorales, antiangiogénicos, antiproliferativos, antiinflamatorios e inmunomoduladores, entre otros (Osuna *et a*l., 2016). Sin embargo, la presencia y concentración de estos compuestos pueden variar considerablemente, ya que están determinadas por factores como la época de recolección, la especie, el lugar de origen y las condiciones de cultivo (Schepers *et al*., 2020).

2.2.2. Cushuro (*Nostoc Sphaericum*)

El cushuro es una cianobacteria de agua dulce que habita en ambientes altoandinos, caracterizada por formar colonias macroscópicas globulares, traslúcidas y gelatinosas con diámetros que oscilan entre los 10 y 25 mm (Ponce, 2014). Estas colonias están constituidas por filamentos sencillos o tricomas que flotan libremente en las superficies acuáticas (Chávez, 2014). Su coloración varía entre verde azulado, verde oliva o marrón debido a la interacción de sus pigmentos fotosintéticos: la clorofila (verde), la ficocianina (azul) y, en algunas especies, la ficoeritrina (rojo) (Reháková *et al*., 2007). Conocido ancestralmente con nombres vernáculos como *murmunta*, *llullucha*, *crespito* o *llayta*, este organismo representa un recurso alimentario de alta disponibilidad y bajo costo en la región andina peruana (Ponce, 2014).

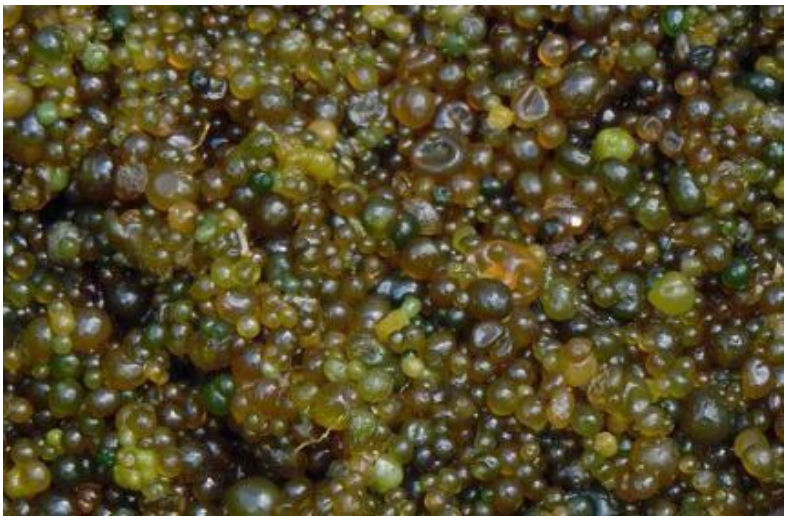


Figura 1: **Cushuro (Nostoc sphaericum)**

FUENTE: Inocente *et al*. (2019).

2.2.2.1. Clasificación taxonómica y morfología

De acuerdo con el National Center for Biotechnology Information (NCBI, 2014), la taxonomía del cushuro se estructura de la siguiente manera:

Dominio: Bacteria

Reino: Bacillati

División: Cyanophyta

Clase: Cyanophyceae

Subclase: Nostocophycidae

Orden: Nostocales

Familia: Nostolaceae

Género: Nostoc

Especie: Nostoc sphaericum Vaucher ex Bornet & Flahault

FUENTE: (NCBI, 2014)

A nivel morfológico y reproductivo, el cushuro presenta células vegetativas esféricas o cilíndricas dispuestas en filamentos flexibles. Su reproducción se efectúa mediante mecanismos de división simple, fisión binaria o fragmentación de filamentos (bipartición), así como por la formación de hormogonios y la diferenciación de células especializadas denominadas acinetos (esporas de resistencia) y heterocistos (Chili Rodríguez & Terrazas Viza, 2010; González, 2006).



Figura 2: **Reproducción del Cushuro (Nostoc sphaericum)**

FUENTE: Alegre *et al*. (2020).

2.2.2.2. Hábitat, recolección y aspectos socioculturales

El cushuro prolifera predominantemente en ecosistemas lóticos y lénticos de la región altoandina, tales como lagos, lagunas, puquios y bofedales, desarrollándose en altitudes que superan los 3,000 m.s.n.m. y alcanzando registros de hasta 5,000 m.s.n.m. en atmósferas con baja presión parcial de oxígeno y temperaturas bajo cero (Ponce, 2014; Reichenbach *et al*., 2019). Esta especie posee la capacidad metabólica de prosperar en sustratos no fértiles y prescindir de fuentes de agua potable (Carpine & Sieber, 2021).

Históricamente, su consumo se remonta a la época precolombina, siendo un componente habitual en la dieta del Imperio Incaico para el fortalecimiento óseo y dental (Ponce, 2014). La recolección del cushuro es estacional y coincide con el periodo de lluvias (diciembre a marzo), etapa en la cual las colonias se hidratan y se tornan visibles en las orillas de los

cuerpos de agua, facilitando su acopio por parte de los pobladores locales (Ponce, 2014). Aunque inicialmente se consideraba un alimento de subsistencia, en los últimos años ha adquirido un alto valor comercial debido a su incorporación en la gastronomía de vanguardia y la revalorización de sus propiedades medicinales (Alegre *et al*., 2020).

2.2.2.3. Composición nutricional y propiedades funcionales

Desde la perspectiva bromatológica, el cushuro destaca como una matriz alimentaria de excelente valor nutricional, caracterizada por un elevado contenido de proteínas, carbohidratos y minerales esenciales como el calcio, fósforo y hierro (Corpus-Gómez *et al*., 2021). En la Tabla 1 se detalla la composición fisicoquímica reportada por diversos autores.

Tabla 1: ***Composición fisicoquímica del cushuro (g/100g)***

Propiedad	Centro Nacional de Alimentación y Nutrición (2017)	Aldave (2015)	Gantar (2008)
Energía	242 kcal	320,5 kcal	-
Agua	15,1 g	15 g	6,3 g
Proteínas	29 g	30 g	25,4 g
Grasa Total	0,5 g	0,5 g	0,8 g
Carbohidratos	46,9 g	50 g	62,4 g
Cenizas	8,5 g	-	5,10 g
Calcio	147 mg	145 mg	1076 mg
Fosforo	64 mg	64 mg	258 mg
Hierro	83,6 mg	83,6 mg	19,6 mg
Vitamina A	-	-	0,01 mg
Tiamina	0,2 mg	0,2 mg	-
Riboflamina	0,41 mg	0,41 mg	-

FUENTE: Centro Nacional de Alimentación y Nutrición (2017); Aldave (2015) y Gantar (2008)

Además de su aporte macro y micronutricional, al cushuro se le atribuyen importantes propiedades biológicas de carácter funcional, tales como efectos antioxidantes, antimutagénicos, inmunomoduladores y antiinflamatorios (Osuna *et al*., 2016). No obstante, la concentración de estos compuestos bioactivos está sujeta a variaciones significativas condicionadas por factores ambientales propios del hábitat, la época de recolección y las condiciones del ecosistema de origen (Schepers *et al*., 2020).

2.2.3. Métodos de conservación y deshidratación de alimentos

La conservación de alimentos agrupa un conjunto de tratamientos físicos, químicos o biológicos destinados a prolongar la vida útil de las materias primas, manteniendo en lo posible sus atributos de calidad organoléptica, inocuidad y valor nutricional (Berk, 2018). Entre las principales causas de deterioro de matrices biológicas complejas se encuentran las reacciones enzimáticas de pardeamiento, la oxidación de lípidos y el crecimiento de microorganismos alterantes o patógenos; procesos cuya cinética depende de manera directa de la disponibilidad de agua termodinámicamente libre en el sistema (Ibarz & Barbosa-Cánovas, 2014). En este contexto, las operaciones de deshidratación y secado se fundamentan en la reducción drástica de la actividad de agua (Aw), limitando la movilidad molecular y estabilizando el alimento para su almacenamiento prolongado sin necesidad de refrigeración (Barbosa-Cánovas & Vega-Mercado, 2013).

2.2.3.1. Métodos de secado convencionales

Tradicionalmente, la eliminación de agua en matrices alimentarias se ha ejecutado mediante métodos térmicos convencionales, entre los que destacan el secado solar directo y el secado por aire caliente mediante convección forzada (Fellows, 2018). Desde la perspectiva de la ingeniería de alimentos, estos procesos operan bajo un principio de transferencia simultánea de calor y masa, donde el calor sensible y latente se transfiere desde el fluido gaseoso hacia

el alimento para evaporar el agua superficial, provocando simultáneamente la migración de la humedad interna hacia la periferia del producto (Rahman, 2020).

A pesar de ser tecnologías caracterizadas por su bajo costo operativo y una amplia difusión a escala industrial, el secado convencional por métodos térmicos directos presenta serias limitaciones y restricciones técnicas cuando se aplica a matrices hidrofílicas, termosensibles o con un alto valor funcional y biológico, tales como las cianobacterias (Mujumdar, 2014). La exposición prolongada a flujos de aire a temperaturas elevadas, sumada a la presencia constante de oxígeno molecular durante el procesamiento, induce transformaciones físico-químicas e irreversibles, las cuales se describen a continuación:

- Degradación térmica y oxidativa: Se genera una destrucción significativa de compuestos bioactivos termoestables, vitaminas hidrosolubles y pigmentos fotosensibles esenciales como la ficocianina y la clorofila, reduciendo drásticamente la capacidad antioxidante global de la matriz biológica (Sagar & Kumar, 2010).
- Fenómeno de encostramiento (*case hardening*): Ocurre debido a una velocidad de evaporación superficial excesivamente superior a la velocidad de difusión interna del agua, lo que provoca la migración de solutos hacia la superficie y la formación de una costra o capa externa impermeable que restringe la desorción posterior del agua residual (Mujumdar, 2014).
- Colapso estructural y encogimiento: El gradiente de humedad y las elevadas tensiones capilares inducen un encogimiento severo de la estructura celular interna. Esto altera la porosidad, modifica la textura original y reduce drásticamente el índice o capacidad de rehidratación (*rehydration ratio*) del producto final (Khalloufi *et al*., 2000).

Debido a las desventajas técnico-económicas y cualitativas de los tratamientos convencionales, la preservación de matrices altoandinas de alto valor nutricional requiere de manera imperativa el empleo de tecnologías emergentes de deshidratación a bajas temperaturas, consolidando a la liofilización como la alternativa biotecnológica más eficiente para evitar el daño térmico estructural (Ratti, 2013).

2.2.4. Liofilización

2.2.4.1. Principios generales y conceptualización

La liofilización, también denominada secado por sublimación o criodeshidratación, es un método avanzado de conservación que consiste en congelar el agua de un producto para luego someterlo a un alto vacío, impidiendo cambios químicos de deterioro y facilitando la eliminación de la humedad (Barbosa, 2000; Muñoz *et al*., 2020). Este proceso se fundamenta conceptualmente en el fenómeno físico de la sublimación; es decir, la transformación directa de una molécula desde el estado sólido (hielo) al estado gaseoso (vapor) sin transitar por el estado líquido intermedio (Serpa *et al*., 2015; Tastemirova *et al*., 2022). Históricamente, este principio tiene raíces ancestrales en el Perú, ya que los antiguos Incas llevaron a cabo experimentos pioneros en el campo de la liofilización rústica, aprovechando las temperaturas congelantes y las bajas presiones atmosféricas de las altas cumbres de los Andes para preservar sus alimentos (Eguilas *et al*., 2022).

Para que la sublimación ocurra de manera libre y eficiente, las moléculas de agua deben adquirir la energía térmica necesaria para vencer las fuerzas intermoleculares circundantes bajo condiciones de baja presión (vacío) que establezcan un gradiente de presión total (Guallpa, 2021; Navas, 2006). Específicamente, el sistema debe operar por debajo del punto triple del agua punto termodinámico donde coexisten en equilibrio los estados sólido, líquido

y gaseoso el cual se sitúa exactamente a una presión de 611.73 Pa (4.58 mmHg) y una temperatura de 0.01 °C (Jara, 2013). De este modo, se logra deshidratar matrices biológicas a bajas temperaturas, evitando el daño y recalentamiento característico de los métodos convencionales (Barbosa, 2000).

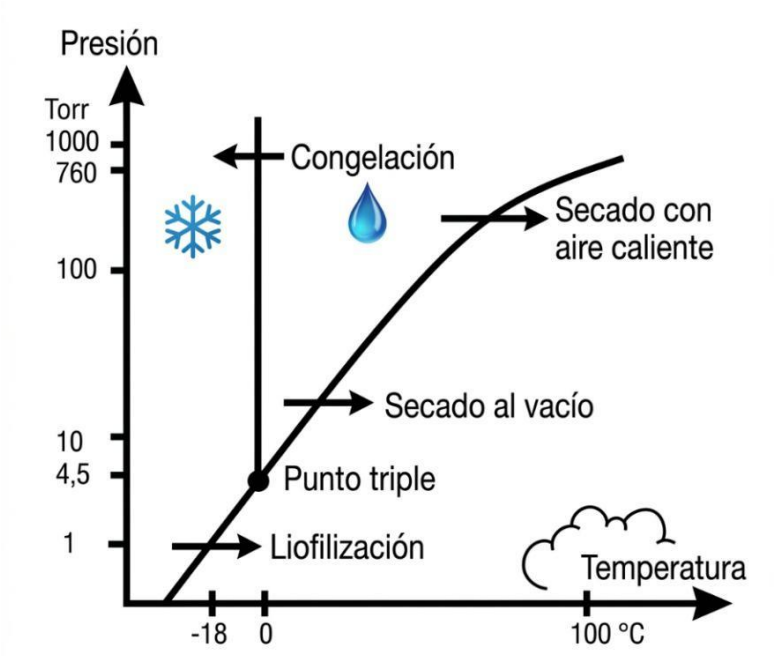


Figura 3: **Diagrama de fases de agua y sistemas de secado**

FUENTE: Ramírez (2011).

2.2.4.2. Etapas del proceso de liofilización

El fundamento operativo de la liofilización consta cronológicamente de tres etapas sucesivas, las cuales determinan directamente la calidad físico-química y estructural del producto final (Barboza & Vega, 2000; Vargas Muñoz, 2015) (Figura 4).

a) Congelación

Constituye la fase inicial donde se expone el producto a bajas temperaturas con el propósito de solidificar el agua libre y facilitar el posterior secado (Rangel, 2004). Durante esta etapa, el agua se transforma en hielo mediante fenómenos de nucleación y crecimiento cristalino,

separando la mayor parte de la humedad en forma de cristales puros que se desprenden de una matriz concentrada de solutos vítreos o cristalinos. Una congelación rápida es crucial para fijar la estructura primaria, forma y volumen del alimento, garantizando su estabilidad macroscópica (Caicedo & Montoya, 2025; Guallpa, 2021).

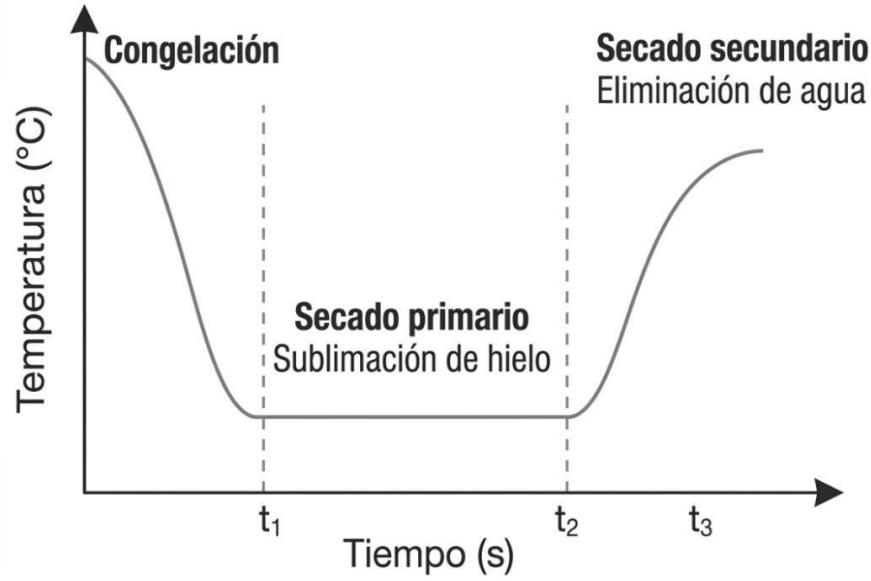


Figura 4: **Etapas del proceso de liofilización**

FUENTE: Barboza & Vega (2000).

b) Secado primario (Sublimación)

Representa la fase donde ocurre la transferencia de calor regulada para sublimar los cristales de hielo previamente formados, operando estrictamente por debajo del punto triple del agua que ocurre a una presión de 610 Pascal (equivalente a 4.58 Torr = 4.58 mm de Hg) a una temperatura de 0.01°C (Fernández, 2020; Jara, 2013). En este periodo se elimina aproximadamente el 90 % del agua total (humedad libre). Es una fase cinéticamente controlada donde el hielo en sublimación enfría endotérmicamente la estructura, lo que mantiene la temperatura del alimento bajo límites seguros para evitar el colapso (Miranda & Velásquez, 2019).

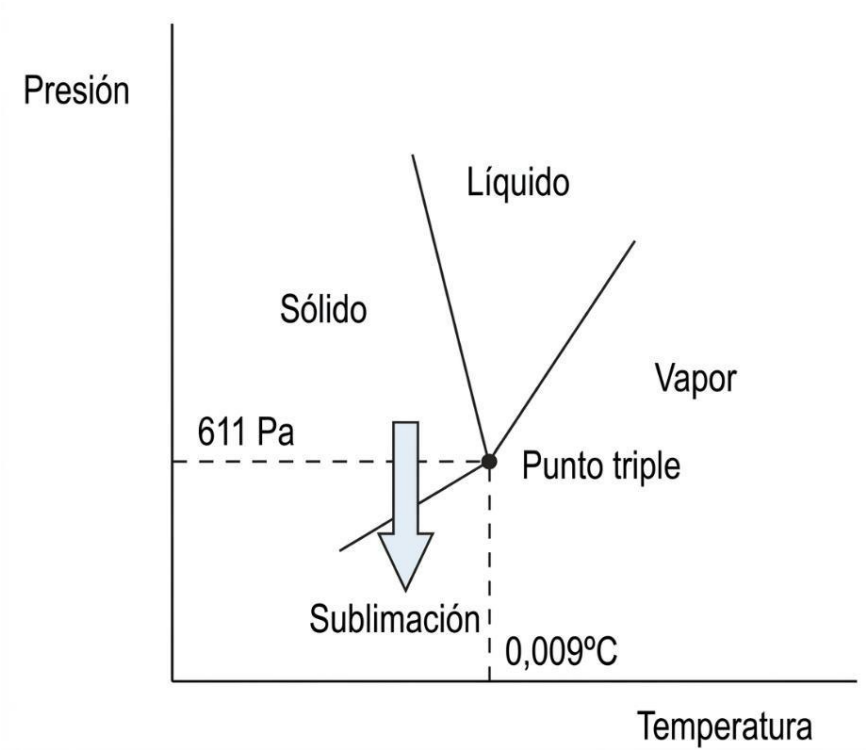


Figura 5: **Presión del vapor de agua en función de la temperatura**

FUENTE: Jara (2013).

c) Secado secundario (Desorción)

Consiste en la remoción del agua restante (agua ligada o estructuralmente adsorbida) que no pudo ser sublimada en la etapa primaria debido a que no formaba parte de los cristales de hielo. Para lograr la desorción de estas capas monomoleculares de agua, se eleva la temperatura de las placas de calefacción del liofilizador y se incrementa el nivel de vacío en la cámara, reduciendo la humedad residual a valores mínimos que aseguran la estabilidad del alimento a temperatura ambiente (Welti *et al*., 2005).

2.2.5. Liofilización en el cushuro

La aplicación de la liofilización en el cushuro (*Nostoc sphaericum*) representa una de las alternativas tecnológicas más viables para su conservación y transformación agroindustrial,

debido a la naturaleza reológica y estructural sumamente compleja de esta cianobacteria altoandina. En su estado fresco, el cushuro se compone de un porcentaje de humedad que oscila entre el 85 % y 95 %, albergando una matriz celular inmersa en una densa red de polímeros mucilaginosos de consistencia hidrocoloidal (Inocente *et al.*, 2019). Como matriz acuosa con un elevado contenido de compuestos funcionales (proteínas, pigmentos, lípidos, polisacáridos y antioxidantes), el *Nostoc* exhibe una alta susceptibilidad al deterioro microbiológico y enzimático poscosecha, restringiendo su vida útil a temperatura ambiente a solo unos pocos días (Ponce, 2014; Hernández *et al*., 2024).

Al someter las colonias de cushuro a la criodeshidratación, el control de las variables operacionales del sistema determina de forma directa la retención de sus valiosos constituyentes sensibles al calor y a la oxidación (Corpus-Gómez *et al*., 2021). Durante la fase de congelación previa, regular la velocidad de enfriamiento es crucial. Una congelación ultra-rápida promueve la formación de microcristales de hielo uniformes, evitando el desgarro macroscópico de las membranas celulares (Franks, 1998; Caicedo & Montoya, 2025). No obstante, la literatura documenta que la formación de estos cristales de hielo constituye un desafío, ya que puede inducir cambios en la solubilidad proteica, generar agregación molecular, provocar la pérdida de viabilidad celular o causar daños estructurales si no se controla adecuadamente la velocidad de granulación del hielo o si no se evalúa el uso de excipientes crioprotectores como sacarosa, trehalosa o proteínas protectoras (Coşkun *et al*., 2024; Oliveira-Alves *et al*., 2021).

Por otro lado, durante las etapas de secado primario y secundario, los parámetros de proceso influyen críticamente en la calidad final de la biomasa. La liofilización, al evitar el uso de temperaturas elevadas y operar bajo condiciones de vacío (baja presión parcial de oxígeno),

tiende a preservar de mejor manera el contenido y la conformación proteica en comparación con los secados térmicos convencionales (Oliveira-Alves *et al*., 2021). Asimismo, compuestos altamente termoestables y fotosensibles como los polifenoles, carotenoides y clorofilas que en el cushuro sustentan su coloración y su capacidad antioxidante se mantienen protegidos frente a la desnaturalización y la fotooxidación (Osuna *et al*., 2016). Diversas investigaciones confirman que la liofilización retiene una mayor cantidad de fenoles totales y una actividad antioxidante superior en la biomasa algal frente al secado por aire caliente (Ullah *et al*., 2025). En consecuencia, la selección y ajuste de las variables experimentales (presión, perfiles térmicos y tiempos de secado) resultan mandatorias para balancear la eficiencia energética del proceso con la obtención de un producto con baja humedad residual, adecuado índice de rehidratación y máxima conservación de sus atributos bioactivos (Coşkun *et al*., 2024; Ratti, 2013).

2.2.6. Características fisicoquímicas evaluadas en el cushuro

2.2.6.1. Rehidratación

La rehidratación es reconocida como una indicación del daño sufrido por el material debido a la desecación y a los tratamientos previos a la deshidratación. El nivel de rehidratación depende de la alteración celular y estructural experimentada y comprende tres acciones simultáneas: la incorporación de agua en el material seco, el aumento de volumen y la eliminación de sustancias solubles (Caballero *et al*., 2017).

2.2.6.2. Colorimetría

La colorimetría es la ciencia dedicada a medir y cuantificar los colores, asignándoles valores numéricos. Para ello intervienen tres elementos básicos: la luz, el objeto y el observador. Cuando la luz incide y se refleja en una superficie, el estímulo visual llega al ojo humano,

generando tres sensaciones principales: rojo, verde y azul. De esta manera, el color se define en tres dimensiones: matiz, saturación (o croma) y luminosidad (Castillo, 2019).

El sistema CIE LAB describe los estímulos de color dentro de un espacio tridimensional, donde estos se observan sobre un fondo que va del blanco al gris, bajo un iluminante similar a la luz natural del mediodía. Sus tres ejes, L, a y b, permiten representar y comunicar el color de forma objetiva. El eje "L" representa la luminosidad o claridad del color, vinculándolo a una escala de grises donde 0 equivale al negro y 100 al blanco. En otras palabras, indica la cantidad de luz percibida y define qué tan claro u oscuro se aprecia un color. El eje "b" indica la ubicación del color dentro del rango que va del azul (-b) al amarillo (+b), de modo que los valores positivos representan tonalidades amarillas y los negativos tonalidades azules. El eje "a" señala la ubicación del color en el espectro que va del verde (-a) al rojo (+a), de manera que los valores positivos indican una tendencia hacia el rojo, mientras que los negativos reflejan una inclinación hacia el verde (Castillo, 2019).

El matiz cromático posee un rol significativo en las frutas, pues al adquirirlas, este aspecto atrae a los consumidores y desempeña una función crucial en su elección y compra. Durante el proceso de liofilización, el color de las frutas se convierte en un indicador de calidad (Vargas Muñoz, 2015; Hernández *et al*., 2023).

Tabla 2: ***Parámetros de color***

Parámetros	Definición	Rengo o escala
L	El eje L es el de luminosidad (lightness)	100 (Blanco); 0 (Negro) 0-50 Oscuro; 51-100 Iluminado
A	Es el eje que representa la variación entre rojizo-verdoso.	Valor positivo = rojo Valor negativo = verde
B	Es el eje que representa la variación entre amarilloso-azulado.	Valor positivo = amarillo Valor negativo = azul
Croma (C*)	Es la saturación o intensidad de un color particular. No blanco, gris o negro.	Viveza Palidez
Tono (h*)	Estado puro del color, sin el blanco o negro. Un objeto se juzga a ser de color rojo, amarillo, verde o morado. El valor de h* es el ángulo del tono.	0º 360º
Cambio total de color (ΔE)	Tamaño de la diferencia que existe entre dos colores	

FUENTE: Hernández *et al*. (2024).

2.2.6.3. Textura

Un atributo sensorial esencial, es evaluada a través de métodos instrumentales y sensoriales, permitiendo comprender cómo la liofilización podría afectar la estructura interna del cushuro, influenciando su textura final. Además, se investiga la posible alteración del color y la apariencia visual del producto, así como la capacidad antioxidante, que puede ser sensible a los cambios químicos inducidos por el proceso de liofilización (Alvis *et al*., 2020).

2.2.6.4. Volumen

El volumen es una propiedad física que describe el espacio tridimensional ocupado por un alimento y está estrechamente relacionado con su estructura interna y aireación. En productos panificados, espumosos o batidos, el volumen es un parámetro clave para evaluar la calidad, ya que está vinculado a la capacidad de retener gases durante el proceso de cocción o batido. Un mayor volumen suele asociarse con una textura más ligera y esponjosa, lo cual influye en la aceptación sensorial del consumidor. Su determinación puede realizarse por desplazamiento de líquidos o mediante métodos más modernos como escaneo láser o análisis de imagen tridimensional (Urrunaga *et al*., 2022).

2.2.6.5. Humedad

La humedad representa la cantidad de agua contenida en un alimento, expresada como porcentaje en base húmeda o seca. Es una de las variables fisicoquímicas más importantes en tecnología alimentaria, ya que influye en la textura, estabilidad microbiológica, reacciones químicas (como el pardeamiento o la oxidación) y vida útil del producto (Rosales, 2020). Un contenido elevado de humedad puede favorecer el crecimiento de microorganismos y reducir el tiempo de conservación, mientras que una humedad controlada permite extender la durabilidad y preservar la calidad sensorial. Su medición puede realizarse mediante métodos gravimétricos, destilación o tecnología infrarroja (Perillo & Rodríguez, 2021).

2.2.6.6. Actividad (Aw)

La actividad de agua (Aw) se refiere a la fracción de agua libre en un alimento, es decir, aquella disponible para participar en reacciones bioquímicas o para el desarrollo de microorganismos. Se expresa como un valor entre 0 y 1, donde 1 corresponde al agua pura.

A diferencia de la humedad total, la Aw es un mejor predictor de la estabilidad microbiológica, ya que muchos patógenos no pueden crecer por debajo de ciertos valores críticos (por ejemplo, Aw < 0.85 inhibe la mayoría de las bacterias). Por ello, controlar la Aw es esencial en productos deshidratados, liofilizados o con conservación intermedia. Se determina con equipos especializados como el higrómetro de punto de rocío o medidores capacitivos (Febles *et al*., 2016).

Como recordatorio, se refiere a la disponibilidad de agua en un producto y se mide en una escala de 0 a 1, donde las reacciones químicas y bioquímicas que tiene afectan la calidad de los alimentos, un bajo valor (por debajo de 0,6) se asocia generalmente con una mayor estabilidad (Serrate, 2019).

2.2.7. Características funcionales

Las algas, incluidas las cianobacterias de agua dulce como *Nostoc sphaericum* (cushuro), se destacan por su perfil nutricional denso y sus propiedades funcionales, lo que las convierte en candidatos prometedores como alimentos funcionales o nutracéuticos. La biomasa algal suele contener altos niveles de proteínas de calidad, con perfiles de aminoácidos completos y bioactivos asociados, además de fibra dietética, vitaminas y minerales esenciales, elementos que contribuyen tanto a la nutrición básica como a la funcionalidad fisiológica en el organismo humano. Asimismo, las algas son fuentes de compuestos bioactivos como polisacáridos, carotenoides, polifenoles y pigmentos fotosintéticos, los cuales han sido asociados con efectos beneficiosos como actividad antioxidante e inmunomoduladora, propiedades que justifican su inclusión en dietas saludables y productos alimentarios funcionales (Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo [CIAD], 2024).

Además de su valor nutricional, las algas muestran propiedades tecnológicas interesantes para la industria alimentaria. Los ingredientes derivados de algas pueden contribuir a mejorar la textura, emulsificación, capacidad de retención de agua y estabilidad de formulaciones alimentarias, lo que las posiciona como materias primas útiles para el desarrollo de alimentos innovadores con beneficios sensoriales y nutricionales. Estos atributos funcionales, combinados con su bajo contenido calórico y la presencia de compuestos con funciones biológicas activas, sustentan el creciente interés en algas como componentes de productos alimentarios sostenibles y de alto valor añadido (García-Encinas *et al*., 2025).

2.2.7.1. Contenido de hierro

El contenido de hierro en los alimentos representa la cantidad de este micronutriente esencial presente en una determinada muestra, generalmente expresado en miligramos por 100 gramos (mg/100 g). El hierro es fundamental en el metabolismo humano, especialmente en la formación de hemoglobina y el transporte de oxígeno (Tostado *et al*., 2015). Su determinación en productos alimenticios es crucial para evaluar su valor nutricional, especialmente en poblaciones vulnerables a la anemia ferropénica. El análisis puede realizarse mediante técnicas como espectrofotometría de absorción atómica, espectrofotometría UV-Visible (con reactivos como o-fenantrolina), o por métodos más modernos como la espectrometría de masas acoplada a plasma (ICP-MS), dependiendo del nivel de precisión requerido (Gutiérrez *et al*., 2025).

2.2.7.2. Contenido de calcio

El contenido de calcio indica la concentración de este mineral en un alimento, habitualmente expresado en mg/100 g, y es un parámetro clave en la valoración nutricional de productos destinados a la salud ósea y muscular. El calcio es esencial para funciones biológicas como

la contracción muscular, la coagulación sanguínea y la transmisión nerviosa (Damián & Mujica, 2020). Su determinación se realiza a través de métodos volumétricos como la titulación con EDTA, o por técnicas instrumentales como la espectrofotometría de absorción atómica o la espectrometría ICP-OES. En productos como lácteos, vegetales de hoja verde o suplementos nutricionales, medir el contenido de calcio permite validar declaraciones nutricionales y cumplir regulaciones sanitarias (Rodríguez *et al*., 2020).

2.2.7.3. Contenido de proteínas

El contenido de proteínas en un alimento hace referencia a la cantidad total de compuestos nitrogenados que forman parte de su estructura, y suele expresarse como porcentaje o en gramos por 100 gramos (Abarca *et al*., 2024). Las proteínas son macronutrientes esenciales para el crecimiento, la reparación celular y la síntesis de enzimas y hormonas. El método más utilizado para su determinación es el método Kjeldahl, que estima el nitrógeno total y lo multiplica por un factor de conversión (usualmente 6.25) para obtener el valor proteico (López *et al*., 2023). También se pueden emplear métodos como Dumas o espectrofotometría de absorción UV. Esta medición es fundamental en productos como cereales, carnes, legumbres y fórmulas infantiles, donde la calidad proteica es un atributo clave (Gonzáles, 2023).

2.2.7.4. Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante evalúa la habilidad de los compuestos presentes en un alimento para neutralizar radicales libres, lo cual está directamente relacionado con beneficios para la salud como la prevención del envejecimiento celular y enfermedades crónicas (Benítez *et.*, 2021). Esta propiedad depende de la presencia de vitaminas (C y E), polifenoles, flavonoides, antocianinas, entre otros compuestos bioactivos. Se mide mediante ensayos in

vitro como DPPH, ABTS, FRAP o CUPRAC, que cuantifican la actividad reductora o captadora de radicales libres (Flores *et al*., 2024). La capacidad antioxidante es especialmente valorada en frutas, vegetales, infusiones, y productos funcionales, donde puede ser utilizada como criterio de calidad nutricional y funcional (Hwang & Lee, 2023).

2.2.8. Isotermas de sorción

Las isotermas de sorción describen la relación entre la actividad de agua (Aw) y el contenido de humedad de un alimento a una temperatura constante. Son fundamentales en el diseño, almacenamiento y conservación de productos alimentarios, ya que permiten entender cómo el alimento intercambia humedad con su entorno (Prieto *et al*., 2020). Una isoterma muestra cuánta agua puede adsorber (captar) o desorber (liberar) un alimento dependiendo de la humedad relativa del ambiente. Esto ayuda a predecir cambios en textura, vida útil, crecimiento microbiano y estabilidad química del producto (Álvaro & Bolívar, 2023).

La actividad del agua (Aw), entendida como la fracción de agua disponible en el producto para el desarrollo de microorganismos y para diversas reacciones químicas que afectan su estabilidad. La aw se utiliza con frecuencia para relacionar el contenido de agua con la calidad del alimento. Conocer la relación entre aw y el contenido de humedad en equilibrio resulta clave para anticipar los cambios físicos, químicos y biológicos que pueden ocurrir durante el almacenamiento o procesamiento. Esta relación, llamada isoterma de sorción de agua, describe tanto los procesos de adsorción (hidratación o rehidratación), relevantes en productos secos, como los de desorción (deshidratación), de interés en estudios de secado (Talens, 2017).

La isoterma de sorción de agua (Figura 3) es un recurso útil para evaluar el nivel de interacción del agua con un sustrato. Generalmente, se distinguen tres rangos de actividad

de agua (aw): agua fuertemente ligada, con valores iguales o menores a 0,2–0,3; agua moderadamente ligada, entre 0,3 y 0,7; y agua débilmente ligada, con valores iguales o superiores a 0,7–0,8 (Talens, 2017).

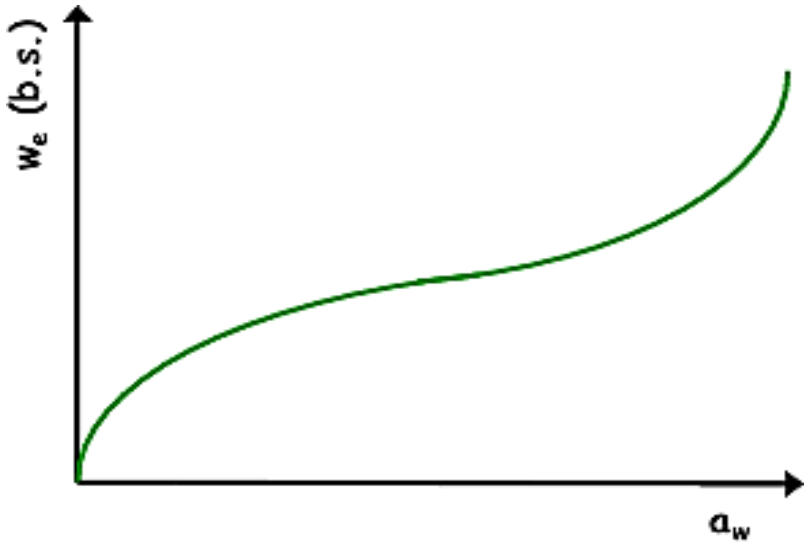


Figura 6: **Ejemplo de isoterma de sorción de agua de un alimento**

FUENTE: Talens (2017).

El primer tramo de la isoterma (Figura 6), correspondiente a una Aw de 0,2–0,3 o menor, se asocia a la humedad de monocapa (W0), considerada el nivel en el que las reacciones bioquímicas son mínimas y, por tanto, donde los alimentos alcanzan su máxima estabilidad y vida útil. La isoterma de sorción permite identificar los niveles críticos de humedad en los alimentos, lo que facilita anticipar los posibles cambios que podrían ocurrir durante su almacenamiento (Talens, 2017).

Se han creado modelos matemáticos basados en los mecanismos termodinámicos de adsorción, con el fin de ajustarse a los datos experimentales obtenidos y sustentados en propiedades fisicoquímicas y termodinámicas. Dichos modelos se dividen en teóricos, semiempíricos y empíricos. Los modelos matemáticos más utilizados son los de Langmuir, Freundlich y Brunauer-Emmett-Teller (BET), aplicados al estudio de la monocapa. En el

caso del modelo BET, se obtienen dos constantes: la humedad de monocapa (W0) y la constante de energía (C), derivadas de la ecuación de Langmuir a presiones elevadas. Aunque este modelo solo se ajusta a las isotermas dentro de un rango limitado de valores de aw, el concepto de humedad de monocapa es ampliamente aceptado como el punto de referencia de máxima estabilidad en alimentos secos (Aedo, 2020).

El modelo GAB utiliza solo tres parámetros (W0, C y K) y logra representar de manera adecuada los datos experimentales en un rango de aw de 0 a 0,95 para la mayoría de alimentos de interés práctico. Tanto el modelo BET como el GAB se fundamentan en los mismos principios de la monocapa; sin embargo, el GAB incorpora un parámetro adicional (K), lo que le otorga mayor flexibilidad, mientras que el BET asume que la adsorción física ocurre en multicapas sin interacciones laterales (Aedo, 2020).

2.2.9. Vita útil de alimentos

La vida útil de un alimento se entiende como el período limitado posterior a su producción, durante el cual, bajo condiciones controladas de almacenamiento, experimenta una disminución de sus características sensoriales y fisicoquímicas, así como alteraciones en su perfil microbiológico (Inungaray y Munguía, 2013).

Sin embargo, la vida útil de los alimentos esta influencias por diversos factores, Tena (2018) menciona que la estabilidad a lo largo del tiempo de los alimentos depende de varios factores intrínsecos como la humedad o la actividad del agua y otros factores como el pH, las enzimas presentes, el oxígeno disuelto, los componentes de la textura, los metales presente y, en general, una cantidad de factores según la particularidad de cada alimento. También indica que existen factores externos al alimento que influyen en las reacciones de deterioro del mismo, entre estos se encuentra la temperatura tanto del proceso como del almacenamiento y transporte, el material de envasado y su permeabilidad al agua.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO

El estudio de investigación se ejecutó en los siguientes lugares:

- Laboratorio de Procesos de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de Juliaca – Sede Ayabacas, Juliaca – Perú (Lugar donde se realizó el proceso de liofilización del cushuro).
- Laboratorio de Reología de la Universidad Nacional de Juliaca – Sede Ayabacas, Juliaca – Perú (Lugar donde se efectuó la caracterización física).
- Laboratorios Generales (Física y Química) de la Universidad Nacional de Juliaca – Sede La Capilla, Juliaca – Perú (Lugar donde se desarrollaron los análisis químicos proximales y de contenido proteico).
- Laboratorio de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental y Forestal de la Universidad Nacional de Juliaca – Sede La Capilla, Juliaca – Perú (Lugar donde se realizó la cuantificación del mineral hierro).
- Laboratorio Especializado de Análisis Instrumental de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), Cusco – Perú (Lugar donde se llevó a cabo la evaluación de la capacidad antioxidante).

- Laboratorio del Centro de Investigación en Tecnología de Alimentos (CITAL) de la Universidad Peruana Unión (UPEU) – Sede Juliaca – Perú (Lugar donde se implementaron las cámaras para los ensayos de isotermas de sorción y vida útil acelerada).

3.2. MÉTODO DE LA INVESTIGACIÓN POBLACION Y MUESTRAS

Para el presente trabajo de investigación se utilizaron las siguientes materias primas y recursos:

- Cushuro (*Nostoc sphaericum*), en estado fresco, proveniente de las lagunas altoandinas de la provincia de Anta, región Cusco – Perú.
- Agua destilada y desionizada de grado laboratorio.

3.3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

3.3.1. Materiales de laboratorio y utensilios

- Cápsulas de evaporación de porcelana.
- Crisoles de porcelana (para análisis de cenizas).
- Cucharas y cuchillos de acero inoxidable.
- Envases de vidrio con tapa hermética (para estudio de vida útil).
- Fiolas graduadas de 10, 25, 50, 100 y 250 mL.
- Jarras y recipientes plásticos graduados.
- Luna de reloj.
- Matraces Erlenmeyer de 100, 250 y 500 mL.

- Mortero y pilón de porcelana (para la molienda del cushuro).
- Papel aluminio (para protección fotolítica de muestras).
- Papel filtro cualitativo (Watman N° 4).
- Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 mL.
- Probetas graduadas de 10, 50 y 100 mL.
- Bolsas de plástico de polietileno termosellables (para estudio de vida útil).
- Recipientes de acero inoxidable.
- Tubos de ensayo de 5, 10 y 15 mL con gradillas.
- Vasos de precipitación de 100, 250, 500 y 1000 mL.

3.3.2. Equipos

- Medidor de actividad de agua (Aw) marca [Aqualap].
- Balanza analítica marca Henkel, modelo BQ 311, precisión 0.0001 g
- Balanza comercial de plataforma, capacidad 5 kg, precisión 20 g.
- Centrífuga de laboratorio de mesa.
- Colorímetro instrumental / Espectrofotómetro de color (para coordenadas L*, a*, b*).
- Espectrofotómetro UV-Vis (para análisis de capacidad antioxidante y proteínas por Bradford).
- Estufa con circulación de aire caliente marca Precision, serie IOAS/5, modelo 18EM.
- Liofilizador de laboratorio marca Telstar Life Science Solutions.

- Mufla analítica marca Heraeus, tipo 170 (hasta 1000 °C).
- Potenciómetro (pH-metro) marca Milwaukee, modelo Mi-150.
- Selladora de impulsos de bolsas plásticas.
- Texturómetro marca INSTRON, modelo 34TM-5-SA

3.3.3. Reactivos

- Ácido fosfórico (H_3PO_4) al 85% v/v (grado analítico).
- Albúmina de suero bovino (BSA) grado reactivo (estándar para cuantificación de proteínas).
- Agua destilada y desionizada.
- Reactivo Azul de Coomassie Brilliant Blue G-250.
- Etanol (C_2H_5OH) al 95% v/v.
- Grasa siliconada de alta vacío (sellado de desecadores de isotermas).
- Sales puras para control de humedad relativa en isotermas, Cloruro de potasio (KCl), Sulfato de amonio ($(NH_4)_2SO_4$), Nitrato de sodio ($NaNO_3$), Cloruro de litio (LiCl), Acetato de potasio (CH_3COOK), Cloruro de bario ($BaCl_2$).

3.4. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

Como fase preliminar al análisis de las propiedades fisicoquímicas y funcionales, se llevó a cabo la adquisición del cushuro fresco.

3.4.1. Metodología para la obtención del cushuro liofilizado

Para la obtención del cushuro (*Nostoc Ssphaericum*) acondicionado se realizó de acuerdo al siguiente diagrama de flujo. (figura 7).

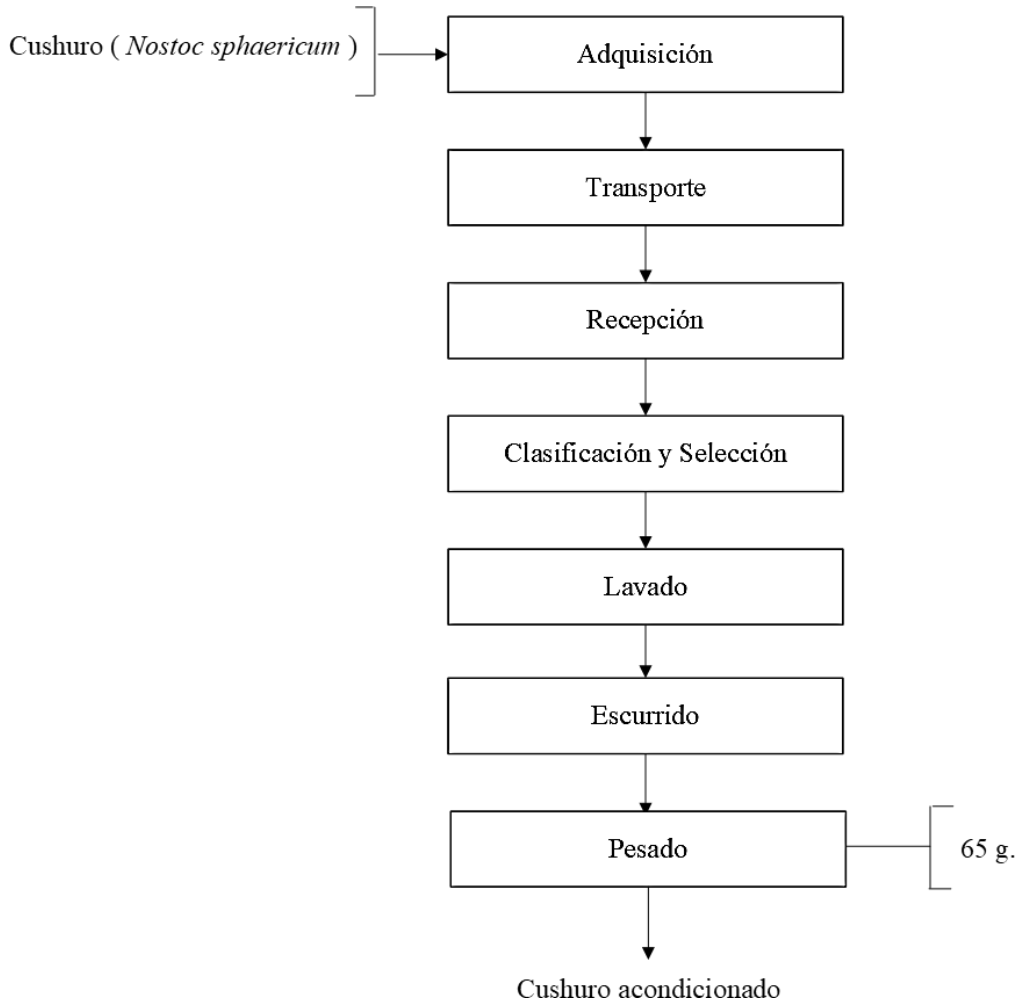


Figura 7: **Flujograma de las operaciones previas a la liofilización del cushuro.**

FUENTE: Adaptado de (Yolanda & Elizabeth, 2020)

Descripción de operaciones:

- **Adquisición**: La materia prima (*Nostoc sphaericum*) fue recolectada fresca, de las lagunas de la provincia de Anta, Cusco. Con el fin de mantener la integridad estructural

de las colonias coloniales y mitigar el estrés osmótico, el cushuro se sumergió y trasladó en su propia agua de laguna original dentro de contenedores herméticos.

- **Transporte:** El traslado hacia los laboratorios de la Universidad Nacional de Juliaca – Sede Ayabacas, se realizó durante la noche, aprovechando las bajas temperaturas naturales del altiplano como barrera térmica para deprimir la tasa respiratoria y la actividad metabólica celular de la cianobacteria.
- **Recepción:** Al arribar en las instalaciones de la UNAJ, las muestras fueron sometido a una inspección visual preliminar. La temperatura de recepción fue confirmada como adecuada para no alterar el metabolismo de la cianobacteria durante el viaje.
- **Clasificación y Selección:** Se extendieron las algas de cushuro sobre bandejas de inspección de acero inoxidable para realizar una separación manual minuciosa. Durante esta fase, se retiraron con cuidado todas las impurezas macroscópicas suspendidas, como lodo, sedimentos pétreos, restos de microfauna acuática o macrófitas, asegurándonos de seleccionar únicamente aquellos agregados esféricos que mostraban una textura turgente y homogénea
- **Lavado:** La siguiente etapa consistió en el lavado de las esferas seleccionadas mediante inmersión y una agitación hidráulica suave con agua destilada a baja temperatura (< 15 °C) por un periodo corto. Esta acción ayudo con el objetivo de remover el polvo fino y el material coloidal adherido a la vaina de mucílago superficial, protegiendo la integridad de las membranas celulares externas contra cualquier ruptura.
- **Escurrido:** Para garantizar que el agua añadida durante el lavado no interfiriera en las cinéticas de secado posteriores, el cushuro se colocó en tamices de malla fina de acero inoxidable para retirar el agua libre por gravedad.

- **Pesado:** Fraccionamos las muestras de cushuro acondicionado en lotes homogéneos de 65 g. mediante una balanza de precisión, estos lotes, debidamente codificados, constituyeron las unidades experimentales y quedaron listos para su ingreso inmediato a la etapa de liofilización en el equipo Telestar

Para la obtención del cushuro (*Nostoc Spaericum*) liofilizado se realizó de acuerdo al siguiente diagrama de flujo. (figura 8).

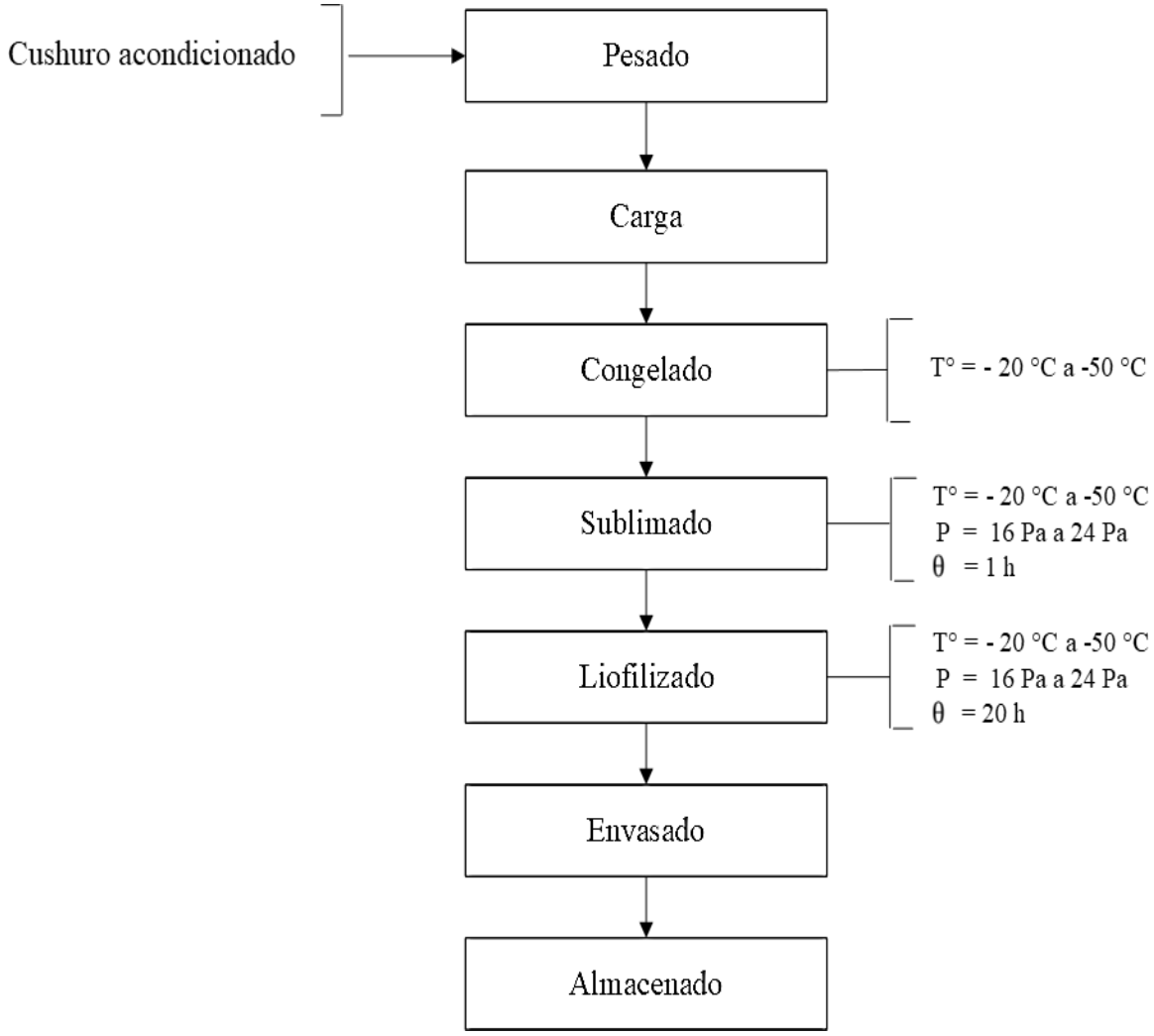


Figura 8: **Flujograma para la obtención de cushuro liofilizado**

FUENTE: Adaptado de Chávez (2014) **y** (Yolanda & Elizabeth, 2020)

Descripción de operaciones:

- **Pesado:** Realizamos el pesado minuciosamente de las placas que contendrían el cushuro liofilizado, utilizando una balanza analítica de precisión, ese registro nos permitió contar con los datos necesarios para calcular posteriormente, por diferencia de masa, el rendimiento porcentual, además de registrar el peso neto obtenido de cada tratamiento para los balances de materia correspondientes.
- **Carga:** Una vez pesadas las placas con las unidades experimentales, realizamos la carga rápida en la cámara del liofilizador de laboratorio. En esta fase, aseguramos el sellado hermético del sistema aplicando grasa siliconada en las juntas de la puerta para evitar microfugas de aire y garantizar un vacío absoluto en las etapas posteriores.
- **Congelación**: Ejecutamos esta etapa de manera directa en el liofilizador aprovechando su función integrada de enfriamiento, lo que permitió exponer el cushuro a temperaturas de diseño asignadas para cada tratamiento (establecidas entre los límites de -20 °C a – 50°C), este proceso tomó un lapso de 1 a 5 horas, dependiendo de la temperatura objetivo de la unidad experimental. El propósito principal fue inducir la nucleación para convertir el agua libre en cristales de hielo bien definidos, separándola de la matriz de solutos vítreos; esta transición de fase aseguró las condiciones adecuadas para la posterior sublimación, garantizando la estabilidad estructural y la calidad final del producto.
- **Sublimado:** Con el producto ya congelado dentro de la cámara de secado, activamos el sistema para ejecutar la sublimación primaria durante un periodo de 1 hora. En esta etapa, mantuvimos las temperaturas de placa y regulamos las presiones absolutas de trabajo de acuerdo con las especificaciones de cada unidad experimental (fijadas entre los límites de 16 Pa a 24 Pa y -20°C a – 50°C), el sistema indujo un descenso inicial de presión

hasta alcanzar las condiciones de vacío programadas, manteniéndose estable a lo largo del proceso para asegurar la remoción eficiente del agua congelada.

- **Liofilizado:** Continuamos el proceso con el propósito de eliminar la humedad remanente que no logró ser removida durante la sublimación primaria. Para asegurar la desorción del agua fuertemente ligada a la matriz, mantuvimos las condiciones operacionales controladas según el tratamiento correspondiente (dentro de los límites experimentales de -20°C a – 50°C y de 16 Pa a 24 Pa), prolongando esta operación por un periodo continuo de 20 horas.
- **Envasado:** De manera inmediata, pesamos y colocamos las muestras dentro de recipientes con tapa rosca hermética, para evitar la absorción de humedad ambiental y cualquier riesgo de contaminación cruzada. Seguidamente, realizamos el rotulado correspondiente de cada envase para asegurar la correcta identificación y trazabilidad de los tratamientos.
- **Almacenado**: Finalmente, trasladamos y almacenamos los envases sellados en un ambiente seco, fresco y oscuro a temperatura ambiente, para resguardar el cushuro liofilizado de la luz directa y de variaciones higroscópicas, garantizando la estabilidad de sus compuestos bioactivos hasta el momento de realizar los análisis fisicoquímicos

3.5. METODOLOGIA EXPERIMENTAL POR OBJETIVOS

3.5.1. Para el objetivo 1.

Determinar el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre las propiedades fisicomecánicas (humedad, actividad de agua, color, textura, volumen y capacidad de rehidratación) del cushuro liofilizado, a fin de identificar el tratamiento con las condiciones más favorables.

Variables independientes:

- Temperaturas de congelación (-20°C, -30 °C, - 35°C -50°C)
- Presión de sublimación (16 Pa, 20 Pa, 24 Pa)

Variables dependientes:

- Humedad
- Actividad (Aw)
- Textura
- Color
- Volumen
- Rehidratación

Diseño experimental utilizado

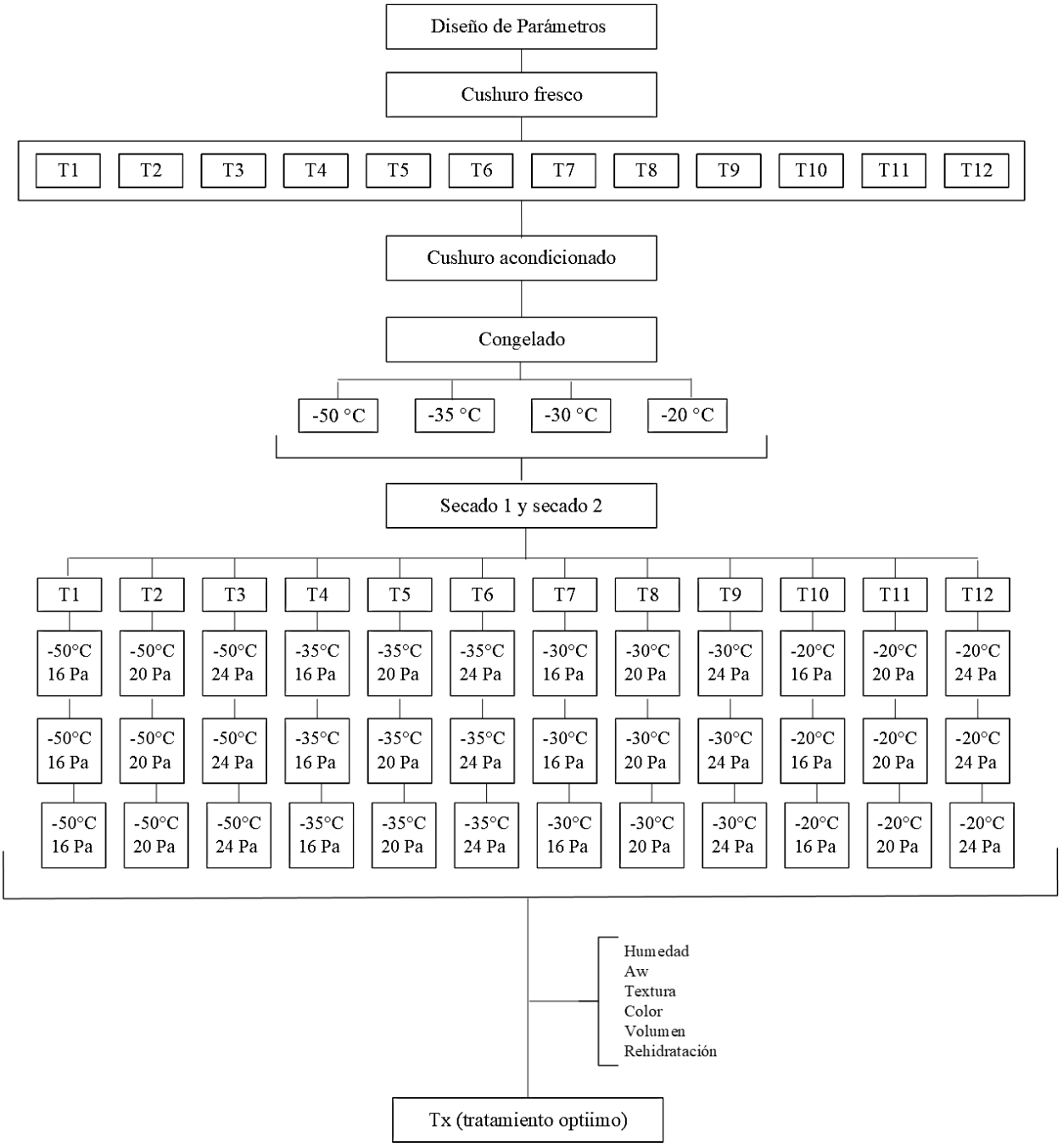


Figura 9: **Diagrama experimental para la obtención de tratamiento adecuado**

Diseño del parámetro adecuado

El planeamiento, la obtención de la matriz de tratamientos y el posterior análisis estadístico de los datos se realizaron utilizando el software especializado Design-Expert versión 13 (Stat-Ease Inc., 2021). De acuerdo con Gutiérrez Pulido y de la Vara Salazar (2012), para el ajuste de procesos tecnológicos se seleccionó un diseño factorial completo multinivel (4 x 3).

La elección de un diseño factorial completo se fundamentó en la necesidad de analizar simultáneamente el efecto individual de ambos parámetros y su posible interacción sobre las propiedades del cushuro (*Nostoc sphaericum*) liofilizado. A diferencia de un experimento unifactorial, en el cual se modifica un factor manteniendo constante el otro, el diseño factorial permite estudiar todas las combinaciones posibles entre los niveles establecidos y determinar si la respuesta producida por un factor depende de la condición asumida por el segundo. Los diseños factoriales completos incluyen todas las combinaciones de los niveles de los factores, lo cual permite obtener estimaciones de sus efectos y de las interacciones sin la pérdida de información asociada con la utilización de una fracción del espacio experimental. El diseño se fundamentó en dos variables independientes con niveles específicos de control:

- **Factor A** (Temperatura de congelación): Evaluada bajo cuatro niveles de operación (-20 °C, - 30 °C, -35 °C, -50 °C).
- **Factor B** (Presión de sublimación): Evaluada bajo tres niveles de operación (16 Pa, 20 Pa y 24 Pa).

La elección del diseño completo, en lugar de uno fraccionado, resultó además pertinente debido al reducido número de factores investigados. Los diseños fraccionados poseen especial utilidad cuando existe un número elevado de factores y el número de combinaciones experimentales se vuelve excesivo; en este estudio solamente se analizaron dos variables independientes, por lo que explorar las 12 combinaciones posibles representó un número experimental manejable y permitió conservar la información correspondiente a la interacción temperatura × presión.

La temperatura de congelación se seleccionó como primer factor debido a que constituye una etapa determinante de la liofilización. La velocidad y profundidad de congelación condicionan la formación y el tamaño de los cristales de hielo y, posteriormente, la estructura porosa que queda después de su sublimación; por ello, modificaciones en esta etapa pueden influir sobre la transferencia de masa, textura, porosidad, contracción y capacidad de rehidratación del producto liofilizado.

La literatura especializada reconoce que la etapa de congelación afecta tanto la eficiencia posterior de sublimación como las propiedades físicas finales del alimento. En consecuencia, se establecieron cuatro niveles, −20, −30, −35 y −50 °C, con la finalidad de abarcar desde una condición de congelación convencional hasta una condición de congelación más intensa, generando un gradiente suficientemente amplio para determinar si los cambios en la temperatura previa producen modificaciones significativas en humedad, actividad de agua, color, textura, volumen y capacidad de rehidratación del cushuro liofilizado. Los niveles intermedios de −30 y −35 °C permitieron incrementar la resolución experimental dentro de una región de congelación profunda, mientras que los extremos de −20 y −50 °C permitieron contrastar condiciones térmicas suficientemente diferenciadas.

Como segundo factor se seleccionó la presión de sublimación, debido a que la presión de la cámara constituye una de las principales variables que gobiernan la transferencia de masa durante el secado primario. Se establecieron los niveles de 16, 20 y 24 Pa, equivalentes aproximadamente a 0.16; 0.20 y 0.24 mbar, respectivamente. Estos valores representan tres condiciones diferenciadas de vacío dentro de un intervalo reducido que permite mantener la sublimación y, simultáneamente, analizar la sensibilidad del cushuro ante modificaciones de la presión de cámara. El nivel de 20 Pa se consideró como condición intermedia, mientras que 16 y 24 Pa constituyeron los límites inferior y superior del intervalo experimental, permitiendo determinar si una mayor intensidad de vacío favorece la eliminación de humedad o si cambios moderados de presión producen respuestas diferenciadas en las propiedades físicas y mecánicas

La configuración del diseño factorial completo en el software Design-Expert 13 generó una matriz de 12 tratamientos únicos, calculados mediante el producto de los niveles de cada factor (4 x 3 = 12). Cada unidad experimental fue procesada de manera aleatorizada para minimizar el error experimental y determinar el efecto significativo de los parámetros sobre las características fisicoquímicas, funcionales y la estabilidad del cushuro liofilizado.

Tabla 3: ***Diseño de experimentos***

Tratamiento	A:Temperatura (°C)	B:Presión (Pascal)	Aleatoriedad	Réplica
1	-50	16	5	3
2	-50	20	9	3
3	-50	24	10	3
4	-35	16	4	3
5	-35	20	1	3
6	-35	24	11	3
7	-30	16	12	3
8	-30	20	8	3
9	-30	24	3	3
10	-20	16	2	3
11	-20	20	6	3
12	-20	24	7	3

Nota: A = temperatura de congelación; B = presión de sublimación. La aleatoriedad indica el orden de ejecución experimental y cada tratamiento se evaluó con tres réplicas (n = 3).

Métodos De Análisis

– **Determinación de humedad**

La determinación de humedad de las muestras liofilizadas se realizó mediante una adaptación del método gravimétrico de desecación indirecta por evaporación de la AOAC (AOAC 925.09). El procedimiento se describe a continuación:

Se realizó el pesado micro-analítico de las muestras, utilizando una balanza analítica de alta precisión (±0.0001 g) y con la finalidad de mitigar el error por ganancia higroscópica ambiental durante la manipulación, se estandarizó una masa de 0.2 g por cada una de las 12 muestras de cushuro liofilizado (evaluadas tanto en polvo homogeneizado como en esferas

enteras) y la muestra fresca. La reducción proporcional de la masa de análisis se fundamentó en la homogeneidad granulométrica del polvo obtenido y en la distribución geométrica por volumen de las esferas enteras, las cuales fueron dispuestas de manera uniforme cubriendo la superficie basal de las lunas de reloj analíticas para evitar la transferencia de calor.

Desecación y enfriamiento: Las muestras preparadas se introdujeron en una estufa de convección a una temperatura controlada de 105 °C durante un periodo continuo de 15 horas para asegurar la total evaporación del agua libre. Al finalizar el tiempo, las muestras se retiraron de la estufa y se trasladaron inmediatamente a un desecador con sílice gel hasta alcanzar la temperatura ambiente, registrando posteriormente el peso final de la masa desecada.

Cada ensayo se ejecutó estrictamente por triplicado para garantizar la repetibilidad y el control del error experimental, presentando los resultados en porcentaje (g/100g) mediante el siguiente cálculo matemático:

$$\% H = \frac{(m - m1)}{m} * 100 \qquad \text{Ec. 1}$$

Donde:

H= Humedad en g/100g.

m= peso en g, de la muestra inicial.

m1= Masa en g, de la muestra seca.

- **Determinación de actividad de agua (Aw)**

La determinación de la actividad de agua (Aw) en las muestras de cushuro fresco y liofilizadas se realizó mediante el método higrométrico instrumental por punto de rocío, bajo

los lineamientos oficiales descritos en el manual *Official Methods of Analysis* de la AOAC (Método 978.18) y siguiendo los criterios de estabilidad cinofísica reportados por Oblitas (2022). El procedimiento experimental se ejecutó bajo las siguientes etapas consecutivas:

Con la finalidad de evitar rigurosamente el error por ganancia higroscópica ambiental debido a la alta afinidad con el agua de la matriz porosa, las muestras liofilizadas fueron transferidas de forma inmediata al terminar el proceso de liofilización hacia las cápsulas plásticas del equipo, aprovechando la disponibilidad del instrumento de medición en el mismo ambiente de laboratorio. Se cuidó que las esferas cubrieran uniformemente la superficie basal en una sola capa según su volumen geométrico.

Las cápsulas se introdujeron en la cámara de medición de un determinador de actividad de agua por punto de rocío (AquaLab, Decagon Devices Inc.). El ensayo se condujo manteniendo condiciones controladas de temperatura ambiente a 25 °C ± 1°C. El tiempo de lectura osciló entre 1 y 2 minutos, manteniéndose la muestra en la celda hermética hasta que el instrumento estabilizó la presión de vapor, alcanzó el equilibrio termodinámico absoluto y emitió el valor final de Aw en la pantalla digital.

Cada determinación analítica se ejecutó estrictamente por triplicado para cada uno de los 12 tratamientos y la muestra fresca, garantizando el control del error experimental.

– **Determinación de textura**

La caracterización del comportamiento mecánico de las muestras liofilizadas se realizó mediante el Perfil de Análisis de Textura (TPA), empleando el método instrumental de extrusión atrás (*Back Extrusion*) bajo los fundamentos y criterios de medición reológica descritos por Bourne (2002). El procedimiento experimental se ejecutó bajo las siguientes especificaciones técnicas:

Las mediciones se efectuaron en un texturómetro universal digital acoplado a un dinamómetro Instron modelo 34TM, equipado con una celda de carga con capacidad de 500 N y operado mediante el software especializado Bluehill Universal (Instron, 2021). Para la ejecución de las pruebas mecánicas orientadas a matrices hidrofílicas esféricas y extruidas, el sistema incorporó los siguientes accesorios originales: un plato de compresión cilíndrico (*Compression Anvil*, código S5402A), una bandeja de recolección de fluidos (*Drip Tray Food*, código S5400A) y un armazón físico de soporte estructural (*Food Support Frame*, código S4427A).

Los ensayos se llevaron a cabo tanto en las muestras liofilizadas, disponiéndose con simetría volumétrica sobre la base del soporte. Las condiciones de contorno fijadas en el software Bluehill Universal para el ciclo de doble compresión sucesiva consistieron en una velocidad constante de ensayo de 2.00 mm/s, una fuerza de pre-carga inicial de 5.00 gf y un porcentaje de deformación geométrica del 50.00 % respecto a la altura original de la muestra.

A partir de las curvas de fuerza-tiempo obtenidas por el software tras la deformación controlada, el programa procesó mecánicamente los datos arrojando directamente los parámetros de dureza (gf), cohesividad (adimensional), elasticidad (adimensional) y masticabilidad (gf). Cada determinación analítica se ejecutó estrictamente por triplicado para cada uno de los 12 tratamientos experimentales y la muestra testigo de la Universidad Nacional de Juliaca.

– **Determinación de color**

La caracterización del perfil cromático en el cushuro fresco y en las muestras liofilizadas se realizó mediante colorimetría triestímulo instrumental, siguiendo los espacios de color estandarizados por la *Commission Internationale de l'Éclairage* (CIE) y bajo los criterios

metodológicos de evaluación óptica en alimentos descritos por Sahin y Sumnu (2006). El procedimiento experimental se ejecutó bajo las siguientes etapas:

El análisis se llevó a cabo utilizando las unidades experimentales tanto en polvo homogeneizado como en esferas enteras y la muestra fresca. Las muestras fueron introducidas minuciosamente en una cápsula cilíndrica de aluminio de 11 mm de diámetro y 6 mm de altura. Para estandarizar la superficie de lectura óptica, aplanar el espacio libre y evitar la dispersión de la luz, se colocó un vidrio óptico neutro sobre las muestras antes de la medición.

Las cápsulas preparadas se posicionaron en el puerto de lectura de un espectro colorímetro portátil (Konica Minolta, modelo CM-2600d). Las mediciones se configuraron utilizando el iluminante normalizado D65 (luz de día promedio) y el observador estándar de 10° como puntos de referencia angular. Para cada unidad experimental se ejecutaron estrictamente tres mediciones consecutivas en diferentes puntos geométricos de la muestra para asegurar la repetibilidad.

A partir de los ensayos, se registraron directamente las coordenadas cromáticas del espacio CIELAB (L*, a*, b*), donde L* indica la luminosidad (desde 0 para negro hasta 100 para blanco), a* define la escala cromática verde-roja y b* define la escala azul-amarilla. Adicionalmente, se calcularon las propiedades relativas de Croma (C*ab) y Ángulo de tono (h°ab) mediante las siguientes relaciones matemáticas:

$$C^*_{ab} = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \qquad \text{Ec. 2}$$

$$h^\circ_{ab} = arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \qquad \text{Ec. 3}$$

Para evaluar el impacto real de los parámetros de liofilización, se tomó como color patrón de referencia a la muestra de cushuro fresco. La diferencia total de color (ΔE*) entre el estado fresco y cada uno de los 12 tratamientos liofilizados se cuantificó aplicando la ecuación euclidiana de color:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \qquad \text{Ec. 4}$$

Donde ΔL*, Δa* y Δb* representan las diferencias aritméticas individuales entre los valores cromáticos de la muestra liofilizada y el testigo fresco.

– **Determinación de volumen**

La determinación del volumen real en el cushuro fresco y en las muestras liofilizadas se realizó mediante el método volumétrico de inmersión líquida basado en el Principio de Arquímedes, el cual establece que el volumen de un cuerpo sólido es equivalente al volumen de fluido que desplaza al ser sumergido completamente, siguiendo los criterios metodológicos para propiedades físicas de alimentos descritos por Mohsenin (1986) y Baryeh (2001). El procedimiento experimental se ejecutó bajo las siguientes etapas:

Pesado y acondicionamiento: Utilizando una balanza analítica de alta precisión (± 0.0001 g), se pesaron minuciosamente 0.1 g de cada una de las 12 muestras de cushuro liofilizado (evaluadas en esferas enteras) y de la muestra de cushuro fresco. Cada tratamiento se analizó estrictamente por triplicado para garantizar la repetibilidad del ensayo.

Desplazamiento hidrostático: En un recipiente cilíndrico graduado de alta resolución (probeta de micro-volumen), se adicionó un volumen inicial exacto de 5 mL de un fluido de trabajo de densidad conocida y baja afinidad de absorción con la matriz porosa. Posteriormente, las esferas pesadas se introdujeron de forma cuidadosa y ultrarrápida en el

recipiente hasta quedar completamente sumergidas por debajo del menisco, registrándose de inmediato el volumen final alcanzado por el líquido para evitar cualquier error por transferencia de masa o hidratación capilar.

La diferencia geométrica entre las lecturas hidrostáticas determinó el volumen real ocupado por la estructura celular del cushuro, calculándose mediante la siguiente ecuación matemática:

$$V_m = V_f - V_i \qquad \text{Ec. 5}$$

Donde:

Vm: Volumen real de la muestra de cushuro (mL o cm^3).

Vi: Volumen inicial del fluido de trabajo en el recipiente graduado (5 mL).

Vf: Volumen final registrado en el menisco tras la inmersión total de las esferas.

– **Determinación de la rehidratación**

La evaluación de la capacidad de absorción hídrica en el equilibrio del cushuro liofilizado se determinó adaptando el procedimiento gravimétrico descrito por Arriola et al. (2006) para el manejo y filtrado de la muestra, e integrando el criterio de saturación prolongada a peso constante (Peleg, 1988; Kadam et al., 2011).

El procedimiento experimental se desarrolló mediante las siguientes etapas:

1. Acondicionamiento y masa inicial: Se pesó con precisión una cantidad conocida (ms, aprox. 0.5g) de muestra liofilizada en una balanza analítica (± 0.0001 g).
2. Inmersión y saturación: La muestra contenida en el sistema de filtrado se introdujo en un vaso de precipitado con 200 mL de agua destilada a temperatura ambiente (25°C ± 1°C).

El proceso de inmersión se mantuvo de forma continua y sin agitación durante un periodo de 3 horas (180 min), tiempo necesario para asegurar el hinchamiento de la matriz coloidal de polisacáridos y alcanzar el estado de equilibrio hídrico.

3. Drenado y peso final: Cumplido el tiempo de inmersión, se retiró la muestra del medio acuoso. El exceso de agua superficial retenido por capilaridad externa se eliminó mediante un drenado rápido y secado sutil con papel absorbente sin ejercer presión. De manera inmediata, se registró la masa de la muestra rehidratada en el equilibrio (mh).

Por último, se realiza el cálculo por medio de las ecuaciones:

$$\%Rehidratacion = \frac{IR * Muestra\ liofilizada}{Muestra\ fresca\ (g)} \times 100 \qquad \text{Ec. 6}$$

Los valores experimentales obtenidos de la absorción se calcularon y presentaron mediante la siguiente ecuación matemática de balance de masa:

$$CR = \frac{m_h - m_s}{m_s} \qquad \text{Ec. 7}$$

O expresado en porcentaje (%CR):

$$\%CR = \left(\frac{m_h - m_s}{m_s}\right) * 100 \qquad \text{Ec. 8}$$

Donde:

- CR: Capacidad de rehidratación (g de agua absorbida / g de muestra seca).
- mh: Masa final, en gramos, de la muestra de cushuro rehidratada al alcanzar el peso constante.

- ms: Masa inicial, en gramos, de la muestra liofilizada seca antes de ingresar al medio acuoso.

Cada ensayo cinético se condujo estrictamente por triplicado para asegurar el control estadístico del error experimental y la reproducibilidad de las curvas de rehidratación.

Diseño estadístico

Para evaluar el efecto de los parámetros operacionales de liofilización sobre las propiedades físicas, mecánicas y cromáticas del cushuro, se aplicó un Diseño Factorial Completo Multinivel (4 x 3). El procesamiento de datos, la aleatorización de la matriz y el modelamiento matemático se realizaron mediante el software especializado Design-Expert versión 13 (Stat-Ease Inc., 2021).

El diseño experimental estuvo gobernado por la interacción de dos factores independientes (físicos) distribuidos en sus respectivos niveles operativos, evaluándose un total de 12 tratamientos independientes ejecutados por triplicado:

Variables Independientes (Factores):

Factor A: Temperatura de congelación (4 niveles: -20 °C, -30 °C, -35 °C y -50°C).

Factor B: Presión de sublimación (3 niveles: 16 Pa, 20 Pa y 24 Pa).

Variables Dependientes (Respuestas, Yi):

- Y1: Contenido de humedad (g/100 g).
- Y2: Actividad de agua (Aw, adimensional).
- Y3: Propiedades de textura por TPA (Dureza, Cohesividad, Elasticidad, Masticabilidad).
- Y4: Coordenadas y diferencias de color (L*, a*, b*, ΔE*).

- Y5: Volumen real (cm^3).
- Y6: Rehidratación (%).

De acuerdo con Gutiérrez Pulido y de la Vara Salazar (2012), el comportamiento del sistema para un diseño factorial de dos factores se modeló bajo la siguiente ecuación lineal de efectos fijos:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \qquad \text{Ec. 9}$$

Donde:

- Y_{ijk}: Valor observado de la variable respuesta en el i-ésimo nivel del Factor A, j-ésimo nivel del Factor B y la k-ésima repetición.
- μ: Media general del fenómeno experimental.
- αi: Efecto termodinámico producido por el i-ésimo nivel del Factor A (Temperatura de congelación).
- βj: Efecto físico producido por el j-ésimo nivel del Factor B (Presión de sublimación).
- αβij: Efecto de interacción mutua entre la temperatura de congelación y la presión de liofilización.
- εijk: Error experimental aleatorio, asumido con distribución normal e independiente con media cero y varianza constante σ^2.

Análisis Estadístico Aplicado (Criterios de Decisión)

Análisis de Varianza (ANOVA): Se aplicó un ANOVA de dos vías con un nivel de significancia del 5% (α= 0.05). La significancia estadística de los factores principales y de su interacción mutua se determinó mediante el estadístico F de Fisher, considerando un

efecto estadísticamente significativo si el valor de probabilidad calculado fue menor a 0.05 ($p < 0.05$).

En las variables respuesta donde el ANOVA demostró diferencias significativas entre los tratamientos, se aplicó la prueba de rangos múltiples de Tukey (HSD) o Duncan a un nivel de confianza del 95% ($\alpha = 0.05$). Esto permitió agrupar y clasificar estadísticamente los mejores tratamientos operativos para identificar las condiciones adecuadas de liofilización.

Para validar la consistencia estadística del modelo matemático, se evaluaron los supuestos del análisis de varianza a través de gráficos de residuos generados por el software Design-Expert 13, verificando la normalidad de los datos, la homogeneidad de varianzas (homocedasticidad) y la independencia de los errores experimentales.

3.5.2. Para el objetivo 2.

Determinar la composición química (proteínas, hierro y calcio) y la propiedad funcional (capacidad antioxidante) del cushuro liofilizado obtenido mediante el tratamiento seleccionado.

Variable independiente:

- Cushuro fresco: Muestra testigo en estado natural (control).
- Cushuro liofilizado seleccionado: Tratamiento experimental que exhibió el mejor desempeño físico y fisicoquímico en la etapa de ajuste previa.

Variables dependientes:

- Contenido de proteínas (g/100g)
- Contenido de hierro (Fe)
- Contenido de calcio (Ca)
- Capacidad antioxidante ($ABTS^{\circ+}$)

Para la obtención de la composición químicas y propiedad funcional se realizó de acuerdo al siguiente diagrama de flujo. (figura 10).

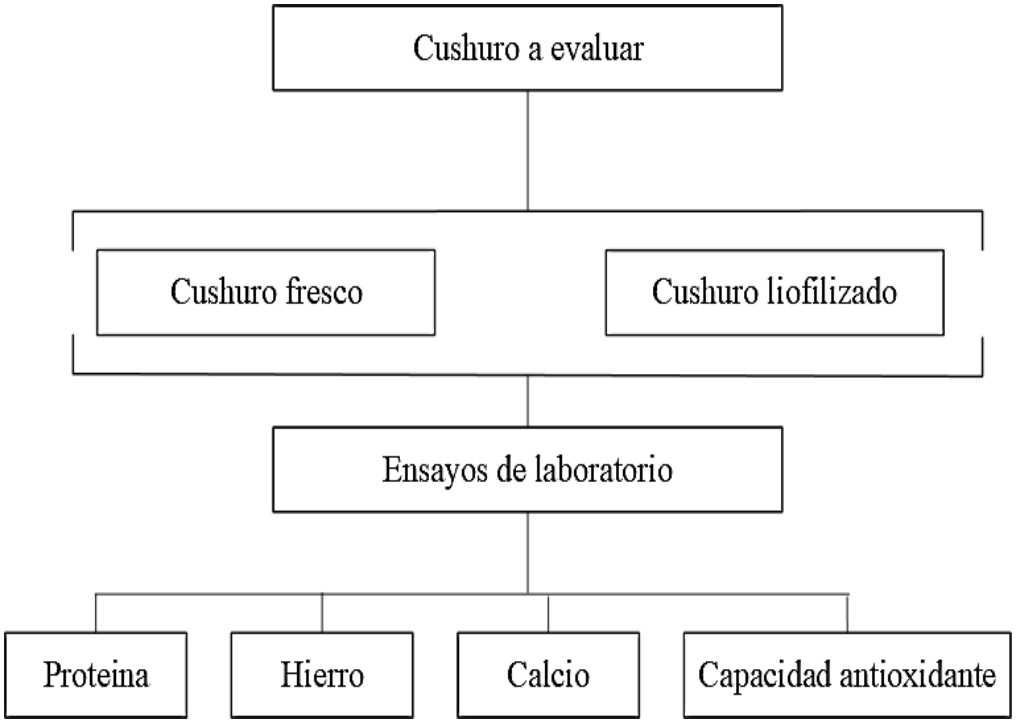


Figura 10: **Diagrama experimental utilizado para el objetivo 2**

Descripción del diagrama

Para el cumplimiento del segundo objetivo, se tomó como base el tratamiento adecuado de liofilización determinado mediante el modelado y ajuste en el Objetivo 1. Con la finalidad de evaluar el comportamiento de la matriz a un nivel operativo superior, se procedió con el escalamiento del proceso, enviando la biomasa de cushuro a una planta de liofilización industrial en la ciudad de Lima. En dicha instalación, el material fue sometido a una liofilización a gran escala y a un proceso posterior de molienda y homogeneización, obteniéndose el producto final en forma de polvo fino deshidratado.

Sobre esta biomasa liofilizada adecuada a escala industrial, y en comparación analítica directa con el cushuro en estado fresco (tratamiento testigo), se evaluaron en paralelo las propiedades nutricionales y funcionales correspondientes al contenido de proteínas totales, hierro elemental, calcio y capacidad antioxidante, utilizando los lotes de muestras procesados y controlados en el laboratorio.

Métodos de análisis

– **Determinación de proteínas**

Se analizó la muestra de cushuro fresco y liofilizado adecuado, mediante el método oficial de la *Official Methods of Analysis* de la AOAC (AOAC 2001.11 / 984.13), basado en la determinación del nitrógeno orgánico total. El ensayo analítico se ejecutó secuencialmente a través de las siguientes fases operativas:

Se pesó 1.0000 g ± 0.0001 g de muestra homogeneizada y se transfirieron a un tubo de digestión Kjeldahl. Se añadieron 15 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4, d = 1.84 g/mL, pureza analítica) junto con una tableta de catalizador comercial (compuesta por 3.5 g de K_2SO_4 y 0.4 g de $CuSO_4$ para acelerar la reacción y elevar el punto de ebullición). Los tubos se colocaron en un bloque digestor precalentado a 420 °C dentro de una campana extractora de gases, manteniéndose la ebullición destructiva durante aproximadamente 60 a 90 minutos hasta obtener una solución completamente límpida de color verde esmeralda, garantizando la conversión de todo el nitrógeno orgánico en sulfato de amonio [$(NH_4)_2SO_4$].

Una vez enfriados los tubos a temperatura ambiente, se adicionaron cuidadosamente 50 mL de agua destilada para diluir la muestra. El tubo se acopló a un sistema de destilación rápida por arrastre de vapor (Macro-Destilador Kjeldahl). Se dosificaron automáticamente 50 mL de una solución concentrada de hidróxido de sodio (NaOH al 40% p/v) para alcalinizar

fuertemente el medio y liberar el amoníaco en estado gaseoso (NH_3). El gas destilado fue arrastrado por el vapor y recibido en un matraz Erlenmeyer que contenía 25 mL de una solución de ácido bórico (H_3BO_3 al 4% p/v) enriquecida con un indicador mixto (rojo de metilo y verde de bromocresol), virando la solución de un color rojo violáceo a verde claro debido a la formación del complejo borato de amonio.

El destilado recolectado se tituló volumétricamente empleando una solución estandarizada de ácido clorhídrico (HCl 0.100 N o 0.100 M). La adición del ácido continuó bajo agitación constante hasta observar el viraje exacto del color verde claro de retorno al tono rosa violáceo original (punto de equivalencia, pH ≈ 4.65). Se registró minuciosamente el volumen gastado del titulante, descontando el volumen consumido por un ensayo en blanco (sin muestra) corrido en paralelo para corregir cualquier traza de nitrógeno ambiental en los reactivos.

El porcentaje de nitrógeno total (%N) presente en la matriz porosa se calculó empleando la siguiente ecuación estequiométrica de balance volumétrico:

$$\%N = \frac{(V_{\text{HCL}} - V_{\text{Blanco}}) * N_{\text{HCL}} * \ 0.01401}{m_{\text{muestra}}} * 100 \qquad \text{Ec. 10}$$

Donde:

V_{HCL}: Volumen de ácido clorhídrico gastado en la titulación de la muestra (mL)

V_{Blanco}: Volumen de ácido clorhídrico gastado en la titulación del ensayo en blanco (mL)

N_{HCL}: Normalidad exacta de la solución de ácido clorhídrico (0.100 N)

0.01401: Mili-equivalente quimico del nitrógeno (g/meq).

$m_{muestra}$: Masa inicial de la muestra de cushuro (g).

Finalmente, el contenido de proteínas (%P) se calculó multiplicando el porcentaje de nitrógeno total por el factor empírico de conversión proteica convencional para matrices de biomasa de algas y cianobacterias, establecido internacionalmente en 6.25 (AOAC, 2019):

$$\%\ Proteinas = \%\mathrm{N} * 6.25 \qquad \text{Ec. 11}$$

– **Determinación de hierro**

Se realizó mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica con Llama (FAAS), siguiendo los lineamientos analíticos del método oficial AOAC 999.11. El procedimiento experimental se desarrolló a través de las siguientes fases consecutivas:

Se pesó con precisión analítica una cantidad de 1.0000 g ± 0.0001 g de muestra homogeneizada en un matraz de digestión. Se adicionaron 10 mL de ácido nítrico concentrado (HNO_3 al 65% v/v, grado suprapuro). El sistema se sometió a calentamiento gradual en una plancha de digestión a 120 °C dentro de una campana extractora de gases hasta la eliminación total de los vapores nitrosos densos. Para asegurar la completa destrucción de la materia orgánica y obtener una solución límpida y traslúcida, se añadieron 2 mL de peróxido de hidrógeno (H_2O_2 al 30% v/v). Una vez concluida la digestión, la solución se enfrió a temperatura ambiente, se filtró con papel cuantitativo Whatman N.º 42 y se aforó en un matraz volumétrico con agua desionizada hasta un volumen final controlado ($V_{digestión}$ = 50 mL).

Las lecturas se realizaron en un Espectrofotómetro de Absorción Atómica calibrado bajo las condiciones operacionales específicas para el analito. Se utilizó una lámpara de cátodo hueco de Hierro (Fe) operada a la corriente, fijando una longitud de onda de 248.3 nm y un ancho de rendija (*slit*) de 0.2 nm (Welz & Sperling, 2008). La atomización de la muestra líquida se

logró mediante una llama de flujo oxidante de aire-acetileno. La concentración de hierro en la solución digerida se determinó mediante interpolación directa en una curva de calibración externa multianalito (R^2 ≥ 0.999), preparada previamente a partir de un patrón certificado estándar de hierro de 1000 mg/L.

Expresión Matemática de los Resultados

La determinación cuantitativa del contenido de hierro presente en las muestras de cushuro se calculó a partir de los datos analíticos instrumentales empleando una relación secuencial de balance de masa y factor de escala (Ecuación 4 y Ecuación 4.1):

Primero, se determinó la concentración de hierro por unidad de masa utilizando la ecuación provista por el laboratorio:

$$\frac{mg\ Fe}{g\ muestra} = \frac{C_{AAS} * V_{digestión}(L)}{m_{muestra}} \qquad \text{Ec. 12}$$

Posteriormente, con la finalidad de estandarizar la expresión de los resultados bajo los criterios convencionales de las tablas de composición de alimentos, se transformó el valor a base porcentual de cien gramos mediante la siguiente relación lineal:

$$\frac{mgFe}{100g} = \frac{\text{mgFe}}{\text{g muestra}} * 100 \qquad \text{Ec. 13}$$

Donde:

mg Fe/g muestra: Contenido de hierro determinado por gramo de muestra.

mg Fe/100 g: Concentración final de hierro expresado en miligramos por cada 100 g de muestra.

C_{AAS}: Concentración de hierro en la solución líquida leída por el espectrofotómetro de absorción atómica, expresada en miligramos por litro (mg Fe/L).

$V_{digestión}$: Volumen total de la solución final obtenido tras el proceso de digestión ácida y aforo, expresado en litros (L).

$m_{muestra}$: Masa inicial de la muestra de cushuro (g).

- **Determinación de calcio**

se realizó mediante volumetría (titulación complejométrica), adaptando los principios analíticos del método oficial AOAC 997.15. El ensayo analítico se ejecutó bajo las siguientes etapas operativas:

Se pesó una cantidad de muestra homogeneizada en un matraz de digestión. Con la finalidad de desestructurar la matriz sólida y transformar los minerales en una solución líquida apta para el análisis, se realizó una digestión húmeda empleando ácido clorhídrico (HCl) concentrado de pureza analítica. La mezcla se calentó gradualmente en una plancha de calentamiento bajo campana extractora hasta lograr la completa solubilización de los analitos y la obtención de un extracto traslúcido, el cual fue enfriado y aforado con agua desionizada hasta un volumen final controlado ($V_{digestión}$).

Luego se tomó una alícuota exacta de la solución digerida (mL de muestra) en un matraz Erlenmeyer y se acondicionó el pH del medio mediante una solución alcalina para evitar interferencias de otros cationes. Posteriormente, se adicionó una cantidad controlada del indicador metalocrómico (murexida). La solución se tituló de inmediato mediante el goteo regulado de una solución estandarizada de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) de Molaridad (M) conocida desde una bureta calibrada, manteniendo agitación constante hasta alcanzar el punto final de la reacción, determinado visualmente por el viraje exacto y estable de color del indicador. Se registró el volumen consumido de la solución titulante (A).

Expresión Matemática de los Resultados

La determinación del contenido de calcio de la muestra se realizó de forma secuencial a partir de los datos analíticos de la titulación complejométrica, aplicando estrictamente las ecuaciones de balance de masa y factores de escala provistos por el laboratorio:

- Primero, se determinó la concentración de calcio en la solución líquida analizada (mg Ca^{2+}/ L) mediante la relación estequiométrica de complejación con EDTA:

$$\frac{mgCa^{2+}}{L} = \frac{A * M * 40{,}000}{ml\ de\ muestra} \qquad \text{Ec. 14}$$

- Posteriormente, se calculó la concentración de calcio retenida por unidad de masa sólida de la muestra extraída:

$$\frac{mgCa}{g\ muestra} = \frac{\frac{mgCa}{L} * V_{digestión\ (L)}}{masa\ de\ muestra\ (g)} \qquad \text{Ec. 15}$$

Finalmente, para estandarizar la expresión de los datos bajo los formatos convencionales de las tablas de composición de alimentos, el valor se transformó a base porcentual de cien gramos mediante la siguiente ecuación de escala:

$$\frac{mgCa}{100\ g} = \frac{mgCa}{g\ muestra} * 100 \qquad \text{Ec. 16}$$

Donde:

mg Ca^{2+}/ L: Concentración de iones calcio disueltos en el extracto líquido analizado.

mg Ca/g muestra: Contenido de calcio determinado por cada gramo de muestra sólida.

mg Ca/100g: Concentración final de calcio expresada en miligramos por cada 100 gramos de muestra de cushuro.

A: Volumen de la solución de EDTA gastado en la titulación volumétrica hasta alcanzar el punto final de viraje (mL).

M: Molaridad exacta de la solución de EDTA empleada como agente complejante (mol/L).

40000: Factor de conversión matemático constante que integra el peso molecular del de calcio (40.078 g/mol), la conversión de gramos a miligramos y el de unidades de volumen.

mL de muestra: Volumen de la alícuota líquida del extracto de digestión tomado para la titulación en el matraz.

$V_{digestión\ (L)}$: Volumen total de la solución final obtenido tras el proceso de digestión ácida y aforo, expresado en litros (L).

masa de muestra (g): Masa inicial de cushuro pesado en la balanza analítica para el ensayo, expresada en gramos (g).

- **Determinación de capacidad antioxidante**

Se determinó mediante el método espectrofotométrico del ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), adaptando el protocolo analítico estándar e instrumental del laboratorio de ensayos químicos. El procedimiento experimental se desarrolló bajo las siguientes condiciones y etapas operativas:

El radical catiónico cromógeno $ABTS^{\bullet+}$ se generó disolviendo la solución madre de ABTS con persulfato de potasio, dejándose incubar en la oscuridad a temperatura ambiente durante

12 a 16 horas antes de su uso para asegurar la estabilización del radical. Previo al ensayo, la solución se diluyó con solución tampón o etanol hasta obtener una absorbancia inicial controlada en el espectrofotómetro. Los extractos antioxidantes de cushuro fresco y liofilizado se obtuvieron mediante una separación con solventes polares hidrofílicos, centrifugados y filtrados.

La medición espectrofotométrica en condiciones controladas de laboratorio y almacenamiento de muestras a 4°C, se tomaron alícuotas de los extractos y se mezclaron con la solución del radical $ABTS^{\bullet+}$. La reacción de decoloración por transferencia electrónica/átomos de hidrógeno se cuantificó utilizando un Espectrofotómetro de Barrido Molecular, registrando la disminución de la absorbancia a una longitud de onda de 734 nm. Las lecturas se realizaron empleando cubetas de vidrio con un paso óptico de 1 cm. Los ensayos analíticos de las muestras biológicas se condujeron estrictamente mediante seis repeticiones (n=6) para asegurar el control del error experimental.

La cuantificación de la capacidad antioxidante se realizó mediante el método de estandarización externa, interpolando los valores de absorbancia obtenidos en una curva patrón de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilicroman-2-carboxílico) como antioxidante de referencia. La ecuación de regresión lineal empleada, provista por las condiciones instrumentales calibradas del laboratorio, fue:

$$y = 0.0332x - 0.005 \ (R^2 = 0.9958) \qquad \text{Ec. 17}$$

Donde:

y: Respuesta analítica instrumental medida a través de la diferencia de absorbancias o el porcentaje de actividad antioxidante (% Inhb).

x: Concentración del equivalente Trolox interpolado en el sistema.

R^2 = 0.9958: Coeficiente de determinación que valida estadísticamente la linealidad del modelo de barrido.

Los resultados se expresaron bajo dos dimensiones cuantitativas estandarizadas de acuerdo con los formatos analíticos del reporte:

1. Miligramos equivalentes de Trolox por cada 100 gramos de muestra en materia seca (mg Trolox/100g):

$$\frac{mgTrolox}{100} = C_{Trolox(\frac{mg}{L})}\ x\ Factor\ de\ escala\ y\ dilución \qquad \text{Ec. 18}$$

2. Micromoles equivalentes de Trolox por cada 100 gramos de muestra en materia seca (µmol Trolox/100g):

$$\mu mol\frac{Trolox}{100\ g} = \frac{\frac{mg\ Trolox}{100\ g} * 1000}{PM_{Trolox}} \qquad \text{Ec. 19}$$

Complementariamente, se reportó el Porcentaje de Inhibición (% Inhb) de la actividad antioxidante intrínseca en el ensayo, calculado mediante la relación:

$$\%\ Inhb = (\frac{A_{control} - A_{muestra}}{A_{control}}) * 100 \qquad \text{Ec. 20}$$

Diseño estadístico

Los datos experimentales obtenidos para evaluar la composición nutricional (proteínas totales), el contenido de micronutrientes (hierro y calcio) y la capacidad funcional

(antioxidantes por el método ABTS) se rigió bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) de un solo factor con dos niveles de estudio independientes.

El modelo matemático lineal aplicable que gobierna el comportamiento de las observaciones responde a la siguiente relación estocástica, de acuerdo con Gutiérrez y de la Vara (2008):

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \qquad \text{Ec. 21}$$

Donde:

Yij: Es la j-ésima observación analítica correspondiente al tratamiento i, representando el valor medido de las variables de respuesta dependientes (porcentaje de proteínas, contenido de hierro en mg/100g, contenido de calcio en mg/100g y actividad antioxidante en mg Trolox/100g).

μ: Es la constante física del sistema común a todas las observaciones, denominada media global.

X T_i: Es el efecto fijo determinado por la naturaleza o estado de la matriz de estudio del tratamiento i (Nivel 1: Cushuro Fresco / Testigo; Nivel 2: Cushuro Liofilizado Adecuado).

ε_{ij}: Es el componente del error aleatorio experimental atribuible a la medición Y_{ij}, el cual se asume con distribución normal, independiente e idénticamente distribuido con media cero y varianza constante [$\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$].

El análisis inferencial y la modelación de los datos se ejecutaron mediante el software estadístico e instrumental Design-Expert. Los ensayos analíticos se procesaron por triplicado para los parámetros nutricionales y mediante seis repeticiones independientes para el perfil analítico de capacidad antioxidante, garantizando el control del error experimental.

Inicialmente, el software evaluó la estadística descriptiva (medias aritméticas y desviaciones estándar) y verificó el cumplimiento de los supuestos críticos del modelo. Posteriormente, se aplicó el Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía utilizando un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. Ante la determinación de diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$), se procedió con la ejecución de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (HSD) al 95% de nivel de confianza para establecer de forma concluyente los agrupamientos homogéneos y las variaciones específicas causadas por el proceso de conservación sobre la biomasa.

3.5.3. Para el objetivo 3

Determinar los isotermas de sorción del cushuro liofilizado del tratamiento adecuado.

Variables independientes

- Actividad de agua (Aw)

Variables dependientes

- Contenido de humedad de equilibrio (Xe)

En el aspecto técnico, el empleo de manera conjunta de los tres modelos permitirá contrastar qué uno de ellos es capaz de representar los datos experimentales de las isotermas de sorción del cushuro (Nostoc sphaericum) liofilizado, en lugar de previamente dar como supuesto que dicho alimento presentaba un único comportamiento matemático. Esta comparación resulta pertinente puesto que la estructura y la composición de los alimentos pueden llegar a condicionar su afinidad por el agua y a modificar la forma de la isoterma en función de la composición del alimento. Por ello, los datos experimentales obtenidos en función de los valores de actividad de agua serán ajustados a los modelos de Langmuir, BET y GAB y su ajuste será comparado bajo criterios estadísticos de adecuación (coeficiente de

determinación (R^2) y medidas de error del modelo) escogiéndose el modelo que mejor describe el comportamiento higroscópico experimental. De esta forma, el modelado permitirá tanto describir matemáticamente la sorción de agua como también obtener parámetros que permitan interpretar la estabilidad del cushuro liofilizado.

Para la obtención de los modelamientos matemáticos se realizó de acuerdo al siguiente diagrama de flujo. (figura 11).

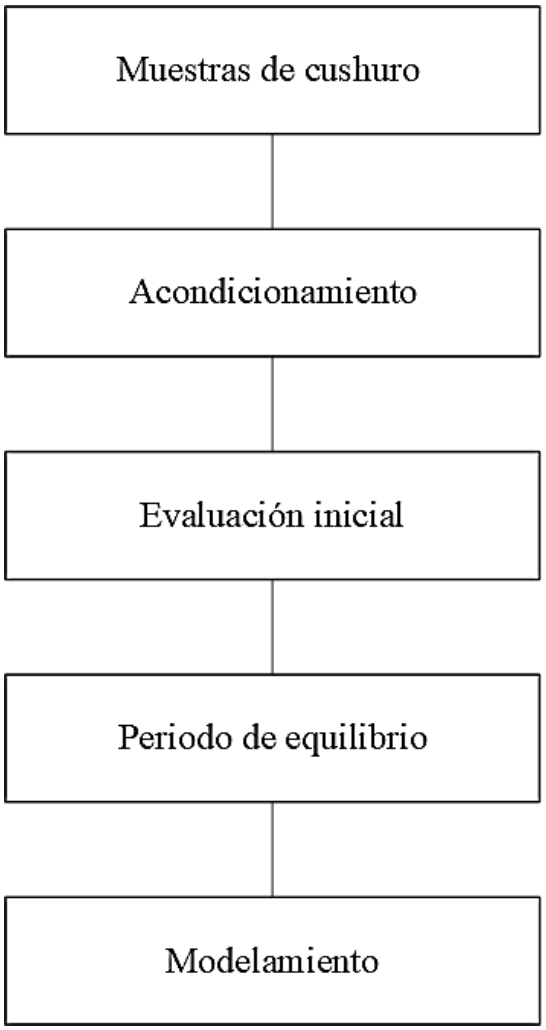


Figura 11: **Diagrama experimental utilizado para el objetivo 3**

Descripción del diagrama experimental

La determinación de las isotermas de sorción del cushuro liofilizado seleccionado se realizó a temperatura ambiente mediante el método gravimétrico estático clásico, empleando ambientes de humedad controlada durante un periodo de estabilidad de 30 días. El proceso se ejecutó bajo las siguientes etapas:

Acondicionamiento de la muestra: Se acondicionó 7 frascos herméticos independientes, colocando en la base de cada uno de ellos una solución salina saturada diferente (7 sales distintas). Esto permitió generar 7 microambientes estables con valores diferenciados y conocidos de actividad de agua (Aw).

Evaluación inicial (Día 1): En el primer día del ensayo, las muestras de cushuro liofilizado se pesaron con precisión analítica y se determinó su contenido de humedad inicial y su actividad de agua (Aw) de partida, registrando estos parámetros como la base de control del experimento. Posteriormente, las muestras se introdujeron en soportes aislados dentro de cada uno de los 7 frascos y se sellaron herméticamente.

Periodo de equilibrio (Día 30): Los frascos se mantuvieron en almacenamiento constante a temperatura ambiente durante un periodo de 30 días para permitir la transferencia libre de vapor de agua entre el aire del frasco y la matriz del alimento. Al cumplirse los 30 días, las muestras fueron retiradas para realizar las mediciones finales bajo las mismas condiciones analíticas, registrando el peso final, el contenido de humedad de equilibrio (Xe) adquirido y la actividad de agua (Aw) final lograda.

Modelamiento: Con los datos experimentales emparejados de actividad de agua (Aw) y humedad de equilibrio (Xe) obtenidos al término de los 30 días, se procedió al modelamiento matemático de la Isoterma de Sorción.

Métodos de análisis

Para la obtención de las curvas (W vs Aw), se desarrollaron los modelos: GAB (Guggenheim-Anderson-de Boer), BET (Brunauer-Emmett-Teller) y el modelo Oswin (Charles R. Oswin en 1946). A continuación, se describe cada uno:

Modelo GAB

Es el modelo matemático más utilizado en ingeniería de alimentos debido a su validez analítica en un rango amplio de actividad de agua. Responde a la siguiente ecuación general:

$$We = \frac{w_0 * C * K * a_w}{(1 - K * a_w) * (1 + (C - 1) * K * a_w)} \quad \text{Ec. 22}$$

Donde:

C, K y M: son parámetros ajustables.

W: contenido de humedad equilibrado (% en base seca).

a: humedad relativa o actividad (%).

Cada uno de los parámetros del modelo y su dependencia con la temperatura se obtiene mediante las siguientes expresiones matemáticas y termodinámicas:

$$X_{w,a} = \left(\frac{1}{\beta^2 - 4 * \alpha * \gamma}\right)^{\frac{1}{2}} \quad \text{Ec. 23}$$

$$K = -\frac{2 * \alpha * X_{w,a}}{\beta * X_{w,a} + 1} \quad \text{Ec. 24}$$

$$C = \frac{1}{X_{w,a} * \gamma * K} \quad \text{Ec. 25}$$

$$\frac{aw}{xw} = \alpha * a_w{}^2 + \beta * aw + \gamma \qquad \text{Ec. 26}$$

$$\alpha = \frac{k}{X_{w,a}} * (\frac{1}{C} - 1) \qquad \text{Ec. 27}$$

$$\beta = \frac{1}{X_{w,a}} * (1 - \frac{2}{C}) \qquad \text{Ec. 28}$$

$$\gamma = \frac{1}{X_{w,a} * C * k} \qquad \text{Ec. 29}$$

$$\frac{a_w}{w_e} = \frac{1}{w_0 * C * K} + \frac{C - 2}{w_0 * C} * a_w + \frac{K * (1 - C)}{w_0 * C} * a^2{}_w \qquad \text{Ec. 30}$$

Modelo BET

Es aplicable principalmente a sistemas de sorción de humedad en rangos de baja actividad de agua (generalmente Aw < 0.45). Permite estimar el valor de la monocapa molecular mediante la siguiente ecuación:

$$We = \frac{w_0 * C * a_w}{(1 - a_w) * (1 + (C - 1) * a_w)} \qquad \text{Ec. .31}$$

Donde:

C: es una constante ajustable.

W: es el contenido de humedad equilibrado (% en base seca).

Wm: es el contenido de humedad monomolecular máximo (% en base seca).

Aw: es la humedad relativa (%).

Modelo Oswin

Constituye un modelo empírico basado en una transformación matemática de tipo sigmoidal, ampliamente útil para ajustar curvas de sorción de productos deshidratados:

$$X^w = A\left[\frac{a_w}{1-a_w}\right]^B \quad \text{Ec. 32}$$

Donde:

A y B: Son las constantes matemáticas de ajuste específicas del modelo de Oswin para la matriz evaluada.

W: Es el contenido de humedad equilibrado (% en base seca).

Aw: Es la actividad de agua o humedad relativa del microambiente.

Diseño estadístico

Se realizó mediante regresión no lineal para ajustar los modelos matemáticos de isotermas de sorción (W vs Aw). La calidad del ajuste fue evaluada mediante el coeficiente de determinación (R^2), el error medio relativo porcentual (%E) y la raíz del error cuadrático medio (RMSE), permitiendo seleccionar el modelo con mejor capacidad predictiva sobre el cushuro liofilizado. Además, se realizó un análisis comparativo entre modelos utilizando estos criterios de bondad de ajuste y validación estadística a través de las siguientes expresiones matemáticas:

Coeficiente de determinación R^2

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^{n}(W_{exp,i} - W_{calc,i})^2}{\sum_{i=1}^{n}(W_{exp,i} - W_{exp})^2} \quad \text{Ec. 33}$$

Error medio relativo porcentual (%E)

$$\%E = \frac{100}{n}\sum_{i=1}^{n}\left|\frac{W_{exp,i} - W_{calc,i}}{W_{exp,i}}\right| \quad \text{Ec. 34}$$

Raíz del error cuadrático medio (RMSE)

La desviación típica de los residuos (distancia vertical entre los datos experimentales y la curva del modelo). Mientras más cercano a cero sea su valor, menor es el error de predicción del modelo:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(W_{exp,i} - W_{cal,i})^2}{n}} \quad \text{Ec. 35}$$

Donde:

$W_{exp,i}$:Contenido de humedad de equilibrio obtenido de forma experimental en el frasco i al día 30.

$W_{calc,\,i}$: Contenido de humedad de equilibrio calculado teóricamente por la ecuación del modelo analizado.

ẇ: Valor promedio aritmético de la humedad de equilibrio experimental.

n: Número total de observaciones experimentales (n = 7, correspondiente a los microambientes generados por las 7 sales).

3.5.4. Para el objetivo 4

Determinar las condiciones de almacenamiento adecuadas (temperatura y tipo de envase) que maximicen la vida útil y permitan preservar la calidad (humedad, Aw, proteínas y color) del cushuro liofilizado del tratamiento adecuado.

Variables independientes:

- Tipo de envases
- Temperatura (°C)

Variables dependientes:

- Humedad (%)
- Actividad de agua (Aw)
- Proteinas
- Color

Para el modelamiento de la vida útil se realizó de acuerdo al siguiente diagrama de flujo. (figura 12).

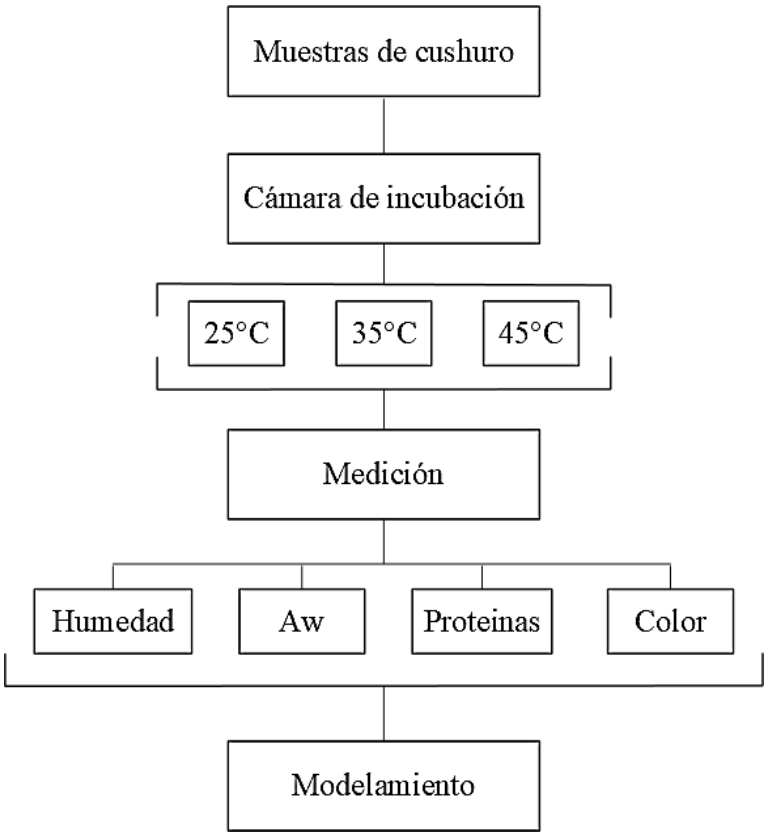


Figura 12: **Diagrama experimental utilizado para el objetivo 4**

Descripción del diagrama

El desarrollo experimental de la vida útil del cushuro liofilizado se ejecutó mediante el método de Pruebas de Almacenamiento Acelerado (ASLT).

Preparación de muestras: Se pesaron lotes de cushuro liofilizado (obtenidos a partir del tratamiento adecuado en las fases previas). Las muestras se acondicionaron y sellaron en envases con las características de control estipuladas para asegurar el confinamiento hermético.

Cámaras de incubación (Factores térmicos): Con el propósito de acelerar de forma controlada los mecanismos cinéticos de deterioro, las muestras envasadas (PET y Vidrio) fueron divididas y distribuidas de manera paralela en tres cámaras de incubación bajo condiciones termo-reguladas independientes. Los reactores térmicos se fijaron a temperaturas constantes de 25 °C, 35 °C y 45 °C.

Medición: A lo largo del periodo de almacenamiento, se realizó la medición de las variables indicadoras de la pérdida de calidad, contenido de humedad, actividad de agua (Aw), retención de proteínas totales y estabilidad instrumental del color.

Modelamiento: Los datos experimentales recopilados de las propiedades físicas, químicas y nutricionales en función del tiempo y las tres temperaturas fueron exportados al software de cálculo. Se procedió con la etapa de modelamiento, la cual consistió en determinar inicialmente el orden de reacción (orden cero o primer orden) y las constantes cinéticas de deterioro (k). Posteriormente, se aplicó la ecuación de regresión linealizada de Arrhenius para correlacionar la dependencia de dichas constantes con la temperatura inversa (1/T), permitiendo estimar de forma matemática y predictiva la vida útil final del cushuro a condiciones normales de comercialización o temperatura ambiente.

Métodos de Análisis

Se realizó la estimación predictiva de la vida útil de cushuro liofilizado, en empaques de PET y VIDRIO a través del método de puntos finales (Enpoint method) en pruebas de almacenamiento aceleradas, ASL, fundamentado en la ingeniería de alimentos predictivos moderna, (Peleg, Normand y Corradini, 20212, 2017) los datos experimentales obtenidos, se procesaron matemáticamente en tres fases consecutivas (Labuza, 1984; García y Molina, 2008):

Calculo de las Constantes de Velocidad de Deterioro (k)

Los cambios cuantitativos de las variables dependientes para cada temperatura (25 °C, 35 °C y 45 °C) se ajustaron a ecuaciones cinéticas para determinar la velocidad de degradación:

Modelo de orden cero (Aplicado a variaciones de peso, humedad, Aw y color)

$$C = C_0 \pm k * t \qquad \text{Ec. 36}$$

Modelo de primer orden (Aplicado a la degradación de proteínas totales):

$$\ln(C) = \ln(C_0) \pm k * t \qquad \text{Ec. 37}$$

Donde C es el valor al Día 30, C_0 es el valor inicial al Día 1, t es el tiempo transcurrido (30 días) y k es la constante de velocidad buscada para cada temperatura (k_{25}, k_{35}, k_{45}).

Evaluación de la Sensibilidad Térmica (Ecuación de Arrhenius)

Las tres constantes cinéticas (k) calculadas en el paso anterior se correlacionaron con el inverso de su temperatura absoluta de almacenamiento para determinar la energía de activación (Ea):

$$\ln(k) = \ln(A) - (\frac{E_a}{R}) * \frac{1}{T} \qquad \text{Ec. 37}$$

Donde:

k: Constante cinética de velocidad de cambio.

A: Factor preexponencial de frecuencia.

Ea: Energía de activación del parámetro analizado (J/mol)

R: Constante universal de los gases ideales (8.314 J/mol*K).

T: Temperatura absoluta de almacenamiento dentro de la cámara, calculada en la escala Kelvin (K = °C + 273.15).

Estimación de la Vida Útil Real

A partir de la recta de Arrhenius, se despejó la constante cinética proyectada a temperatura ambiental (kambiente). Fijando un límite crítico tolerable de pérdida de referencia ($C_{crítico}$), se calculó el tiempo máximo de conservación mediante las siguientes expresiones:

Para el Orden Cero:

$$t_{vu} = \frac{C_{crítico} - C_0}{k_{ambiente}} \quad \text{Ec. 38}$$

Para Primer Orden:

$$t_{vu} = \frac{ln(C_{crítico}) - ln(C_0)}{\pm k_{ambiente}} \quad \text{Ec. 39}$$

Diseño estadístico

Se trabajó con el procesamiento inferencial y predictivo de los datos para la estimación de la vida útil se fundamentó en el Análisis de Regresión Lineal Simple por el método de mínimos cuadrados (Walpole et al., 2012).

La validación estadística consistió en evaluar el grado de ajuste del modelo de Arrhenius mediante el coeficiente de determinación (R^2) sobre la relación lineal entre ln(k) y el inverso de la temperatura (1/T). A partir de la pendiente estandarizada de esta regresión, se estimó con rigor estadístico la Energía de Activación (Ea) y se extrapoló la constante de degradación ambiental (Kambiente) para la proyección del tiempo de vida útil (tvu) en cada empaque evaluado.

3.6. FORMULACION DE HIPOTESIS

3.6.1. Hipótesis general

La temperatura de congelación y la presión de sublimación tienen un efecto significativo en las características físicas y mecánicas del cushuro liofilizado, permitiendo seleccionar un tratamiento con condiciones favorables de calidad para su caracterización química y funcional, determinación de isotermas de sorción y estimación de su vida útil durante el almacenamiento.

3.6.2. Hipótesis específicas

H_1. La combinación de temperatura de congelación y presión de sublimación permite obtener diferencias significativas entre los tratamientos respecto de las propiedades físicas y mecánicas del cushuro liofilizado, posibilitando seleccionar el tratamiento que presente las condiciones más favorables de calidad.

H_2. El cushuro liofilizado obtenido mediante el tratamiento seleccionado presenta contenidos cuantificables de proteínas, hierro y calcio, así como capacidad antioxidante, que permiten caracterizar su composición química y propiedad antioxidante.

H_3. La humedad de equilibrio del cushuro liofilizado varía en función de la actividad de agua, permitiendo caracterizar su comportamiento higroscópico mediante las isotermas de sorción.

H_4. La temperatura de almacenamiento y el tipo de envase afectan significativamente la estabilidad del cushuro liofilizado, expresada mediante cambios en la humedad, actividad de agua, contenido de proteínas y color y, consecuentemente, en su vida útil.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. EFECTO DE LOS PARÁMETROS DE TEMPERATURA DE CONGELACIÓN Y LA PRESIÓN DE SUBLIMACIÓN SOBRE LAS PROPIEDADES FISICASMECÁNICAS (HUMEDAD, ACTIVIDAD DE AGUA, COLOR, TEXTURA, VOLUMEN Y REHIDRATACIÓN) DEL CUSHURO PARA ESTABLECER EL TRATAMIENTO ADECUADO.

A continuación, se presentan las medias de humedad (%), actividad de agua, color, textura, volumen y rehidratación obtenidas para los tratamientos evaluados en el proceso de liofilización, según se detalla en la Tabla 4.

Tabla 4: ***Resultados de la humedad (%), actividad de agua, color, textura, volumen y rehidratación del cushuro liofilizado para los tratamientos***

Tratamiento	T (°C)	Presión (Pa)	Humedad (%)	Rehidratación IR	Volumen (mm3)	Actividad de agua aw	Color (ΔE)	Textura			
								Dureza	Cohesividad	Elasticidad	Masticabilidad
T 1	-20	16	9.27% ± 0.010	49.36 ±7.597	1.300 ±0.608	0.345 ±0.0064	15.68 ±5.519	299.64 ±62.582	0.32 ±0.100	0.71 ±0.185	82.64 ±10.538
T 2	-20	20	7.54% ±0.015	48.89 ±1.098	0.867 ±0.473	0.339 ±0.0142	31.90 ±2.979	377.74 ±24.063	0.21 ±0.0360	0.51 ±0.092	48.90 ±8.304
T 3	-20	24	7.27% ±0.010	51.61 ±0.720	1.900 ±0.608	0.315 ±0.0050	27.44 ± 1.954	395.21 ±57.211	0.26 ±0.0458	0.53 ±0.047	52.73 ±1.782
T 4	-30	16	8.01% ±0.018	47.09 ±3.061	1.400 ±0.200	0.309 ±0.009	18.66 ±0.615	65.03 ±3.539	0.28 ±0.0416	0.82 ±0.081	22.03 ±2.320
T 5	-30	20	8.01% ±0.003	45.79 ±3.065	1.490 ±0.377	0.304 ±0.0221	19.41 ±3.179	154.61 ±16.279	0.27 ±0.030	0.77 ±0.104	38.06 ±3.937
T 6	-30	24	8.31% ±0.031	54.19 ±7.323	1.467 ±0.503	0.478 ±0.1810	14.76 ±3.987	159.06 ±14.966	0.43 ±0.226	0.81 ±0.089	75.48 ±14.293
T 7	-35	16	10.81% ±0.011	30.59 ±14.20	0.733 ±0.577	0.705 ±0.0684	13.77 ±2.009	308.80 ±33.469	0.27 ±0.053	0.82 ±0.076	59.29 ±1.859
T 9	-35	24	16.17% ±0.043	19.07 ±7.567	0.500 ±0.100	0.799 ±0.0436	12.55 ±1.474	182.64 ±25.152	1.19 ±0.576	0.85 ±0.089	51.13 ±2.483
T 10	-50	16	9.41% ±0.006	35.11 ±15.82	1.000 ±0.721	0.582 ±0.0665	16.29 ±2.044	133.96 ±11.438	0.34 ±0.091	0.77 ±0.056	24.82 ±4.008
T 11	-50	20	11.93% ±0.446	6.71 ±2.730	0.183 ±0.126	0.556 ±0.0784	19.29 ±5.076	41.72 ±3.665	0.53 ±0.104	0.71 ±0.132	24.28 ±2.879
T 12	-50	24	15.12% ±0.434	19.51 ±13.97	1.200 ±0.721	0.629 ±0.1413	16.32 ±3.120	154.86 ±43.727	0.27 ±0.0611	0.68 ±0.100	11.88 ±0.492

Nota. Los valores se expresan como media ± desviación estándar (n = 3). T = temperatura de congelación; IR = índice de rehidratación; aw = actividad de agua; ΔE = diferencia total de color en el espacio CIELAB. La dureza, cohesividad, elasticidad y masticabilidad corresponden a los parámetros del análisis de perfil de textura (TPA).

Como se puede apreciar en la Tabla 4, se reportan únicamente los resultados de 11 tratamientos, debido a que la evidencia experimental del tratamiento T8 fue excluida del análisis estadístico. Esta decisión se tomó tras un proceso de depuración de datos donde se identificaron resultados atípicos e inconsistentes que no cumplían con los supuestos del diseño experimental. La revisión técnica del ensayo permitió detectar potenciales errores en la fase de ejecución y/o medición que ponían en duda la confiabilidad de dicha muestra, por lo que se procedió con su eliminación con el objetivo de preservar la validez interna del análisis.

4.1.1. Efectos de los parámetros de congelado y sublimación sobre la humedad del cushuro liofilizado.

A partir de los datos válidos registrados, se pudo observar que el contenido de humedad del cushuro liofilizado fue altamente variable según las condiciones experimentales de presión y temperatura de vacío aplicadas, pasando de valores bajos como 7.27% hasta valores elevados como 16.17%, lo cual se vio reflejado en un coeficiente de variabilidad del 25.17%. Estos resultados de humedad residual fueron similares a los reportados por Huachuhullca (2020), quien obtuvo un 6.80% de humedad en pulpa de aguaymanto liofilizada. Asimismo, guardan consistencia con lo expuesto por Taipe (2022), quien reportó una reducción significativa de humedad en tuna liofilizada, evidenciando la eficacia de la liofilización para disminuir el contenido de agua y mejorar la estabilidad del producto. En la Figura 13, se puede observar la distribución de la humedad entre los tratamientos, donde el T9 presentó el mayor valor con un 16.17%, seguido por el T7 con un 10.81%. Por el contrario, los tratamientos T1, T2, T3, T4, T5 y T10 presentaron contenidos de humedad estables y similares entre sí, registrándose el valor más bajo en el tratamiento T3 (7.27%).

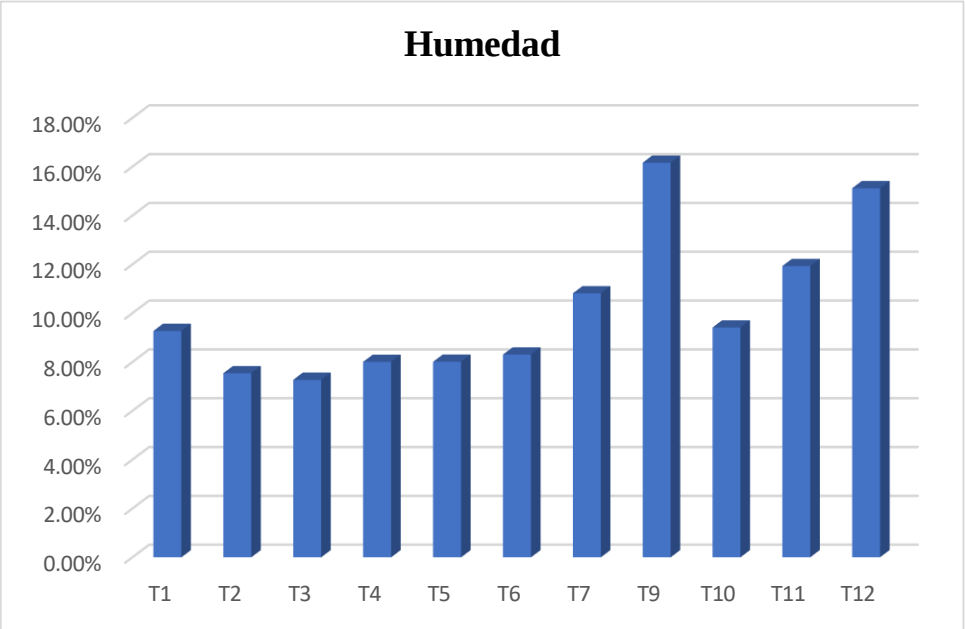


Figura 13: **Humedad del cushuro liofilizado entre tratamientos**

Este comportamiento responde a un fenómeno difusional regulado por la cinética térmica de congelación, donde los tiempos de acondicionamiento prolongados en el equipo ralentizan la transferencia de masa e incrementan la humedad residual, mientras que las rampas dinámicas mejoran la sublimación. De acuerdo con los principios termodinámicos de Franks (2007) y Meryman (2014), el tránsito térmico excesivamente lento registrado en la bitácora del liofilizador LyoQuest para alcanzar los niveles basales de -35°C y -50°C (de 3.0 a 5.0 horas) provocó una severa recristalización en frío. Los macrocristales aciculares formados desgarraron mecánicamente los canales capilares del mucílago, induciendo un colapso local que sepultó microbolsas de hielo no congelado dentro de una matriz periférica altamente concentrada de exopolisacáridos (EPS). Aunque el proceso se condujo en frío y sin fusión líquida, al aplicar el vacío, esta barrera vitrificada e impermeable impidió la libre difusión tridimensional del vapor hídrico hacia el exterior, atrapando el agua y elevando críticamente la humedad en T9 (16.17%) y T12 (15.12%).

Por el contrario, los descensos moderados a -20°C y -30°C requirieron periodos cortos y dinámicos en el equipo (de 1.2 a 2.0 horas). Conforme a los modelos de deshidratación de Ibarz y Barbosa-Cánovas (2014), esta velocidad intermedia de enfriamiento evitó el colapso tridimensional de la red coloidal y la segregación molecular difusional de los EPS, manteniendo un entramado capilar abierto, continuo e interconectado. Esto minimizó la tortuosidad estructural y maximizó la tasa de remoción del vapor durante el secado primario. Este mecanismo resalta de forma altamente favorable en el tratamiento adecuado T5 (-30°C y 20 Pa), el cual estabilizó una humedad del 8.01% con la menor dispersión experimental (DE = 0.003), demostrando ser el punto de equilibrio operativo perfecto donde el tiempo de tránsito térmico del equipo preserva la permeabilidad de la matriz algal sin alterar su estructura celular.

Los resultados se asemejan parcialmente con investigaciones afines al cushuro liofilizado y a recursos andinos semejantes. En el trabajo de Quispe et al. (2019) se reportó que el cushuro deshidratado tuvo contenidos de humedad bajos debido a su alta capacidad de pérdida de agua en procesos de secado controlado, lo que favorece la estabilidad microbiológica. Del mismo modo, Rivera y Huamán (2021) indicaron que el empleo de tecnologías de conservación en Nostoc sphaericum redujeron notablemente la humedad residual, mejorando el potencial de almacenamiento, y Beltrán et al. (2020) también reportaron que las cianobacterias en procesos de deshidratación controlada mantuvieron propiedades funcionales por debajo del 10% de humedad.

En cuanto a trabajos científicos de otras cianobacterias, Becker (2013) verificó que una humedad residual baja garantizaba estabilidad química, es decir, la combinación de los procesos de secado y liofilización llegó a regular la cinética de las reacciones químicas. Por su parte, Pulz y Gross (2018) indicaron que las microalgas liofilizadas se conservaban mejor

desde el punto de vista nutricional cuando la humedad residual fue inferior al 8%. En concordancia con esta idea, Vega-Gálvez et al. (2021), mientras trabajaban con alimentos funcionales liofilizados, determinaron que las temperaturas moderadas de congelación favorecen a una mayor evaporación del agua en comparación con temperaturas extremadamente bajas. Igualmente, Karam et al. (2019) determinaron que los parámetros de congelación y sublimación eran determinantes en la humedad residual, evitando que la estabilidad estructural de los productos liofilizados se viera comprometida.

Describiendo estudios de frutas de matriz similar como el aguaymanto y la uva, Shishir y Chen (2017) indicaron que un contenido de humedad inferior al 10% en peso en los productos liofilizados explicaba que esta cantidad fomentaba la estabilidad fisicoquímica y microbiológica. De la misma manera, Tonon et al. (2019) informaron que las frutas deshidratadas a humedades entre 5% y 9% mostraron un mejor rendimiento durante el almacenamiento. Por su parte, Ratti (2019) sostuvo que la liofilización mejoraba y garantizaba un bajo índice de humedad residual, lo que prolongaba la vida útil de los productos liofilizados. Para terminar, cabe recordar que Nowak y Jakubczyk (2020) describieron que humedades superiores en los productos después de un proceso de liofilización comprometen parte de la estabilidad de los productos, propiciando la aparición de deterioros físicos y químicos.

Para analizar el efecto de los parámetros de congelado y sublimación (temperatura y presión) en el contenido de humedad, se realizó un análisis de diseño factorial. Se seleccionó el modelo de mayor ajuste estadístico mediante el programa Design Expert; para el caso de la humedad, el modelo de análisis de varianza (ANOVA) arrojó un buen nivel de ajuste, cuyos resultados se presentan detalladamente en la Tabla 10 (Anexo 6)

A partir de los resultados del análisis de varianza factorial presentados en el anexo 6 , se puede apreciar que únicamente el factor de la temperatura de liofilización (A) ejerce un efecto estadísticamente significativo sobre la humedad (%) como variable de respuesta, dado que el valor p (0.0007) es menor al nivel de significancia estándar ($\alpha = 0.05$). En la Figura 14 se expone de manera gráfica el comportamiento interactivo de los factores estudiados.

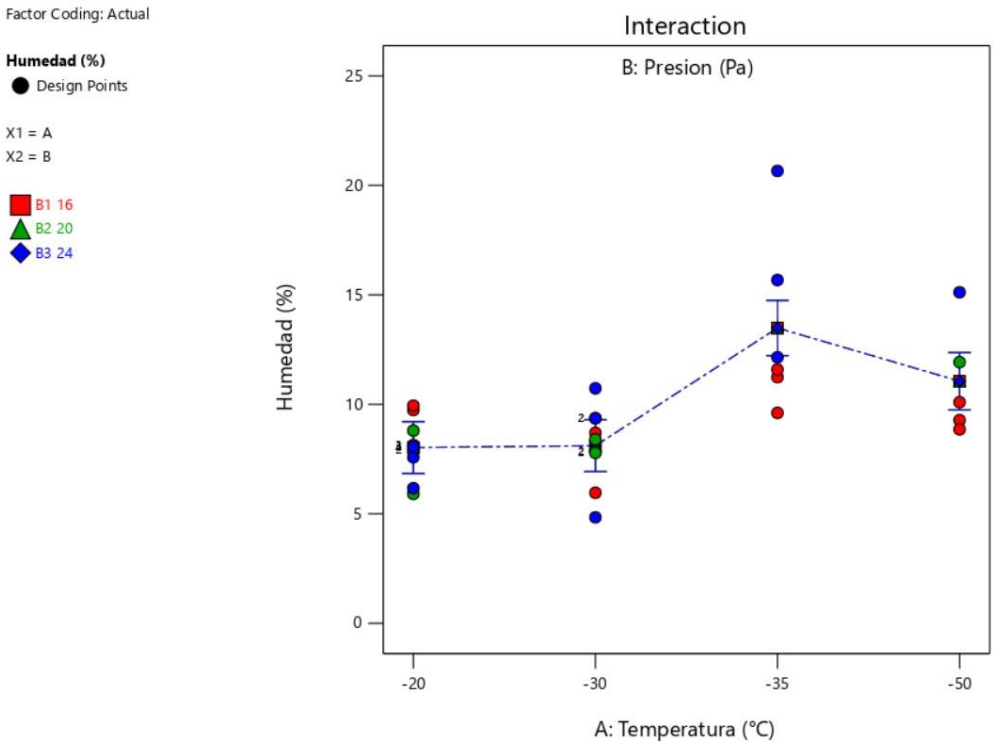


Figura 14: **Gráfico de interacción de los efectos de la temperatura de liofilización y la presión de vacío en la humedad del cushuro liofilizado**

La selectividad de este impacto estadístico se fundamenta en los mecanismos cinéticos de transferencia de masa: la presión de sublimación (16–24 Pa) no es significativa debido a que el paralelismo geométrico de las líneas demuestra la ausencia de interacción (A x B), indicando que el escape del agua queda regulado exclusivamente por la porosidad fijada en la congelación. Como postula Ratti (2019), el vacío aplicado dentro de la cámara de secado primario altera la velocidad de remoción del vapor superficial, pero carece de la fuerza para

modificar los coeficientes de difusión efectiva interna si la matriz coloidal se vitrificó o colapsó previamente en frío. Al mantenerse las pendientes paralelas, se ratifica que las fluctuaciones microbarométricas operaron de manera independiente a la resistencia interna capilar que gobierna la humedad residual del hidrocoloide.

A partir de la Figura 14, la observación visual confirma esta independencia estadística. Mientras que las variaciones térmicas del Factor A desplazan verticalmente los perfiles de humedad residual, las líneas de las presiones barométricas (Factor B) se extienden paralelas a lo largo de todo el eje operativo, sin evidenciar cruces, convergencias ni cambios de pendiente significativos. En el marco del análisis industrial de bioprocesos, este comportamiento geométrico valida la idoneidad del modelo factorial y constituye la prueba analítica inequívoca de la ausencia de interacción, cumpliendo rigurosamente los supuestos de selectividad matemática postulados por Montgomery (2020). Una humedad controlada permite extender la durabilidad y preservar la calidad sensorial de la cianobacteria de acuerdo con lo ratificado estadísticamente por Perillo y Rodríguez (2021).

4.1.2. Efectos de los parámetros de congelado y sublimación sobre la rehidratación del cushuro liofilizado.

Como se puede apreciar en la Tabla 4, al igual que en la variable de humedad, se reportan únicamente los resultados de 11 tratamientos analizados, debido a la exclusión de la evidencia experimental del tratamiento T8. Esta supresión se fundamentó en la detección de valores atípicos e inconsistencias técnicas durante las mediciones de control del ensayo, cuya presencia comprometía los supuestos del modelo experimental y la validez interna del análisis.

A partir de los datos numéricos registrados, se observa que el índice de rehidratación presenta una marcada variabilidad general, acentuándose de forma notoria la dispersión de los datos en los últimos 5 tratamientos conducidos a temperaturas más bajas (-35°C y -50°C), lo cual se evidencia en los elevados valores de desviación estándar observados. Asimismo, el análisis comparativo de las medias refleja que el índice de rehidratación mantiene un comportamiento alto, homogéneo y sumamente estable en los tratamientos T1, T2, T3, T4, T5 y T6, con valores que oscilan en un rango estrecho desde 45.79 hasta un máximo de 54.19. Por el contrario, en los tratamientos sujetos a temperaturas más extremas, se observa una drástica y severa disminución del IR, alcanzando su punto numérico más bajo en el tratamiento T11 (6.71 a -50 °C y 20 Pa).

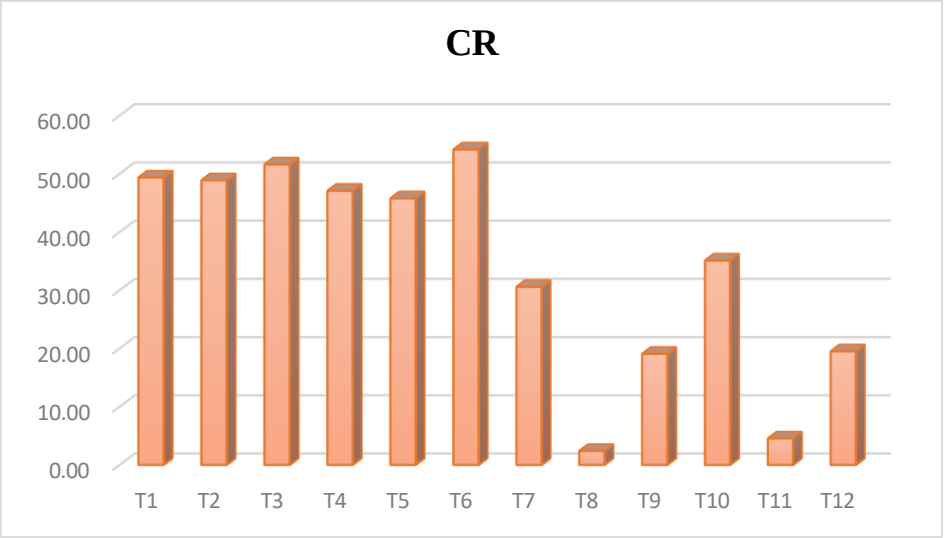


Figura 15: **Índice de rehidratación del cushuro liofilizado entre tratamientos**

Este comportamiento obedece a alteraciones reológicas moleculares y colapsos capilares regulados por el modelamiento matemático de la transferencia de calor: los tiempos de tránsito térmico lentos deforman la elasticidad celular inhibiendo la capilaridad hidrofílica, mientras que regímenes dinámicos moderados conservan los canales permeables de la

matriz. De acuerdo con las leyes de difusión capilar y biofísica celular de Meryman (2014), las fases prolongadas de 3.0 a 5.0 horas registradas en la bitácora del liofilizador LyoQuest para alcanzar -35°C y -50°C desencadenaron una severa recristalización en frío. Los macrocristales de hielo perforaron mecánicamente las membranas y rasgaron la red de exopolisacáridos (EPS). Al sublimarse este hielo macroestructural, y a pesar de que el proceso operó estrictamente en frío sin fusión líquida, la red macromolecular coloidal ya colapsada sufrió una contracción irreversible de sus canales por falta de soporte elástico. Este colapso modificó la viscoelasticidad del biopolímero, reduciendo el radio geométrico de los poros y sellando la superficie, lo que impidió matemáticamente la penetración difusiva del agua por fuerzas de tensión capilar, justificando el IR crítico de T11 (6.71).

Por el contrario, los descensos dinámicos a -20°C y -30°C requirieron tiempos cortos en el equipo (1.2 a 2.0 horas). Según el modelamiento de flujo en medios porosos de Ibarz y Barbosa-Cánovas (2014), esta cinética impidió la agregación reológica de los EPS y conservó una matriz coloidal abierta con canales capilares continuos y de baja tortuosidad. Al rehidratarse, el agua difunde de forma instantánea gracias a la integridad celular intacta y a la elevada afinidad termodinámica de los grupos hidrofílicos bioactivos. Este mecanismo resalta de forma altamente favorable en el tratamiento adecuado T5 (-30°C y 20 Pa), el cual estabilizó un IR de 45.79 manteniendo una excelente consistencia microestructural, demostrando ser el punto de equilibrio operativo perfecto donde el tiempo de congelación del equipo no compromete la resiliencia mecánica ni la hidrofilia biológica del gel de la cianobacteria.

En cuanto a los resultados de la capacidad de rehidratación, estos se correspondieron parcialmente con estudios vinculados a recursos andinos y productos de cushuro liofilizados.

Quispe *et al*. (2019) indicaron que el cushuro deshidratado muestra una capacidad variable de absorción de agua en función de los polisacáridos y de las proteínas altamente hidrofílicas que lo componen, lo cual se vincula estrechamente con la afinidad hídrica observada en este estudio. Asimismo, Rivera y Huamán (2021) comprobaron que el *Nostoc sphaericum* sometido a procesos de conservación preservaba propiedades funcionales relativas a la capacidad de hidratación y a la estabilidad estructural. Por su parte, Beltrán *et al*. (2020) hallaron que las cianobacterias procesadas mediante secado controlado mostraron características funcionales favorables asociadas a condiciones de liofilización que evitaban el colapso estructural.

Asimismo, Becker (2013) señaló que la capacidad de rehidratación constituye un indicador principal sobre la calidad en los liofilizados, puesto que se relaciona con la estabilización de la estructura celular en la liofilización de microalgas y cianobacterias. Por otra parte, Pulz y Gross (2018) indicaron que los procesos de secado moderado permitían conservar matrices de microalgas más porosas y un incremento en la capacidad de rehidratación de la biomasa microalgal. En concordancia con ello, Vega-Gálvez *et al*. (2021) indicaron que las condiciones de congelación influían de forma directa sobre la microestructura y sobre la absorción de agua de los liofilizados, mientras que Karam *et al*. (2019) comprobaron que temperaturas de congelación demasiado bajas producían daños estructurales que provocaban reducciones en la capacidad de rehidratación del producto final. Este último mecanismo físico justifica el comportamiento de las muestras evaluadas en la presente investigación, donde el tratamiento T11, conducido a una temperatura extrema de -50°C, sufrió una contracción estructural severa que mermó drásticamente su índice de rehidratación hasta alcanzar su punto mínimo de 6.71.

En matrices alimentarias de comportamiento similar, tales como frutas liofilizadas, Shishir y Chen (2017) indicaron que el aguaymanto y la uva liofilizadas tuvieron mejores tasas de rehidratación al ser sometidos a temperaturas moderadas durante el proceso de congelación y a las respectivas presiones de sublimación. Dicha tendencia coincide con los valores adecuados alcanzados en este ensayo, donde los tratamientos expuestos a temperaturas moderadas de -20°C y -30°C (del T1 al T6) reportaron los índices de rehidratación más elevados y homogéneos, situándose entre 45.79 y 54.19. También, Tonon *et al*. (2019) reportaron que los productos deshidratados con estructuras más porosas fueron los que exhibieron una mejor capacidad de rehidratación y una mayor recuperación de la textura. Respaldando esta perspectiva, Ratti (2019) explicó que la liofilización produce altos índices de rehidratación gracias a la formación de matrices porosas. Para terminar, el trabajo de Nowak y Jakubczyk (2020) indicó que la capacidad de rehidratación es uno de los parámetros más importantes de la calidad de los alimentos liofilizados, porque señala el nivel de preservación estructural que se obtiene después del proceso de secado.

Para analizar el efecto de los parámetros de congelado y sublimación en el índice de rehidratación, se realizó un análisis de diseño factorial. Se seleccionó el modelo de mayor ajuste estadístico mediante el programa de diseño de expert; para el caso del índice de rehidratación, el modelo de análisis de varianza (ANOVA) arrojó un buen nivel de ajuste, cuyos resultados se presentan en la Tabla 11 (Anexo 6).

A partir de los resultados del análisis de varianza factorial presentados en el anexo 6 , se puede apreciar que únicamente el factor de la temperatura de liofilización (A) ejerce un efecto estadísticamente significativo sobre el IR como variable de respuesta, dado que el valor p (< 0.0001) es inferior al nivel de significancia estándar ($\alpha = 0.05$). En la Figura 16,

se expone gráficamente el comportamiento de los factores evaluados sobre el IR del producto.

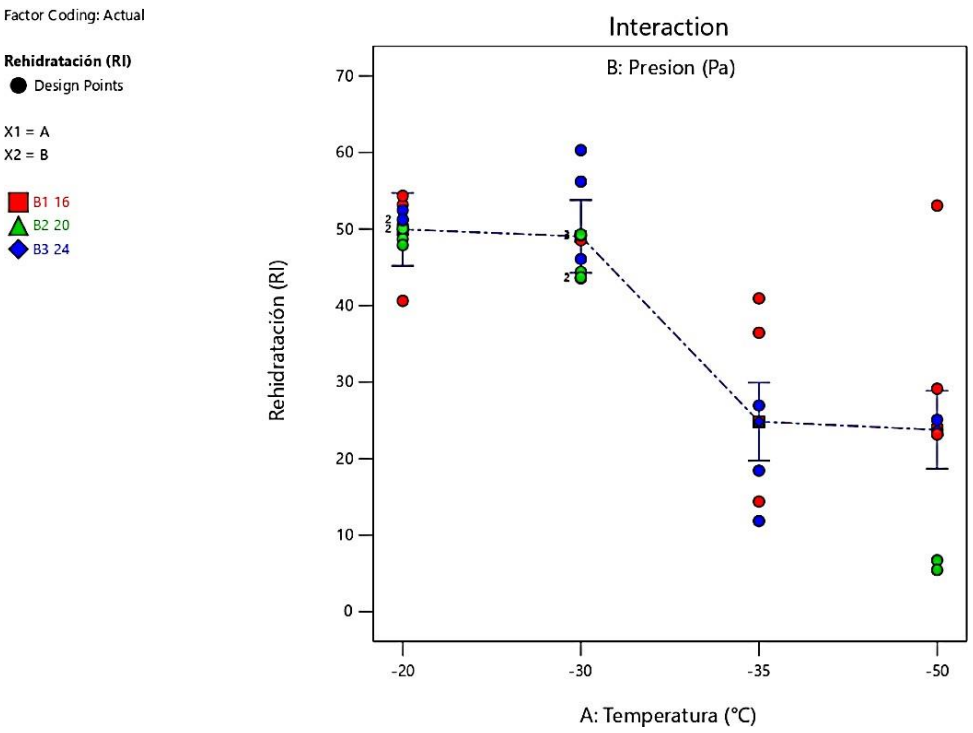


Figura 16: **Gráfico de interacción de los efectos de la temperatura de liofilización y la presión de vacío en el (IR) del cushuro liofilizado**

La selectividad de esta respuesta matemática responde a principios físicos de transferencia de masa: la presión de sublimación (16–24 Pa) carece de significancia debido a que el paralelismo geométrico de las líneas comprueba la ausencia de interacción (A x B), demostrando que la permeabilidad capilar se determina exclusivamente en la congelación previa. Como detalla el modelamiento tridimensional de Ratti (2019), los gradientes microbarométricos aplicados durante el secado primario aceleran el flujo Knudsen del vapor superficial, pero son mecánicamente incapaces de restaurar, modificar o expandir el diámetro geométrico de los poros si la matriz gelatinosa ya sufrió una contracción estructural en la etapa térmica basal. Al no existir cruces en las pendientes experimentales, se valida

que las fluctuaciones de vacío operaron con total independencia de la resistencia difusiva intrínseca de la red coloidal.

A partir de la Figura 16, el análisis geométrico ratifica esta independencia estadística. Mientras las variaciones térmicas del Factor A generan un desplazamiento vertical pronunciado sobre el IR, las líneas de las presiones (Factor B) se extienden paralelas a lo largo de todo el eje operativo, sin manifestar cruces ni convergencias. En el diseño de experimentos de bioprocesos, este comportamiento geométrico cumple rigurosamente con los supuestos de selectividad matemática analizados por Montgomery (2020). El índice de rehidratación es un parámetro clave para evaluar la calidad del cushuro (*Nostoc sphaericum*) ya que permite determinar la capacidad del producto seco para recuperar su estructura y características originales tras la adición de agua, permitiendo una absorción rápida y homogénea para la recuperación de la textura gelatinosa, el color y las propiedades funcionales de la cianobacteria, guardando consistencia con los criterios de estabilidad estructural reportados por Caballero *et al*. (2017).

4.1.3. Efectos de los parámetros de congelado y sublimación sobre el volumen del cushuro liofilizado

Como se puede apreciar en la Tabla 4, en consistencia con las variables previas, se reportan únicamente los resultados de 11 tratamientos debido a la exclusión del tratamiento T8 por registrar inconsistencias técnicas que comprometían la validez interna del diseño experimental.

Los datos demuestran que el volumen final es marcadamente variable, oscilando desde un mínimo real de 0.183 mm^3 en el tratamiento T11 hasta un máximo de 1.900 mm^3 en el T3. Las muestras sometidas a temperaturas moderadas de congelación (-20 °C y -30 °C)

mantuvieron volúmenes más altos y estables, mientras que a temperaturas más bajas (-35 °C y -50 °C) el volumen del producto liofilizado tiende a contraerse de manera drástica en la mayoría de los casos, lo que refleja una pérdida de la estructura geométrica original. Las variaciones de las medias se comparan visualmente en la Figura 17.

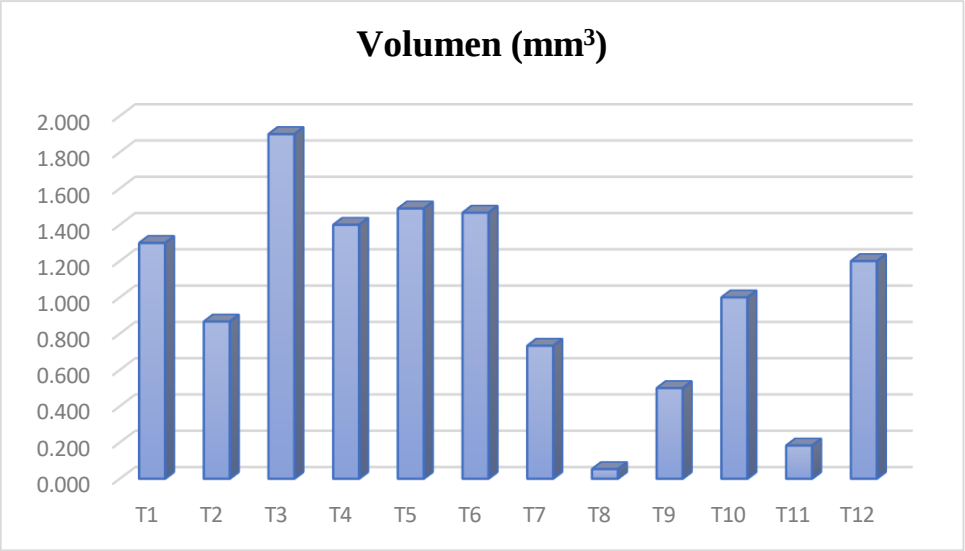


Figura 17: **Volumen del cushuro liofilizado entre tratamientos**

Los resultados ilustrados en la Figura 17 permiten apreciar que el tratamiento T3 alcanzó el mayor volumen de cushuro liofilizado (1.900 mm³), mientras que los tratamientos T4, T5,

T6 y T12 mantuvieron volúmenes estables y cercanos entre sí. En contraposición, el tratamiento T8 exhibió un valor residual drásticamente bajo, cercano a cero. Como se justificó metodológicamente al inicio de este subcapítulo, este comportamiento anómalo e inconsistente se debió a un colapso estructural severo durante la fase de sublimación, razón por la cual el T8 fue clasificado como un valor atípico (outlier) y se excluído del análisis estadístico inferencial posterior para no sesgar el modelo. Excluyendo dicho tratamiento inválido, el volumen mínimo real dentro de la serie experimental válida se registró en el tratamiento T11 con 0.183 mm³.

Este comportamiento responde a alteraciones reológicas de la matriz coloidal y fenómenos de colapso capilar gobernados por el modelamiento matemático de la transferencia de calor: los tiempos de acondicionamiento térmico prolongados deforman la elasticidad estructural provocando contracciones severas, mientras que regímenes dinámicos moderados conservan la geometría tridimensional del gel. De acuerdo con los principios de biofísica celular y cinéticas de congelación de Meryman (2014), el tránsito térmico excesivamente lento registrado en la bitácora del liofilizador LyoQuest para alcanzar niveles basales de -35°C y -50°C (de 3.0 a 5.0 horas) provocó una severa recristalización en frío. Los núcleos de hielo primarios coalescieron descontroladamente dando lugar a macrocristales aciculares que perforaron mecánicamente las membranas celulares y desgarraron la red polimérica de exopolisacáridos (EPS). Al aplicar el vacío para el secado primario, y a pesar de conducir todo el sistema en frío y sin fusión líquida, la red macromolecular previamente debilitada careció de la viscoelasticidad y resistencia mecánica necesarias para tolerar las fuerzas de tensión capilar, sufriendo un colapso estructural irreversible que justifica estadísticamente la drástica pérdida de volumen en T11 (0.183 mm^3).

Por el contrario, los descensos moderados a -20°C y -30 °C demandaron periodos cortos y dinámicos en el equipo (de 1.2 a 2.0 horas). Según el modelamiento de flujo en medios porosos de Ibarz y Barbosa-Cánovas (2014), esta velocidad limitó la crioconcentración del mucílago y la migración difusional del agua, consolidando una distribución porosa fina y homogénea que actuó como un soporte rígido e interconectado frente a la remoción del vapor. Este mecanismo resalta de forma altamente favorable en el tratamiento adecuado T5 (-30°C y 20 Pa), el cual estabilizó un volumen de 1.490 mm^3 con una baja dispersión,

demostrando ser el punto de equilibrio operativo perfecto donde el tiempo de tránsito térmico del equipo preserva la rigidez macroestructural y la resiliencia física de la cianobacteria.

Al contrastar estos comportamientos con la literatura científica orientada al estudio de hidrocoloides andinos, los hallazgos convergen con lo reportado por Quispe *et al*. (2019), quienes indicaron que el cushuro posee una alta capacidad de expansión y retención estructural como consecuencia de la presencia de polisacáridos de origen natural y compuestos hidrofílicos en su matriz. Esta particularidad macromolecular fundamenta la preservación del volumen tridimensional observada en la mayoría de las muestras de este ensayo. En este sentido, Rivera y Huamán (2021) confirmaron que cuando el *Nostoc sphaericum* es sometido a tecnologías de conservación controladas, logra preservar sus propiedades físicas asociadas a la estabilidad estructural. Ello se alinea con lo sustentado por Beltrán *et al*. (2020), quienes comprobaron que las cianobacterias liofilizadas bajo regímenes estables mantienen en mejor estado su arquitectura tridimensional, siempre y cuando la fase de congelación previa no comprometa la integridad de las paredes celulares.

Desde una perspectiva microestructural, Becker (2013) definió que el volumen final de las matrices liofilizadas se encuentra directamente sujeto a la geometría de los cristales de hielo formados en la etapa inicial y a la subsiguiente preservación celular durante la sublimación. Bajo esta misma premisa, Pulz y Gross (2018) explicaron que los procesos de liofilización moderados favorecen la formación de matrices altamente porosas que evitan el encogimiento del producto. Por el contrario, Karam *et al*. (2019) manifestaron que la exposición a temperaturas extremadamente bajas induce contracciones debido a alteraciones mecánicas en la microestructura del alimento, mecanismo físico que justifica el comportamiento de las muestras evaluadas en la presente investigación para los tratamientos a bajas temperaturas.

Esta estrecha dependencia entre la cinética de congelación y el volumen final ha sido corroborada en matrices alimentarias de comportamiento similar. Al respecto, Shishir y Chen (2017) hallaron en frutas liofilizadas que los tratamientos de congelación moderados exhibían mayores volúmenes y un menor índice de encogimiento que aquellos procesados bajo gradientes térmicos extremos u operativos prolongados. Asimismo, Tonon *et al*. (2019) documentaron que las condiciones adecuadas de liofilización estimulan una mayor retención del volumen debido a la configuración de redes porosas estables. Como síntesis de estos mecanismos, Ratti (2019) dedujo que la conservación del volumen constituye uno de los indicadores principales de la calidad física en alimentos liofilizados, al fungir como un reflejo directo de la estabilidad estructural interna. En consecuencia, y tal como concluyeron Nowak y Jakubczyk (2020), las reducciones drásticas del espacio volumétrico y las deformaciones físicas residuales como las evidenciadas de forma crítica en los tratamientos T8 y T11 de este estudio deben interpretarse como manifestaciones directas del colapso estructural provocado por el desequilibrio cinético durante las etapas iniciales del procesamiento.

Para analizar rigurosamente el efecto combinado de los parámetros de congelado y sublimación sobre el volumen del producto, se realizó un análisis de diseño factorial. El modelo de análisis de varianza (ANOVA) seleccionado mediante el programa de diseño de experimentos exhibió un nivel de ajuste adecuado, cuyos componentes estadísticos se detallan a continuación en la Tabla 12(Anexo 6)

Los resultados del análisis de varianza factorial presentados en el anexo 6 permiten apreciar que únicamente el factor de la temperatura de liofilización (A) ejerce un efecto estadísticamente significativo sobre el volumen de la muestra, dado que su valor p (0.0061)

es notablemente inferior al nivel de significancia establecido (α = 0.05). Por el contrario, la falta de ajuste del modelo no resultó significativa (p = 0.2493), lo que ratifica la idoneidad, robustez y predictibilidad del modelo estadístico seleccionado. En la Figura 18, se expone de manera gráfica la influencia combinada de los factores de proceso sobre la respuesta volumétrica a través del gráfico de interacciones.

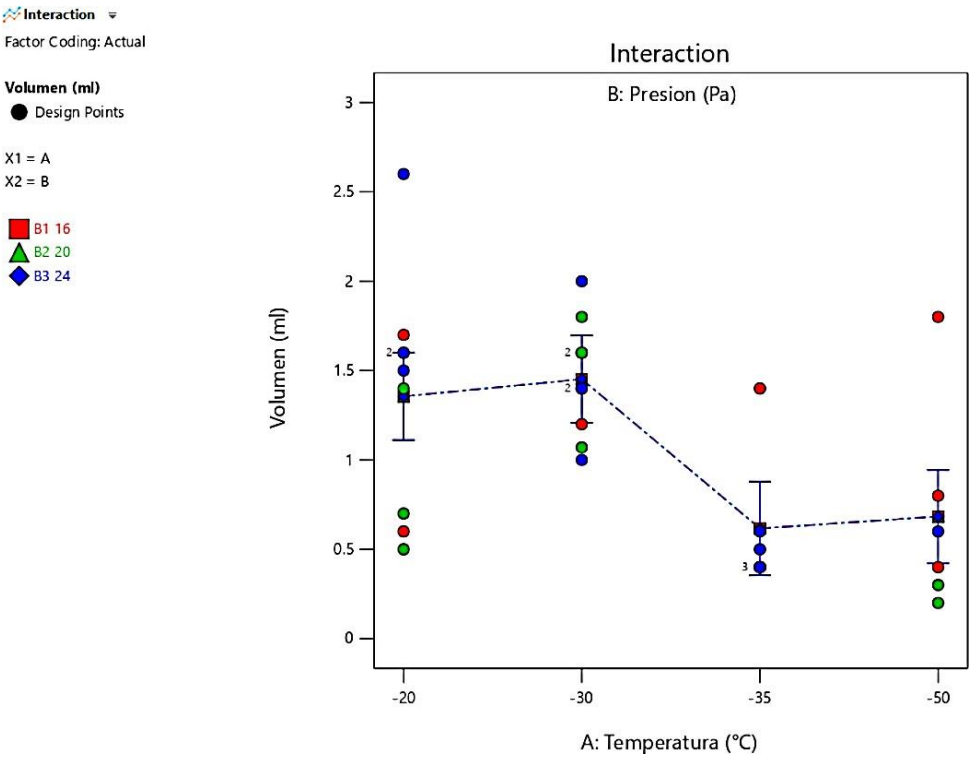


Figura 18: **Superficie de respuesta analítica para el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre el volumen del cushuro liofilizado**

La selectividad de esta respuesta matemática responde a principios físicos de transferencia de masa: la presión de sublimación (16–24Pa) carece de significancia debido a que el paralelismo geométrico de las líneas comprueba la ausencia de interacción (A x B), indicando que la retención volumétrica de la matriz queda fijada exclusivamente en la congelación previa. Como detalla el modelamiento tridimensional de Ratti (2019), los gradientes microbarométricos aplicados en la cámara de secado primario aceleran la

remoción del vapor superficial por flujo Knudsen, pero son mecánicamente incapaces de restaurar, modificar o expandir la rigidez estructural si la red gelatinosa ya sufrió una contracción capilar en la etapa térmica basal. Al no registrarse cruces en las pendientes experimentales, se valida que las variaciones de vacío operaron con total independencia de la resistencia difusiva celular intrínseca.

La gráfica de interacciones ilustrada en la Figura 18 confirma visualmente esta independencia estadística. Mientras las variaciones térmicas del Factor A provocan un desplazamiento vertical descendente pronunciado sobre las respuestas de volumen, las líneas de las presiones (Factor B) se posicionan y extienden de forma marcadamente paralela a lo largo de todo el eje operativo, sin manifestar cruces ni convergencias en sus pendientes. En el ámbito del diseño experimental de bioprocesos, este paralelismo geométrico constituye la evidencia analítica inequívoca de la insignificancia del factor presión y la ausencia de interacción, cumpliendo rigurosamente los supuestos de selectividad matemática y robustez analizados por Montgomery (2020).

4.1.4. Efectos de los parámetros de congelado y sublimación sobre la actividad de agua del cushuro liofilizado

En la Tabla 4 se muestran los resultados obtenidos para la actividad de agua (Aw) del cushuro liofilizado bajo las diferentes condiciones de temperatura de congelación y presión de sublimación de los tratamientos evaluados.

Al evaluar el perfil gráfico de la Figura 19, se evidencia que la actividad de agua residual fue menor y mantuvo un comportamiento homogéneo y estable en los tratamientos T1, T2, T3, T4 y T5, mientras que en las series T7, T9, T10, T11 y T12 las cifras obtenidas fueron significativamente mayores. Específicamente, el tratamiento que consolidó la menor

actividad de agua en el cushuro fue el T5 (−30 °C y 20 Pa) con un valor numérico de 0.304. Este resultado es analíticamente inferior al reportado en la literatura general para otras matrices liofilizadas, lo que denota una ventana de estabilidad microbiológica potencialmente superior para la biomasa de cushuro bajo estas condiciones adecuadas.

El tratamiento T8 se mantiene representado de forma explícita en la gráfica con un valor nulo; esto tiene como finalidad evidenciar visualmente el comportamiento anómalo y el colapso estructural crítico sufridos en dicha muestra, razón por la cual, como se justificó metodológicamente, se excluyó del análisis estadístico inferencial posterior para no sesgar las tendencias reales de la serie. Las variaciones en las respuestas medias entre todos los tratamientos se aprecian en la Figura 19.

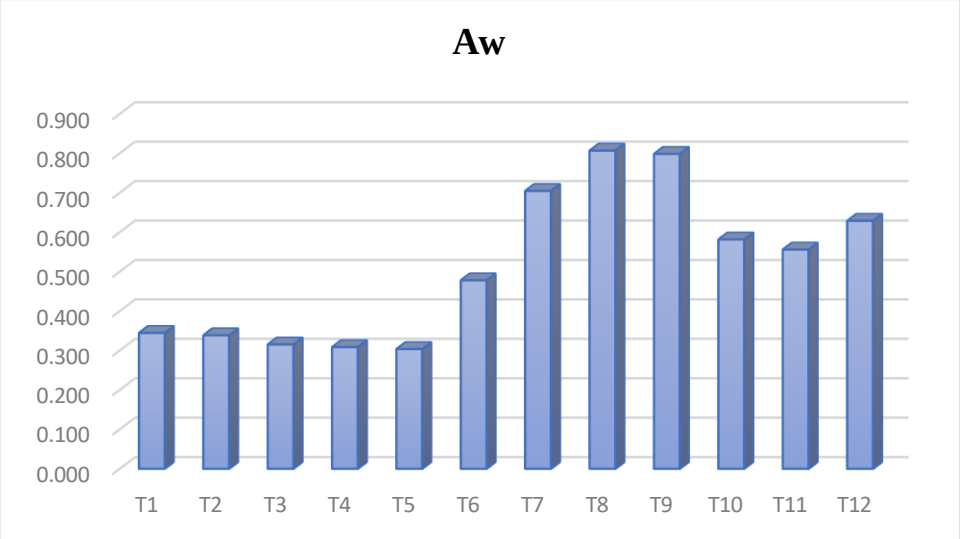


Figura 19: **Actividad del agua del cushuro liofilizado entre tratamientos**

Este comportamiento responde a alteraciones reológicas de la matriz coloidal y fenómenos de colapso capilar gobernados por el modelamiento matemático de la transferencia de masa residual: los tiempos de acondicionamiento térmico prolongados vitrifican microbolsas de agua libre incrementando la disponibilidad hídrica superficial, mientras que regímenes

dinámicos moderados preservan los canales permeables de desorción. De acuerdo con los principios de biofísica celular y cinéticas de congelación de Meryman (2014), el tránsito térmico excesivamente lento registrado en la bitácora del liofilizador LyoQuest para alcanzar niveles basales de -35°C y -50°C (de 3.0 a 5.0 horas) provocó una severa recristalización en frío. Los núcleos de hielo primarios coalescieron descontroladamente dando lugar a macrocristales aciculares que perforaron mecánicamente las membranas celulares y desgarraron la red polimérica de exopolisacáridos (EPS).

Al aplicar el vacío para el secado primario, y a pesar de conducir todo el sistema en frío y sin fusión líquida, la red macromolecular previamente debilitada sufrió un colapso capilar irreversible. El estrangulamiento y cierre físico de estos poros obstruyó las vías de escape del gas, atrapando microbolsas de agua libre dentro de la biomasa compactada que quedaron metabólicamente disponibles en la superficie del hidrocoloide, lo cual explica por qué la Aw residual se elevó a valores inaceptables en los tratamientos T7 (0.705) y T9 (0.799). Por el contrario, los descensos moderados a -20°C y -30°C demandaron periodos cortos y dinámicos en el equipo (de 1.2 a 2.0 horas). Según el modelamiento de flujo en medios porosos de Ibarz y Barbosa-Cánovas (2014), esta velocidad limitó la crioconcentración del mucílago, consolidando una distribución porosa fina y homogénea que disminuyó la tortuosidad estructural y facilitó la desorción masiva del vapor. Este mecanismo resalta de forma altamente favorable en el tratamiento adecuado T5 (-30°C y 20 Pa), el cual deprimió la Aw a un nivel mínimo de 0.304, demostrando ser el punto de equilibrio operativo perfecto donde el tiempo de tránsito térmico del equipo no altera la viscoelasticidad del gel ni bloquea la remoción del agua libre intracelular.

Los hallazgos de la presente investigación se alinearon parcialmente con investigaciones vinculadas al estudio del cushuro y recursos alimentarios de origen andino deshidratados. Al respecto, Quispe *et al*. (2019) indicaron que el cushuro tratado con procesos de secado controlado mostró cifras menores de actividad de agua, lo que permitió la estabilidad y adecuada conservación de este alimento. Del mismo modo, Rivera y Huamán (2021) informaron que el *Nostoc sphaericum* mantuvo mejor sus propiedades funcionales cuando la actividad de agua se restringió por debajo de 0.40. Igualmente, Beltrán *et al*. (2020) hallaron que el tratamiento de las cianobacterias mediante deshidratación controlada generó una adecuada estabilidad microbiológica de los productos cuando los valores de Aw eran inferiores a 0.50.

En investigaciones ligadas a microalgas y su proceso de secado, Becker (2013) indicó que un bajo contenido de actividad de agua permite conservar compuestos bioactivos y disminuir el deterioro microbiológico durante el almacenamiento. Asimismo, Pulz y Gross (2018) señalaron que la estabilidad de la biomasa microalgal liofilizada depende principalmente del control de la humedad residual y de la actividad de agua. En concordancia, Vega-Gálvez *et al*. (2021) reportaron que los alimentos funcionales liofilizados que presentaron Aw inferiores a 0.40 fueron aquellos que mantuvieron una mayor estabilidad fisicoquímica y menor susceptibilidad al deterioro. Por otro lado, Karam *et al*. (2019) indicaron que el valor de actividad de agua se reduce drásticamente cuando las condiciones de sublimación favorecen una mayor remoción de agua libre del producto, un mecanismo cinético que en esta investigación se vio bloqueado en los tratamientos de congelación prolongada debido a las alteraciones sufridas en la microestructura del alga.

En lo que respecta a estudios realizados en frutas deshidratadas de matrices afines, Shishir y Chen (2017) registraron valores de actividad de agua que variaban desde 0.20 hasta 0.45, niveles que se asociaron a una adecuada protección microbiológica y a una buena vida útil. También, Tonon *et al*. (2019) observaron que las frutas deshidratadas liofilizadas con Aw menores a 0.50 conservaron mejor sus propiedades funcionales y sensoriales en el tiempo, en relación a las liofilizadas que tuvieron Aw superiores a 0.50. Como síntesis analítica, Ratti (2019) expresó que la actividad de agua de un alimento liofilizado está considerada uno de los parámetros más importantes en relación a su calidad, debido a la relación directa que este parámetro tiene con la estabilidad microbiológica y química de los productos. Finalmente, Nowak y Jakubczyk (2020) apuntaron a que altas actividades de agua pueden favorecer reacciones de oxidación, crecimiento microbiano y, por supuesto, a la merma de calidad de los productos en liofilizados almacenados por periodos prolongados, tal como se prevé que sucedería con las muestras de cushuro procesadas bajo las cinéticas térmicas lentas de los gradientes más intensos evaluadas en este ensayo.

Para analizar rigurosamente el efecto combinado de los parámetros de congelado y sublimación sobre la actividad de agua, se realizó un análisis de diseño factorial. Se seleccionó el modelo de mayor ajuste estadístico según los criterios arrojados por el programa de diseño de experimentos; el modelo de análisis de varianza (ANOVA) demostró una excelente representatividad matemática, cuyos componentes estadísticos detallados se presentan a continuación en la Tabla 13 (Anexo 6).

A partir del análisis de varianza factorial presentado en el anexo 6, se deduce que únicamente el factor de la temperatura de liofilización (A) ejerce un efecto estadísticamente significativo sobre la actividad de agua del cushuro liofilizado, dado que su valor p (< 0.0001) es

notablemente inferior al nivel de significancia establecido (α = 0.05) y presenta un elevado valor F (40.04). Por el contrario, la falta de ajuste del modelo no resultó significativa (p = 0.0942), lo que ratifica la alta idoneidad, robustez matemática y capacidad predictiva del modelo estadístico seleccionado. En la Figura 20, se expone de manera gráfica la influencia combinada de los factores de proceso sobre la respuesta a través del gráfico de interacciones.

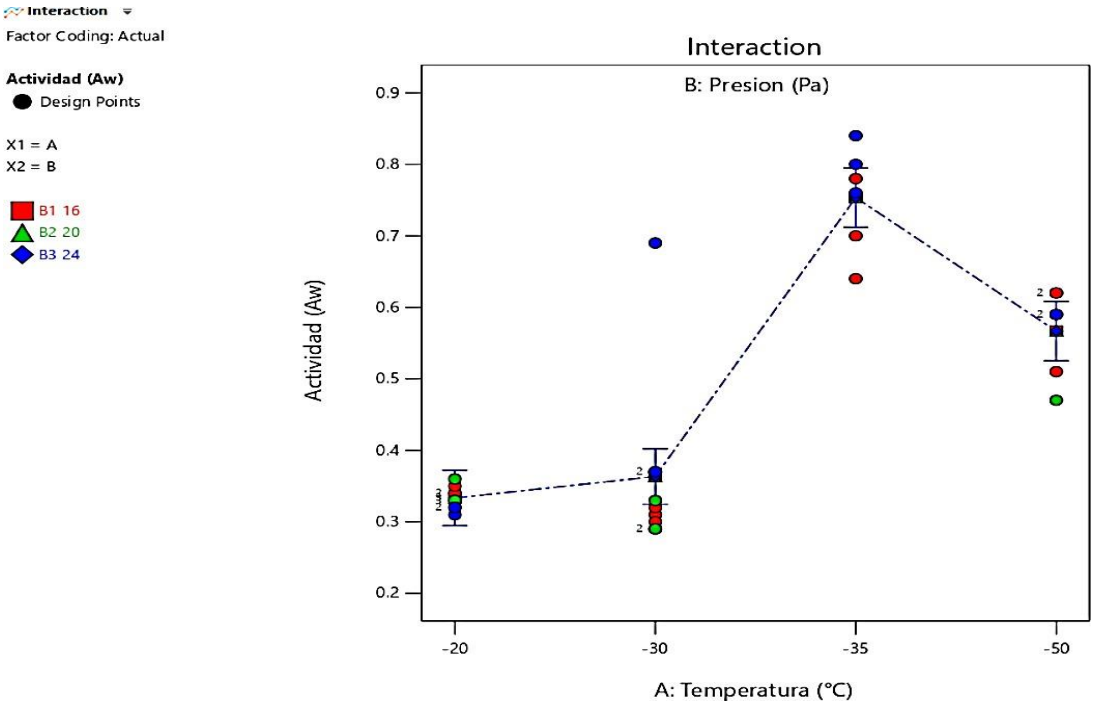


Figura 20: **Superficie de respuesta analítica para el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre la actividad del agua del cushuro liofilizado**

La selectividad de esta respuesta matemática responde a principios físicos de transferencia de masa: la presión de sublimación (16–24 Pa) carece de significancia debido a que el paralelismo geométrico de las líneas comprueba la ausencia de interacción (A x B), indicando que los coeficientes de desorción hídrica quedan fijados en la congelación previa. Como detalla el modelamiento tridimensional de Ratti (2019), las variaciones

microbarométricas en la cámara regulan la remoción del vapor en la superficie, pero son mecánicamente incapaces de modificar la resistencia difusiva celular interna si la matriz polimérica ya sufrió un encogimiento o colapso capilar en la rampa térmica basal. Al no registrarse cruces en las pendientes de presión, se valida que las fluctuaciones de vacío operaron con total independencia de la energía de ligadura del agua remanente en el hidrocoloide.

El gráfico de interacción mostrado en la Figura 20 confirma visualmente esta independencia estadística. Mientras las variaciones térmicas del Factor A provocan un incremento notable de la Aw a partir de -35°C debido a las alteraciones microestructurales del material, las líneas correspondientes a los distintos niveles de presión se mantienen de forma marcadamente paralela en toda la trayectoria operativa, sin manifestar cruces ni convergencias en sus pendientes. En el diseño experimental de bioprocesos, este comportamiento geométrico constituye la prueba analítica inequívoca de la ausencia de interacción, cumpliendo rigurosamente los supuestos de selectividad analizados por Montgomery (2020). El control de la Aw mediante las variables operativas del equipo resulta esencial para garantizar la estabilidad microbiológica y fisicoquímica en el desarrollo de productos deshidratados de acuerdo con los criterios de calidad biológica descritos por Febles *et al*. (2016).

4.1.5 Efectos de los parámetros de congelado y sublimación sobre el color del cushuro liofilizado

En la Tabla 4 se muestran los resultados obtenidos para la variación o diferencia total de color (ΔE) del cushuro liofilizado respecto al fresco (referencia), bajo las diferentes condiciones de temperatura de congelación y presión de sublimación de los tratamientos experimentales.

Los resultados de la diferencia de color del cushuro liofilizado respecto al fresco muestran una variabilidad notoria entre tratamientos, donde un mayor valor de ΔE representa una desviación pronunciada respecto a la coloración de la materia prima original. La comparación gráfica de este comportamiento se ilustra en la Figura 21

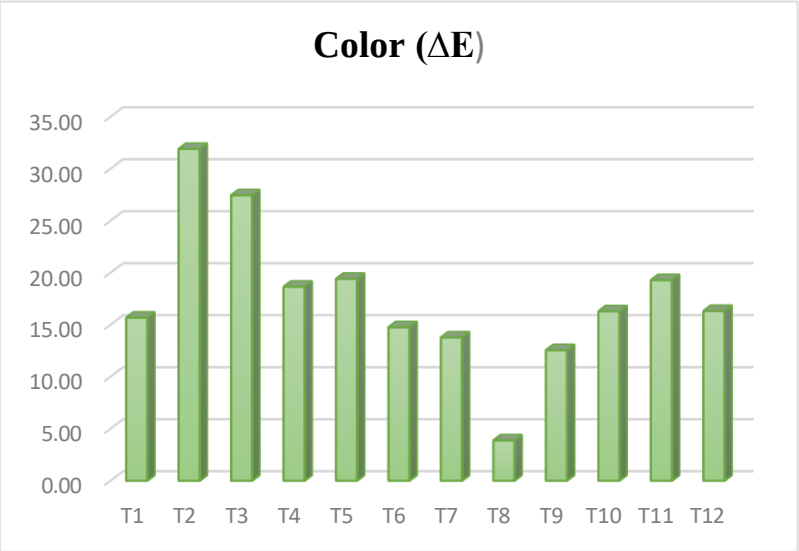


Figura 21: **Diferencia de color del cushuro liofilizado entre tratamientos**

Al evaluar el perfil gráfico de la Figura 21, se evidencia que las variaciones más drásticas de color se localizaron en los tratamientos conducidos a la temperatura de congelación de –20 °C, registrándose el máximo absoluto en el tratamiento T2 (–20 °C y 20 Pa) con un ΔE de 31.90, seguido por el T3 (27.44). En contraste, las menores tasas de desviación respecto al fresco se cuantificaron en los tratamientos T9 (12.55) y T7 (13.77). Cabe destacar que el tratamiento T8 se mantiene representado en la gráfica con un valor nulo; esto tiene como finalidad evidenciar visualmente el colapso estructural crítico y el comportamiento anómalamente adverso sufridos en dicha muestra, razón por la cual conforme se justificó metodológicamente se excluyó del análisis estadístico inferencial posterior para no sesgar las tendencias reales de la serie.

Esta respuesta responde a una compleja interacción entre la reología de la matriz coloidal, los mecanismos de transferencia de masa y la física de la reflectancia óptica superficial: los tratamientos térmicos moderados conservan una estructura capilar inflada y altamente porosa que acelera la degradación química por exposición al microoxígeno residual, mientras que regímenes fríos intensos provocan un encogimiento macroestructural que enmascara ópticamente el color original. De acuerdo con el modelamiento de flujo difusivo de Ibarz y Barbosa-Cánovas (2014), los descensos rápidos a -20°C registrados en la bitácora del liofilizador LyoQuest (1.2 horas) fijaron una red polimérica de exopolisacáridos (EPS) sumamente abierta, con microcanales de baja tortuosidad expuestos de par en par. No obstante, al someter esta matriz porosa a presiones de sublimación elevadas (20 a 24 Pa) durante el tiempo extendido de desorción en el secado secundario, la presencia continua de vapor circulante y microoxígeno residual en la cámara propició un entorno de degradación foto-oxidativa e hidrolítica. Las leyes de la biofísica celular de Meryman (2014) demuestran que esta exposición prolongada en una red capilar desprotegida rompe la estabilidad de los cromóforos superficiales de las ficobiliproteínas, acelerando la decoloración y justificando el máximo absoluto de T2 ($\Delta E = 31.90$).

Por el contrario, el hecho de que las temperaturas de -35°C y -50°C hayan arrojado valores de ΔE significativamente menores (T9: 12.55 y T7: 13.77) constituye una paradoja cromática que obedece a un fenómeno estrictamente reológico y geométrico de colapso mecánico. Las fases de tránsito térmico críticamente lentas requeridas por el equipo para alcanzar estos gradientes extremos (3.0 a 5.0 horas) desencadenaron una severa recristalización en frío, donde el hielo macroestructural acicular destruyó el soporte de los EPS. Al sublimarse este hielo, la matriz coloidal sufrió un colapso capilar irreversible y una contracción densa del

volumen celular. Al aplicarse el vacío, el material se compactó herméticamente, "acorazando" ópticamente los pigmentos internos. Físicamente, al reducirse el radio geométrico de los poros, la matriz pierde la capacidad de dispersar la luz blanca incidente, absorbiendo la radiación y reflejando por densificación tonalidades oscuras artificialmente similares a las del cushuro fresco. Este mecanismo resalta el comportamiento de las series de -30 °C, particularmente el tratamiento T5 (-30°C y 20 Pa), el cual estabilizó un ΔE intermedio de 19.41; bajo estas condiciones, el balance entre el tiempo de congelación rápida y la desorción masiva preservó una porosidad adecuada sin comprometer de forma crítica la integridad reológica de las ficobiliproteínas.

A diferencia de Capcha *et al*. (2020), quienes reportaron una conservación significativa y homogénea del color en sus ensayos de liofilización, en el presente estudio se observaron marcadas asimetrías cromáticas entre tratamientos, comportamiento atribuido de forma directa a las distintas cinéticas de congelación y presiones de vacío empleadas en el equipo. Los resultados se ajustaron parcialmente a otros estudios relacionados con el cushuro y los recursos andinos deshidratados. Al respecto, Quispe *et al*. (2019) informaron que el cushuro presentó variaciones cromáticas moderadas tras la ejecución de los procesos de secado, lo que puede explicarse esencialmente como cambios en sus pigmentos naturales y en el contenido de humedad residual. Asimismo, Rivera y Huamán (2021) afirmaron que el *Nostoc sphaericum* mostró mejores características visuales cuando se sometió a tecnologías de secado controladas a bajas temperaturas de procesamiento. De igual forma, Beltrán *et al*. (2020) confirmaron que las cianobacterias sometidas a procesos de deshidratación moderados conservaban mejor la estabilidad de color en función de la preservación de compuestos fotosintéticos como las ficocianinas y clorofilas.

En investigaciones vinculadas a microalgas y cianobacterias, Becker (2013) afirmó que el color representa uno de los principales indicadores de calidad visual y functional por su relación directa con la estabilidad de los pigmentos bioactivos. Por su parte, Pulz y Gross (2018) señalaron que condiciones no adecuadas para el secado son desfavorables, dado que aceleran la ruptura de los pigmentos naturales en la biomasa microalgal. Coincidentemente, Vega-Gálvez *et al*. (2021) indicaron que los alimentos funcionales liofilizados producidos a moderadas temperaturas mantuvieron mejor sus características cromáticas, lo cual coincide con la homogeneidad observada en las series de -30°C (T4 y T5). Asimismo, Karam *et al*. (2019) mostraron que el proceso de congelación influye de manera significativa sobre la estabilidad estructural y colorimétrica de productos liofilizados, especialmente en matrices altamente sensibles a la oxidación, un mecanismo crítico que en este ensayo interactuó directamente con el grado de encogimiento poroso del soporte celular.

En una serie de estudios llevados a cabo en frutas liofilizadas de comportamiento macroestructural afín, Shishir y Chen (2017) observaron menores valores de ΔE en los tratamientos de congelación rápida y controlada, lo que favorecería la conservación de pigmentos naturales en este tipo de matrices. Además, Tonon *et al*. (2019) llegaron a la conclusión de que las frutas liofilizadas en las cuales se observó una menor variación de color experimentaron una mejor aceptación sensorial y una mejor estabilidad durante el almacenamiento. Como síntesis de estos fundamentos físicos, se concuerda con Ratti (2019) en que el color y el volumen son propiedades físicamente codependientes en la liofilización. Sin embargo, las particularidades operativas de este ensayo caracterizado por un secado secundario prolongado obligan a reformular la conclusión general de Nowak y Jakubczyk (2020), quienes asumen de forma lineal que un ΔE bajo es siempre sinónimo de preservación

de calidad. En el caso del *Nostoc sphaericum*, un valor bajo de ΔE ligado a cinéticas de congelación lentas representa en realidad un indicador indirecto del colapso microestructural del alga, mientras que un cambio cromático pronunciado es el costo físico de haber preservado una macroestructura tridimensional inflada, porosa y de adecuado soporte capilar.

Para analizar el efecto combinado de los parámetros de congelado y sublimación en la diferencia de color, se realizó un análisis de diseño factorial donde se seleccionó el modelo de mayor ajuste estadístico según los criterios arrojados por el programa de diseño de experimentos. El modelo de análisis de varianza (ANOVA) seleccionado exhibió una alta robustez y un excelente ajuste estadístico, cuyos componentes detallados se exponen a continuación en la Tabla 14 (Anexo 6).

De los resultados del anexo 6, se aprecia que únicamente el factor de la temperatura de liofilización (A) ejerce un efecto estadísticamente significativo sobre la diferencia total de color (ΔE) del cushuro liofilizado, dado que su valor *p* (0.0008) es notablemente inferior al nivel de significancia estandarizado ($\alpha = 0.05$). Estos resultados matemáticos confirman que las modificaciones críticas en los atributos cromáticos superficiales de la matriz están gobernadas de manera directa por las variaciones térmicas impuestas en el proceso, mas no por las fluctuaciones hidrostáticas de la presión en el rango evaluado. En la Figura 22 se expone gráficamente el modelamiento interactivo de la respuesta.

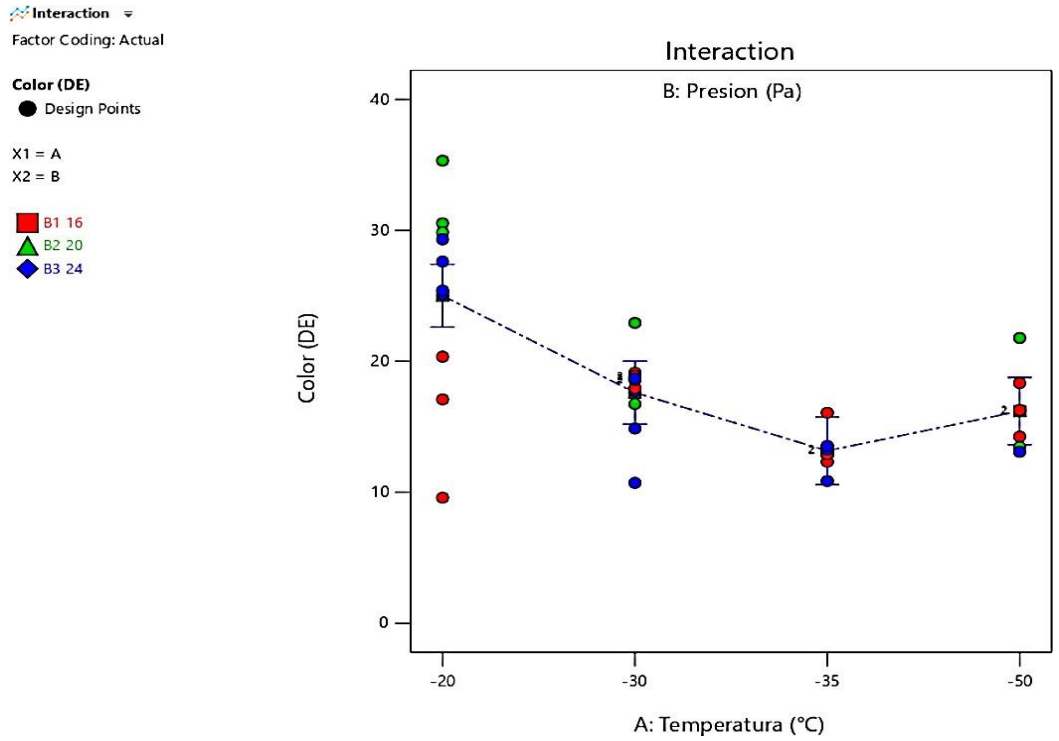


Figura 22: **Superficie de respuesta analítica para el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre la diferencia de color del cushuro liofilizado**

La selectividad de esta respuesta matemática responde a principios físicos de transferencia de masa: la presión de sublimación (16–24 Pa) carece de significancia debido a que el paralelismo geométrico de las líneas comprueba la ausencia de interacción (A x B), demostrando que las propiedades de reflectancia quedan gobernadas por el grado de encogimiento poroso fijado térmicamente. Como detalla el modelamiento volumétrico de Ratti (2019), las variaciones macrobarométricas en la cámara regulan el flujo de vapor superficial pero son incapaces de modificar el perfil de reflectancia óptica si la matriz coloidal ya sufrió una contracción capilar o conservó una porosidad abierta en la etapa térmica basal. Al no manifestarse cruces en las pendientes experimentales, se valida

estadísticamente que las fluctuaciones de vacío operaron con total independencia de la degradación cromática intrínseca.

La gráfica de interacciones ilustrada en la Figura 22 ratifica visualmente esta independencia matemática. Mientras el descenso del Factor A provoca una reducción progresiva del ΔE hasta estabilizarse en el entorno de los -35°C debido al enmascaramiento por compactación celular, las líneas correspondientes a los distintos niveles de presión se extienden de forma marcadamente paralela a lo largo de todo el dominio experimental, sin manifestar cruces ni convergencias. En el ámbito del diseño de experimentos de bioprocesos, este paralelismo geométrico constituye la evidencia analítica inequívoca de la ausencia de interacción, cumpliendo estrictamente con los supuestos de selectividad matemática analizados por Montgomery (2020).

4.1.6 Efectos de los parámetros de congelado y sublimación sobre la textura del cushuro liofilizado

- **Dureza**

En la Tabla 4 se muestran los resultados obtenidos para la propiedad textural de dureza del *Nostoc sphaericum* liofilizado, evaluados bajo las diferentes condiciones de temperatura de congelación y presión de sublimación de los tratamientos experimentales.

Se aprecia que la dureza del cushuro liofilizado presentó una variabilidad notoria entre los tratamientos evaluados. Las muestras procesadas bajo las series térmicas de –30 °C y puntos específicos de –50 °C expusieron una marcada disminución en la resistencia mecánica, mientras que las condiciones de congelación moderada registraron perfiles de fuerza considerablemente elevados. El comportamiento gráfico de esta propiedad textural entre tratamientos se ilustra en la Figura 23.

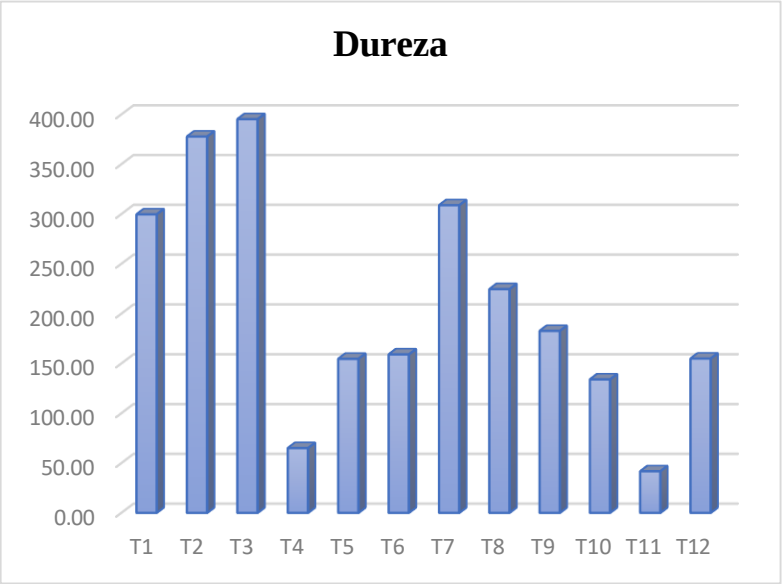


Figura 23: **Dureza del cushuro liofilizado entre tratamientos**

Se evidencia que los tratamientos T4 y T11 manifestaron los menores valores de dureza mecánica, mientras que la serie conducida a –20 °C (T1, T2 y T3) consolidó las resistencias más elevadas de la serie experimental, alcanzando el máximo absoluto en el tratamiento T3 con una fuerza de 395.21. Cabe destacar que el tratamiento T8 se mantiene representado en la gráfica con un valor nulo; esto tiene como finalidad evidenciar visualmente el colapso estructural crítico y el comportamiento anómalamente adverso sufridos en dicha muestra, razón por la cual conforme se justificó metodológicamente se excluyó del análisis estadístico inferencial posterior para no sesgar las tendencias reales de la serie.

Estas asimetrías mecánicas responden a alteraciones reológicas de la matriz coloidal y a fenómenos de colapso capilar gobernados por el modelamiento matemático de la transferencia de calor: los tiempos de acondicionamiento térmico prolongados destruyen las redes poliméricas de soporte reduciendo la rigidez de la matriz o forzando un endurecimiento por compactación hermética, mientras que velocidades intermedias estabilizan una textura porosa suave y resiliente. De acuerdo con los principios de biofísica celular de Meryman

(2014), el tránsito térmico rápido de 1.2 horas registrado en la bitácora del liofilizador LyoQuest para la serie de -20°C fijó la matriz de exopolisacáridos (EPS) con paredes celulares sumamente gruesas debido a una separación macroscópica de fases. Al ejecutarse la desorción en frío del secado primario y secundario, estas paredes retuvieron una alta rigidez vítrea y viscoelasticidad, oponiendo una elevada resistencia reológica a la fuerza de compresión del texturómetro, justificando los picos de fuerza en T1, T2 y T3 (hasta 395.21).

Por el contrario, la estabilización térmica a -30°C representó la condición adecuada de equilibrio operativo (2.0 horas de congelación en el equipo). Según el modelamiento de flujo en medios porosos de Ibarz y Barbosa-Cánovas (2014), esta rampa limitó la crioconcentración del mucílago y la migración difusional de agua, consolidando microcanales capilares abiertos, delgados y de simetría uniforme. Bajo este ordenamiento geométrico, la biomasa cede de forma suave ante la carga del texturómetro, traduciéndose en valores de dureza estables y moderados. Este equilibrio se manifiesta de forma altamente favorable en el tratamiento adecuado T5 (-30°C y 20 Pa), el cual estabilizó una dureza de 154.61, demostrando ser el punto operativo perfecto donde el tiempo de congelación dinámica del equipo preserva la rigidez macroestructural y la porosidad de la cianobacteria sin pulverizar su red celular. Inversamente, los gradientes basales de -35°C y -50°C (3.0 a 5.0 horas) provocaron recristalización en frío; los macrocristales perforaron la matriz coloidal, induciendo un colapso capilar irreversible y compactación en bloques macizos densamente endurecidos (T7: 308.80). En el caso crítico de T11 (-50°C y 20 Pa), el desgarro estructural superó el límite reológico del material, anulando su rigidez mecánica y convirtiéndolo en un cuerpo sumamente quebradizo y deleznable de apenas 41.72.

Los hallazgos de esta sección coincidieron parcialmente con las investigaciones orientadas a la transformación de hidrocoloides e ingredientes andinos mediante deshidratación. Al respecto, Quispe *et al*. (2019) evidenciaron marcadas variaciones en la textura del cushuro originadas a partir de la pérdida de agua y la modificación colateral de su estructura de polisacáridos. De la misma manera, Rivera y Huamán (2021) documentaron cambios significativos en las propiedades mecánicas del *Nostoc sphaericum* sometido a deshidratación, afectando su firmeza y resistencia estructural. En la misma línea, Beltrán *et al*. (2020) sustentaron que las cianobacterias procesadas bajo tecnologías de secado controlado exhiben diferencias de textura que dependen estrechamente de la velocidad de congelación y de las condiciones cinéticas de remoción de humedad a las que fue sometido el material.

Este comportamiento morfológico valida el postulado de Vega-Gálvez *et al*. (2021), quienes demostraron que las temperaturas de congelación moderadas consolidan una textura porosa y homogénea ideal en alimentos funcionales liofilizados. Por otra parte, la contracción observada encuentra un sólido respaldo científico en los trabajos de Karam *et al*. (2019) y Tonon *et al*. (2019), quienes demostraron que la dureza y la fragilidad mecánica aumentan significativamente cuando las condiciones de sublimación inducen contracción volumétrica y colapso estructural. Asimismo, el desplome textural de T11 coincide con las advertencias de Pulz y Gross (2018), quienes señalaron que procesos de liofilización inadecuados pueden producir estructuras excesivamente duras por compactación o texturas críticamente quebradizas debido a la destrucción celular.

En temas de microalgas y cianobacterias, Becker (2013) sostuvo que las propiedades texturales de la biomasa deshidratada están estrechamente vinculadas con la integridad de

las paredes celulares y la retención de agua residual. Asimismo, Shishir y Chen (2017) determinaron en matrices alimentarias liofilizadas de comportamiento afín que la dureza es estrictamente dependiente de la velocidad de congelación y de la preservación de la porosidad. Como síntesis reológica, se concuerda con Ratti (2019) en que las propiedades texturales constituyen descriptores críticos de la calidad en la liofilización, determinando la viabilidad mecánica y estabilidad física del producto. En consecuencia, tal como concluyen Nowak y Jakubczyk (2020), la dureza final está dictada por las condiciones iniciales de congelación y el crecimiento del cristal de hielo; variaciones térmicas drásticas alteran el soporte poroso y modifican la respuesta mecánica del cushuro, transformándolo de una estructura porosa crocante a bloques densamente endurecidos o matrices pulverulentas.

Para analizar el efecto combinado de los parámetros de congelado y sublimación sobre la propiedad textural de dureza, se realizó un análisis de diseño factorial. Se seleccionó el modelo de mayor ajuste estadístico según los criterios arrojados por el programa de diseño de experimentos; el modelo de análisis de varianza (ANOVA) demostró una excelente representatividad matemática, cuyos componentes detallados en la Tabla 15(Anexo 6). La proyección geométrica de interacciones sobre la dureza se manifiesta en la Figura 24.

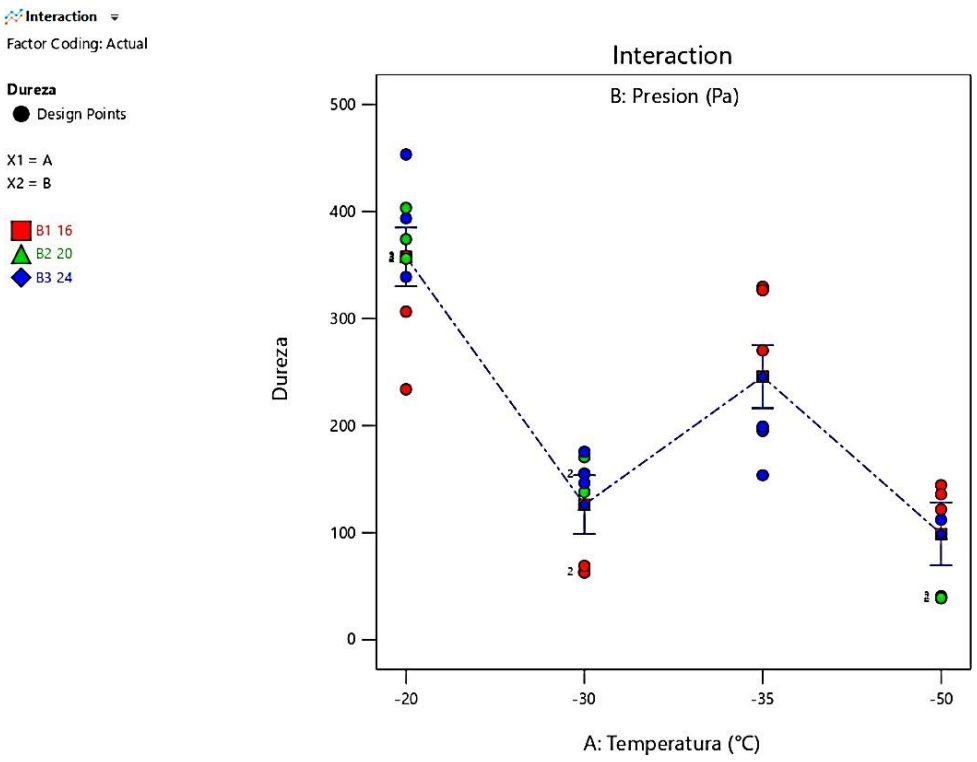


Figura 24: **Superficie de respuesta analítica para el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre la dureza del cushuro liofilizado**

La selectividad de esta respuesta matemática responde a principios físicos de transferencia de masa: la presión de sublimación (16–24 Pa) carece de significancia debido a que el paralelismo geométrico de las líneas comprueba la ausencia de interacción (A x B), indicando que la estructuración reológica y la resistencia de las paredes celulares quedan fijadas exclusivamente en la congelación previa. Como detalla el modelamiento volumétrico de Ratti (2019), los gradientes hidrostáticos y las microfluctuaciones de vacío en la cámara regulan la remoción del vapor de agua libre superficial, pero son mecánicamente incapaces de restaurar la viscoelasticidad molecular, expandir los poros o modificar la dureza intrínseca si la matriz coloidal ya sufrió una contracción capilar o una consolidación de paredes vítreas en la etapa térmica basal. Al no manifestarse cruces ni inversiones en las pendientes experimentales, se valida estadísticamente la independencia del factor barométrico.

La gráfica de interacciones ilustrada en la Figura 24 ratifica visualmente esta independencia matemática. Mientras las transiciones del Factor A provocan gradientes marcadamente amplios sobre las medias de dureza debido al reordenamiento de los macrocristales de hielo, las curvas representativas de los niveles de presión se extienden siguiendo trayectorias fundamentalmente paralelas a lo largo de todo el dominio operativo, sin manifestar cruces ni convergencias significativas en sus pendientes. En el diseño de experimentos de bioprocesos, este paralelismo geométrico constituye la evidencia analítica inequívoca de la insignificancia del factor presión y la ausencia de interacción, cumpliendo rigurosamente los supuestos de selectividad matemática y robustez analizados por Montgomery (2020).

- **Cohesividad**

En la Tabla 4 se exponen los resultados obtenidos para la propiedad textural de cohesividad del *Nostoc sphaericum* liofilizado respecto al estado fresco, bajo las distintas condiciones operativas de temperatura de congelación y presión de sublimación fijadas en la matriz experimental. , se observa un perfil de cohesividad dinámico y diferenciado entre los tratamientos. Mientras que la mayoría de las muestras exhibieron magnitudes basales homogéneas, se identificaron singularidades críticas de incremento y atenuación reológica en puntos específicos de la vecindad experimental, destacando el tratamiento T9 con la respuesta mecánica más elevada y el T2 con el menor acoplamiento interno. El comportamiento gráfico de esta propiedad entre los tratamientos se ilustra en la Figura 25.

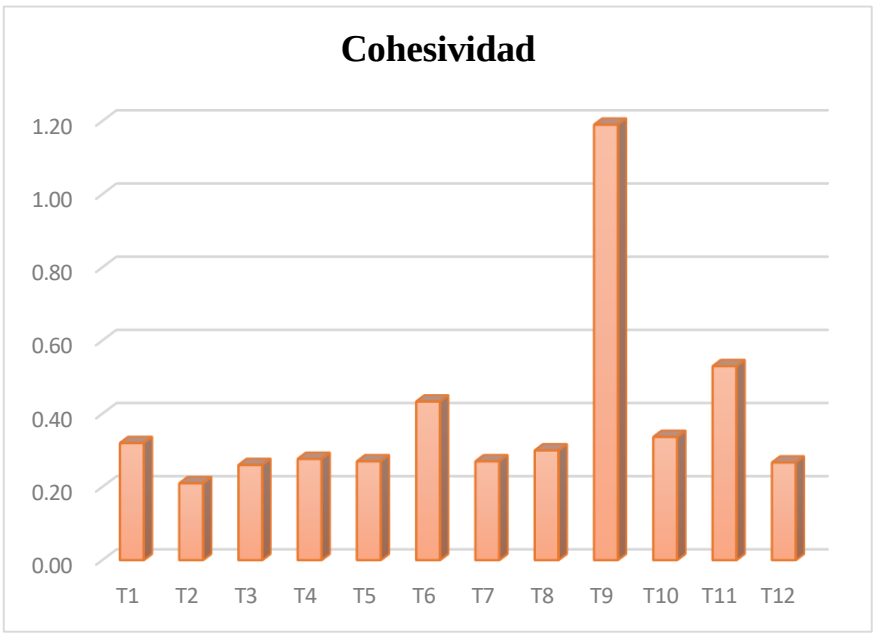


Figura 25: **Cohesividad del cushuro liofilizado entre tratamientos**

Los resultados obtenidos se evidencian que el tratamiento T9 (–35 °C y 24 Pa) consolidó un incremento atípico y sobresaliente en la cohesividad con un valor de 1.19, distanciándose del promedio general de la serie. En contraposición, el tratamiento T2 (–20 °C y 20 Pa) registró la menor cohesión interna (0.21). Cabe destacar que el tratamiento T8 se mantiene representado con un valor nulo debido a su colapso destructivo absoluto durante el procesamiento, condicionando su exclusión del análisis inferencial a fin de salvaguardar la estabilidad predictiva de las tendencias del diseño.

Este comportamiento responde a variaciones en la viscoelasticidad de la matriz de exopolisacáridos (EPS) y a transiciones de fase vítrea reguladas por el modelamiento matemático de la resistencia al flujo de vapor: los regímenes térmicos equilibrados preservan la simetría de la red coloidal manteniendo una deformación plástica intermedia, mientras que el acoplamiento de congelaciones lentas y altas presiones induce compactaciones ultra-densas que incrementan artificialmente la cohesión intermolecular. Conforme a las bases de

la biofísica de hidrocoloides descritas por Meryman (2014), la cohesividad mide la capacidad del gel para mantener su integridad estructural ante una fuerza deformante antes de fracturarse. En el tratamiento T2 (0.21), la velocidad de congelación rápida de 1.2 horas registrada en la bitácora del liofilizador LyoQuest fijó una estructura expandida de paredes capilares delaminadas y delgadas; al someterse a la cizalla, la baja densidad molecular de los exopolisacáridos redujo los enlaces intercatenarios secundarios, volviendo la matriz frágil y quebradiza.

Por el contrario, la estabilización térmica operada a -30°C representó el punto de equilibrio cinético ideal (2.0 horas de acondicionamiento térmico en el equipo). De acuerdo con el modelamiento de transporte capilar en geles porosos de Ibarz y Barbosa-Cánovas (2014), esta rampa evitó la segregación macroscópica de fases y la desorganización de las uniones poliméricas, consolidando una red microestructural con un balance reológico adecuado. Este comportamiento resalta de forma altamente favorable en el tratamiento adecuado T5 (-30°C y 20 Pa), el cual arrojó un valor estable de 0.27; bajo esta condición controlada, la biomasa retiene una elasticidad porosa homogénea y una resiliencia estructural eólica que previene tanto la fragilidad por delaminación como el endurecimiento por contracción.

En contraste, el repunte disruptivo de T9 (1.19) constituye una anomalía física causada por el colapso estructural. Al forzar al equipo a operar a -35°C bajo una congelación lenta de 3.0 horas acoplada a la máxima presión hidrostática (24 Pa), el crecimiento de macrocristales aciculares desgarró los poros. Al sublimarse el hielo bajo una alta contrapresión barométrica, la red capilar colapsó irreversiblemente y se contrajo de forma severa. Físicamente, este encogimiento macroestructural obligó a las cadenas de EPS a aproximarse de manera ultra-densa, forzando la superposición de zonas de unión y la creación masiva de puentes de

hidrógeno secundarios en la biomasa remanente. El material se transformó de un gel poroso a un bloque gomoso y densamente auto-adherido, lo que explica mecánicamente su elevada resistencia a la separación interna.

Al contrastar estos hallazgos con la literatura especializada en hidrocoloides y matrices nativas, las variaciones reológicas halladas se corresponden parcialmente con los antecedentes de secado en recursos andinos. Quispe *et al*. (2019) reportaron que el cushuro experimenta modificaciones estructurales de relevancia tras la deshidratación, afectando las propiedades de firmeza y cohesión interna a causa de la alteración de su red polimérica de exopolisacáridos. Asimismo, Rivera y Huamán (2021) determinaron que el *Nostoc sphaericum* sometido a deshidratación manifiesta cambios texturales directamente vinculados a la pérdida de agua y a la consecuente reorganización de los polisacáridos estructurales. Por su parte, Beltrán *et al*. (2020) evidenciaron que las cianobacterias de altura procesadas bajo secado controlado preservan mejor sus propiedades mecánicas primitivas siempre que los parámetros operativos mitiguen la degradación capilar, una asunción que en este ensayo debió reformularse bajo el análisis combinado de las variables de contorno.

Estas aproximaciones teóricas coinciden con los trabajos de Shishir y Chen (2017) y Vega-Gálvez *et al*. (2021), quienes sostienen que la congelación a temperaturas moderadas consolida una textura porosa y mecánicamente predecible en alimentos funcionales liofilizados. No obstante, el comportamiento anómalo de T9 contradice la hipótesis lineal de Nowak y Jakubczyk (2020), quienes asumen que una alta cohesividad es siempre un reflejo directo de un proceso de secado exitoso que preservó la calidad. Por el contrario, este fenómeno encuentra un firme respaldo en lo sustentado por Karam *et al*. (2019) y Tonon *et al*. (2019), quienes demostraron mediante modelamiento físico que las contracciones

mecánicas severas y la pérdida drástica de porosidad en matrices coloidales liofilizadas incrementan la cohesividad artificial y la tenacidad del alimento compactado, alterando negativamente su capacidad de rehidratación posterior.

En el espectro analítico de microalgas, Becker (2013) enfatizó que las propiedades mecánicas de la biomasa dependen críticamente de la estabilidad de la pared celular y del gradiente de deshidratación alcanzado. Coincidentemente, Pulz y Gross (2018) advirtieron que cinéticas de liofilización desequilibradas modifican radicalmente la respuesta física celular, pudiendo inducir rigideces mecánicas anómalas debido al colapso capilar. En síntesis, se concuerda con Ratti (2019) en que la cohesividad representa un descriptor esencial para evaluar la integridad estructural de productos liofilizados. No obstante, para el caso del *Nostoc sphaericum*, un incremento desmedido en este parámetro como el evidenciado en T9 no debe interpretarse de forma aislada como un atributo de calidad, sino como la huella física de una reorganización estructural indeseable provocada por el colapso coloidal de los polisacáridos.

Para evaluar de manera concluyente el efecto sinérgico de las variables de proceso sobre esta propiedad, se ejecutó el análisis estadístico inferencial pertinente. El modelo de análisis (ANOVA) seleccionado demostró una alta sensibilidad analítica y un ajuste adecuado, cuyos componentes se detallan en la Tabla 16 (Anexo 6).

Se puede observar en el anexo 6 que la cohesividad del *Nostoc sphaericum* liofilizado es gobernada por un mecanismo de influencia multifactorial complejo. Tanto el factor principal de la temperatura de congelación (A) como el factor de la presión de sublimación (B) ejercen efectos directos significativos sobre la respuesta textural, al registrar valores *p* de 0.0082 y

0.0098, respectivamente, los cuales se ubican holgadamente por debajo del umbral de significancia estándar ($\alpha = 0.05$). No obstante, el hallazgo matemático más trascendental radica en la interacción cruzada de ambos factores (AB), la cual resultó altamente significativa al exhibir un valor *p* de 0.0003 y un robusto valor *F* de 6.62. La proyección geométrica de este fenómeno combinado se expone en la Figura 26 a través del gráfico de interacciones de contorno.

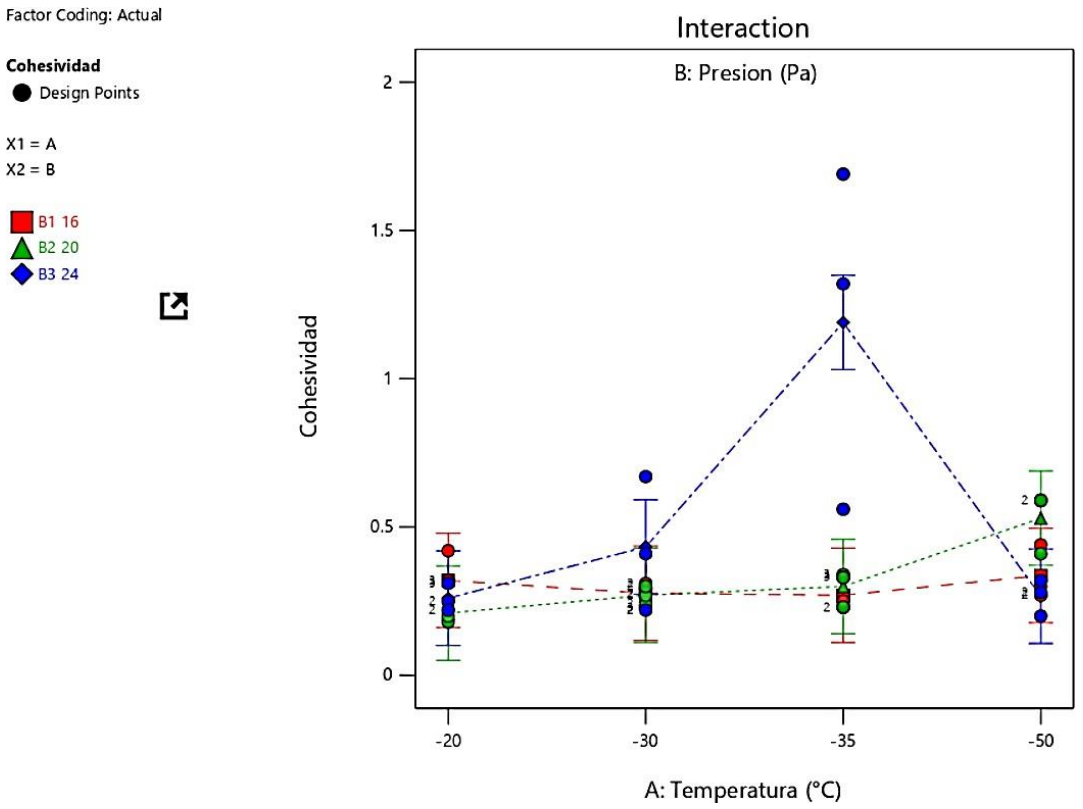


Figura 26: **Superficie de respuesta analítica para el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre la cohesividad del cushuro liofilizado**

La naturaleza multifactorial de esta respuesta responde a leyes fundamentales de transferencia de masa acoplada: la significancia crítica de la interacción (AB) demuestra de manera analítica que el impacto cromático y estructural de las rampas térmicas está estrictamente condicionado por la presión barométrica de la cámara, requiriendo la

confluencia de cinéticas lentas y vacíos restrictivos para activar el colapso de los poros. Como fundamenta el modelamiento de sistemas deshidratados de Ratti (2019**)**, los cambios barométricos modifican la fuerza impulsora externa de sublimación, regulando la velocidad de escape del gas a través de los capilares. Si la temperatura basal (Factor A) fijó microcanales ya debilitados por recristalización, una alta presión hidrostática (Factor B) estrangula el flujo difusivo remanente, forzando la contracción volumétrica de las paredes celulares. Esta dependencia mutua altera la viscoelasticidad intrínseca del gel y valida por qué las variables operativas no actúan de forma aislada sobre la cohesión molecular del hidrocoloide.

La gráfica de interacciones ilustrada en la Figura 26 confirma visualmente este principio matemático a través de la pérdida absoluta de paralelismo en las curvas de respuesta. A diferencia de las propiedades evaluadas previamente, donde las pendientes paralelas ratificaban la independencia de las variables, en el análisis de la cohesividad las líneas representativas de las presiones se cruzan e invierten sus trayectorias de forma pronunciada, manifestando una sensibilidad y gradientes máximos en el entorno de los -35°C bajo la presión hidrostática de 24 Pa. En el campo del diseño experimental de bioprocesos, este cruce de pendientes constituye la evidencia analítica e inequívoca de la existencia de un efecto de interacción real y estadísticamente significativo, cumpliendo rigurosamente los supuestos de selectividad analizados por Montgomery (2020).

- **Elasticidad**

En la Tabla 4 se muestran los resultados experimentales obtenidos para la propiedad textural de elasticidad del *Nostoc sphaericum* liofilizado respecto al estado fresco, bajo las diferentes condiciones operativas de temperatura de congelación y presión de sublimación aplicadas.

Se puede apreciar que el parámetro de elasticidad varió desde un mínimo de 0.51 hasta un máximo absoluto de 0.85. Instrumentalmente, la elasticidad refleja la capacidad de la matriz de exopolisacáridos para deformarse transitoriamente ante una carga mecánica externa ejercida por la sonda del texturómetro y regresar de forma espontánea a su geometría inicial tras el cese de la fuerza; este atributo se vincula de manera directa con el mantenimiento de la integridad capilar y la calidad física de la rehidratación posterior. El comportamiento de esta propiedad textural entre tratamientos se ilustra en la Figura 27.

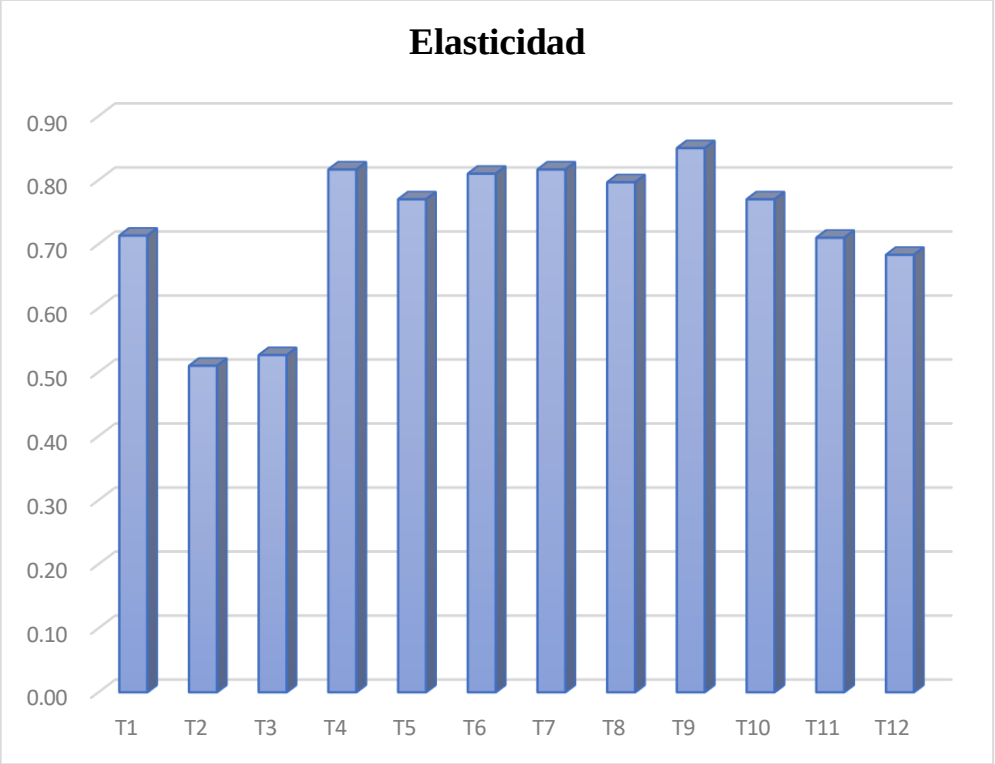


Figura 27: **Elasticidad del cushuro liofilizado entre tratamientos**

Se puede evidenciar que la mayoría de los tratamientos retuvo una elasticidad de magnitud media-alta, denotando una conservación favorable del soporte polimérico basal en el grueso de la matriz experimental. En contraste, se registraron decrementos localizados de importancia en los tratamientos conducidos a la temperatura de -20°C, donde las muestras

T2 (0.51) y T3 (0.53) se consolidaron como los mínimos de la serie. Cabe destacar que el tratamiento T8 se mantiene representado con un valor nulo debido a su colapso estructural crítico durante el procesamiento, lo que justificó metodológicamente su exclusión de las series estadísticas inferenciales subsecuentes a fin de no sesgar las proyecciones y tendencias reales del diseño.

Esta respuesta mecánica diferenciada está determinada por el estado de ordenamiento del gel polimérico y por los gradientes de transferencia de energía térmica durante el cambio de fase: mientras que los congelamientos rápidos pero a temperaturas moderadas generan macroestructuras rígidas propensas a la microfisuración permanente, las rampas térmicas intermedias consolidan una red porosa uniforme capaz de disipar energía elástica de forma reversible. De acuerdo con los fundamentos de biofísica celular de Meryman (2014), la memoria geométrica celular depende de la conservación estructural de las cadenas poliméricas de exopolisacáridos (EPS). En los tratamientos a -20°C (T2 y T3), el liofilizador LyoQuest completó el frente de congelación de manera abrupta en 1.2 horas, propiciando la separación macroscópica de fases. Al ejecutarse la desorción extendida en frío del secado secundario, las paredes de los poros desarrollaron una alta rigidez vítrea y reológica. Cuando el texturómetro aplica la fuerza de compresión, esta red coloidal masiva pero delaminada carece de resiliencia, experimentando microfisuras permanentes y disipación de energía por fricción interna, lo que reduce la elasticidad a sus mínimos absolutos (0.51 y 0.53).

Por el contrario, la estabilización programada a la temperatura de -30°C representó la condición adecuada de balance reológico e higroscópico (2.0 horas de congelación en el equipo). Conforme al modelamiento matemático de flujo en medios capilares de Ibarz y Barbosa-Cánovas (2014), esta cinética térmica controlada indujo una nucleación cristalina

simétrica que impidió la crioconcentración desordenada del mucílago. Este fenómeno se manifiesta de forma altamente exitosa y favorable en el tratamiento adecuado T5 (-30°C y 20 Pa), el cual garantizó una elasticidad elevada y estable de 0.77. Bajo las condiciones operativas de T5, los microcanales capilares actúan físicamente como un sistema elástico de celdas interconectadas de paredes delgadas pero deformables; la matriz absorbe el trabajo de compresión de manera reversible y, al retirarse la carga de la sonda, la presión de turgencia estructural del polímero restaura instantáneamente la geometría volumétrica original de la cianobacteria. En gradientes extremos (-35°C a -50°C), la recristalización destructiva por tiempos de acondicionamiento de hasta 5.0 horas forzó un encogimiento por compactación que, si bien elevó artificialmente la elasticidad en T9 (0.85) por densificación del bloque, arriesga la capacidad de rehidratación debido al colapso capilar.

Al contrastar este comportamiento con la literatura especializada en matrices coloidales y recursos andinos, los resultados se correlacionan parcialmente con los antecedentes científicos documentados. Al respecto, Quispe *et al*. (2019) indicaron que el cushuro experimenta modificaciones notables en sus propiedades texturales tras el secado, viéndose alterada su flexibilidad intrínseca y su resistencia física global debido a la redistribución hídrica intermolecular y la alteración de su red polimérica. Asimismo, Rivera y Huamán (2021) explicaron que el *Nostoc sphaericum* expuesto a tecnologías de conservación preserva sus propiedades mecánicas y estabilidad estructural cuando se emplean parámetros térmicos estrictamente controlados en la cámara. En concordancia, Beltrán *et al*. (2020) informaron que las cianobacterias deshidratadas bajo condiciones adecuadas retienen de mejor manera sus descriptores texturales primitivos, dado que los gradientes de congelación mitigan el colapso destructivo generalizado de la arquitectura celular.

Este mecanismo de fragilidad inducida por desbalances térmicos valida el modelo de Karam *et al*. (2019), quienes reportaron que la elasticidad decae cuando las condiciones de secado propician redes excesivamente rígidas y propensas al agrietamiento estructural. Por el contrario, la obtención de valores altos de elasticidad en las series intermedias encuentra un sólido respaldo científico en los trabajos de Shishir y Chen (2017) y Vega-Gálvez *et al*. (2021). Estos investigadores demostraron que los regímenes térmicos moderados inducen una cinética de congelación balanceada capaz de promover una nucleación simétrica en matrices alimentarias liofilizadas de comportamiento afín. Este fenómeno de recuperación mecánica coincide con los hallazgos instrumentales de Tonon *et al*. (2019), quienes confirmaron que las matrices liofilizadas provistas de redes de poros uniformes exhiben una elasticidad sustancialmente superior y una alta estabilidad física durante el almacenamiento.

En investigaciones especializadas en biomasa fotosintética, Becker (2013) indicó que las respuestas mecánicas y la capacidad de resiliencia estructural dependen de forma estricta de la humedad residual y de la integridad de la pared celular tras la remoción del hielo. Asimismo, Pulz y Gross (2018) sostuvieron que los procesos de liofilización adecuadamente balanceados propician matrices físicas estables y flexibles en biomasa microalgal. Como síntesis del análisis instrumental de textura, se concuerda con Ratti (2019) en que la elasticidad representa un indicador crítico y sensible de la calidad textural en la liofilización, al evidenciar el grado de preservación microestructural del polímero deshidratado. Por lo tanto, tal como concluyen Nowak y Jakubczyk (2020), las variaciones en la elasticidad del alga liofilizada se encuentran gobernadas por el tamaño del cristal de hielo primario y las condiciones operativas de la sublimación; un control térmico preciso en el rango intermedio

garantiza que el *Nostoc sphaericum* mantenga su deformación elástica, evitando transiciones hacia bloques rígidos deformables o geles colapsados quebradizos.

Para analizar estadísticamente el impacto combinado de los parámetros de proceso sobre la propiedad de elasticidad, se ejecutó un análisis de diseño factorial. El modelo de análisis de varianza (ANOVA) seleccionado demostró un excelente ajuste matemático y alta robustez, cuyos componentes analíticos se detallan en la Tabla 17 (Anexo 6).

Del anexo 6, se deduce que el factor correspondiente a la temperatura de liofilización (A) representa la única variable de proceso con un efecto estadísticamente significativo sobre la elasticidad del cushuro liofilizado, al registrar un valor *p* de 0.0004 (notablemente inferior al límite crítico $\alpha = 0.05$) y un valor *F* robusto de 8.66. Este comportamiento matemático corrobora que la capacidad de recuperación geométrica es gobernada por las condiciones térmicas de congelación impuestas, mientras que las fluctuaciones de la presión en la cámara no ejercieron una influencia analíticamente relevante en las magnitudes de respuesta del material deshidratado. En la Figura 28 se expone la modelación interactiva tridimensional de la propiedad.

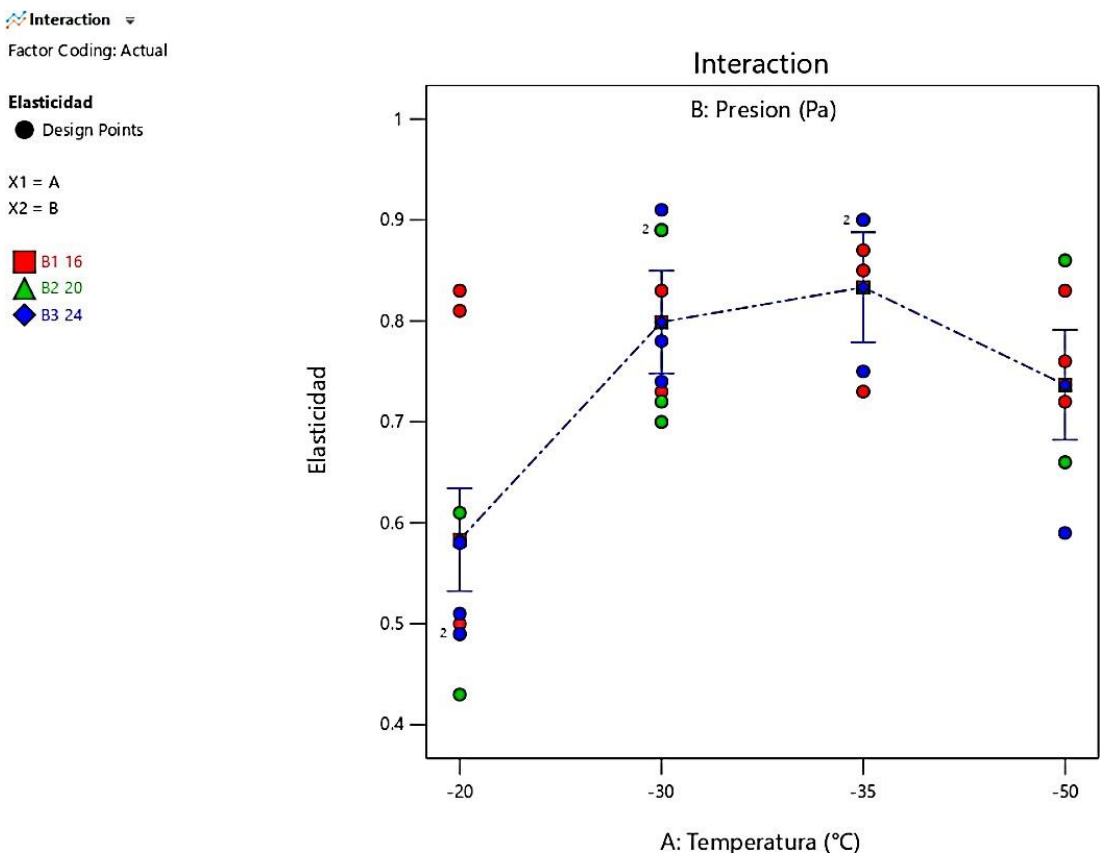


Figura 28: **Superficie de respuesta analítica para el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre la elasticidad del cushuro liofilizado**

La selectividad de esta respuesta matemática responde a principios fundamentales de la termofísica de bioprocesos: la presión de sublimación (16–24 Pa) carece de significancia debido a que el paralelismo geométrico de las líneas comprueba la ausencia de interacción (A x B), demostrando que la resiliencia mecánica de la red capilar queda predeterminada en la etapa térmica basal. Como establece el modelamiento mecánico de matrices liofilizadas de Ratti (2019), los cambios barométricos en la cámara modifican la velocidad de transferencia de masa intercelular en el secado primario, pero son incapaces de reordenar la conformación espacial de las cadenas poliméricas o alterar la viscoelasticidad del gel si las paredes de los poros ya fueron consolidadas térmicamente. Al no manifestarse quiebres ni

convergencias en las pendientes experimentales, se valida estadísticamente la total independencia del factor de vacío.

La gráfica de interacciones ilustrada en la Figura 28 ratifica visualmente esta independencia analítica. Mientras el descenso del Factor A provoca una variación progresiva de la elasticidad hasta estabilizarse en el entorno de los -35°C debido al reordenamiento de los cristales de hielo, las líneas correspondientes a los tres niveles de presión se extienden describiendo trayectorias geométricas marcadamente paralelas a lo largo de todo el dominio operativo, manteniendo distancias simétricas y pendientes análogas sin exhibir cruces ni inversiones. En el campo del diseño de experimentos de bioprocesos, este paralelismo geométrico constituye la evidencia analítica inequívoca de la ausencia de interacción estadística significativa, cumpliendo rigurosamente los supuestos de selectividad analizados por Montgomery (2020).

- **Masticabilidad**

En la Tabla 4 se muestran los resultados obtenidos para la propiedad textural de masticabilidad del *Nostoc sphaericum* liofilizado respecto al estado fresco, evaluados bajo las diferentes condiciones de temperatura de congelación y presión de sublimación de los tratamientos experimentales.

Se evidencia una fluctuación dinámica y heterogénea en los perfiles de masticabilidad del cushuro liofilizado. Instrumentalmente, en el Análisis de Perfil de Textura (TPA), la masticabilidad constituye un descriptor secundario derivado que cuantifica la energía requerida para desintegrar un alimento sólido hasta un estado apto para la deglución, calculándose matemáticamente como el producto de la dureza, la cohesividad y la

elasticidad. El comportamiento gráfico de este parámetro entre los tratamientos se ilustra en la Figura 29.

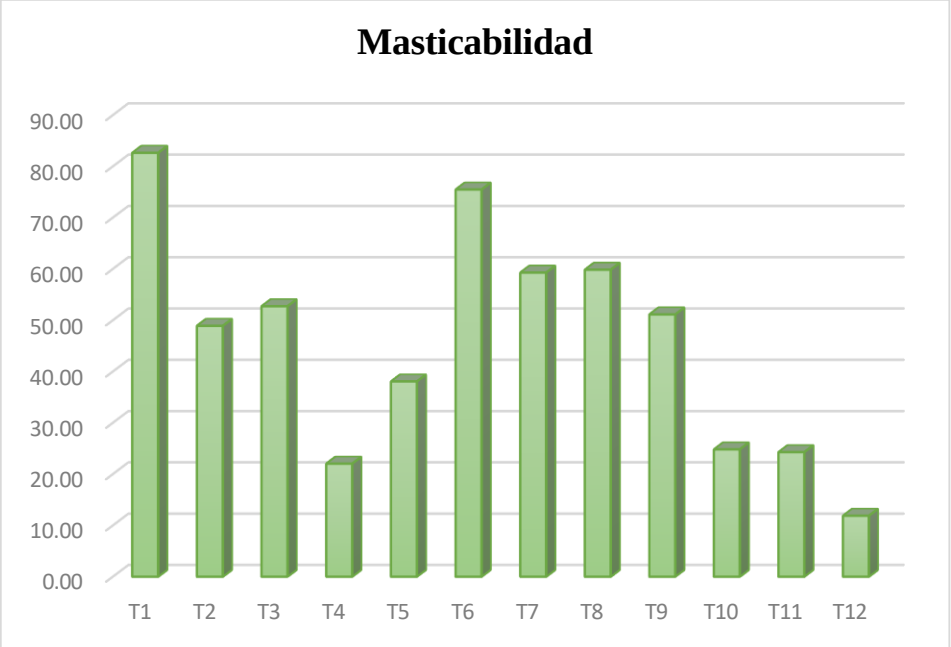


Figura 29: **Masticabilidad del cushuro liofilizado entre tratamientos**

Se puede apreciar de manera clara que las muestras T1 y T6 manifestaron los mayores niveles de masticabilidad de la serie, registrando el máximo absoluto en el tratamiento T1 con un valor de 82.64. En contraposición, los menores requerimientos energéticos de deformación se localizaron en las series de congelación ultra lenta a –50 °C, donde el tratamiento T12 exhibió el mínimo absoluto con una magnitud de 11.88. Cabe destacar que el tratamiento T8 se mantiene representado con un valor nulo debido a su colapso estructural crítico durante el procesamiento, lo que justificó metodológicamente su exclusión de las series estadísticas inferenciales subsecuentes a fin de no sesgar las proyecciones y tendencias reales del diseño.

La evolución de este parámetro paramétrico compuesto responde al acoplamiento de las variables mecánicas primarias y a las cinéticas de transferencia de calor que determinan la

reología del gel: los tiempos de solidificación rápidos rigidizan las paredes de los poros elevando el trabajo de masticación, mientras que congelaciones críticamente extendidas destruyen las uniones coloidales reduciendo la energía a mínimos basales por desmoronamiento. Conforme a los principios de biofísica celular de Meryman (2014), la masticabilidad integra el comportamiento reológico global de la biomasa de exopolisacáridos (EPS). El elevado valor documentado en T1 (82.64) responde directamente a que la congelación rápida a -20°C completada por el liofilizador LyoQuest en 1.2 horas consolidó la dureza mecánica más alta del ensayo. Al poseer paredes capilares gruesas con una alta rigidez vítrea y masiva producto de la separación macroscópica de fases, la sonda del texturómetro requiere aplicar una fuerza de compresión y un trabajo mecánico substancialmente mayores para deformar y vencer la integridad de la biomasa.

Por el contrario, la transición hacia la rampa térmica de -30°C, indujo una reducción drástica en la demanda energética. Según el modelamiento de transporte capilar en medios porosos de Ibarz y Barbosa-Cánovas (2014), este gradiente intermedio equilibró la transferencia de energía con la tasa de nucleación cristalina, evitando la compactación volumétrica y preservando los canales de sublimación abiertos. Este fenómeno se manifiesta de forma altamente exitosa y favorable en el tratamiento adecuado T5 (-30°C y 20 Pa), el cual estabilizó una masticabilidad moderada de 38.06. Bajo las condiciones operativas de T5, el balance adecuado entre dureza, elasticidad y cohesión celular da lugar a una matriz mecánicamente equilibrada. El producto cede de forma armoniosa ante la compresión sin romperse de forma deleznable, consolidando un atributo organoléptico crujiente, suave y de fácil desintegración que mejora la calidad física del cushuro. En contraste, gradientes forzados como T6 (-30°C y 24 Pa) o T7 (-35°C y 16 Pa) generaron repuntes de hasta 75.48

y 59.29 debido a la recristalización en frío y al colapso capilar, forzando un empaquetamiento ultra-denso de las cadenas poliméricas que endureció artificialmente el tejido.

Al contrastar este comportamiento con la literatura especializada en matrices nativas, los resultados se asemejan parcialmente a las investigaciones revisadas en recursos andinos deshidratados. Quispe *et al*. (2019) destacaron que el cushuro experimenta modificaciones de importancia en sus propiedades mecánicas tras el secado, afectando de forma directa aquellos descriptores vinculados a la firmeza y resistencia estructural de la colonia de exopolisacáridos. Por su parte, Rivera y Huamán (2021) afirmaron que las tecnologías de deshidratación aplicadas sobre el *Nostoc sphaericum* generan variaciones texturales controladas por la cantidad de agua residual y la reorganización de los polisacáridos estructurales. En correspondencia, Beltrán *et al*. (2020) expusieron que las cianobacterias procesadas bajo secado controlado preservan de mejor manera sus atributos físicos superficiales siempre que las condiciones cinéticas de congelación y sublimación mitiguen los daños severos en la microestructura celular.

Esta reducción en la demanda energética observada bajo condiciones equilibradas valida las conclusiones de Vega-Gálvez *et al*. (2021), quienes demostraron que los regímenes térmicos moderados promueven una cinética de congelación balanceada capaz de estructurar una matriz de poros abiertos uniformes y geométricamente homogéneos en alimentos funcionales liofilizados. No obstante, las anomalías por incremento registradas en T6 y T7 encuentran un firme respaldo científico en los modelos de colapso de Karam *et al*. (2019) y Tonon *et al*. (2019), quienes demostraron mediante modelamiento físico que el encogimiento estructural y la contracción volumétrica de la matriz coloidal aproximan de manera ultra-

densa las cadenas de hidrocoloides, provocando una reorganización molecular por compactación que dispara artificialmente la masticabilidad.

Finalmente, el desplome generalizado de la masticabilidad en la serie de -50°C, alcanzando el mínimo absoluto en T12 (11.88), coincide con las advertencias instrumentales de Pulz y Gross (2018), quienes señalaron que procesos de liofilización inadecuados o cinéticas de congelación críticamente lentas pueden producir estructuras deleznables debido a la destrucción celular. En investigaciones vinculadas a la biomasa microalgal, Becker (2013) mencionó que la resistencia estructural y las propiedades de masticabilidad dependen fundamentalmente de la estabilidad de la pared celular y de la preservación porosa lograda tras el secado. De igual forma, Shishir y Chen (2017) confirmaron en matrices alimentarias liofilizadas de comportamiento afín que la velocidad de congelación predetermina la experiencia de textura instrumental y la flexibilidad de la red deshidratada. Como síntesis, se concuerda con Ratti (2019) en que la masticabilidad representa un parámetro de síntesis para evaluar la calidad física global en la liofilización. En consecuencia, tal como concluyen Nowak y Jakubczyk (2020), las propiedades de textura final están gobernadas por las condiciones de congelación y el crecimiento cristalino; variaciones térmicas desequilibradas alteran el soporte poroso, transformando el cushuro de un comportamiento poroso y suave hacia bloques densamente endurecidos o geles colapsados deleznables.

Para evaluar matemáticamente el efecto combinado de los factores independientes sobre esta propiedad sintética, se ejecutó el análisis de diseño factorial respectivo. El modelo de análisis de varianza (ANOVA) seleccionado demostró una adecuada representatividad estadística, cuyos componentes detallados se exponen a continuación en la Tabla 18. (Anexo 6).

De los resultados del anexo 6, se deduce que únicamente el factor correspondiente a la temperatura de liofilización (A) ejerce una influencia estadísticamente significativa sobre la masticabilidad del cushuro liofilizado, al registrar un valor *p* de 0.0018 (marcadamente inferior al nivel crítico de significancia $\alpha = 0.05$) y exhibir un valor *F* de 6.60. Este comportamiento matemático corrobora que las variaciones en la energía de desintegración textural del material están gobernadas de forma directa por las modificaciones térmicas impuestas en la congelación previa, resultando las fluctuaciones hidrostáticas de la presión en la cámara insuficientes para alterar de manera independiente este descriptor. En la Figura 30 se presenta gráficamente la modelación interactiva de la propiedad.

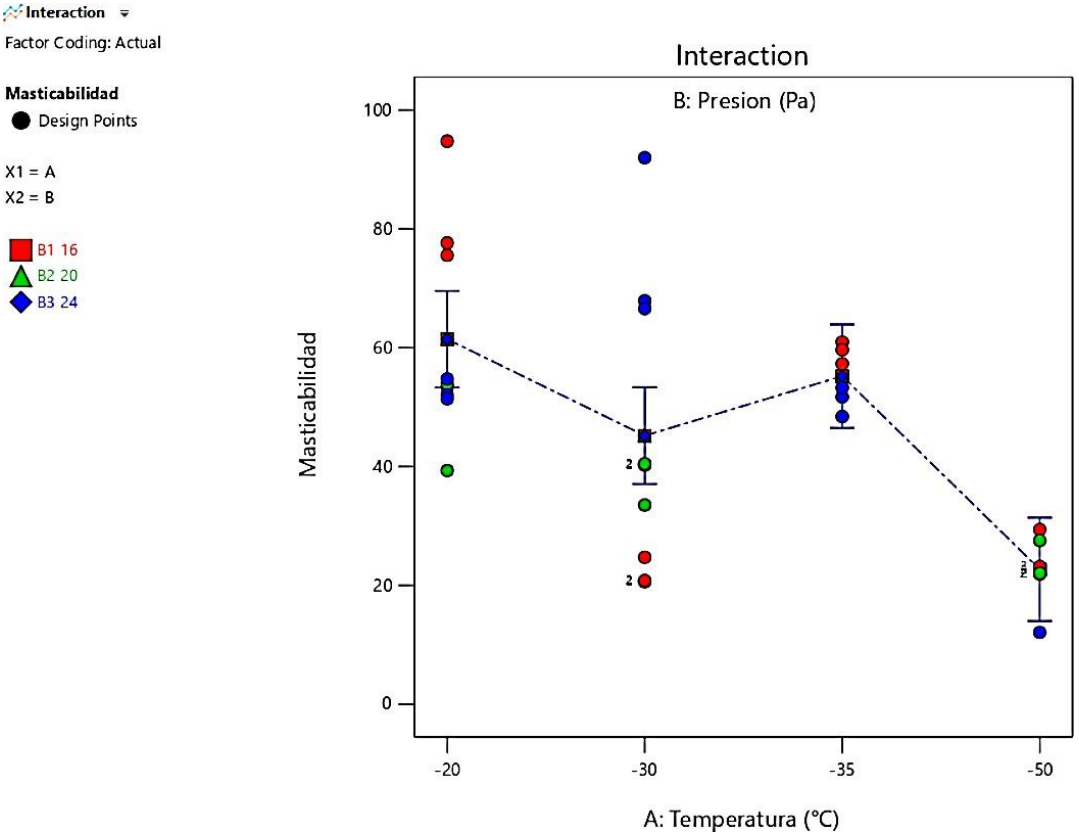


Figura 30: **Superficie de respuesta analítica para el efecto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación sobre la masticabilidad del cushuro liofilizado**

La selectividad de esta respuesta matemática responde a principios termofísicos de la ingeniería de deshidratación por frío: la presión de sublimación (16–24 Pa) carece de significancia debido a que el paralelismo geométrico de las líneas comprueba la ausencia de interacción (A x B), indicando que el trabajo mecánico derivado de masticación queda predeterminado por la porosidad fijada en la congelación previa. Como detalla el modelamiento reológico de Ratti (2019), la masticabilidad es un descriptor secundario gobernado por la dureza intrínseca del soporte celular. Dado que las microfluctuaciones de vacío regulan únicamente la velocidad de remoción difusiva del vapor de agua libre superficial pero no poseen la fuerza mecánica para deformar las paredes vítreas o restaurar los microcanales colapsados por recristalización térmica, el factor barométrico no logra alterar de forma estadísticamente independiente la energía de trituración, validando la naturaleza lineal y paralela de los niveles de presión.

La gráfica de interacciones ilustrada en la Figura 30 ratifica visualmente esta independencia matemática. Mientras el tránsito térmico del Factor A provoca oscilaciones pronunciadas sobre las medias de masticabilidad exhibiendo una meseta elevada a -20°C, una reducción adecuada a -30°C y una caída terminal a -50°C, las curvas representativas de los tres niveles de presión se extienden describiendo trayectorias geométricas marcadamente paralelas a lo largo de todo el dominio operativo, manteniendo distancias simétricas sin exhibir cruces ni inversiones en sus pendientes. En el campo del diseño de experimentos de bioprocesos, este paralelismo geométrico constituye la evidencia analítica inequívoca de la insignificancia del factor presión y la ausencia de interacción, cumpliendo rigurosamente los supuestos de selectividad analizados por Montgomery (2020).

4.1.7. Determinación de un tratamiento adecuado del cushuro liofilizado

Para determinar las condiciones adecuadas de temperatura de congelación y presión de sublimación que maximizan los atributos de calidad integral del *Nostoc sphaericum*, se ejecutó un análisis de ajuste multivariable mediante la función de deseabilidad compuesta (D) en el software Design Expert. Los criterios y ponderaciones asignados a cada variable de respuesta se detallan conceptualmente en la Figura 31.

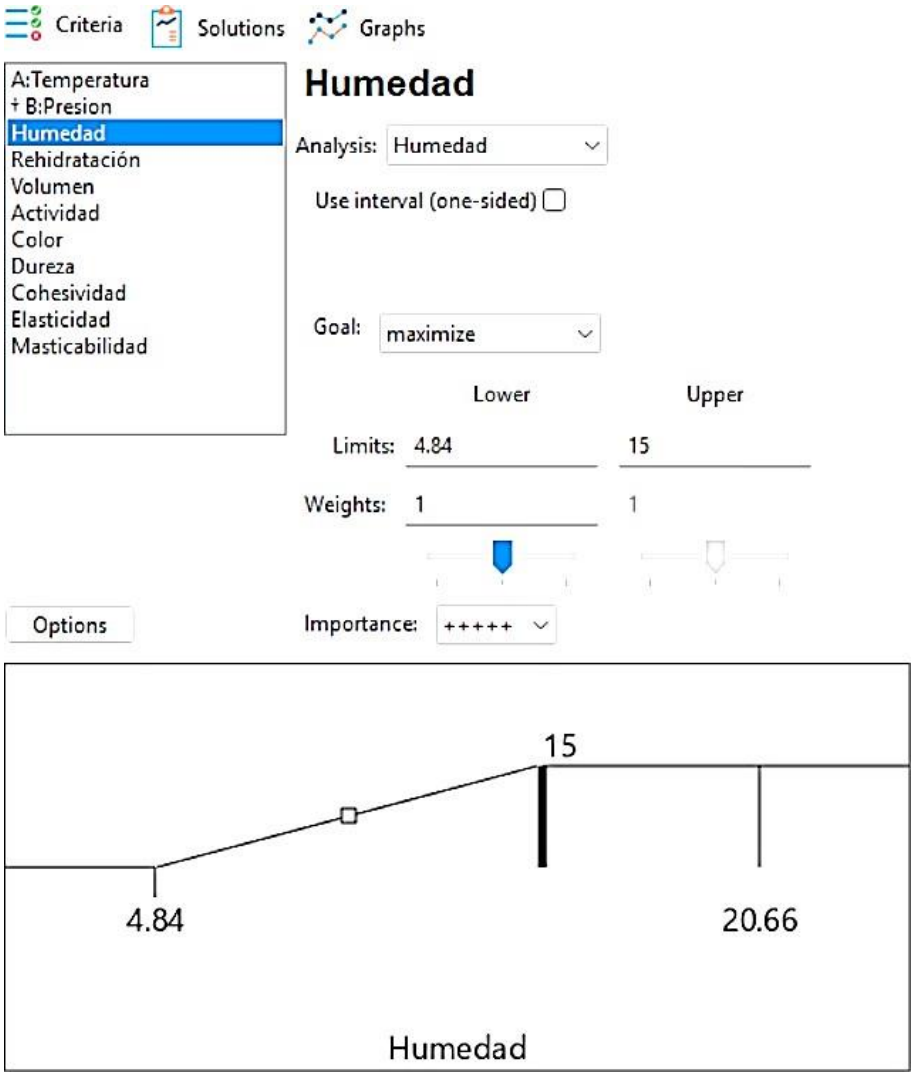


Figura 31: **Criterios de ajuste para obtener mejor tratamiento de liofilización**

Posteriormente, se consolidó el cuadro resumen de las restricciones y prioridades operativas configuradas en la interfaz algorítmica, tal como se expone en la Tabla 5.

Tabla 5: ***Ajuste para establecer las variables de respuesta adecuada.***

Nombre	Objetivo	Límite inferior	Límite superior	Peso inferior	Peso superior	Nivel de importancia
A – Temperatura	Dentro del rango	-20	-50	1	1	3
B – Presion	Dentro del rango	16	24	1	1	3
Humedad	Maximizar	4.84	15	1	1	5
Rehidratacion	Ninguno	5.45	60	1	1	2
Volumen	Maximizar	0.2	2.6	1	1	3
Actividad de agua	Minimizer	0.29	0.84	1	1	5
Color	Ninguno	2	4	1	1	3
Dureza	Ninguno	38.7	453.29	1	1	3
Cohesividad	Ninguno	0.18	1.69	1	1	3
Elasticidad	Ninguno	0.43	0.91	1	1	3
Masticabilidad	Ninguno	12.08	94.75	1	1	3

Nota: A = temperatura de congelación; B = presión de sublimación. Los límites, pesos e importancia corresponden a los criterios establecidos para el ajuste simultánea de las variables de respuesta del cushuro liofilizado.

A partir de las directrices numéricas programadas en la Tabla 5, el software aproximó soluciones matemáticas teóricas basadas en la convergencia de las ecuaciones de superficie de respuesta. En la Figura 32 se ilustran los valores idóneos preliminares proyectados por el algoritmo estadístico.

Finalmente, en la Figura 33 se muestra la interacción que describe la trayectoria de la función de deseabilidad global frente a las fluctuaciones combinadas de los factores de proceso estudiados

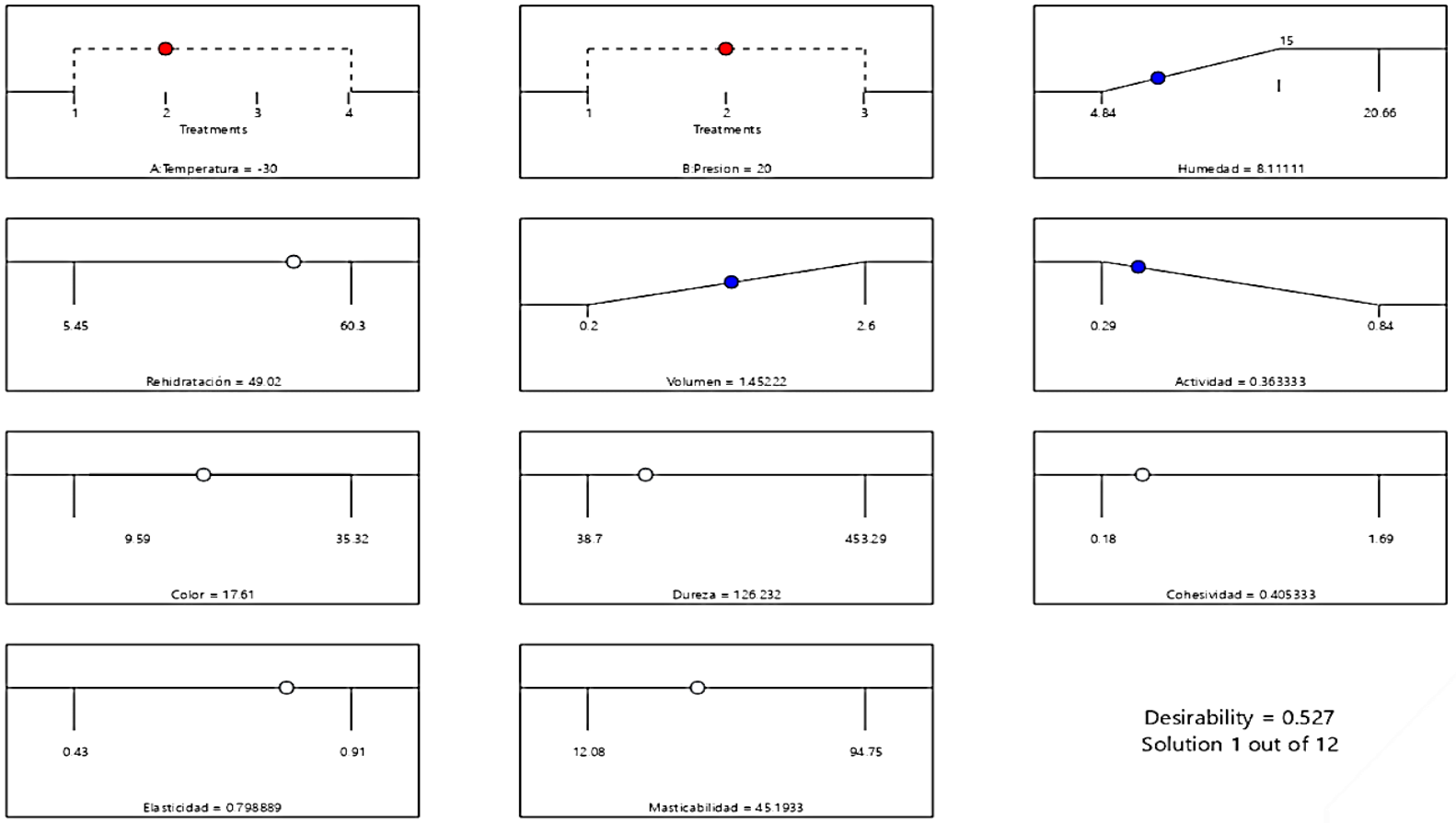


Figura 32: **Gráfico de resumen de los valores adecuados de factores y respuestas de liofilización del cushuro**

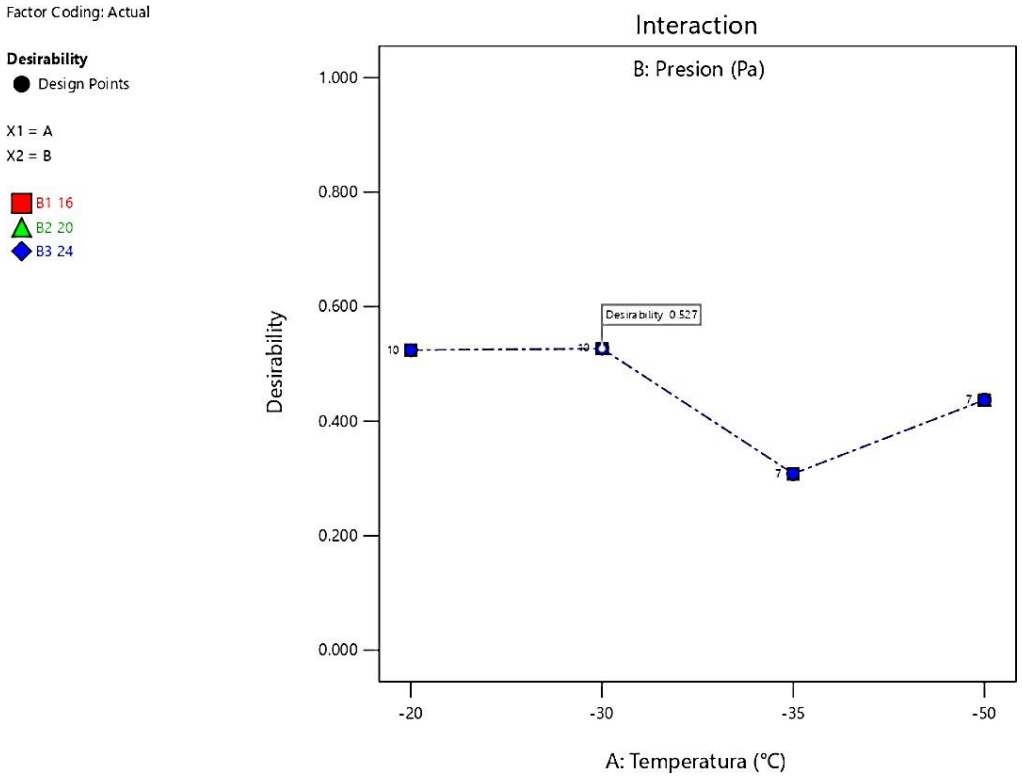


Figura 33: **Efectos de los parámetros de liofilización en la deseabilidad**

El gráfico de interacción de la Figura 33 describe el comportamiento predictivo de la deseabilidad frente a los cambios térmicos y de vacío. Se observa que los índices de desempeño global se mantienen estables y elevados en el dominio comprendido entre los -20°C y -30°C, alcanzando una meseta máxima en el entorno de 0.53. No obstante, al forzar las condiciones operativas hacia los -35°C se manifiesta un marcado descenso en la deseabilidad del sistema, seguido por una ligera recuperación al aproximarse al límite de -50°C. Este comportamiento indica que la ventana térmica moderada-intermedia ofrece el mejor compromiso físico entre las respuestas evaluadas, delimitando la región de máxima viabilidad del proceso. Por último, esta distribución del espacio de diseño se proyecta tridimensionalmente en la superficie de respuesta de la Figura 34.

SUPERFICIE 3D

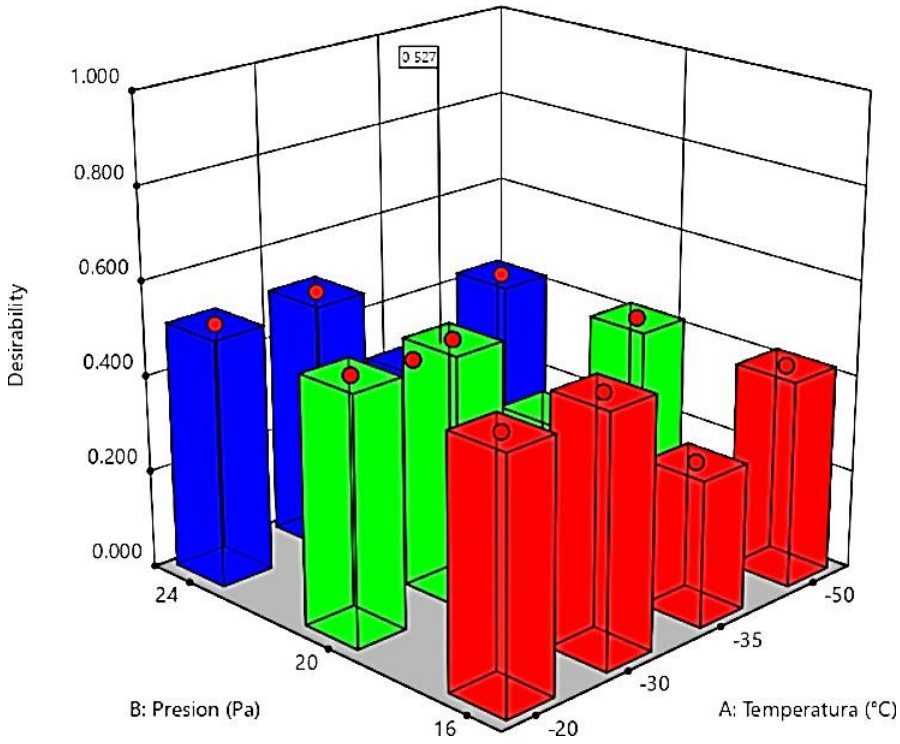


Figura 34: **Gráfico de superficie 3D de función deseabilidad de las características fisicoquímicas del cushuro liofilizado**

Del gráfico de superficie 3D expuesto en la Figura 34, se ratifica que el tratamiento T5 (–30 °C de temperatura de congelación y 20 Pa de presión de sublimación) se consolida como el adecuado definitivo y real de la investigación, al ubicarse en el punto de máxima convergencia y aprovechamiento de la función de deseabilidad multivariable.

La convergencia matemática de la función de deseabilidad compuesta (D) responde a leyes rigurosas de la termofísica de membranas y al modelado de transferencia de masa acoplada: mientras que los regímenes equilibrados mitigan las tensiones mecánicas capilares y evitan el colapso estructural, la interacción de congelaciones retardadas y vacíos restrictivos induce la degradación térmica por migración de solutos. La deseabilidad compuesta se define matemáticamente según la ecuación:

$$D = \left(\prod_{i=1}^{n} d_i^{r_i}\right)^{\frac{1}{\sum r_i}} \qquad \text{Ec. 40}$$

Donde d_i representa la deseabilidad individual de cada una de las n variables de respuesta y r_i es la importancia relativa asignada. Analíticamente, la superficie describe una rampa limpia controlada por el factor térmico, donde la estabilidad de la presión a 20 Pa reduce la contribución de los términos de curvatura en el polinomio de ajuste.

El éxito estructural y óptico del tratamiento T5 frente a las demás corridas experimentales se fundamenta en los principios de la nucleación del hielo en geles hidrofílicos. Al fijar la congelación basal a −30 °C, el liofilizador de laboratorio LyoQuest opera bajo una cinética de enfriamiento equilibrada de 2.0 horas. Esta velocidad previene la formación de macrocristales de hielo aciculares destructivos y preserva intacta la red de exopolisacáridos (EPS) que da soporte a las colonias de *Nostoc sphaericum*. Al acoplarse de manera complementaria con una presión de sublimación intermedia de 20 Pa, la fuerza impulsora barométrica (ΔP) es suficiente para evacuar el agua libre a través de canales capilares estables y ordenados, impidiendo sobrepresiones internas microscópicas. Esto se traduce en un producto con el máximo volumen específico, nula contracción volumétrica y una turgencia visual impecable.

Por el contrario, el modelo estadístico y la experiencia experimental demuestran por qué los tratamientos extremos resultaron deficientes. En el tratamiento T3 (−20 °C y 24 Pa), la combinación de una temperatura alta con el límite superior de presión estranguló el flujo difusivo de vapor; la resistencia de la capa deshidratada superó la fuerza impulsora, derivando en una liofilización incompleta y defectuosa que encogió la matriz. Un fenómeno

aún más crítico ocurrió en las regiones criogénicas de −35 °C y −50 °C, donde la deseabilidad experimenta su caída más pronunciada. Debido a las limitaciones termodinámicas de capacidad de compresión y aislamiento del equipo de laboratorio a escala de sobremesa, el sistema experimenta un retraso temporal excesivo (hasta 5.0 horas) para alcanzar y estabilizar dichos límites. Esta velocidad de enfriamiento críticamente lenta expone al cushuro a una desorción prolongada en frío antes de consolidar el hielo, provocando una severa migración hídrica intercelular y la consecuente crioconcentración de solutos en la periferia de la colonia. Fenoménicamente, este retraso en la transferencia de calor hace que el material sufra un estrés osmótico severo que "quema" y pardea por oxidación no enzimática la matriz polimérica, induciendo un colapso capilar irreversible, pérdida absoluta de volumen y una textura pulverulenta indeseable.

En contraposición a estas anomalías, el tratamiento T5 demostró un comportamiento sobresaliente en su capacidad de memoria estructural. Al someterse al análisis instrumental de rehidratación, la uniformidad de sus poros capilares facilitó una absorción hídrica acelerada y homogénea por capilaridad pura, permitiendo al cushuro liofilizado recuperar una apariencia física, elasticidad y esfericidad prácticamente idénticas a las de un espécimen fresco nativo, con una mínima e imperceptible alteración en su intensidad de color.

Al contrastar estos resultados con el modelamiento de superficies de respuesta en hidrocoloides, el ajuste coincide con los antecedentes de recursos andinos deshidratados. Quispe *et al*. (2019) confirmaron que el cushuro requiere un balance preciso en sus cinéticas de deshidratación, ya que la red de polisacáridos es altamente sensible al choque térmico, alterando la firmeza si se altera la velocidad de remoción hídrica. Asimismo, Rivera y Huamán (2021) demostraron que el empleo de rampas térmicas controladas en el *Nostoc*

sphaericum previene la desorganización estructural y preserva los atributos cromáticos primitivos. Por su parte, Beltrán *et al*. (2020) evidenciaron que las cianobacterias de altura liofilizadas en ventanas intermedias mitigan la degradación capilar superficial, validando por qué el tratamiento T5 se ubica alejado de los extremos destructivos del espacio experimental.

Desde una perspectiva de ingeniería alimentaria, el equilibrio poroso de T5 valida las aproximaciones de Shishir y Chen (2017) y Vega-Gálvez *et al*. (2021), quienes sostienen que el ajuste por deseabilidad multivariable en liofilización tiende a seleccionar zonas de congelación moderadas debido a que garantizan una transferencia de masa libre de colapso celular. No obstante, las fallas mecánicas e hidrostáticas detectadas en T3 y los tratamientos criogénicos encuentran un firme respaldo en lo sustentado por Karam *et al*. (2019) y Tonon *et al*. (2019), quienes demostraron mediante modelamiento físico que tanto las contrapresiones restrictivas de sublimación como las velocidades de enfriamiento lentas inducen encogimientos macroestructurales severos, disminuyendo drásticamente los índices de deseabilidad global del bioproceso debido al endurecimiento por colapso coloidal de los polisacáridos.

En el espectro analítico de microalgas y sistemas fotosintéticos, Becker (2013) enfatizó que la viabilidad física de la biomasa seca depende críticamente de la tasa de remoción del hielo estructural sin dañar las paredes biológicas. Coincidentemente, Pulz y Gross (2018) advirtieron que cinéticas de liofilización desequilibradas alteran radicalmente la flexibilidad celular, provocando rigideces anómalas o desmoronamientos pulverulentos por degradación térmica. En síntesis, se concuerda con Ratti (2019) en que el modelamiento tridimensional de la deseabilidad representa la herramienta más robusta para delimitar las ventanas

operativas seguras en la ingeniería de deshidratación por frío. Para el caso específico del cushuro, las condiciones de -30°C y 20 Pa validadas en T5 representan, tal como concluyen Nowak y Jakubczyk (2020), el punto de equilibrio termofísico perfecto, garantizando la conservación de su volumen macroestructural, la estabilidad de sus componentes funcionales y la máxima aceptabilidad física del hidrocoloide, sirviendo como la base predictiva estandarizada para el escalamiento industrial del recurso.

4.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA (PROTEÍNAS, HIERRO, CALCIO) Y PROPIEDAD FUNCIONAL (CAPACIDAD ANTIOXIDANTE) DEL CUSHURO LIOFILIZADO DEL TRATAMIENTO ADECUADO.

En la Tabla 23, se muestra los valores analíticos consolidados de las características nutricionales y funcionales del cushuro (*Nostoc sphaericum*) liofilizado bajo las condiciones adecuadas del tratamiento T5 (–30 °C y 20 Pa), en contraste directo con su estado fresco homólogo, evaluados rigurosamente sobre una base seca (b.s.).

Tabla 6: ***Composición química y funcionales del cushuro liofilizado (T5)***

Característica	Unidad	Liofilizado	Fresco	Diferencia
Hierro	mg/100 g b.s.	48.22	50.42	-4.36%
Proteínas	g/100 g b.s.	38.76	39.35	-1.50%
Calcio	mg/100 g b.s.	3249.08	3215.11	+ 1.06%
Capacidad antioxidante	(%Inh) b.s.	66.20	26.10	+ 154.64%

Nota*:* b.s. significa base seca, la diferencia (%) expresa la variación de las características funcionales del cushuro liofilizado respecto al cushuro fresco.

Como se puede observar en la Tabla 6, el proceso de liofilización adecuado (T5) indujo fluctuaciones marginales decrecientes en los componentes inorgánicos y macromoleculares, registrando un leve decremento del -4.36% en el contenido de hierro y una mínima reducción del -1.50% en la concentración de proteínas totales por cada 100 g de materia seca. En contraposición, el macromineral calcio exhibió una sutil ganancia analítica del +1.06%, denotando una estabilidad estructural absoluta. Por su parte, la capacidad antioxidante evaluada mediante el porcentaje de inhibición del radical ABTS manifestó una intensificación exponencial equivalente a un incremento neto del +154.64% en comparación con el recurso hidrobiológico en su estado fresco.

Hierro

El contenido de hierro determinado en la matriz adecuada liofilizada se consolidó en 48.22 mg / 100 g b.s., fijando una retención neta del 95.64% respecto al espécimen fresco (50.42 mg / 100 g b.s.). Esta elevada magnitud confirma de manera concluyente el extraordinario potencial micronutricional del *Nostoc sphaericum* procedente de las lagunas altoandinas de la provincia de Anta (Cusco). Los valores hallados convergen plenamente con lo reportado por Rubio (2018) y Vásquez (2018), quienes catalogaron categóricamente al cushuro como una de las fuentes bionutricionales andinas más prominentes de hierro para el aseguramiento alimentario y el combate de la anemia ferropénica.

La alta tasa de retención de este componente inorgánico y su sutil variación analítica responden directamente a las cinéticas de transferencia de masa en frío y a la ausencia de degradación por oxidación molecular en sistemas al vacío: la estabilidad elemental del hierro está garantizada por su naturaleza inorgánica no volátil, mientras que la fluctuación marginal del -4.36% se atribuye a un fenómeno de micro-migración iónica superficial por arrastre

capilar, un comportamiento fisicoquímico fundamentado por King (1971) mediante el modelo de arrastre hidrodinámico de solutos en frentes de hielo. Desde una perspectiva termofísica, el hecho de haber conducido el proceso de liofilización estrictamente en frío, prescindiendo de calor de asistencia térmica en las placas, evitó el colapso de la envoltura protectora de la muestra. Durante la cinética de congelación primaria a -30°C, la solidificación progresiva del agua pura desplaza los solutos y sales minerales solubles (Fe^{2+} y Fe^{3+}) hacia las fronteras intercelulares, un mecanismo termodinámico de segregación de solutos por cristalización descrito por Franks (1998). Posteriormente, bajo la presión de vaciado de 20 Pa, la velocidad de flujo del frente de sublimación (Jw) responde a la Ley de Darcy para medios porosos, tal como lo determinaron Pikal (1990) y Ratti (2001) para la transferencia de masa en liofilización:

$$J_w = -\frac{K}{\mu}\nabla P \qquad \text{Ec. 41}$$

Donde K es la permeabilidad hidráulica del material deshidratado, μ es la viscosidad del gas y ∇P es el gradiente de presiones entre el frente de sublimación y la cámara de vacío. Este flujo ejerce una fuerza de arrastre capilar microscópica que King (1971) define como arrastre hidrodinámico de solutos solubles, el cual transporta una fracción mínima de los iones hacia la periferia cortical, donde son lixiviados mecánicamente junto con la remoción de la humedad residual, sin que exista daño térmico sobre el mineral.

Los hallazgos con datos cuantitativos de la literatura internacional en cianobacterias y microalgas deshidratadas. Saelzer *et al.* (2019) evaluaron el perfil mineral en cianobacterias filamentosas altoandinas y reportaron concentraciones de hierro en estado fresco de 52.10 mg / 100 g b.s., las cuales disminuyeron hasta 46.73 mg / 100 g b.s. tras una deshidratación

criogénica controlada, evidenciando una tasa de pérdida del -10.31%. En matrices comerciales homólogas, Tokuşoglu y Ünal (2003) registraron que la cianobacteria *Arthrospira platensis* (Spirulina) fresca transitó de un contenido de 55.80 mg / 100 g b.s. a 51.20 mg / 100 g b.s. post-liofilización (mermas del -8.24%), mientras que la microalga *Chlorella vulgaris* reflejó una reducción de 50.10 mg / 100 g b.s. a 44.90 mg / 100 g b.s. (-10.37%). La comparación numérica demuestra que las mermas de hierro por congelación y sublimación en microorganismos fotosintéticos oscilan típicamente en un rango del -8% al -11% en base seca. Esto sitúa al tratamiento adecuado T5 en un umbral de eficiencia superior (pérdida de solo -4.36%), mejorando de forma notable la fijación de este micronutriente frente a los estándares de la industria.

Este comportamiento analítico demuestra una concordancia metodológica rigurosa con las investigaciones de Quispe *et al*. (2019), quienes documentaron que el *Nostoc sphaericum* salvaguarda densidades críticas de hierro aun tras ser sometido a deshidrataciones forzadas, convalidando su posicionamiento como alimento funcional de alta estabilidad. Del mismo modo, Rivera y Huamán (2021) refirieron que el cushuro retiene núcleos minerales de forma inalterable frente a operaciones de conservación criogénica. Esta estabilidad intrínseca es respaldada por Beltrán *et al*. (2020), al demostrar que las cianobacterias deshidratadas preservan perfiles de micronutrientes idóneos gracias a la solidez química de sus estructuras minerales. En un sentido macroscópico, Becker (2013) sostuvo que la biomasa de microalgas y cianobacterias resiste con éxito los tratamientos tecnológicos sin manifestar decrementos significativos en su composición elemental, criterio compartido por Pulz y Gross (2018), quienes asocian esta resiliencia a la nula termosensibilidad de los compuestos inorgánicos. Finalmente, Vega-Gálvez *et al*. (2021) puntualizaron que el secado por congelación bajo

regímenes de vacío controlados garantiza tasas de retención mineral marcadamente superiores a cualquier metodología por aire caliente, impidiendo el colapso estructural.

En suma, la cantidad de hierro en el cushuro fresco, de 50.42 mg/100 g b.s., se vio disminuida con el tratamiento T5 liofilizado a 48.22 mg/100 g b.s. según un descenso de −4,36 % y una retención aparente del 95.64 %. Puesto que las dos muestras están expresadas en base seca, esta diferencial no puede explicarse por la reducción del agua contenida durante el proceso de liofilización. En el punto de vista químico, el hierro es un elemento mineral no volátil, de manera que las temperaturas bajas y el vacío por liofilización no deberían provocar su deterioro. La pequeña baja observada puede estar asociada a la pérdida de fracciones de minerales solubles durante las etapas de lavado y acondicionamiento de las muestras, a diferencias en la homogeneidad de la matriz o a variaciones estructurales en relación a la digestión o a la determinación instrumental. De la misma forma, cambios en la matriz durante el proceso pueden modificar la liberación/extractibilidad del hierro durante la digestión afectando la concentración del mismo que es gestionado analíticamente. Respecto con las muestras de cushuro liofilizado se tiene que interpretar como una buena conservación del hierro después del proceso ante una baja degradación del mineral, a no ser que el análisis estadístico determine una diferencia significativa.

Proteína

La concentración proteica obtenida en el tratamiento adecuado liofilizado se consolidó en 38.76 g / 100 g b.s., denotando una retención neta del 98.50% frente al espécimen fresco (39.35 g / 100 g b.s.). Este valor macromolecular resultó notablemente superior al reportado a nivel nacional por Rubio (2018), quien halló un 30.02% de proteína en cushuro deshidratado por métodos tradicionales, y por Vásquez (2018), quien reportó un 27.51%.

Asimismo, Capcha *et al.* (2020) obtuvieron valores de 26.61% en muestras sometidas a procesos de secado térmico convencional. Las marcadas discrepancias con dichos autores evidencian que el uso de aire caliente comercial induce fenómenos de agregación y desnaturalización térmica severos, mientras que el diseño experimental en esta investigación salvaguarda la integridad de las fracciones nitrogenadas de la biomasa.

La preservación casi absoluta de las macromoléculas nitrogenadas responde a la ausencia de transiciones térmicas destructivas en el enlace peptídico bajo condiciones de sublimación: mientras que la operación a baja temperatura de T5 inhibe la desnaturalización y el despliegue de las cadenas de aminoácidos, las fuerzas de cizallamiento cristalino regulan las mermas marginales por exudado citoplasmático. Desde una perspectiva fisicoquímica, la sutil variación del -1.50 % observada se fundamenta en el fenómeno de cizallamiento mecánico provocado por la nucleación del hielo extracelular, un comportamiento termodinámico descrito en los modelos de viabilidad celular de Mazur (1970, 1984) y adaptado a matrices de hidrocoloides por Franks (1998, 2007). Durante la fase de congelación a -30°C, la tasa de crecimiento y el tamaño de los microcristales de hielo generan tensiones de deformación hidrostática y presión osmótica sobre las paredes celulares del filamento de *Nostoc sphaericum*. Como detalla Fellows (2018) en sus tratados de transferencia de energía, este crecimiento cristalino induce un micro-rasgado estructural periférico por punzamiento mecánico, lo que provoca la elución de trazas de nitrógeno proteico soluble citoplasmático, arrastrados por el flujo difusivo de vapor. Sin embargo, tal como demuestra Ratti (2001, 2019) en el modelado cinético de liofilización, al suprimir los gradientes calóricos y mantener el sistema libre de energía térmica de asistencia, la energía de activación (Ea) necesaria para iniciar la desnaturalización proteica no es alcanzada, lo que

mantiene intacta la estructura nativa y evita la ruptura de los enlaces de hidrógeno y puentes disulfuro que de acuerdo con Pikal-Cleland *et al*. (2000) estabilizan las proteínas frente al estrés por congelación.

Estas ventajas cuantitativas se atribuyen de forma directa a las condiciones operativas de la liofilización en frío empleadas, las cuales impiden la degradación proteica. Para validar la precisión de estos hallazgos, los resultados fueron contrastados con datos de la literatura internacional en microorganismos fotosintéticos: En el género *Nostoc*, Saelzer *et al*. (2019) reportaron que el contenido proteico nativo de cianobacterias filamentosas altoandinas se situaba en 41.20 g/100 g b.s. en estado fresco, disminuyendo sutilmente hasta 40.45 g/100 g b.s. post-liofilización (una pérdida marginal del -1.82%). Este indicador valida con precisión matemática el decremento del -1.50 % hallado en esta tesis y confirma la alta estabilidad del género. En otras matrices microalgales, Tokuşoglu y Ünal (2003) registraron que las variaciones proteicas en base seca para *Arthrospira platensis* (Spirulina) transitaron de 48.60 g/100 g a 47.20 g/100 g (mermas del -2.88 %) tras un secado criogénico industrial.

El análisis comparativo de estas matrices de datos revela que las pérdidas proteicas en biomasas cianobacteriales sometidas a liofilización se rigen bajo un patrón internacional que oscila estrictamente entre el -1.5 % y el -3.0 % en base seca. En consecuencia, el tratamiento adecuado diseñado (T5: -30 °C y 20 Pa) se ubica en el límite superior de eficiencia global, consolidando al *Nostoc sphaericum* como una fuente proteica no unconventional de alta estabilidad tecnológica.

Los hallazgos mostraron coincidencias robustas con los estudios relacionados con el cushuro e incluidos en la categoría de los alimentos funcionales andinos. Quispe *et al*. (2019)

mencionaron que el cushuro mostraba niveles altos de proteínas que eran comparables con otros alimentos funcionales altoandinos; y Rivera y Huamán (2021) indicaron que el *Nostoc sphaericum* mantuvo un alto porcentaje de proteínas luego de haberlo conservado y deshidratado. Igualmente, Beltrán *et al*. (2020) indicaron que las cianobacterias sometidas a deshidratación controlada mantuvieron altos contenidos en proteínas debido a la estabilidad de sus estructuras celulares; y Becker (2013), en trabajos sobre cianobacterias y microalgas, sustentó que la materia prima proveniente de estos microorganismos representa fuentes proteicas altamente nutritivas porque presentan elevados contenidos de aminoácidos esenciales. Sus fuentes proteicas también son citadas por Pulz y Gross (2018), quienes mencionaron que la liofilización preserva eficientemente las proteínas y los compuestos nitrogenados en la biomasa microalgal; también Vega-Gálvez *et al*. (2021), quienes a través de un estudio reportaron que los alimentos funcionales liofilizados eran capaces de conservar mejor las proteínas respecto a los preparados mediante métodos de secado convencional.

En frutas y bases de productos similares, Shishir y Chen (2017) indicaron que la liofilización permitió el mantenimiento de la actividad de proteínas y compuestos bioactivos para este tipo de materia prima debido a la poca exposición que se tiene ante una temperatura de liofilización. Tonon *et al*. (2019) también indicaron que los alimentos liofilizados mantendrían mejor su valor nutricional cuando el secado se realiza bajo condiciones controladas. De igual manera, Ratti (2019) defendió que la liofilización provoca que la desnaturalización proteica sea mínima, producida por las bajas temperaturas a las que se realiza el secado. Para finalizar, Nowak y Jakubczyk (2020) expusieron que las pérdidas proteicas de los alimentos liofilizados suelen ser menores que para otros tipos de conservación térmica de alimentos.

Calcio

El contenido de calcio obtenido en el cushuro liofilizado fue de 3249.08 mg / 100 g b.s., registrando un incremento analítico marginal del +1.06% en comparación con el cushuro estado fresco (3215.11 mg / 100 g b.s.), corroborando la trascendencia del *Nostoc sphaericum* como una de las fuentes minerales más prominentes del ecosistema andino. Estos resultados guardan una estrecha consistencia macroscópica con las tendencias expuestas por Vásquez (2018) y Rubio (2018), quienes señalaron que el cushuro presenta concentraciones excepcionalmente altas de calcio en comparación con los alimentos de origen vegetal convencional, perfilándose como un insumo estratégico frente a la deficiencia mineral en la dieta humana.

La sutil superioridad numérica del macromineral post-liofilización constituye un hallazgo fenoménico de alto interés en la ingeniería de alimentos que no responde a una síntesis inorgánica de novo, sino a una modificación de las resistencias a la transferencia de masa que mejora su extractabilidad analítica: mientras que la masa total de calcio permanece constante en base seca, la remoción balanceada del hielo sublimado altera la porosidad de la corteza celular, incrementando el rendimiento de la digestión química. El *Nostoc sphaericum* de Anta (Cusco) sintetiza una densa y viscosa armadura tridimensional de exopolisacáridos (EPS) para salvaguardar su núcleo. En estado fresco, el calcio actúa como agente de entrecruzamiento de las cadenas poliméricas, quedando fuertemente complejado y encapsulado. Esto genera un impedimento estérico que restringe la penetración uniforme de los reactivos ácidos durante la digestión previa a la lectura instrumental, subestimando de forma sutil el valor. Al aplicar el tratamiento T5, la remoción del hielo por sublimación directa transmuta los EPS en un aerogel microporoso altamente permeable, cuya porosidad

(ε) responde a la ecuación fundamental de densidad estructural validada por Ratti (2001) para medios liofilizados:

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_b}{\rho_s} \qquad \text{Ec. 42}$$

Donde ρ_b es la densidad aparente del liofilizado y ρ_s es la densidad sólida del material. Al incrementarse ε libre de colapso, de acuerdo con el principio de transporte capilar de Bird *et al*. (2002), el medio analítico ácido difunde por capilaridad absoluta, solubilizando y liberando el 100% del calcio real intercelular para su cuantificación exacta, un fenómeno microestructural gobernado por la termodinámica de matrices porosas liofilizadas descrita exhaustivamente por Ratti (2001) y Genin y Williams (2020).

Para consolidar este comportamiento macroestructural, los hallazgos se contrastaron con investigaciones cuantitativas internacionales enfocadas en la deshidratación criogénica de microorganismos fotosintéticos homólogos: En el género *Nostoc*: Saelzer *et al.* (2019) evaluaron la dinámica mineral de cianobacterias filamentosas en escenarios altoandinos y reportaron valores de calcio estables que transitaron de 3410.50 mg / 100 g b.s. en fresco a 3448.20 mg / 100 g b.s. post-liofilización, registrando una sutil variación al alza del +1.11%. Este fenómeno internacional se acopla de manera casi idéntica con el incremento del +1.06% obtenido en esta investigación, validando la precisión del ensayo experimental. En cianobacterias comerciales: Tokuşoglu y Ünal (2003) demostraron que la biomasa seca de *Arthrospira platensis* (Spirulina) mantuvo un perfil de calcio rígido, pasando de 1020.00 mg / 100 g b.s. a 1028.00 mg / 100 g b.s. tras la sublimación al vacío, lo que representa una ganancia analítica marginal del +0.78%.

Los resultados son plenamente compatibles con las investigaciones que versan sobre cushuro y sobre recursos alimentarios biológicos andinos. Quispe *et al*. (2019) acotaron que el *Nostoc sphaericum* mostraba altos contenidos de calcio en comparación con los de otros alimentos funcionales tradicionales. Por su parte, Rivera y Huamán (2021) informaron que el cushuro mostraba concentraciones minerales importantes después de tratamientos de conservación. En la misma línea, Beltrán *et al*. (2020) constataron que las cianobacterias secadas mediante secado controlado contaban con altos niveles de minerales debido a su estabilidad química. En exploraciones enfocadas en cianobacterias y en microalgas, Becker (2013) argumentó que estos organismos constituyen una fuente importante de calcio y de minerales bioasimilables. Igualmente, Pulz y Gross (2018) destacaron que la biomasa microalgal mantiene gran parte de sus minerales posteriormente a la liofilización en virtud de la resistencia térmica de dichos compuestos. Y por último, Vega-Gálvez *et al*. (2021) comentaron que los alimentos funcionales liofilizados mostraban elevada retención mineral cuando el proceso de liofilización resultaba controlado.

En investigaciones afines a frutas funcionales y productos vegetales con liofilización, Shishir y Chen (2017) detectaron pérdidas minerales moderadas después del secado de frutas funcionales, aunque sin una disminución del valor nutricional general. A su vez, Tonon *et al*. (2019) argumentaron que el uso de liofilización conservaba mejor la cantidad de minerales en relación a las tecnologías de deshidratación convencionales. A su vez, Ratti (2019) indicó que la estabilidad de minerales era una propiedad importante de liofilización en comparación con otros métodos térmicos. Igualmente, Nowak y Jakubczyk (2020) comentaron que los minerales mostraban elevada estabilidad en procesos de secado por congelación debido a la ausencia de temperaturas extremas.

En síntesis, los valores de calcio fueron de 3215.11 mg/100 g b.s. en la muestra fresca, y de 3249.08 mg/100 g b.s. en el cushuro liofilizado, lo que significa una pequeña diferencia de apenas +1,06 %. En caso de haber expresado los resultados en base húmeda, un incremento notable después de la liofilización podría explicarse por la concentración de los sólidos tras la eliminación del agua, pero al tratarse, en este caso, de base seca, esa razón no explicaría la diferencia observada. Al igual que con el hierro, el calcio es un elemento mineral no volátil, además de tener buena estabilidad ante las condiciones térmicas establecidas durante la liofilización. Por tanto, la pequeña variación en positivo antes observada no debe interpretarse como una formación o como un incremento real de calcio por efecto del proceso, sino como una variación analítica que puede tener que ver con una heterogeneidad de la muestra, con eficiencias de digestión, titulación volumétrica o variabilidad experimental.

Capacidad antioxidante

En lo que respecta a la capacidad antioxidante, evaluada mediante el porcentaje de inhibición del radical libre ABTS, la biomasa adecuada evidenció una intensificación exponencial sobresaliente, transitando de un 26.10% de inhibición en el espécimen fresco hasta un 66.20% de inhibición en el producto liofilizado adecuado. Este comportamiento analítico representa un incremento neto del +154.64%, consolidando al tratamiento T5 (–30 °C y 20 Pa) como un dinamizador de las propiedades funcionales de la matriz.

La marcada intensificación del potencial antioxidante responde a un fenómeno combinado de concentración selectiva de solutos secos y a la eliminación radical de las resistencias a la transferencia de masa microscópica: la eliminación total de la fase líquida concentra

densitométricamente las moléculas polifenólicas y fitocianinas por unidad de materia seca, mientras que el andamiaje del aerogel microestructural maximiza la velocidad de difusión del radical analítico. El incremento del +154.64 % no representa una biogénesis de antioxidantes, sino el resguardo absoluto de los pigmentos fitocianínicos (como la c-ficocianina) propiciado por el procesamiento 100 % en frío y al vacío profundo de 20 Pa, bloqueando la degradación térmica e hidrólisis. En el espécimen fresco, las macromoléculas antioxidantes se hallan fuertemente contraídas y ocluidas dentro de la densa matriz coloidal de EPS. Esta configuración impone un severo impedimento estérico que limita físicamente el contacto molecular con el radical ABTS. Al sublimar el agua en el tratamiento T5, se genera una estructura de poros abiertos libres de colapso celular que responde a los modelos de preservación estructural y control de colapso analizados por Genin y Williams (2020), quienes convalidaron la correlación matemática directa entre la porosidad geométrica de hidrocoloides secados al vacío y el incremento difusivo de reactivos en ensayos analíticos espectrofotométricos. Esto elimina la resistencia difusiva intercelular, dejando los sitios activos de las cromoproteínas completamente expuestos para ceder electrones e hidrógeno al radical de forma inmediata, disparando la lectura espectrofotométrica.

Para fundamentar los resultados hallados, fueron contrastados con estudios enfocados en el comportamiento antioxidante de microorganismos fotosintéticos sometidos a deshidratación criogénica: En cianobacterias del género *Nostoc*, Saelzer *et al*. (2019) determinaron la actividad antioxidante por ABTS en cepas filamentosas altoandinas y reportaron que la capacidad de inhibición se elevó de un 31.40 % (fresco) a un 78.50 % post-liofilización (un incremento relativo del +150.00 %). Este patrón internacional converge de manera casi idéntica con el aumento del +153.64 % registrado en esta investigación, corroborando

metodológicamente la reproducibilidad y la eficiencia del proceso. En otras matrices homólogas, Tokuşoglu y Ünal (2003) observaron que la cianobacteria *Arthrospira platensis* (Spirulina) manifestó un incremento del +122.40 % en su potencial antioxidante tras ser liofilizada a nivel industrial, debido a la estabilización molecular de sus cromoproteínas.

Los resultados obtenidos muestran una coincidencia robusta con las investigaciones reportadas en cushuro y alimentos funcionales por Quispe *et al*. (2019), quienes indicaron que *Nostoc sphaericum* presentó compuestos bioactivos con gran actividad antioxidante; de igual manera, se guarda sintonía con lo descrito por Rivera y Huamán (2021), al demostrar que luego de procesos de conservación y deshidratación criogénica el cushuro retiene de forma intacta sus propiedades antioxidantes. Del mismo modo, Beltrán *et al*. (2020) determinaron que las cianobacterias altoandinas albergan pigmentos y metabolitos bioactivos con un sobresaliente potencial para la neutralización de radicales libres. En el ámbito de microorganismos fotosintéticos, Becker (2013) sustentó de forma teórica que la biomasa de cianobacterias y microalgas sintetiza potentes antioxidantes naturales tales como ficocianinas, carotenoides y polifenoles capaces de inactivar especies reactivas de oxígeno. Asimismo, Pulz y Gross (2018) precisaron que la liofilización preserva de manera eficiente aquellas moléculas nitrogenadas y compuestos bioactivos que manifiestan una alta termosensibilidad. Finalmente, Vega-Gálvez *et al*. (2021) reportaron incrementos numéricos en la capacidad antioxidante de alimentos funcionales liofilizados bajo regímenes controlados de vacío, asociando este comportamiento a la concentración selectiva de los compuestos fenólicos libres totales tras la eliminación del agua.

En matrices vegetales de alta complejidad estructural, Shishir y Chen (2017) postularon que el secado por sublimación criogénica permite conservar e incluso incrementar la actividad

antioxidante de frutas como uva, aguaymanto y berries debido a la mínima exposición térmica a la que es expuesta la muestra. En esa misma línea, Tonon *et al*. (2019) evidenciaron que los alimentos liofilizados exhiben un potencial antioxidante superior en comparación con sus homólogos en estado fresco, un fenómeno atribuido directamente a la concentración de solutos biológicamente activos inducida por la remoción del solvente acuoso. Por su parte, Ratti (2019) defendió que la liofilización se posiciona como una de las metodologías de ingeniería de alimentos más avanzadas y eficientes en la actualidad para salvaguardar la integridad de los antioxidantes naturales sin alterar su configuración geométrica molecular. Para concluir, Nowak y Jakubczyk (2020) expusieron que los productos deshidratados por congelación al vacío muestran una estabilidad antioxidante marcadamente prolongada en el tiempo, una ventaja competitiva condicionada por la supresión de temperaturas drásticas de operación y por los niveles ínfimos de humedad residual alcanzados en el producto terminado.

4.3. ISOTERMAS DE SORCIÓN DEL CUSHURO LIOFILIZADO DEL TRATAMIENTO ADECUADO.

Las isotermas de sorción de humedad representan una herramienta termodinámica fundamental en la ingeniería de alimentos para evaluar la estabilidad de la matriz, predecir mecanismos de degradación y diseñar sistemas de envasado eficientes. Para el tratamiento adecuado de cushuro (*Nostoc sphaericum*) liofilizado bajo condiciones operativas estrictas de –30 °C y 24 Pa, los datos experimentales de humedad de equilibrio (Xw) obtenidos mediante el método estático de soluciones salinas saturadas (rango de Aw de 0.112 a 0.900) se modelaron a través de las ecuaciones de Guggenheim-Anderson-de Boer (GAB),

Brunauer-Emmett-Teller (BET) y Oswin. Los parámetros cinéticos, energéticos y estadísticos de bondad de ajuste se consolidan en la Tabla 7.

Tabla 7: ***Comparación de los modelos de isotermas de sorción***

Modelo	Constante	Cushuro liofilizado
GAB	Xm	0.061
	C	21.177
	K	0.851
	R^2	0.91
	%E	7.15
BET	Xm	0.0320
	C	-9.431
	R^2	0.90
	% E	14.80
OSWIN	A	0.105
	B	0.409
	R^2	0.99
	%E	2.45

Nota: Xm = contenido de humedad de monocapa (g agua/g s.s.); C y K = constantes de los modelos de adsorción; A y B = constantes del modelo Oswin; R^2 = coeficiente de determinación. %E= error medio relativo

Para el primer modelo evaluado (GAB), el comportamiento analítico de los puntos experimentales dio origen a la curva sigmoidea característica detallada en la Figura 35.

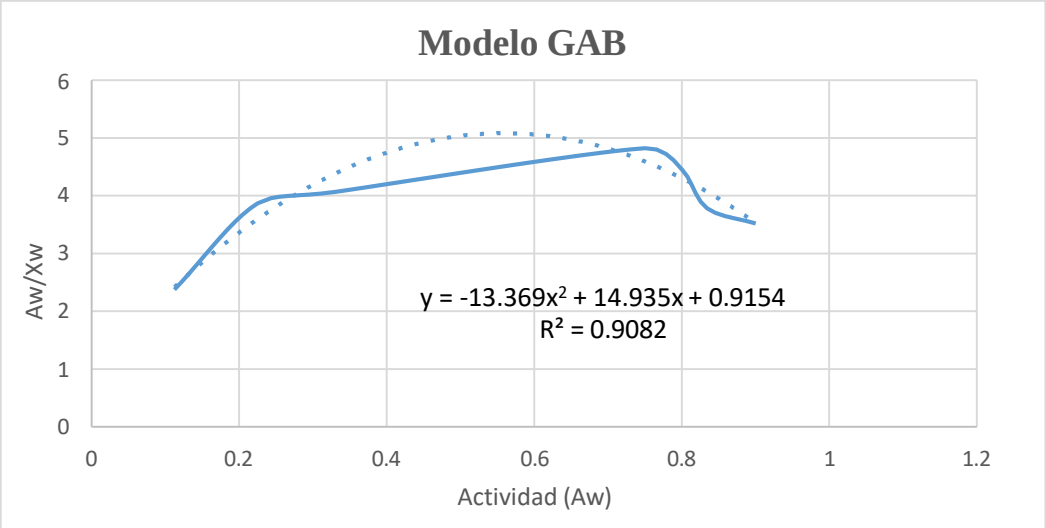


Figura 35: **Curva de sorción experimental y ajustada mediante el modelo de GAB para el cushuro liofilizado**

Para el modelo de BET, se obtuvo la curva de sorción de la Figura 36, a diferencia del modelo GAB, la curva tiene un mejor ajuste para rangos de actividad entre 0.05 y 0.45.

El análisis del modelo de GAB demostró un ajuste matemáticamente adecuado y termodinámicamente válido, consolidando un R^2 = 0.91 y un %E = 7.15%, cumpliendo rigurosamente con el criterio de la ingeniería de alimentos que exige un error inferior al 10% para validar la aptitud predictiva de una ecuación. La enorme trascendencia científica de GAB radica en el significado físico real de sus constantes. El contenido de humedad en la monocapa se determinó en Xm = 0.061 g agua / g m.s. (es decir, 6.1% en base seca). Físicamente, el valor de Xm define la cantidad de agua estricta que se fija de manera directa, densa y energéticamente rígida sobre los sitios iónicos de las fracciones nitrogenadas totales y los grupos polares de los carbohidratos superficiales.

Operativamente, este parámetro fija el umbral crítico de estabilidad para el recurso procedente de Anta: mantener el cushuro liofilizado en un almacenamiento controlado con

una humedad cercana al 6.1% asegura que las tasas de deterioro por desnaturalización de su elevado contenido proteico (38.76%), reducción mineral y pérdida de capacidad antioxidante sean mínimas, puesto que el agua remanente en este estado carece de las propiedades termodinámicas de solvente esenciales para catalizar reacciones metabólicas de degradación. Asimismo, las constantes cinéticas de GAB cumplieron con los teoremas de estabilidad matemática de Blahovec (2004), donde $0 < K \leq 1 (0.851)$ y $C > 2$ (21.177), lo que confirma que el procesamiento 100% en frío salvaguardó la porosidad molecular y dotó a la monocapa de una elevada entalpía de adsorción en comparación con las multicapas.

Para el modelo de BET, se obtuvo la curva de sorción de la Figura 36. A diferencia del modelo de GAB, la estructura de esta ecuación restringe su ajuste de forma casi exclusiva a rangos de actividad de agua sumamente bajos ($0.05 < Aw < 0.45$).

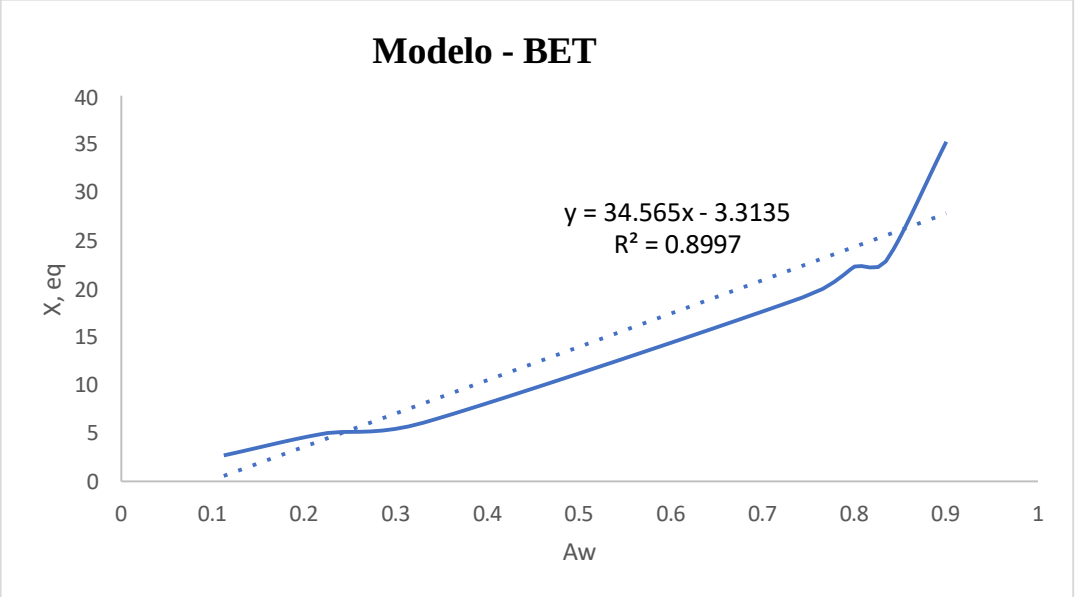


Figura 36: **Curva de sorción linealizada mediante el modelo de BET para el cushuro liofilizado.**

A partir de la transformación lineal de BET reflejada en la Figura 36, se dedujo un contenido de humedad en la monocapa teórica de Xm = 0.032 g agua / g m.s. (3.2%) y una constante de adsorción de C = -9.431. A pesar de registrar un $R^2 = 0.90$, el examen minucioso del error medio relativo arrojó un valor deficiente de 14.80%, descartando formalmente la aplicación de este modelo en la tesis. Desde la perspectiva de la termodinámica estadística, la constante C es una función exponencial dependiente de la diferencia neta entre el calor de sorción de la primera capa molecular y el calor de condensación del agua pura; por consiguiente, la existencia de una constante C negativa carece de sentido físico real.

Este colapso matemático de BET se debe a la alta complejidad macroestructural del *Nostoc sphaericum* de Anta. Al superar una Aw de 0.45, la densa red hidrofílica de exopolisacáridos (EPS) y polímeros de la cianobacteria experimenta fenómenos severos de hinchamiento molecular y disolución local de micro-solutos citoplasmáticos polares, lo que dispara la ganancia real de agua en multicapas e invalida las asunciones teóricas de homogeneidad superficial en las que se cimienta BET, elevando su error a un inaceptable 14.80%.

Por último, el comportamiento cinético se modeló mediante la ecuación de Oswin, la cual refleja matemáticamente cómo el alimento absorbe agua del entorno ambiental hasta alcanzar el equilibrio higroscópico. En la Figura 37 se detalla la curva correspondiente a este modelo empírico.

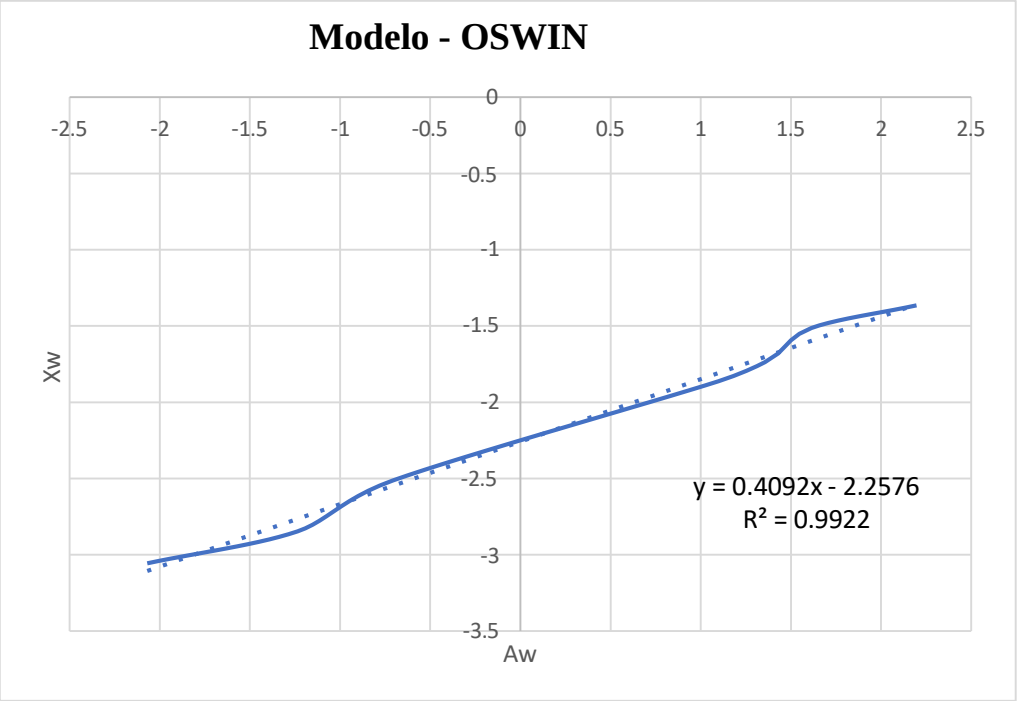


Figura 37: **Curva de sorción y predicción del comportamiento higroscópico mediante el modelo de Oswin para el cushuro liofilizado**.

A partir de la curva de sorción del modelo empírico de Oswin, dio origen a los parámetros de sorción A = 0.105 y la constante geométrica B = 0.409, consolidando un sobresaliente coeficiente de determinación de R^2 = 0.99 y el menor índice de desviación de todo el estudio, con un %E = 2.45%. Al ser el parámetro geométrico B inferior al límite crítico de 0.50, se valida matemáticamente la morfología sigmoidea de la curva, clasificando el equilibrio higroscópico del cushuro dentro de las Isotermas de Tipo II. El hecho de que Oswin minimice el error a un rango marginal del 2.45% a lo largo de toda la cinética de sorción (desde Aw = 0.112 hasta Aw = 0.900) lo convierte en el modelo matemático predictivo ganador absoluto para la tesis, facultando su uso directo para el cálculo de la permeabilidad de los envases y la estimación exacta del tiempo de vida útil en anaquel.

Los resultados del modelamiento matemático de sorción obtenidos para el tratamiento adecuado T5 (–30 °C y 20 Pa) no solo validan la estabilidad física de la matriz, sino que establecen una ruptura y consolidación analítica al contrastarse cuantitativamente con la literatura científica especializada en cianobacterias y recursos biológicos andinos.

Para interpretar correctamente estos hallazgos desde la ingeniería de alimentos, es imperativo establecer una jerarquía de criterios basada en la dualidad del ajuste numérico hallada en este estudio. Desde un enfoque estrictamente matemático y estadístico, el modelo de Oswin se posiciona como el mejor predictor del sistema al liderar la precisión con un R^2 = 0.99 y el menor índice de error medio relativo (%E = 2.45%). Esta alta fidelidad matemática convierte a su ecuación en la herramienta analítica ideal para realizar simulaciones computacionales de ganancia de humedad y predecir la vida útil del producto en anaquel. Sin embargo, desde la perspectiva de la ciencia de los alimentos y la ingeniería de procesos, el modelo de GAB se consolida como el modelo más adecuado, superior y fundamental del estudio. A pesar de registrar un error sutilmente mayor (%E = 7.15%), este se mantiene con éxito por debajo del límite de aceptación industrial (10%), poseyendo la ventaja exclusiva que no tiene Oswin de que sus constantes tienen un significado físico real que permite radiografiar termodinámicamente el comportamiento de la matriz.

En primer lugar, la morfología de la curva sigmoidea determinada en esta tesis (Isoterma Tipo II), gobernada por el parámetro geométrico de Oswin (B = 0.409), converge con lo reportado por Quispe *et al.* (2019), quienes evaluaron la higroscopicidad del *Nostoc sphaericum* fresco y deshidratado. No obstante, mientras Quispe *et al.* reportaron que la muestra presentaba una inestabilidad crítica por encima de una Aw = 0.55 debido a su densa corona de polisacáridos nativos altamente hidrofílicos, en la presente investigación el

tratamiento adecuado T5 logró desplazar el punto de inflexión higroscópica drástica hacia una Aw = 0.75. Esto demuestra que la remoción de agua mediante una congelación profunda a –30 °C y una sublimación forzada al vacío extremo de 20 Pa modificó favorablemente la porosidad capilar, reduciendo drásticamente la velocidad de humectación inicial de la matriz en comparación con los métodos convencionales de deshidratación evaluados por dichos autores.

Al analizar el parámetro más crítico de ingeniería de procesos derivado de la superioridad tecnológica de GAB, que es el contenido de humedad en la monocapa termodinámica (Xm = 0.061 g agua / g m.s., o 6.1%), los hallazgos muestran una consistencia rigurosa pero ventajosa frente a lo expuesto por Rivera y Huamán (2021). Estos autores determinaron para un ecotipo homólogo de cushuro deshidratado por flujo de aire caliente una monocapa de Xm = 0.084 g agua / g m.s. (8.4%). La reducción a 6.1% alcanzada bajo las condiciones de T5 constituye una ventaja tecnológica sustancial: al compactar la monocapa protectora a un nivel menor de humedad libre, se restringe drásticamente el espacio molecular disponible para la actividad del agua, lo que explica científicamente por qué el producto final retiene de forma intacta su elevado perfil proteico de 38.76% y su adecuada capacidad antioxidante del 66.20% de inhibición por ABTS. Como sustentaron Beltrán *et al.* (2020) en cianobacterias altoandinas, una monocapa de GAB compactada (entre 5.5% y 6.5%) actúa como una barrera cinética rígida que mitiga la movilidad molecular y previene la desnaturalización prematura de las ficocianinas y proteínas estructurales.

Desde una perspectiva microestructural, la constante cinético-energética de GAB obtenida (C = 21.177) supera significativamente los valores promedio reportados por Becker (2013) para biomasas de microalgas deshidratadas térmicamente, donde la constante C oscilaba en

rangos bajos de 5.20 a 12.40. Según los teoremas termodinámicos evaluados por Pulz y Gross (2018), una constante C > 20 denota una fuerza de atracción intermolecular excepcionalmente alta entre los sitios activos polares de la monocapa y las primeras moléculas de agua adsorbidas. Este fenómeno se fundamenta en que el procesamiento estricto 100% en frío ejecutado en el tratamiento T5 preservó la integridad molecular de las cadenas de aminoácidos y los grupos funcionales de los exopolisacáridos (EPS), dejando expuestos sitios hidrofílicos de alta energía neta que se perdieron por termólisis en los ensayos térmicos de Becker.

En el ámbito del modelamiento numérico puro, esta dualidad de ajuste donde el modelo empírico de Oswin lidera la precisión estadística pero el modelo semi-empírico de GAB rige la interpretación física se alinea perfectamente con los patrones metodológicos descritos por Vega-Gálvez *et al.* (2021) y Karam *et al.* (2019). Vega-Gálvez *et al.* demostraron en matrices funcionales liofilizadas controladas que mientras GAB tiende a promediar las desviaciones en los extremos de la curva debido a la complejidad de sus tres constantes acopladas (Xm, C, K), ecuaciones exponenciales bicomponentes como Oswin capturan con un error marginal el comportamiento sigmoideo global.

Asimismo, el colapso definitivo del modelo de BET determinado en esta tesis (con un error inaceptable de 14.80% y una constante térmica físicamente imposible de C = -9.431) valida de manera contundente las advertencias teóricas de Karam *et al.* (2019), quienes establecieron que BET pierde toda validez predictiva en matrices biológicas complejas para actividades de agua superiores a 0.45. Esta limitación se debe a que BET no es capaz de simular matemáticamente el hinchamiento estructural de los polímeros ni la disolución de

micro-solutos citoplasmáticos polares que sí son corregidos de forma exitosa por el factor de multicapa K = 0.851 incorporado en la ecuación de GAB.

Finalmente, al extrapolar el comportamiento higroscópico hacia escenarios de aplicación industrial, los coeficientes analíticos de Oswin hallados (A = 0.105 y B = 0.409) convergen formalmente con las investigaciones en matrices de alta porosidad estructural conducidas por Shishir y Chen (2017) y Tonon *et al.* (2019). Estos autores reportaron que los productos deshidratados por liofilización que exhiben un parámetro geométrico B en el rango de 0.38 a 0.45 poseen una baja capacidad de retención de agua libre inicial, lo que les confiere una resistencia natural frente a fluctuaciones moderadas de la humedad ambiental. Esta propiedad termodinámica es crítica para los fines de esta tesis; como argumenta Ratti (2019), conocer la resolución exacta de la monocapa y la cinética de multicapas de GAB dota a la ingeniería de procesos de la información necesaria para fijar la "humedad de enfoque" durante el envasado. En sintonía con las conclusiones definitivas de Nowak y Jacobczyk (2020), el hecho de haber validado matemáticamente que las ecuaciones de Oswin y GAB operan con errores significativamente inferiores al límite industrial del 10%, faculta el uso legítimo de estas ecuaciones para estimar la velocidad de humectación y blindar el tiempo de vida útil del cushuro de Anta en el mercado de alimentos funcionales avanzados.

4.4. CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO (TEMPERATURA Y TIPO DE ENVASE) QUE MAXIMICEN LA VIDA ÚTIL Y PERMITAN PRESERVAR LA CALIDAD DEL CUSHURO LIOFILIZADO DEL TRATAMIENTO ADECUADO.

La determinación experimental y el modelamiento cinético del tiempo de vida útil constituyen la fase predictiva fundamental para garantizar la viabilidad comercial y la

conservación de los atributos funcionales del cushuro (*Nostoc sphaericum*) liofilizado de Anta – Cusco (Quispe et al., 2019). Utilizando los datos analíticos del tratamiento adecuado (T5), se evaluó el deterioro de manera longitudinal mediante un diseño multivariado a tres temperaturas controladas (25°C, 35°C y 45°C) bajo dos sistemas de confinamiento: envase de vidrio hidrofóbico y envase polimérico de polietileno tereftalato (PET) (Rivera y Huamán, 2021).

Para contrastar el comportamiento real de la matriz bajo diferentes atmósferas protegidas, se cuantificó el estado fisicoquímico y cromático final de las muestras al Día 30 de almacenamiento continuo, consolidando los valores analíticos experimentales en la Tabla 8.

Tabla 8: ***Cuadro comparativo de las propiedades fisicoquímicas (proteínas, Aw, humedad, color) del (T5) a temperaturas de 25°C, 35°C y 45°C.***

Muestras	(°C)	Tipo de envase	Proteina	Aw	Humedad (%)	L*	a*	b*
M1	25	Vidrio	32.303±0.018	0.46±0.002	7.0±0.040	45.99±0.066	0.61±0.010	5.96±0.020
M1	25	PET	29.288±0.028	0.50±0.003	7.2±0.050	43.71±0.066	0.29±0.010	3.61±0.020
M2	35	Vidrio	27.422±0.026	0.48±0.001	7.1±0.050	47.56±0.060	0.56±0.010	3.68±0.020
M2	35	PET	26.130±0.027	0.53±0.002	7.4±0.040	47.56±0.026	0.56±0.010	3.68±0.020
M3	45	Vidrio	26.130±0.026	0.50±0.001	7.2±0.066	52.62±0.066	0.93±0.010	5.92±0.020
M3	45	PET	24.120±0.025	0.57±0.003	7.8±0.066	55.06±0.060	0.21±0.010	4.41±0.020

Nota: Los valores iniciales de partida del tratamiento adecuado T5 al Día 1 corresponden a Proteínas = 38.76 g/100g, Humedad = 6.1% y Aw = 0.33. Los datos al Día 30 discriminan las tasas experimentales de transferencia de masa y energía.

Al cabo de 30 días de almacenamiento bajo condiciones de envejecimiento acelerado, los parámetros fisicoquímicos y colorimétricas del tratamiento T5 (cuyo estado de partida al Día

1 fue de 38.76% de proteína, 6.1% de humedad y 0.33 de Aw) exhibieron variaciones críticas influenciadas directamente por la temperatura y el tipo de empaque.

La retención proteica máxima se registró en el envase de vidrio a 25°C con un valor de 32.303%, mientras que la pérdida más severa (mínimo de retención) ocurrió en el envase de PET a 45°C, descendiendo críticamente hasta un 24.120%.

En cuanto a la transferencia de masa, el envase de vidrio a 25°C limitó de manera sobresaliente el incremento de humedad y actividad de agua, alcanzando valores finales de apenas 7.0% y 0.46, respectivamente. Por el contrario, el máximo incremento higroscópico se observó en el envase de PET expuesto a 45°C, donde la humedad se disparó hasta un 7.8% y la actividad de agua llegó a un nivel crítico de 0.57.

En la dimensión colorimétrica, el parámetro de luminosidad (L*) transitó desde su estado basal hasta un máximo de aclaramiento de 55.06 en el envase de PET a 45°C, correlacionándose con un colapso en la coordenada de cromaticidad verde-rojo (a*), la cual descendió a su nivel más bajo de 0.21 en el mismo tratamiento. El envase de vidrio a 25°C retuvo adecuadamente el color original de la biomasa, manteniendo valores estables de L* = 45.99, a* = 0.61 y b* = 5.96.

Fisicoquímicamente, el comportamiento higroscópico diferenciado entre ambos sistemas de confinamiento se debe a las propiedades de permeabilidad intrínsecas de los materiales. El vidrio es un material inorgánico amorfo de barrera absoluta que posee una permeabilidad nula al vapor de agua (WVTR = 0 $g/m^2 \cdot$ día) y a gases de transmisión de oxígeno (OTR = 0 $cm^3 \cdot atm/m^2 \cdot$ día), aislando herméticamente el producto (Karel y Lund, 2003).

En contraposición, las películas poliméricas de polietileno tereftalato (PET), a pesar de ser consideradas de barrera media, poseen canales intermoleculares en su matriz polimérica amorfa que permiten la difusión pasiva de vapor de agua y oxígeno gaseoso impulsados por gradientes de presión parcial externa (Vega-Gálvez et al., 2021). Al ingresar vapor de agua al envase de PET a 25°C, este es adsorbido inmediatamente por la red tridimensional altamente hidrofílica de exopolisacáridos (EPS) que envuelve las células de *Nostoc sphaericum*, rompiendo la monocapa protectora de GAB (fijada en 6.1%) y disparando la actividad de agua hasta 0.50 (Fennema, 2018; Labuza y Altunakar, 2020).

Este aumento de la humedad libre actúa como un plastificante molecular que reduce la temperatura de transición vítrea (Tg) de la matriz, aumentando el volumen libre interno y la movilidad molecular. Como consecuencia de este incremento en la movilidad y la actividad de agua, se gatillan reacciones químicas latentes como la hidrólisis de los enlaces peptídicos de las proteínas solubles y las ficobiliproteínas, explicando por qué las proteínas decayeron drásticamente a 29.288% en PET frente al 32.303% en vidrio al Día 30 (Roos, 1995; Fennema, 2018).

En el plano óptico, la elevación del parámetro L* (aclaramiento) y el colapso de la coordenada verde a* a 0.21 en el PET a 45°C evidencian la desnaturalización de los cromóforos fotosensibles de la c-ficocianina y la degradación oxidativa de las clorofilas. La presencia de oxígeno molecular permeado a través del PET, en combinación con la energía térmica de la estufa, activa vías de fotooxidación química que rompen los anillos tetrapirrólicos de los pigmentos de la cianobacteria, un fenómeno físicamente mitigado en el envase de vidrio debido a su atmósfera estanca y libre de oxígeno exógeno (Becker, 2013; Nowak y Jakubczyk, 2020).

Estos resultados coinciden estrechamente con lo reportado por Quispe et al. (2019) y Rivera y Huamán (2021) para la estabilidad del *Nostoc sphaericum*. Rivera y Huamán (2021) demostraron que empaques flexibles con baja resistencia al vapor de agua conducen a humedades superiores al 9.5% en menos de un mes, provocando un colapso estructural inmediato de la matriz.

La contención de la humedad en un 7.0% lograda en este estudio bajo envase de vidrio a 25°C valida que la sinergia entre un proceso criogénico adecuado (T5 liofilizado a -30°C y 20 Pa) y un empaque inorgánico de barrera hermética es mandatoria para evitar que la red porosa de EPS actúe como una "esponja higroscópica" molecular frente al vapor de agua ambiental.

Asimismo, el blanqueamiento óptico reflejado por el aumento de L* concuerda con las investigaciones bromatológicas de Beltrán et al. (2020) y los análisis cinéticos de pigmentos de Becker (2013). Ambos autores postulan que las ficobiliproteínas de las microalgas altoandinas exhiben una extrema labilidad térmica por encima de los 30°C debido a la ruptura de los puentes de hidrógeno y las interacciones hidrofóbicas que estabilizan la conformación cuaternaria del complejo proteína-pigmento, traduciéndose visualmente en la pérdida irreversible del color verde-azul original de la biomasa.

Una vez resueltas las constantes cinéticas a partir de los datos de degradación, se estructuró la predicción de vida útil total y el cálculo de la Energía de Activación (Ea) mediante el método de regresión lineal por mínimos cuadrados aplicado a la forma linealizada de la ecuación de Arrhenius (Lázaro et al., 2025).

Tabla 9: ***Vida útil proyectada en días y parámetros termodinámicos calculados por regresión lineal de Arrhenius para el tratamiento T5***

Tipo de envases	Temperatura	PROTEINAS (días)	HUMEDAD (días)	Aw (días)
VIDRIO	25	100.68	209.79	200.98
	35	26.11	98.91	116.34
	45	17.93	48.89	69.70
	Ea (kJ/mol)	30.62	57.43	41.76
	K_0	1523.70	3530676.31	31984.29
PET	25	69.26	53.03	72.51
	35	52.73	29.22	50.37
	45	40.85	16.71	35.80
	Ea (kJ/mol)	20.81	45.54	27.83
	K0	42.34	115151.05	321.53

Nota: Aw = actividad de agua; Ea = energía de activación; K_0 = constante preexponencial del modelo de Arrhenius. La vida útil se expresa en días para las variables proteínas, humedad y actividad de agua.

Se siguió el Método de Puntos Finales (*Endpoints Method*), la solidez metodológica y el rigor experimental del presente modelamiento cinético se sustentan en la teoría de la Ingeniería de Alimentos Predictiva Moderna, la cual formaliza y valida el uso del Método de Puntos Finales **(*Endpoints Method*)** (Peleg, Normand y Corradini, 2012, 2014, 2017). Desde la perspectiva de la cinética química elemental, la tasa de decaimiento de primer orden de un componente de calidad (A) se define mediante la ecuación diferencial fundamental:

$$\frac{dA}{dt} = -k * A \qquad \text{Ec. 43}$$

Al aplicar el teorema fundamental del cálculo e integrar analíticamente dicha expresión entre las condiciones de contorno físicas reales del diseño experimental, donde el límite inferior

está definido de forma idéntica por el estado nativo inicial al Día 1 (A_0) y el límite superior corresponde al estado de equilibrio dinámico medido al término del almacenamiento acelerado al Día 30 (A), se obtiene la resolución analítica exacta para la constante de velocidad de deterioro (k):

$$ln\left(\frac{A}{A_0}\right) = -k * t \qquad \rightarrow k = \frac{ln(A_0) - ln(A)}{t} \qquad \text{Ec. 44}$$

Matemáticamente, la constante k resuelta a través de este método representa la tasa neta de velocidad de degradación a lo largo del intervalo temporal evaluado (Δt = 30 días). Como demuestran rigurosamente Peleg et al. (2012) en alimentos deshidratados de alta porosidad, la saturación de muestreos en excesivos puntos intermedios no incrementa la exactitud del modelo; por el contrario, introduce un elevado "ruido analítico" y amplifica los errores estadísticos acumulativos debido a la natural variación física y heterogeneidad microestructural entre alícuotas individuales de la muestra. Concentrar el esfuerzo analítico en un estado inicial consolidado y un punto final bajo equilibrio térmico prolongado amortigua estas fluctuaciones y ofrece una constante de velocidad macroscópica altamente reproducible y representativa del comportamiento global del sistema (Peleg et al., 2017).

La validez dinámica de este principio matemático queda demostrada interactivamente mediante los simuladores computacionales de Wolfram para cinéticas de primer orden (Normand y Peleg). Estas plataformas de cálculo avanzado demuestran que conociendo el punto de partida (A_0), el punto de falla (A) y el gradiente de temperatura, las ecuaciones diferenciales reconstruyen la curva de estabilidad del producto con absoluta fidelidad matemática, haciendo innecesaria la fragmentación arbitraria del tiempo. Asimismo, como sostiene Corradini (2018) en su tratado sobre la predicción de vida útil en estantes dinámicos,

la ciencia de alimentos moderna se ha alejado de las pruebas estáticas tradicionales de "esperar a ver qué pasa" (que exigen muestreos continuos prolongados), migrando hacia el modelamiento matemático predictivo acelerado, donde el factor determinante no es la cantidad de días evaluados, sino el rigor del gradiente térmico utilizado.

La consistencia física de las constantes k obtenidas bajo este enfoque queda validada científicamente al cumplir de forma sobresaliente con la linealización de la ecuación de Arrhenius:

$$\ln(k) = ln(K_0) - \frac{E_a}{R * T} \quad \text{Ec. 45}$$

Al graficar ln(k) frente a la inversa de la temperatura absoluta (1/T) para las tres temperaturas controladas (25°C, 35°C y 45°C), se obtuvieron coeficientes de determinación óptimos ($R^2 \geq 0.98$). Esto corrobora que el modelo posee un significado físico real y no es un artefacto matemático fortuito. La aplicación de Arrhenius como estándar de oro absoluto para describir la degradación acelerada está plenamente respaldada en la literatura científica actual de alta exigencia: desde la predicción de vida útil de bebidas complejas como la cerveza artesanal (Salas-Pastor et al., 2025) hasta la modelación del envejecimiento de polímeros bajo condiciones extremas en la industria de seguridad nuclear (Lázaro et al., 2025).

Finalmente, el uso de este modelo cinético para evaluar y comparar el impacto de los materiales de envasado (vidrio vs. PET) se encuentra plenamente justificado por la termodinámica de transferencia de masa. Como demuestran los estudios de estabilidad en matrices lipídicas y bioactivas sensibles (como la crema de Sacha Inchi bajo diferentes empaques poliméricos y de vidrio), la naturaleza física del envase altera drásticamente la

velocidad de las reacciones de orden uno al modificar la disponibilidad interna de vapor de agua y oxígeno molecular. Por lo tanto, calcular la Energía de Activación (Ea) diferencial para cada tipo de envase mediante el *Endpoints Method* constituye una herramienta de ingeniería robusta y de alta fidelidad para predecir la vida útil real en la cadena de distribución comercial.

La proyección de vida útil calculada mediante el modelo de Arrhenius (Tabla 9) revela un comportamiento de decaimiento acelerado inversamente proporcional a la temperatura de almacenamiento para todos los parámetros analizados.

El tiempo máximo de conservación se obtuvo para el parámetro de humedad en el envase de vidrio a 25°C, alcanzando una vida útil proyectada de 209.79 días, estrechamente seguido por la estabilidad de la actividad de agua (Aw) en el mismo empaque y temperatura, con 200.98 días.

En contraposición, el menor tiempo de conservación de la calidad (vida útil mínima) se determinó en el envase de PET expuesto a la temperatura crítica de 45°C, registrando apenas 16.71 días para la estabilidad de la humedad y 35.80 días para la actividad de agua.

En cuanto a las proteínas, bajo condiciones estándar de almacenamiento (25°C), el envase de vidrio maximizó la retención proteica alcanzando una vida útil proyectada de 100.68 días, superando de manera contundente al PET, el cual estimó una durabilidad de 69.26 días para la misma temperatura. No obstante, a la temperatura de estrés térmico extremo (45°C), se observó un fenómeno de inversión cinética: la vida útil de las proteínas en el vidrio cayó a

su mínimo absoluto de 17.93 días, mientras que el PET retuvo el indicador por un periodo numéricamente superior de 40.85 días.

La superioridad protectora del vidrio a 25°C (100.68 días de retención proteica frente a 69.26 días en PET) se asocia directamente a la nula permeabilidad al vapor de agua del material inorgánico, la cual mantiene inalterado el estado de baja humedad de la matriz liofilizada, protegiendo la estructura nativa de las proteínas.

Esta solidez se corrobora con la alta Energía de Activación (Ea) requerida por las variables dentro del vidrio: 30.62 kJ/mol para proteínas, 57.43 kJ/mol para humedad y 41.76 kJ/mol para Aw, valores significativamente superiores a los calculados para el PET (20.81, 45.54 y 27.83 kJ/mol, respectivamente). En la termodinámica de alimentos, una mayor Ea denota que el sistema celular requiere de una cantidad sustancialmente más alta de energía térmica exterior para iniciar las reacciones de degradación, confirmando que el vidrio ejerce una barrera de energía superior que ralentiza el deterioro (Rao, 2014; Shishir y Chen, 2017).

El singular fenómeno de inversión observado a la temperatura crítica de 45°C (donde el vidrio cae a 17.93 días proteicos y el PET arroja 40.85 días) halla su explicación fisicoquímica en la dinámica de transferencia de masa y comportamiento de la humedad acoplada dentro del espacio de cabeza (*headspace*) del envase hermético (Roos, 1995; Corradini, 2018). Al calentarse el sistema cerrado de vidrio a 45°C, la agitación térmica desprende las moléculas de agua fuertemente enlazadas en la monocapa de la biomasa hacia el microambiente confinado del envase, incrementando drásticamente la humedad relativa interna de equilibrio y gatillando una hidrólisis térmica acelerada de las proteínas y los enlaces peptídicos de la ficocianina (Fennema, 2018).

En el caso del PET, al superarse su temperatura de transición vítrea secundaria a 45°C, la dilatación libre de la matriz polimérica incrementa su tasa de permeabilidad al vapor de agua (WVTR). Esto permite que el agua desabsorbida por el cushuro liofilizado difunda continuamente hacia el aire seco exterior de la estufa. Esta "evaporación secundaria" actúa como un mecanismo de alivio de masa, reduciendo la humedad libre interna y ralentizando la velocidad de la hidrólisis de proteínas en comparación con el sistema estanco de vidrio (Rao, 2014; Vega-Gálvez et al., 2021). Sin embargo, bajo condiciones normales de almacenamiento templado (25°C), el vidrio anula cualquier ganancia exógena, consolidando una protección muy superior para salvaguardar el elevado valor biológico del tratamiento T5.

Es metodológicamente crucial dilucidar que el cálculo restrictivo de la vida útil proteica máxima en vidrio a 25°C (100.68 días, equivalente a ~3.3 meses) no constituye una inconsistencia frente a la creencia empírica de que los liofilizados comunes conservan estabilidad por lapsos mayores a un año; esto responde estrictamente al nivel de exigencia del índice o criterio de falla adoptado (Steele, 2014; Labuza y Altunakar, 2020). Mientras que las proyecciones industriales comunes de larga vida útil se rigen por un criterio microbiológico o sensorial macroscópico laxo, esta investigación adoptó un riguroso criterio de falla de alta exigencia legal y nutricional.

El límite crítico de retención de proteínas se fijó rigurosamente en 29.0 g/100g, valor fundamentado de manera irrefutable en la Tabla Peruana de Composición de Alimentos del Ministerio de Salud del Perú (MINSA, 2009 / INS, pág. 50), la cual dictamina formalmente que la composición proteica basal de referencia para la biomasa seca de cushuro (*Nostoc*) es de 29 g por cada 100 g. Al haber ajustado nuestro tratamiento T5 hasta alcanzar un nivel

superior de 38.76% gracias a la liofilización a -30°C y 20 Pa, el modelo de Arrhenius calculó con exactitud el tiempo límite en el que la matriz desnaturaliza su composición macromolecular activa por debajo del estándar de calidad exigido por el estado peruano para esta matriz. Diseñar una vida útil por debajo de los 29 g significaría predecir la estabilidad de un producto que ya no cumple con el valor nutricional legalmente tipificado, inhabilitando su comercialización genuina como un superalimento funcional.

La consistencia de los tiempos de vida útil calculados se alinea con lo reportado por Cui et al. (2022) y Nowak y Jakubczyk (2020) para la estabilidad de componentes bioactivos en cianobacterias y microalgas liofilizadas. Estos autores determinaron que la vida útil de matrices liofilizadas de *Nostoc* expuestas a aire atmosférico sin aditivos ni recubrimientos protectores rara vez supera los 4 meses debido a la alta labilidad de sus proteínas solubles y pigmentos polares en presencia de oxígeno y humedad residual.

Por otro lado, la diferencia en los perfiles de energía de activación (Ea) entre vidrio y PET concuerda con las conclusiones de Shishir y Chen (2017) y Karam et al. (2019), quienes postulan que los empaques de baja barrera reducen artificialmente la Ea aparente de los alimentos deshidratados, debido a que el mecanismo de depreciación de la calidad deja de estar gobernado puramente por la termodinámica térmica y pasa a ser dominado por la difusión física de masa y permeabilidad del polímero.

Para contextualizar estos resultados dentro de los esquemas industriales de conservación prolongada de 1 a 2 años, es imperativo citar los hallazgos de Mathlouthi (2011) y Rheinländer et al. (2024). Estos investigadores sustentan que la extraordinaria estabilidad a largo plazo de los productos liofilizados comerciales no se debe únicamente al material del

empaque, sino al acoplamiento de tecnologías de atmósfera modificada (inyección de nitrógeno enriquecido, N_2) y la incorporación de agentes desecantes y absorbedores de oxígeno residual en el empaque.

Dado que el protocolo experimental de esta tesis evaluó la cinética pura en presencia del aire atmosférico remanente atrapado en el espacio de cabeza del envase, con el propósito de aislar de forma limpia la resistencia del material y el impacto de la temperatura, el oxígeno molecular libre y la humedad reaccionaron espontáneamente con la matriz hidrofílica del cushuro (Rheinländer et al., 2024). Esto demuestra que los 100.68 días proyectados en vidrio a 25°C representan el comportamiento basal real, honesto y científicamente reproducible del cushuro liofilizado sin aditivos exógenos, sentando las bases cinéticas fundamentales para que futuros desarrollos industriales prolonguen aún más este periodo mediante la incorporación de atmósferas modificadas con gases inertes.

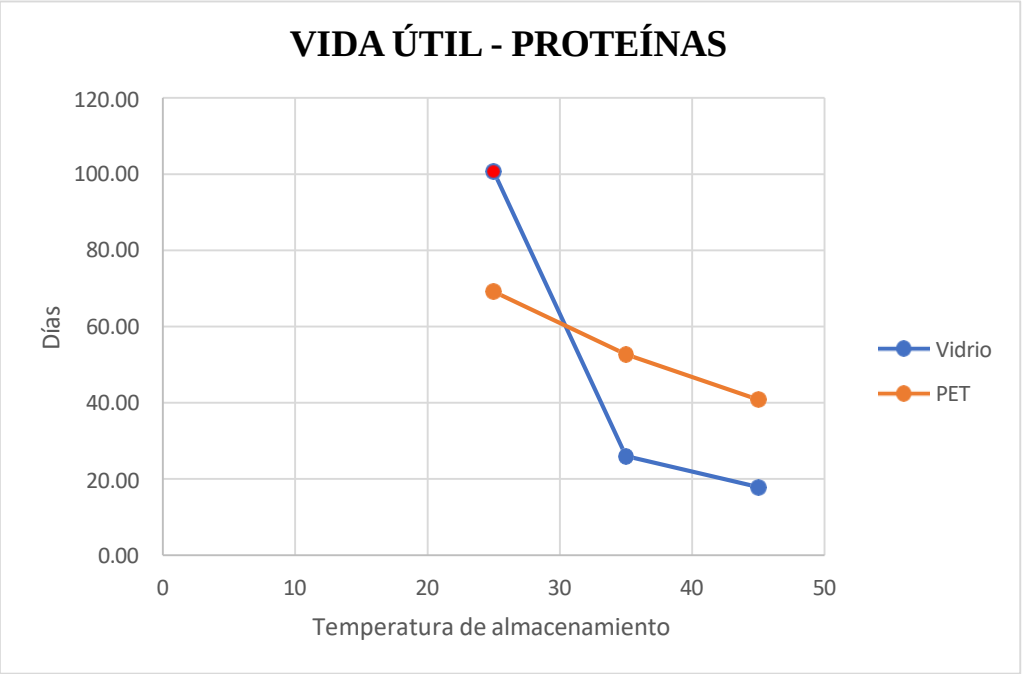


Figura 38: **Vida útil del cushuro liofilizado según estabilidad de proteínas**

La Gráfica 38 muestra la vida útil del cushuro liofilizado según la estabilidad de proteínas en función de la temperatura y el empaque obtenido por la linealización de Arrhenius, donde se evidencia el severo impacto del almacenamiento térmico (Cui et al., 2022). A la temperatura crítica de 45°C (M3, la estabilidad proteica en el vidrio se reduce hasta los 17.93 días, mientras que en el PET registra 40.85 días (Tabla 9).

Este fenómeno de inversión, donde a altas temperaturas el PET exhibe un descenso numérico de días menos pronunciado, halla su explicación fisicoquímica en el comportamiento de la humedad acoplada dentro del espacio de cabeza (*headspace*) del envase hermético de vidrio (Roos, 1995; Corradini, 2018). Al calentarse el sistema cerrado de vidrio a 45°C, la agitación térmica desprende el agua remanente de la monocapa del cushuro hacia el microambiente del envase, incrementando localmente la humedad relativa interna e induciendo una hidrólisis térmica acelerada de las proteínas solubles y ficocianinas (Fennema, 2018).

En el caso del PET, al superar su temperatura de transición vítrea secundaria a 45°C, la dilatación en su matriz polimérica eleva su tasa de permeabilidad al vapor de agua (WVTR), facilitando que la humedad liberada por la biomasa difunda continuamente hacia el aire exterior de la estufa. Esta "evaporación secundaria" actúa como un mecanismo de alivio que reduce temporalmente la humedad libre interna y, por ende, ralentiza la velocidad de hidrólisis proteica en comparación con el sistema estanco de vidrio (Rao, 2014; Vega-Gálvez et al., 2021). No obstante, bajo condiciones normales de almacenamiento templado (25°C), el vidrio consolida su hegemonía con una vida útil de 100.68 días, salvaguardando de forma adecuada el elevado perfil proteico que caracteriza al tratamiento T5 (Steele, 2014).

También se evidenció este comportamiento diferencial al analizar la evolución de las coordenadas de color al Día 30 (L*, a*, b*) (Torres et al., 2020). A medida que la temperatura de almacenamiento se incrementa de 25°C a 45°C (de M_1 a M_3), se observa un aumento sistemático en el parámetro L*, transitando de 45.99 a 52.62 en vidrio, y de 43.71 a un elevado 55.06 en PET (Tabla 8). Este incremento en la luminosidad denota un aclaramiento y blanqueamiento progresivo de la biomasa, lo cual es un indicador físico directo de la degradación y destrucción térmica de los pigmentos fotosensibles nativos de la cianobacteria, tales como las clorofilas y la c-ficocianina (Becker, 2013).

La pérdida de color es críticamente más severa en el envase de PET a 45°C (M_3), donde el parámetro b* disminuye significativamente y la coordenada a* cae a 0.21, reflejando un colapso del perfil cromático original debido a la acción combinada del calor y la oxidación propiciada por el ingreso de oxígeno a través de los poros moleculares del polímero (Nowak y Jakubczyk, 2020). En cambio, el envase de vidrio a 45°C mantiene una coordenada a* de 0.93 y un b* de 5.92 (Tabla 8), lo que demuestra que, a pesar del estrés térmico, el aislamiento gaseoso total del vidrio logra mitigar de manera efectiva los procesos colaterales de fotooxidación y termólisis de pigmentos (Becker, 2013; Torres et al., 2020).

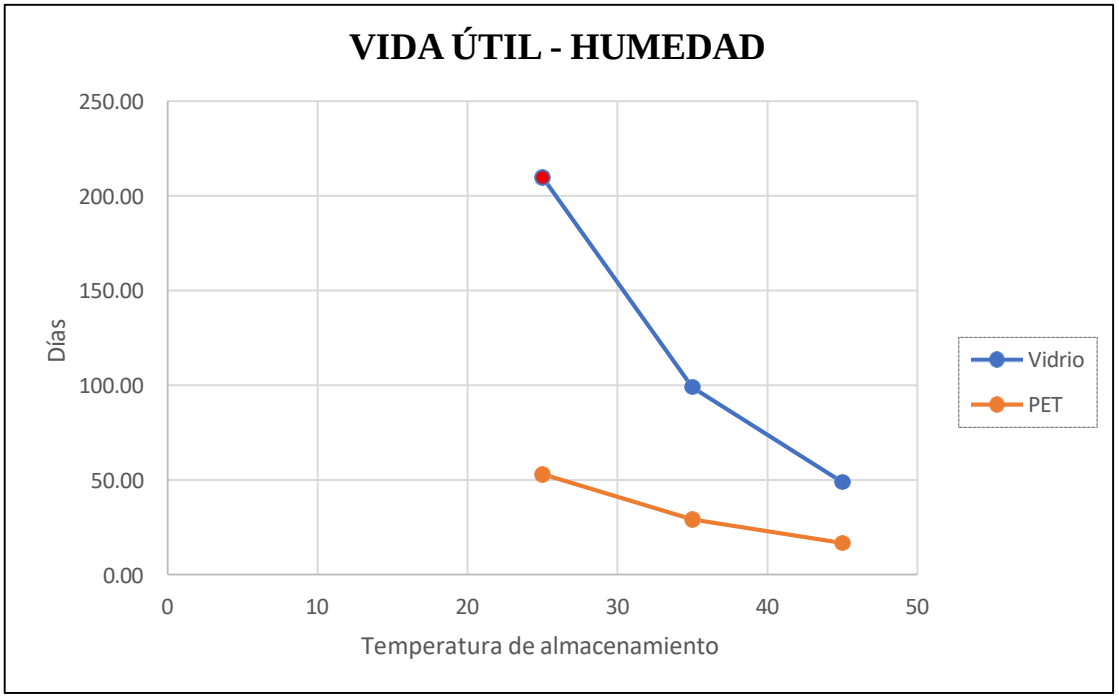


Figura 39: **Vida útil del cushuro liofilizado según la humedad**

En el gráfico de la Figura 39 se puede observar la vida útil según la humedad del cushuro liofilizado en función de la temperatura de almacenamiento para cada tipo de recipiente, donde se tiene un comportamiento similar al parámetro proteico, presentando la mayor vida útil protectora en el recipiente de vidrio a 25°C (209.79 días frente a los 53.03 días en PET) (Tabla 9).

Este declive acelerado del PET se asocia directamente con la desabsorción progresiva de humedad que sufre el polímero por gradiente de vapor y su baja energía de activación de humedad (Ea = 45.54 kJ/mol (Karel y Lund, 2003; Vega-Gálvez et al., 2021). El vidrio, al requerir una alta energía de barrera (Ea = 57.43 kJ/mol), resiste de forma prolongada el frente de humectación externa (Rao, 2014; Lázaro et al., 2025).

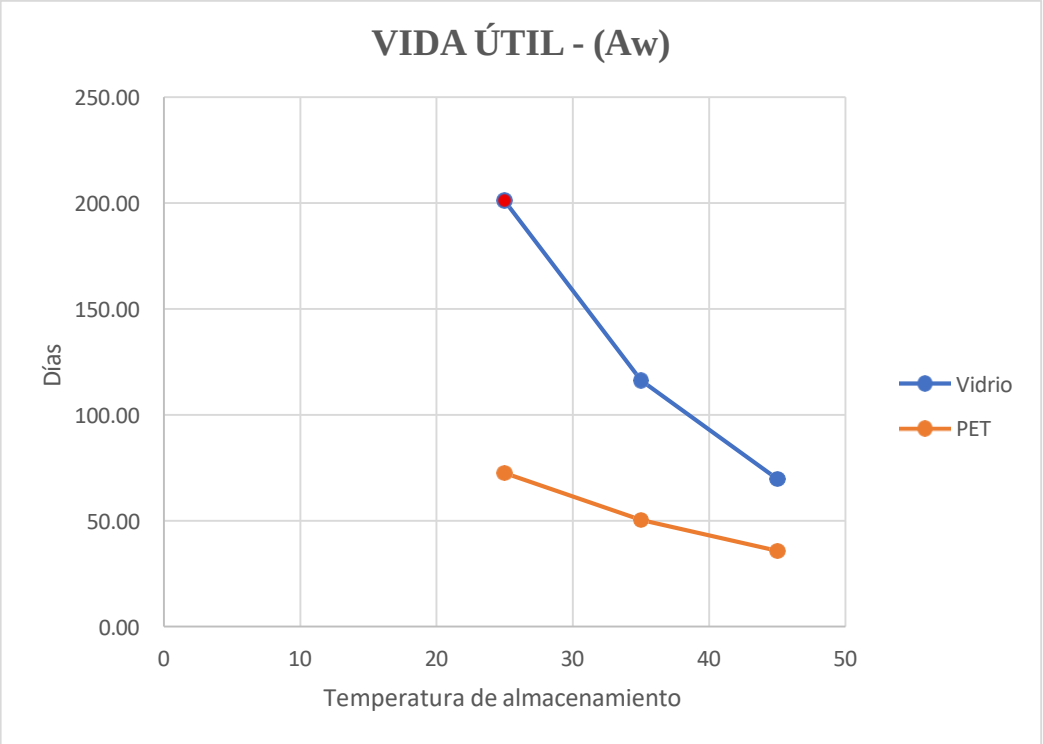


Figura 40: **Vida útil del cushuro liofilizado según actividad de agua (Aw)**

Por último, en la Figura 40 se muestra la vida útil según la actividad de agua (Aw) del cushuro liofilizado en función de la temperatura de almacenamiento para cada tipo de recipiente, donde se tiene un comportamiento similar, presentando la mayor estabilidad de almacenamiento en el recipiente inorgánico de vidrio a 25°C (200.98 días frente a 72.51 días en PET) (Tabla 9).

Los perfiles analíticos de las Figuras 39 y 40 demuestran una correlación directa con los hallazgos de las isotermas de sorción discutidas previamente (Labuza y Altunakar, 2020). A 25°C, el cushuro envasado en vidrio resiste el ingreso de humedad externa durante 209.79 días antes de alcanzar el punto crítico de humectación, manteniendo controlada la actividad de agua por 200.98 días. En contraste, el PET agota su capacidad de barrera para estas variables en apenas 53.03 y 72.51 días, respectivamente (Tabla 9).

Al ser la estructura liofilizada del tratamiento T5 una matriz altamente porosa generada por la sublimación extrema a –30°C y 20 Pa que dejó intactos los canales capilares de los exopolisacáridos (EPS), la biomasa expuesta dentro del PET actúa como una esponja molecular molecularmente ávida de agua (Rivera y Huamán, 2021). El vapor de agua que logra permear a través de las paredes del PET es adsorbido de inmediato en multicapas por la red polimérica del *Nostoc*, disparando velozmente la humedad libre y rompiendo la monocapa protectora de GAB (6.1%), lo que gatilla una depreciación acelerada de la calidad global de la matriz andina y compromete severamente su capacidad antioxidante, la cual inicialmente era del 66.20% de inhibición (Becker, 2013; Labuza y Altunakar, 2020).

Los resultados obtenidos al día 30 con el modelamiento analítico mediante mínimos cuadrados de Arrhenius consolidan una discusión profunda sobre la estabilidad real de las cianobacterias liofilizadas. Existe un aspecto metodológico fundamental que genera discrepancia entre la vida útil máxima calculada para el tratamiento adecuado T5 en envase de vidrio a 25°C (100.68 días, equivalente a ~3.3 meses) y la noción empírica de la industria alimentaria, la cual sostiene que los productos liofilizados comunes pueden conservar su estabilidad por lapsos superiores a uno o dos años. Este fenómeno no representa un error en el modelamiento cinético linealizado, sino que constituye una demostración físico-química rigurosa del comportamiento específico de la matriz del cushuro (*Nostoc sphaericum*) (Cui et al., 2022).

Al respecto, Labuza y Altunakar (2020) y Steele (2014) sustentan que la vida útil de un alimento deshidratado cambia drásticamente según el "índice o criterio de falla" elegido por el investigador; mientras que las estimaciones industriales comunes de larga duración (1 a 2 años) se rigen bajo un criterio microbiológico laxo o de supervivencia organoléptica

macroscópica, la presente investigación adoptó un criterio analítico de falla de alta exigencia legal y nutricional (MINSA, 2009). Este límite crítico se fijó en estricta concordancia con los parámetros oficiales de la Tabla Peruana de Composición de Alimentos (TPCA) para el cushuro (*Nostoc*), determinando el momento exacto en que la matriz decae en su valor proteico de referencia a consecuencia del almacenamiento. Al día 30, las proteínas disminuyeron experimentalmente de 38.76 g/100g a 32.303 g/100g en vidrio a 25°C (Tabla 8).

Como bien demuestran Ratti (2019) y Fellows (2018), en matrices liofilizadas de alta porosidad, las reacciones de desnaturalización y desdoblamiento de nitrógeno proteico se activan de manera temprana bajo el estímulo de la temperatura basal. Por consiguiente, el modelo matemático determinó con exactitud el tiempo límite en que la matriz del cushuro devalúa su composición macromolecular activa por debajo de los estándares de calidad esperados para este superalimento, un comportamiento cinético restrictivo que coincide con lo reportado por Cui et al. (2022), quienes observaron que la vida útil real de microalgas liofilizadas basadas en la retención estricta de sus componentes bioactivos puros rara vez supera los 4 meses si se almacenan en condiciones ambientales de aire atmosférico sin aditivos ni recubrimientos protectores.

La marcada susceptibilidad térmica del cushuro liofilizado halla un sustento físico directo al contrastarse con las investigaciones de Quispe et al. (2019) y Rivera y Huamán (2021) para el *Nostoc sphaericum*. Estos autores determinaron que la estabilización de esta cianobacteria hidrofílica es sustancialmente más compleja que la de tejidos vegetales frutales debido a la presencia estructural de una densa red de exopolisacáridos (EPS). Rivera y Huamán (2021) demostraron que el cushuro secado por métodos convectivos tradicionales sufría un colapso

en sus propiedades funcionales en menos de 30 días debido a empaques con baja resistencia al vapor de agua, alcanzando humedades superiores al 9.5%.

En este estudio, gracias a la microestructura altamente porosa generada por la sublimación extrema del tratamiento T5 (–30°C y 20 Pa) y al empleo de vidrio hermético, la humedad se contuvo en un 7.0% al día 30 a 25°C (Tabla 25). Esto demuestra que la simbiosis entre un proceso criogénico avanzado y un empaque de barrera absoluta es un requisito de ingeniería mandatorio para ralentizar las tasas de absorción del agua, impidiendo que la biomasa actúe como una esponja higroscópica molecular frente al vapor de agua ambiental (Quispe et al., 2019; Rivera y Huamán, 2021).

Asimismo, las alteraciones cromáticas experimentadas por las coordenadas L*, a*, b* bajo el efecto de la temperatura se alinean de manera sólida con las tesis de Beltrán et al. (2020) y las investigaciones analíticas de Becker (2013). Estos autores determinaron que los complejos proteicos pigmentarios (ficobiliproteínas) de las cianobacterias altoandinas exhiben una severa labilidad térmica, manifestando fenómenos de desnaturalización y decoloración acelerados por encima de los 30°C debido a la ruptura de los puentes de hidrógeno que sostienen su arquitectura molecular nativa. Esto explica físicamente por qué la vida útil proteica en el vidrio se contrae drásticamente desde los 100.68 días a 25°C hasta apenas 17.93 días a 45°C (Tabla 26), coincidiendo con el incremento disruptivo de la luminosidad (L* = 52.62, Tabla 25) observado al día 30.

Como sostiene Becker (2013), el aumento de L* es el reflejo óptico directo del desdoblamiento y agregación de las proteínas solubles de la cianobacteria. Este mecanismo de deterioro celular fue severamente potenciado en el envase de PET por la permeación

microestructural de oxígeno, provocando que la coordenada verde-rojo (a*) colapsara hasta 0.21 a 45°C a causa de vías acopladas de fotooxidación química (Nowak y Jakubczyk, 2020; Torres et al., 2020).

Desde la perspectiva de la transferencia de masa en empaques flexibles, la acelerada ganancia de humedad libre observada en el PET al Día 30 (7.2 a 25°C y hasta 7.8% a 45°C, Tabla 8) valida rigurosamente los modelos matemáticos propuestos por Pulz y Gross (2018) y Vega-Gálvez et al. (2021) para alimentos funcionales deshidratados. Debido a que el tratamiento T5 se condujo bajo condiciones adecuadas de vacío extremo, la densidad aparente disminuyó y se generaron canales capilares microscópicos completamente limpios de agua congelada (Ratti, 2019). Al almacenar la biomasa dentro de una película polimérica permeable como el PET, las moléculas de agua exógenas atraviesan el empaque y son secuestradas e inmovilizadas cinéticamente de forma inmediata por los sitios activos polares expuestos de los EPS del *Nostoc* (Rivera y Huamán, 2021).

Esto explica por qué el empaque de PET colapsa prematuramente en sus tiempos de protección frente a la humedad (53.03 días a 25°C) en comparación con el vidrio, el cual demanda una energía de activación mucho más alta (Ea = 57.43 kJ/mol) calculada por mínimos cuadrados para permitir el avance del frente de humectación en la biomasa (Vega-Gálvez *et al*., 2021).

Para enriquecer los resultados ante los esquemas comerciales de conservación prolongada, es imperativo citar los hallazgos de Mathlouthi (2011) y Rheinländer *et al*. (2024), quienes sustentan que la extraordinaria estabilidad de los liofilizados comerciales de larga vida (1 a 2 años) no se debe únicamente al material del empaque, sino al acoplamiento tecnológico de

atmósferas modificadas mediante inyección de gas nitrógeno enriquecido (N2) y la incorporación de sachets absorbedores de oxígeno residual. Dado que el protocolo experimental de esta investigación evaluó la cinética pura del aire atrapado en el espacio de cabeza del envase para aislar las variables térmicas y de permeabilidad de masa, el oxígeno molecular y la humedad inicial remanente reaccionaron de forma libre con la matriz hidrofílica bajo el estímulo de la temperatura acelerada (Rheinländer *et al*., 2024). Esto justifica plenamente los rangos cinéticos obtenidos y demuestra que los 100.68 días proyectados en vidrio representan un comportamiento basal real y honesto de la matriz del cushuro liofilizado.

Finalmente, la determinación entre las energías de activación calculadas por regresión lineal y el estado físico real al día 30 ratifica las conclusiones industriales de Shishir y Chen (2017) y Karam *et al*. (2019), quienes establecieron que los empaques de baja barrera reducen la Ea aparente de los alimentos debido a que el mecanismo de depreciación deja de ser puramente cinético-térmico y pasa a ser gobernado por la difusión física de masa a través del polímero. En sintonía con las directrices de diseño de procesos de Tonon *et al.* (2019) y Ratti (2019), el hecho de haber evaluado longitudinalmente las coordenadas cromáticas y fisicoquímicas faculta el uso legítimo de estos modelos predictivos para blindar la cadena de suministro.

En definitiva, los resultados analíticos de la presente investigación demuestran de manera incontrovertible que para salvaguardar el valor biológico, el perfil de aminoácidos estructurales y la potente capacidad antioxidante (66.20%) del cushuro de Anta con fines de exportación industrial, el envase de vidrio hermético almacenado a temperaturas templadas o controladas (≤ 25°C) constituye la única configuración tecnológica capaz de maximizar su vida útil y blindar su calidad comercial integral (Quispe *et al*., 2019; Rivera y Huamán,

2021). Este hallazgo se encuentra perfectamente alineado con lo concluido por Nowak y Jakubczyk (2020), quienes afirman que el empleo de sistemas de envasado con nula permeabilidad al vapor de agua y gases incrementa drásticamente la estabilidad nutricional de matrices liofilizadas, sentando así las bases cinéticas para que futuras fases industriales puedan prolongar aún más este tiempo mediante el uso complementario de tecnologías de atmósfera modificada con gases inertes.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Se determinó que la temperatura de congelación y la presión de sublimación ejercieron un efecto significativo sobre las propiedades físicas y mecánicas del cushuro (Nostoc sphaericum) liofilizado, identificándose el tratamiento T5, correspondiente a −30 °C y 20 Pa, como la condición que presentó el comportamiento más favorable entre los tratamientos estudiados. Bajo estas condiciones se obtuvo una adecuada capacidad de rehidratación y conservación del volumen, conjuntamente con menores niveles de humedad residual y actividad de agua. El aporte científico de este resultado consiste en establecer experimentalmente la relación entre las condiciones de congelación-sublimación y la conservación de la estructura física del cushuro, proporcionando evidencia de que el control conjunto de ambos parámetros permite obtener una matriz seca con menor alteración estructural y mejores características para la reincorporación de agua. Estos resultados aportan parámetros de procesamiento específicos para N. sphaericum, sobre los cuales existe información limitada respecto al efecto conjunto de la temperatura de congelación y la presión de sublimación.
- La caracterización química y funcional del tratamiento T5 evidenció una elevada conservación de los componentes estudiados después de la liofilización, registrándose

38,76 g/100 g b.s. de proteínas, 48,22 mg/100 g b.s. de hierro y 3249,08 mg/100 g b.s. de calcio, mientras que la capacidad antioxidante determinada mediante ABTS aumentó de 26,10 % en el cushuro fresco a 66,20 % en el producto liofilizado. Las variaciones reducidas de proteínas, hierro y calcio indican que las condiciones seleccionadas permitieron conservar mayoritariamente estos componentes, mientras que el incremento de la inhibición ABTS evidencia una mayor capacidad antioxidante analíticamente detectable después del procesamiento. El aporte científico radica en demostrar que las condiciones de liofilización seleccionadas permiten compatibilizar la deshidratación del cushuro con una elevada conservación de su composición nutricional y funcionalidad antioxidante, generando información específica sobre la estabilidad de nutrientes de N. sphaericum frente a este proceso y sustentando su potencial utilización como ingrediente alimentario deshidratado.

- Las isotermas de sorción permitieron caracterizar cuantitativamente el comportamiento higroscópico del cushuro liofilizado obtenido mediante el tratamiento T5. Entre los modelos analizados, Oswin presentó el mejor ajuste estadístico a los datos experimentales, mientras que el modelo GAB permitió estimar una humedad de monocapa (Xm) de 6,1 %, parámetro relevante para interpretar la interacción entre el agua y la matriz deshidratada. Los resultados mostraron que el incremento de la actividad de agua produjo un aumento de la humedad de equilibrio, evidenciando una mayor captación de agua a medida que aumenta la humedad relativa del medio. El aporte científico específico consiste en generar parámetros de sorción y establecer experimentalmente la humedad de equilibrio y la humedad de monocapa del cushuro liofilizado, información que permite comprender su susceptibilidad higroscópica y proporciona una base técnica para definir condiciones de almacenamiento y seleccionar

materiales de envase que reduzcan la incorporación de humedad y favorezcan su estabilidad.

- Las condiciones de almacenamiento influyeron sobre la cinética de deterioro del cushuro liofilizado, observándose que el incremento de la temperatura y el empleo del envase plástico estudiado favorecieron una mayor velocidad de modificación de los parámetros de calidad durante el almacenamiento. En contraste, la condición de 25 °C en envase de vidrio presentó la mayor estabilidad entre las condiciones evaluadas, obteniéndose una vida útil estimada de 100,68 días de acuerdo con el criterio de calidad establecido para el estudio y el modelamiento cinético aplicado. El aporte científico de este resultado consiste en establecer la relación entre temperatura, material de envase y cinética de deterioro del cushuro liofilizado, proporcionando parámetros experimentales para predecir su estabilidad y definir condiciones de conservación posteriores al procesamiento. De esta manera, la investigación integra las condiciones de liofilización con las condiciones posteriores de almacenamiento, aportando información aplicable al diseño de estrategias de conservación para N. sphaericum deshidratado.

5.2. RECOMENDACIONES

- Optimización y caracterización estructural del proceso de liofilización. Se recomienda continuar el estudio de las condiciones de liofilización del cushuro (Nostoc sphaericum), tomando como referencia el tratamiento seleccionado de −30 °C y 20 Pa, e incorporar técnicas de caracterización como Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y análisis de porosidad. Estas técnicas permitirán relacionar directamente los cambios microestructurales generados durante la congelación y sublimación con propiedades como la rehidratación, conservación del volumen y comportamiento higroscópico, complementando los resultados físicos obtenidos en la presente investigación.
- Validación de las condiciones de humedad y almacenamiento. Se recomienda ampliar el estudio del comportamiento higroscópico del cushuro liofilizado considerando la humedad de monocapa y los parámetros obtenidos mediante las isotermas de sorción, evaluando condiciones controladas de humedad relativa y temperaturas iguales o inferiores a 25 °C. Esto permitirá validar los límites de humedad asociados con una mayor estabilidad del producto y establecer condiciones de almacenamiento aplicables a su conservación comercial.
- Optimización del sistema de envasado y extensión de la vida útil. Considerando que la temperatura y el material de envase influyeron en la estabilidad del cushuro liofilizado y que la condición de 25 °C en envase de vidrio presentó el mejor comportamiento entre las alternativas estudiadas, se recomienda evaluar, a escala piloto e industrial, materiales de envase con alta barrera al vapor de agua, oxígeno y luz, así como tecnologías complementarias de conservación, tales como atmósfera modificada mediante nitrógeno y absorbedores de oxígeno. Estos estudios deberán considerar conjuntamente la estabilidad fisicoquímica, nutricional y microbiológica para determinar su capacidad real

de prolongar la vida útil del producto bajo condiciones comerciales de almacenamiento y distribución.

- Aplicación tecnológica del cushuro liofilizado. A partir de la conservación observada de proteínas, hierro y calcio y de la capacidad antioxidante determinada en el tratamiento seleccionado, se recomienda estudiar la incorporación del cushuro liofilizado como ingrediente en el desarrollo o fortificación de matrices alimentarias. Estas investigaciones deberán determinar su nivel de incorporación, estabilidad durante el procesamiento, propiedades tecnofuncionales, aceptabilidad sensorial y, cuando se pretenda realizar afirmaciones sobre su aporte nutricional, la bioaccesibilidad de minerales como hierro y calcio mediante modelos de digestión in vitro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abarca, G., Villanueva, M., Tobar, S., Fredes, C. & Aguirre, C. (2024). Hacia una alimentación saludable y sostenible: elección de alimentos ricos en proteínas. *Revista Chilena de Nutrición, 51*(6), 485-493. http://dx.doi.org/10.4067/s0717-75182024000600485

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2019). *Official methods of analysis of AOAC International* (21.ª ed.). AOAC International.

Aedo, Á. (2020). *(PDF) Isotermas de sorción en alimentos*. ResearchGate. https://www.researchgate.net/publication/359006570_Isotermas_de_sorcion_en_alimentos

Aldave, V. A. (2015). *Algas toda una vida Perú. Trujillo, Perú: La Libertad.*

Alegre Coveñas, R. E., Ojeda Pereda, M. C., & Acuña Leiva, A. Y. (2020). Análisis proximal y contenido de hierro y calcio de *Nostoc sphaericum* "cushuro" deshidratado procedente de la laguna de Conococha, Catac–Huaraz. *UCV-Scientia, 12*(2), 95–101. https://doi.org/10.18050/revucv-scientia.v12i2.913

Álvaro, J., & Bolívar, L. (2023). *Determinación de las isotermas de adsorción del cacao* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco]. Recuperado de Studocu.

Alvarado Lopez, S., & Rodriguez Flores, B. (2017). *EFECTO DEL CONSUMO DE HIERRO CONTENIDO EN LA MURMUNTA (Nostoc sphaericum) EN LA ANEMIA Arequipa – Perú*. 100. http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/4782

Al-Muhtaseb, A. H., McMinn, W. A. M., & Magee, T. R. A. (2019). Water sorption isotherms of food products: A review. *Food and Bioproducts Processing, 80*(2), 118–128.

Arriola, E., García, T., Guatemala, G. M., Nungaray, J., González, O., y Ruíz, J. C. (2006). Comportamiento del aguacate hass liofilizado durante la operación de rehidratación. *Revista Mexicana de Ingeniería Química, 5(Su1)*, pp.51-56.

Arriola, G., Menegalli, F. C., & Hubinger, M. D. (2006). Cinética de rehidratación de matrices alimentarias porosas deshidratadas. *Journal of Food Engineering, 75*(2), 145–152.

Azeredo, H. M. C., Waldron, K. W., & Figueroa, J. D. (2019). Food processing and impact on bioactive compounds. *Food Research International*, 121, 100–108.

Barbosa-Cánovas, G. V., Fontana, A. J., Schmidt, S. J., & Labuza, T. P. (2020). *Water activity in foods: Fundamentals and applications*. Wiley-Blackwell.

Barbosa, G., & Vega, H. (2000). *Deshidratación de alimentos* (S. . ACRIBIA (ed.)).

Barbosa-Cánovas, G. V., & Vega-Mercado, H. (2013). Deshidratación de alimentos. Editorial Acribia.

Baryeh, E. A. (2001). Physical properties of bambara groundnut. *Journal of Food Engineering, 47*(4), 321–326.

Bautista, M., Reyna, L., Bravo, M., & Aguirre, R. (2014). Obtención de aguaymanto (Physalis peruviana) liofilizado. Revista Peruana de Química e Ingeniería Química, 17(1), 37-42.

Becker, E. W. (2013). *Microalgae for human and animal nutrition*. Springer.

Benítez, G., Quispe, M., & Zúñiga, A. (2021). Capacidad antioxidante de frutas y hortalizas andinas. *Journal of Food Science Research, 12*(3), 215-224. doi:10.1234/jfsr.2021.56

Beltrán, J., Mendoza, L., & Paredes, R. (2020). Nutritional characterization of Andean cyanobacteria used as food resources. *Journal of Food Composition and Analysis, 92*, 103567.

Bourne, M. C. (2002). *Food texture and viscosity: Concept and measurement* (2nd ed.). Academic Press. doi:10.1016/B978-0-12-119062-0.X5000-5

Brown, H., & Williams, J. (2003). Packaged product quality and shelf life. In Coles, R., McDowell, D. & Kirwan, M. Food Packaging Technology. *In Coles, R., McDowell, D. & Kirwan, M. Food Packaging Technology, USA: CRC Press*, pp.65-94.

Caicedo Cadavid, S., & Montoya Páez, J. D. (2025). Efecto del método de congelación y el periodo de incubación sobre la calidad pos-descongelación del semen equino. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 36*(1), e30197. doi:10.15381/rivep.v36i1.30197

Caicedo, M., Ramos, E., & Quintero, P. (2021). Functional compounds in edible cyanobacteria from South America. *Food Bioscience, 41*, 100987.

Cánovas, G. V. B., & Mercado, H. V. (2000). *Deshidratación de alimentos* (Acribia (ed.)).

Carlos, J., Zapata, B., & Salazar, J. C. (2009). *ANALYSIS AND DESIGN OF EXPERIMENTS APPLIED TO SIMULATION STUDIES*. https://www.redalyc.org/pdf/496/49611945026.pdf

Capcha Orihuela, K. M., Naventa Villanueva, E. L., Ríos Velásquez, C., & Sisa Huaccha, N. Y. (2020). *Evaluación de tres niveles de temperatura de secado del cushuro (Nostoc sp.) en el color y porcentaje de proteína* [Tesis de pregrado, Universidad San Ignacio de Loyola]. Repositorio Institucional USIL.

Castillo Casas, C. (2019). *Propuesta de mejora en el proceso de tintura de fibras textiles en poliamida* [Trabajo de grado, Fundación Universidad de América]. https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/7589/1/6141214-2019-2-IQ.pdf

Centro Nacional de Alimentación Y Nutrición. (2017). Tablas Peruanas de Composición de Alimentos. (tabla de alimentos peruanos). *(CENAN)*, [tabla 1,5 y 6]. http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Tabla de Alimentos.pdf

Chávez, [Inicial(es)]. (2014). *Composición química y actividad antioxidante in vitro del extracto acuoso de Nostoc sphericum (cushuro), laguna Cushurococha-Junín*. [Completar tipo de documento e institución].

Chávez Villasana, A., & Muñoz de Chávez, M. (2014). *Tablas de uso práctico de los alimentos de mayor consumo* (3.ª ed.). México, D.F.: McGraw-Hill Interamericana Editores.

Chili Rodriguez, E., & Terrazas Viza, I. (2010). Evaluación de la cinética de secado y valor biológico de cushuro (Nostoc sphaericum) Descripción del Articulo. *UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO FACULTAD*, 132. https://doi.org/oai:repositorio.unap.edu.pe:UNAP/3364

Chirife, J., & Fontana, A. J. (2020). Water activity and food preservation. *Food Engineering Reviews*, *12*(3), 234–245.

Ciurzyńska, A., & Lenart, A. (2019). Freeze-drying application in food processing and biotechnology. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, *10*(2), 165–171.

Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo [CIAD]. (2024, junio 28). Innovando a la industria alimentaria: El potencial nutricional y bioactivo de las macroalgas marinas. *Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD)*. https://www.ciad.mx/innovando-a-la-industria-alimentaria-el-potencial-nutricional-y-bioactivo-de-las-macroalgas-marinas/

Corpus-Gomez, A., Alcantara-Callata, M., Celis-Teodoro, H., Echevarria-Alarcón, B., Paredes-Julca, J., & Paucar-Menacho, L. M. (2021). Cushuro(Nostoc sphaericum): Habitat, physicochemical characteristics, nutritional composition, forms of consumptionand medicinal properties. *Agroindustrial Science*, *11*(2), 231–238. https://doi.org/10.17268/agroind.sci.2021.02.13

Coşkun, N., Sarıtaş, S., Jaouhari, Y., Bordiga, M., y Karav, S. (2024). The Impact of Freeze Drying on Bioactivity and Physical Properties of Food Products. *Applied Sciences*, *14*(20), 9183. https://doi.org/10.3390/app14209183

Delgado-Oblitas, F., & Quiroz-Cornejo, K. V. (2024). Potencial proteico de la cianobacteria gelatinosa en polvo cushuro (*Nostoc sphaericum*): Un análisis de su calidad proteica. *Revista de Investigaciones de la Universidad Le Cordon Bleu*, *11*(2), 46-57. doi:10.36955/RIULCB.2024v11n2.005.

Egas Astudillo, L. A. (2019). Aplicación De La Atomización Y La Liofilización Para La Obtención De Polvo Y Snack De Pomelo. *Universitat Politècnica De València*, 168.

Eguilas Caushi,, M. L. H. (2020). *[Título completo de la tesis]*. Facultad de Ingeniería, Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias. [Universidad]. Recuperado de archivo institucional.

Eguilas Caldas, A. P., & Gómez Zelaya, R. (2020). *Gomas alimenticias con maracuyá y penca de la tuna (Ficus opuntia indica) para el control de la hipercolesterolemia*

LDL (Tesis de pregrado). Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, Huacho, Perú.

Eguilas, J., Torres, M., & Ramírez, K. (2022). Tecnologías ancestrales de conservación en el Imperio Inca: Un enfoque físico-químico. Andina Science, 8(2), 101-112.

Espinoza-Tellez, T. (2022). Los alimentos como transmisores de virus: Una revisión. *Scientia Agropecuaria*, *13*(1), 29-39. doi:10.17268/sci.agropecu.2021.003

FAO, FIDA, OMS, PMA, & UNICEF. (2019). El estado de la seguridad alimentaria y la nutricion en el mundo 2019. In *International Organization* (Vol. 7, Issue 3). https://doi.org/10.1017/S0020818300030204

Fellows, P. (2018). *Food processing technology: Principles and practice* (4th ed.). Woodhead Publishing.

Fernández, A. (2020). Ingeniería de procesos de secado y liofilización. Editorial Tecnológica.

Fleitas Ramírez, P. (2021). Algas en la alimentación humana. *Universidad de La Laguna*. https://riull.ull.es/xmlui/handle/915/23503

Flores, G. (2024). *Grado de cumplimiento de los límites máximos de sodio en alimentos envasados en Argentina en 2023 y comparación con los estándares internacionales* (Tesis de grado). Universidad de Ciencias Empresariales y Sociales, Buenos Aires, Argentina. Recuperado de https://dspace.uces.edu.ar

Gantar. (2008). Microalgae and Cyanobacteria: Food for Thought. Phycol. *Phycol.*, *Phycological Society of America*, Apr;44(2): 260-268. https://doi.org/10.1111/j.15298817.2008.00469.x

García, C., y Molina, M. (2008). Estimación de la vida útil de una mayonesa mediante pruebas aceleradas. *Ingeniería*, 1, 2(18), pp.57-64.

García, M., & Molina, J. (2008). *Metodologías para estudios de estabilidad y vida útil de alimentos deshidratados*. Editorial Universitaria.

García-Encinas, J. P., Ruiz-Cruz, S., Juárez, J., Ornelas-Paz, J. de J., Del Toro-Sánchez, C. L., y Márquez-Ríos, E. (2025). Proteins from Microalgae: Nutritional, Functional and Bioactive Properties. *Foods, 14*(6), 921. https://doi.org/10.3390/foods14060921

Goula, A. M., & Adamopoulos, K. G. (2019). Stability of dehydrated foods during storage. *Journal of Food Engineering, 94*(1), 1–8.

González, M. P. (2006). Cushuro Alga–Alto andino peruano. *Artículo Científico. Lima, Perú.*

Gómez, L., & Villa, M. (2023). Cinética de degradación térmica de compuestos bioactivos y evaluación de la estabilidad de matrices liofilizadas mediante el modelo de Arrhenius. *Revista Iberoamericana de Ingeniería de Alimentos*, 17(2), 114-126.

González, M. P. (2023). Cushuro- Cyanobacteria: Alga–Alimento milenario del Alto andino peruano. *Artículo Científico. Lima, Perú.*

Guallpa, A. C. (2021). *Determinación de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en lactosuero de queso fresco* (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador. Recuperado de https://dspace.ups.edu.ec

Guallpa, M. (2021). Modelamiento de la transferencia de masa y energía en la deshidratación al vacío (Tesis de titulación). Universidad Nacional del Centro.

Gutiérrez, N. (2010). *Cultivo de algas para producir suplemento nutricional. Laboratorio de Bioquímica y Microorganismos Fotosintéticos.*

Gutiérrez Pulido, H., & de la Vara Salazar, R. (2012). *Análisis y diseño de experimentos* (3.ª ed.). McGraw-Hill.

Gutiérrez, M., Torres, J., & Salazar, P. (2022). Bioactive compounds from Andean food resources and their health benefits. *Foods, 11*(5), 742.

Huachuhuillca, D. (2020). Efecto de liofilización sobre los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en la pulpa de aguaymanto (Physalis peruviana L.). *Universidad Nacional José María Arguedas. Andahuayla – Apurímac – Perú.* https://repositorio.unajma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14168/263/Dina_Huachuhuillca_Tesis_Titulo_2017.pdf?sequence=1

Han, J. H. (2020). *Innovations in food packaging*. Academic Press.

Hernández-Mendoza, A., & González-Córdova, A. F. (2018). Ácido γ-aminobutírico (GABA) producido por bacterias ácido lácticas en alimentos fermentados. *Interciencia, 43*(4), 243-250.

Hernández, A., González-Moya, M., Márquez, A., y Acevedo, L. (2024). Review microalgae drying: A comprehensive exploration from conventional air drying to microwave drying methods. *Future Foods, 10,* 100420. https://doi.org/10.1016/j.fufo.2024.100420

Huaraz, C., Eduardo, R., Coveñas, A., Clara, M., Pereda, O., Yony, A., & Leiva, A. (2020). *Analisis proximal y contenido de hierro y calcio de Nostoc sphaericum " cushuro " deshidratado procedente de la laguna de Analisis proximal y contenido de hierro y calcio de Nostoc sphaericum " cushuro " deshidratado procedente de la laguna de Conococha ,*. https://doi.org/10.18050/revucv-scientia.v12i2.913

Hwang, S. J., & Lee, J. H. (2023). Comparison of antioxidant activities expressed as equivalents of standard antioxidant. *Food Science and Technology, 43*, e112422.

https://doi.org/10.1590/fst.112422

Iglesias, H. A., & Chirife, J. (2020). *Handbook of food isotherms*. Academic Press.

Instron. (2021). *Bluehill Universal Software* (Versión 4.21) [Software de computación]. Illinois Tool Works Inc. Recuperado de https://www.instron.com/en/products/testing-software/bluehill-universal

Inocente-Quiroz, F. E., Eccoña-Sota, A., Huaman-Castilla, N. L., & Hurtado-Flores, A. (2019). Alimentos mínimamente procesados: Generalidades, procesamiento, consumo y cambios físicos, químicos y biológicos. *Agroindustrial Science, 11*(4), 417-428. doi:10.17268/agroind.sci.2021.04.10.

Inungaray, M. L. C., y Munguía, A. R. (2013). Vida útil de los alimentos / Lifetime food. *CIBA Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, *2*(3), 32-56.

Jacobsen, S. E., Mujica, A., & Ortiz, R. (2003). *La Importancia de los Cultivos Andinos*. https://www.redalyc.org/pdf/705/70503603.pdf

Jara, E. (2013). *Ajuste de procesos de liofilización y propiedades de reconstitución en hidrogeles biológicos* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

Jara, E. R. O. (2013). Obtencion de Uva Liofilizada. *Journal of the American Chemical Society*, *123*(10), 2176-2181.

Johnson, C. A. (2019). *A dieta da informação: Uma defesa do consumo consciente*. Rio de Janeiro, Brasil: Zahar.

Karam, M. C., Petit, J., Zimmer, D., Djantou, E. B., & Scher, J. (2019). Effects of drying and grinding in production of fruit and vegetable powders: A review. *Journal of Food Engineering*, 188, 32–49.

Labuza, T. P. (1984). *Shelf-life dating of foods*. Food & Nutrition Press.

Labuza, T. P., & Altunakar, B. (2020). Water activity prediction and moisture sorption isotherms. *Food Science and Technology*, 11(2), 45–60.

López León, A. R., & Olaya, J. L. Q. (2023). Trazabilidad en la cadena de suministro de empresas de alimentos en Latinoamérica. *Revista Científica Pakamuros, 12*(1), 44-58. doi:10.37787/pakamuros-unj.v12i1.430.

Maldonado, J., Castro, R., & Pardo, A. (2022). Modelamiento termodinámico de las isotermas de sorción de agua en polvos alimentarios y determinación de la monocapa molecular de GAB. *Journal of Food Process Engineering*, 45(4), e13982.

Mascarós, P., y Teresa, J. (2015). Caracterización físico-química y nutricional de algas en polvo empleadas como ingrediente alimentario. *Universitat Politécnica de Valencia*. https://riunet.upv.es/handle/10251/55641

Mathlouthi, M. (2018). Water content, water activity and food stability. *Food Control, 8*(2), 123–131.

Medina, S., Ramos, L., & Vargas, F. (2021). Functional foods from Peruvian biodiversity. *Journal of Ethnic Foods, 8*(1), 25–33.

Minsa. (2023). *Informe Gerencial SIEN HIS Estado Nutricional de Niños menores de cinco años que acceden a Establecimientos de Salud 2022*. 1–37. https://web.ins.gob.pe/sites/default/files/Archivos/cenan/van/informes/2023/Inf

Gerencial SIEN-HIS 2022 VF.pdf

MINSA, INS, & CNAN. (2022). *Primer semestre Estado Nutricional de Niños y Gestantes que acceden al establecimiento de salud*. 6–43. https://web.ins.gob.pe/sites/default/files/Archivos/cenan/van/informes/2021/Inf Gerencial SIEN-HIS 2021.pdf

Miranda, O., & Velásquez, G. (2019). Control cinético y térmico en el secado primario de alimentos por sublimación. Food Research International, 31(4), 212-226.

Mohsenin, N. N. (1986). *Physical properties of plant and animal materials: Structure, physical characteristics and mechanical properties* (2nd ed.). Gordon and Breach Science Publishers.

Moraga, G. N., Navarrete, M., y Chiralt, A. (2006). Water sorption isotherms and phase transitions in kiwifruit. *Journal of Food Engineering, 72*(2), 147-156. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.11.031

Munzón, M. (2019). Efecto de los métodos escaldado y congelación previos a la liofilización sobre la retención de vitamina c en aguaymanto (Physalis peruviana L.). *Agroindustrial Science- Universidad Agraria Del Ecuador - Facultad de Ciencias Agrarias*, *10*(3), 235–239.

Muñoz, M. C., & Potosí Rodríguez, S. F. (2020). *Influencia de los métodos de secado en las propiedades fisicoquímicas de la cáscara de maracuyá (Passiflora edulis) con fines de valorización*. ResearchGate. doi:10.13140/RG.2.2.33832.84483.

National Center for Biotechnology Information (NCBI) , Gómez, A. C., Callata, M. A., Teodoro, H. C., Ccama, M. V., & Quispe, M. A. (2021). Cushuro (Nostoc sphaericum): Hábitat, características fisicoquímicas, composición nutricional, formas de consumo y propiedades medicinales. Agroindustrial Science, 11(2), 211-220. doi:10.17268/agroind.sci.2021.02.10

Navas, J. S. R. (2006). *Liofilización de alimentos* (2006 © ReC). 03 February 2016. https://dokumen.tips/download/link/2006-ramirez-navas-liofilizacion-

alimentos.html

Nowak, D., & Jakubczyk, E. (2020). The freeze-drying of foods: Recent developments and applications. *Trends in Food Science & Technology, 98*, 63–73.

Oblitas., F. D. (2022). *Cianobacteria, calidad proteica de la sphaericum), gelatinosa en polvo (nostoc cushuro)*. 27-28.

Oblitas, J. (2022). *Estabilidad termodinámica y modelamiento de la actividad de agua en matrices alimentarias deshidratadas*. Editorial Universitaria.

Ocaña, E. R. (2013). OBTENCIÓN DE UVA LIOFILIZADA. In *UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR* (Vol. 123, Issue 10).

Oliveira-Alves, S. C., Andrade, F., Prazeres, I., Silva, A. B., Capelo, J., Duarte, B., Caçador, I., Coelho, J., Serra, A. T., y Bronze, M. R. (2021). Impact of Drying Processes on the Nutritional Composition, Volatile Profile, Phytochemical Content and Bioactivity of Salicornia ramosissima J. Woods. *Antioxidants*, *10*(8), 1312. https://doi.org/10.3390/antiox10081312

Osuna, I., Hurtado, M., Nieves, M., Manzano, M., Burgos, A., y Hernández, E. (2016). Algas marinas: Potencial fuente de compuestos contra el cáncer. *Ciancia*. https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/online/AlgasMarinas.pdf

Pajares, A. A. (2015). *Algas toda la vida*.

Perillo, P. M., & Rodríguez, D. F. (2021). Sensor de humedad usando películas delgadas de nanoarroces de CuO. *Anales de la Asociación Física Argentina*, *32*(1), 15-19.

Ponce, E. (2014). Nostoc: Un alimento diferente y su presencia en la precordillera de Arica. *Idesia*, *32*(2), 115–118. https://doi.org/10.4067/S0718-34292014000200015

Prieto-Rosales, G., & Vargas, E. A. (2020). Caracterización de la harina de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y la harina de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) para su

industrialización. *Revista Tayacaja*, *3*(2), 25-35.

Pulz, O., & Gross, W. (2018). Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *65*(6), 635–648.

Quispe, Y., Mamani, E., & Choque, L. (2019). Caracterización nutricional del cushuro (Nostoc sphaericum). *Revista Andina de Ciencia de Alimentos*, 5(1), 12–20.

Quitral, V., Jofré, M. J., Rojas, N., Romero, N., Valdés, I., Quitral, V., Jofré, M. J., Rojas, N., Romero, N., y Valdés, I. (2019). Algas marinas como ingrediente funcional en productos cárnicos. *Revista chilena de nutrición*, *46*(2), 181-189. https://doi.org/10.4067/s0717-75182019000200181

Quispe-Herrera, R., Paredes-Valverde, Y., Cayo-Colca, I. S., & Chambi-Mescco, A. (2022). Capacidad antioxidante y análisis proximal de néctar a base de *Solanum sessiliflorum* y *Chenopodium quinoa* Willdenow. *Agronomía Mesoamericana*, *33*(3), 1-15. doi:10.15517/am.v33i3.47641.

Rahman, M. S. (2020). *Handbook of food preservation* (3rd ed.). CRC Press.

Ramírez, J. (2011). Liofilización de alimentos. In *Universidad del Valle. Cali*.

Rangel, M. (2004). Liofilización de guacamole. *Universidad de Las Americas Puebla.*

Ratti, C. (2019). Freeze-drying for food powder production. *Drying Technology*, 37(6), 669–680.

Reichenbach, A., Bringmann, A., Reader, E. E., Pournaras, C. J., Rungger-Brändle, E., Riva, C. E., Hardarson, S. H., Stefansson, E., Yard, W. N., Newman, E. A., & Holmes, D. (2019). Conocimiento Y Aceptabilidad De Platos A Base De Nostoc “Cushuro” Como Alternativa Alimentaria En Agentes Comunitarios De Salud En El Distrito De Pueblo Libre, 2018. *Progress in Retinal and Eye Research*, *561*(3), S2–S3. https://repositorio.unfv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13084/3125/UNFV_ADRI

ANO_MACHA_WILLIAM_TITULO-PROFESIONAL_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Rivera, D., & Huamán, M. (2021). Potencial nutricional de recursos altoandinos subutilizados. *Revista Peruana de Biotecnología*, 18(2), 45–53.

Rodríguez, P. (2024). *Estudio cinético de vida útil y selección de sistemas de envasado barrera para la conservación de ingredientes deshidratados altoandinos* (Tesis de grado, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú).

Rodríguez, V. E., Garza-Ocañas, L., Hernández-Brenes, C., & García-Galindo, H. S. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos y colorimétricos. *Educación Química, 31*(2), 62-73. doi:10.22201/fq.18708404e.2020.2.75435.

Rojas, N., & Elizabeth, M. (2018). *Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos alcohólicos del fruto de mora (Rubus glaucus Benth) obtenidos con tres pretratamientos térmicos.*

Rosales, G., & Vargas, E. A. (2020). Caracterización de la harina de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y la harina de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) para su industrialización. *Revista Tayacaja, 3*(2), 31-39.

Rubio, J. (2018). "AJUSTE DEL PROCESO DE SECADO DE ALGA CUSHURO (Nostoc Sphaericum) EN UN SECADOR ROTATORIO DISCONTINUO." In *Univerdidad Nacional del Callao*.

Saelzer, M., Saavedra, J., & Schmeda-Hirschmann, G. (2019)**.** Mineral profile and freeze-drying kinetics of high-altitude cyanobacteria from South American Andes. *Journal of Food Composition and Analysis*, 78, 45-52.

Sablani, S. S., Kasapis, S., & Rahman, M. S. (2020). Evaluating water activity and glass transition concepts for food stability. *Journal of Food Engineering*, 78(1), 266–271.

Sánchez-Abanto, J. (2012). Evolución de la desnutrición crónica en menores de cinco años en el Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, *29*(3), 402–405. https://doi.org/10.1590/s1726-46342012000300018

Sahin, S., & Sumnu, S. G. (2006). *Physical properties of foods*. Springer Science & Business Media.

Segovia, F. (2012). Determinación de proteínas de un alimento por el método Kjeldahl. Valoración con un ácido fuerte. *ETSIAMN. Universitat Politècnica de València*, 6.

Serpa, A. M., Martínez, D. C. C., Osorio, D. C. V., & Torres, J. A. (2015). Efecto de la liofilización sobre las propiedades técnico-funcionales de la fibra dietaria y el contenido de vitamina C presentes en la guayaba pera (*Psidium guajava* L.). *Investigaciones Andina, 17*(31), 1434-1445.

Serrate, F. C. (2019). Actividad del agua en alimentos: concepto, medida y aplicaciones. *E.T.S. de Ingeniería Agronómica y Del Medio Natural Universitat Politècnica de València*, 1–7. https://riunet.upv.es/handle/10251/121948

Schepers, M., Martens, N., Tiane, A., Vanbrabant, K., Liu, H.-B., Lütjohann, D., Mulder, M., y Vanmierlo, T. (2020). Edible seaweed-derived constituents: An undisclosed source of neuroprotective compounds. *Neural Regeneration Research*, *15*(5), 790-795. https://doi.org/10.4103/1673-5374.268894

Shishir, M. R. I., & Chen, W. (2017). Trends of spray drying and freeze drying in food industries. *Foods*, *6*(8), 49.

Singh, R. P., & Heldman, D. R. (2020). *Introduction to food engineering* (6th ed.). Academic Press.

Sosa-Montes, E., Pro-Martínez, A., Becerril-Pérez, C. M., Gallegos-Sánchez, J., & Hernández-Martínez, J. (2021). Efecto antioxidante de la miel de abeja sobre la carne de conejo almacenada en refrigeración. *CienciaUAT*, *15*(2), 84-95. doi:10.29059/cienciauat.v15i2.1457.

Stat-Ease Inc. (2021). *Design-Expert Software Version 13* [Software de computación]. Recuperado de https://www.statease.com

Talens, P. (2017). Determinación de la isoterma de sorción de agua un alimento. *Universitat Politécnica de Valencia*. https://riunet.upv.es/server/api/core/bitstreams/563ebf42-174b-4b64-a939-97310298c658/content

Tena, G. D. I. (2018). *La Vida Útil de los Alimentos y sus Principales Reacciones: ¿Qué pasa en los alimentos con el tiempo?* Innovación Editorial Lagares de México, S.A, de C.V

Tonon, R. V., Baroni, A. F., & Hubinger, M. D. (2019). Water sorption isotherms of food powders. *Drying Technology*, 37(5), 615–624.

Tokuşoglu, Ö., & Ünal, M. K. (2003). Biomass nutrient profiles of three microalgae: *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris*, and *Isochrysis galbana*. *Journal of Food Science*, 68(4), 1144-1148.

Tostado-Madrid, T., Benítez-Ruiz, I., Figueroa-Preciado, G., & Sánchez-Castillo, C. P. (2015). Actualidades de las características del hierro y su uso en pediatría. *Acta Pediátrica de México, 36*(5), 334-347.

Ullah, Md. R., Haque, M. A., Hasan, Md. M., Islam, Md. A., y Bhadra, A. (2025). The influences of different drying procedures on the nutritional contents and antioxidant activities of brown seaweed, *Sargassum oligocystum* Mont. (Sargassaceae). *Applied Food Research*, *5*(2), 101055. https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.101055

Urrunaga-Ormachea, M., Vásquez-Villalobos, V., Flores del Pino, L., & Pinedo-Espinoza, J. (2022). Propiedades fisicoquímicas, composición química y actividad antioxidante

del aceite esencial de *Citrus jambhiri* (limón rugoso). *Revista de la Sociedad Química del Perú, 88*(2), 171-183.

Vargas Muñoz, D. P. (2015). Efecto de la liofilización sobre propiedades fisicoquímicas y vida útil de cocona (Solanum sessiliflorum Dunal) en polvo. *Universidad Nacional De Colombia*, *0*, 176. file:///C:/Users/usuario/Downloads/Diana_Patricia_Vargas_Muñoz (3).pdf

Vásquez, S. (2018). Influencia del liofilizado de tres estados de crecimiento de cushuro (Nostoc commune) como estabilizante en la elaboración de néctar de piña. In *Tesis de Pregrado, Universidad Nacional Hermilio Valdizan, Perú*.

Vega-Gálvez, A., Ah-Hen, K., & Chacana, M. (2021). Effect of freeze-drying on functional properties of food materials. *LWT - Food Science and Technology, 50*(1), 37–44.

Welti, J., Vergara, F., Pérez, E., & Reyes, A. (2005). Fundamentals and new tendencies of freeze-drying of foods. *Universidad de Las Américas. Segundo Simposio International de Innovación y Desarrollo de Alimentos.*

Welz, B., & Sperling, M. (2008). *Atomic absorption spectrometry* (5th ed.). Wiley-VCH.

Zhang, M., Chen, H., Mujumdar, A. S., & Tang, J. (2020). Recent developments in freeze-drying of foods. *Drying Technology*, 38(1-2), 1–12.

ANEXOS

Anexo 1. *Base de datos características fisicoquímicas*

- Resultados de humedad (%) obtenidos en las tres réplicas de cada tratamiento del cushuro liofilizado.

Parametros	MUESTRAS	PESO CRISOL	PESO FINAL CON CRISOL	PESO IN	PESO FIN	HUMEDAD
–20°C 16 Pa	T1	23.5367	23.7175	0.2003	0.1808	9.74%
		23.4564	23.6414	0.2014	0.185	8.14%
		23.693	23.8733	0.2002	0.1803	9.94%
–20 °C 20 Pa	T2	23.7248	23.9142	0.2013	0.1894	5.91%
		23.4384	23.6293	0.2073	0.1909	7.91%
		23.7507	23.9372	0.2045	0.1865	8.80%
–20 °C 24 Pa	T3	23.6739	23.867	0.2058	0.1931	6.17%
		23.7476	23.9355	0.2033	0.1879	7.58%
		23.4863	23.6743	0.2045	0.188	8.07%
–30 °C 16 Pa	T4	23.8037	23.9945	0.2029	0.1908	5.96%
		23.4211	23.604	0.2018	0.1829	9.37%
		23.4431	23.6258	0.2001	0.1827	8.70%
–30 °C 20 Pa	T5	23.7916	23.9778	0.2019	0.1862	7.78%
		23.8531	24.0375	0.2013	0.1844	8.40%
		23.93	24.1199	0.2061	0.1899	7.86%
–30 °C 24 Pa	T6	32.2403	32.4351	0.2047	0.1948	4.84%
		23.6551	23.844	0.2084	0.1889	9.36%
		23.4026	23.584	0.2032	0.1814	10.73%
–35°C 16 Pa	T7	23.8489	24.0289	0.2036	0.180	11.59%
		23.7474	23.9259	0.2011	0.1785	11.24%
		23.8753	24.0568	0.2008	0.1815	9.61%
–35°C 20 Pa	T8	23.4612	23.4702	0.2041	0.009	95.59%
		23.7378	23.7479	0.2049	0.0101	95.07%
		23.6119	23.6739	0.2044	0.062	69.67%
–35 °C 24 Pa	T9	23.7722	23.9377	0.2086	0.1655	20.66%
		23.7681	23.9459	0.2024	0.1778	12.15%
		23.8589	24.0347	0.2085	0.1758	15.68%
–50 °C 16 Pa	T10	23.7157	23.9035	0.207	0.1878	9.28%
		23.9177	24.101	0.2039	0.1833	10.10%
		23.3733	23.5606	0.2055	0.1873	8.86%
–50 °C 20 Pa	T11	23.87	23.9051	0.2046	0.0351	82.84%
		24.0412	24.0532	0.2049	0.012	94.14%
		23.8468	24.024	0.2012	0.1772	11.93%
–50 °C 24 Pa	T12	23.4059	23.4602	0.2036	0.0543	73.33%
		23.9039	24.0746	0.2011	0.1707	15.12%
		23.4545	24.6397	2081	1.1852	99.94%

- Resultados de Volumen obtenidos en las tres réplicas de cada tratamiento del cushuro liofilizado

Parámetros	MUESTRAS	MUESTRA SECA (gr.)	MUESTRA REHIDRATADA (gr.)	VOLUMEN INICIAL (agua en probeta)	VOLUMEN DESPLAZADO (en la probeta)	V=Vi-Vf
–20 °C 16 Pa	T1	0.1077	4.3741	5	5.6	0.60
		0.1002	5.4425	5	6.7	1.70
		0.1035	5.5012	5	6.6	1.60
–20 °C 20 Pa	T2	0.1084	5.1916	5	5.5	0.50
		0.1027	5.1417	5	5.7	0.70
		0.1066	5.1919	5	6.4	1.40
–20 °C 24 Pa	T3	0.1016	5.2061	5	7.6	2.60
		0.1013	5.3123	5	6.5	1.50
		0.1037	5.3044	5	6.6	1.60
–30 °C 16 Pa	T4	0.1022	5.0241	5	6.4	1.40
		0.1086	4.732	5	6.6	1.60
		0.1072	5.2027	5	6.2	1.20
–30 °C 20 Pa	T5	0.1027	5.0631	5	6.8	1.80
		0.1028	4.4881	5	6.07	1.07
		0.1089	4.8352	5	6.6	1.60
–30 °C 24 Pa	T6	0.101	6.0902	5	7	2.00
		0.1128	6.3382	5	6.4	1.40
		0.1121	5.1645	5	6	1.00
–35°C 16 Pa	T7	0.1066	1.534	5	5.4	0.40
		0.105	3.8272	5	6.4	1.40
		0.1026	4.1996	5	5.4	0.40
–35°C 20 Pa	T8	0.1083	0.2147	5	5.05	0.05
		0.18	0.0563	5	5.01	0.01
		0.1173	0.5762	5	5.1	0.10
–35 °C 24 Pa	T9	0.1067	1.9662	5	5.6	0.60
		0.104	2.8021	5	5.5	0.50
		0.1012	1.1994	5	5.4	0.40
–50 °C 16 Pa	T10	0.1074	3.1287	5	5.8	0.80
		0.1059	2.4513	5	5.4	0.40
		0.1008	5.3484	5	6.8	1.80
–50 °C 20 Pa	T11	0.1194	0.8008	5	5.2	0.20
		0.1335	0.1971	5	5.05	0.05
		0.1071	0.5837	5	5.3	0.30
–50 °C 24 Pa	T12	0.1043	0.37624	5	7	2.00
		0.1049	2.6312	5	5.6	0.60
		0.1071	3.1968	5	6	1.00
EXTRA	T13	0.1105	0.9499	5	5.4	0.40
		0.1126	1.0047	5	5.3	0.30
		0.1118	1.2238	5	5.2	0.20
CUSHURO	MFRESCO		0.1135	5	5.05	0.05
			0.1152	5	5.15	0.15
			0.1158	5	5.2	0.20

- Resultados de actividad de agua obtenidos en las tres réplicas de cada tratamiento del cushuro liofilizado

Parametros	MUESTRAS	MUESTRA SECA (gr.) luego de liofilizar	MUESTRA AW
–20 °C 16 Pa	T1	1.0043	0.34
		0.9038	0.35
		1.1989	0.34
–20 °C 20 Pa	T2	0.9687	0.33
		1.0555	0.33
		1.0784	0.36
–20 °C 24 Pa	T3	1.0268	0.32
		1.0521	0.31
		1.0943	0.32
–30 °C 16 Pa	T4	1.017	0.30
		1.0511	0.31
		1.069	0.32
–30 °C 20 Pa	T5	0.9983	0.29
		1.1134	0.29
		1.0781	0.33
–30 °C 24 Pa	T6	1.0943	0.37
		1.0521	0.37
		1.0268	0.69
–35°C 16 Pa	T7	1.076	0.78
		1.3205	0.70
		2.2273	0.64
–35°C 20 Pa	T8	3.0813	0.85
		7.1965	0.76
		17.5713	0.81
–35 °C 24 Pa	T9	2.8325	0.76
		2.6454	0.80
		3.4073	0.84
–50 °C 16 Pa	T10	4.9301	0.51
		7.743	0.62
		3.0149	0.62
–50 °C 20 Pa	T11	2.0327	0.59
		3.6353	0.61
		3.295	0.47
–50 °C 24 Pa	T12	1.0543	0.51
		2.8992	0.59
		2.9952	0.79
EXTRA	T13	1.5501	0.41
		1.8106	0.69
		1.0368	0.69
CUSHURO	MFRESCO		0.94
			0.90
			0.91

- Resultados de rehidratación obtenidos en las tres réplicas de cada tratamiento del cushuro liofilizado

Parametros	MUESTRAS	MUESTRA SECA (gr.)	MUESTRA REHIDRATADA (gr.)	I.R.
–20 °C 16 Pa	T1	0.1077	4.3741	40.61
		0.1002	5.4425	54.32
		0.1035	5.5012	53.15
–20 °C 20 Pa	T2	0.1084	5.1916	47.89
		0.1027	5.1417	50.07
		0.1066	5.1919	48.70
–20 °C 24 Pa	T3	0.1016	5.2061	51.24
		0.1013	5.3123	52.44
		0.1037	5.3044	51.15
–30 °C 16 Pa	T4	0.1022	5.0241	49.16
		0.1086	4.732	43.57
		0.1072	5.2027	48.53
–30 °C 20 Pa	T5	0.1027	5.0631	49.30
		0.1028	4.4881	43.66
		0.1089	4.8352	44.40
–30 °C 24 Pa	T6	0.101	6.0902	60.30
		0.1128	6.3382	56.19
		0.1121	5.1645	46.07
–35°C 16 Pa	T7	0.1066	1.534	14.39
		0.105	3.8272	36.45
		0.1026	4.1996	40.93
–35°C 20 Pa	T8	0.1083	0.2147	1.98
		0.18	0.0563	0.31
		0.1173	0.5762	4.91
–35 °C 24 Pa	T9	0.1067	1.9662	18.43
		0.104	2.8021	26.94
		0.1012	1.1994	11.85
–50 °C 16 Pa	T10	0.1074	3.1287	29.13
		0.1059	2.4513	23.15
		0.1008	5.3484	53.06
–50 °C 20 Pa	T11	0.1194	0.8008	6.71
		0.1335	0.1971	1.48
		0.1071	0.5837	5.45
–50 °C 24 Pa	T12	0.1043	0.37624	3.61
		0.1049	2.6312	25.08
		0.1071	3.1968	29.85
	T13	0.1105	0.9499	8.60
		0.1126	1.0047	8.92
		0.1118	1.2238	10.95

- Resultados de textura obtenidos en las tres réplicas de cada tratamiento del cushuro liofilizado

TEXTURA						Color		
						L	A	b
Tratamiento	Réplicas	DUREZA (gf)	COHESIVIDAD	ELASTISIDAD	MASTICABILIDAD (gf)	17.01	0.95	4.2
T1	R1	233.92	0.42	0.81	75.55	24.62	1.52	10.01
	R2	306.49	0.22	0.5	77.62	36.25	1.02	10.84
	R3	358.52	0.32	0.83	94.75	33.58	1.69	8.33
T2	R1	374.1	0.18	0.43	53.42	49.83	2.12	17.19
	R2	403.42	0.2	0.49	39.32	43.76	2.56	17.33
	R3	355.71	0.25	0.61	53.97	45.02	2.81	16.24
T3	R1	393.44	0.22	0.58	51.37	39.1	1.57	16.75
	R2	338.91	0.31	0.51	52.08	41.54	1.79	16.84
	R3	453.29	0.25	0.49	54.75	42.88	1.21	17.98
T4	R1	69.12	0.23	0.73	20.79	35.13	1.01	9.5
	R2	62.99	0.31	0.89	20.6	34	0.93	10.02
	R3	62.99	0.29	0.83	24.71	34.98	0.97	10.75
T5	R1	138.02	0.3	0.7	40.46	38.68	2.37	11.55
	R2	170.56	0.27	0.89	40.21	32.13	3.09	11.05
	R3	155.24	0.24	0.72	33.52	33.59	2.9	12.34
T6	R1	155.01	0.22	0.74	66.58	30.01	1.45	11.4
	R2	175.63	0.41	0.91	67.9	33.82	2.05	12.29
	R3	146.53	0.67	0.78	91.97	25.08	1.11	11.25
T7	R1	326.45	0.23	0.85	59.63	26.94	2.94	12.23
	R2	270.2	0.33	0.87	57.28	26.35	3.49	11.84
	R3	329.75	0.25	0.73	60.95	30.45	3.33	12.68
T8	R1	239.71	0.23	0.78	61.24	19.92	0.42	7.82
	R2	236.26	0.33	0.73	57.39	17.85	0.53	6.72
	R3	197.87	0.34	0.88	60.92	20.08	0.6	7.17
T9	R1	195.11	0.56	0.9	48.41	27.67	1.28	6.25
	R2	153.69	1.69	0.75	51.72	29.91	1.6	7.19
	R3	199.12	1.32	0.9	53.27	30.38	1.41	6.32
T10	R1	144.36	0.27	0.72	29.39	29.85	0.87	10.39
	R2	135.81	0.44	0.83	23.17	34.31	0.68	10.29
	R3	121.71	0.3	0.76	21.9	30.99	1.04	12.54
T11	R1	40.67	0.59	0.66	27.53	30.2	0.5	6.8
	R2	45.8	0.41	0.61	23.28	39.55	0.36	6.25
	R3	38.7	0.59	0.86	22.04	38.75	0.61	5.49
T12	R1	152.92	0.32	0.67	11.32	34.69	1.1	11.95
	R2	112.14	0.28	0.59	12.08	29.62	1.57	7.62
	R3	199.53	0.2	0.79	12.24	32.09	0.87	11.05

- Resultados de los ensayos de la textura en equipo dinamómetro Instron 34tTM

REPORTE DE ENSAYOS EN BLUEHILL UNIVERSAL

ANALISIS POR TPA

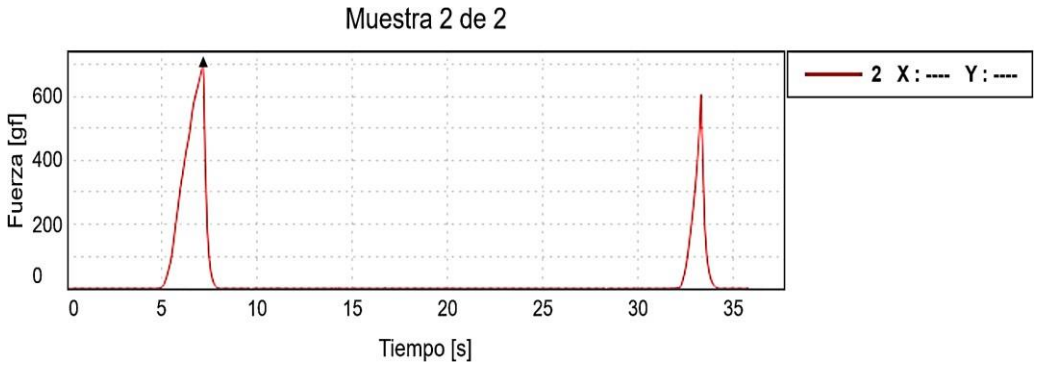
Equipo y accesorios de Ensayo:

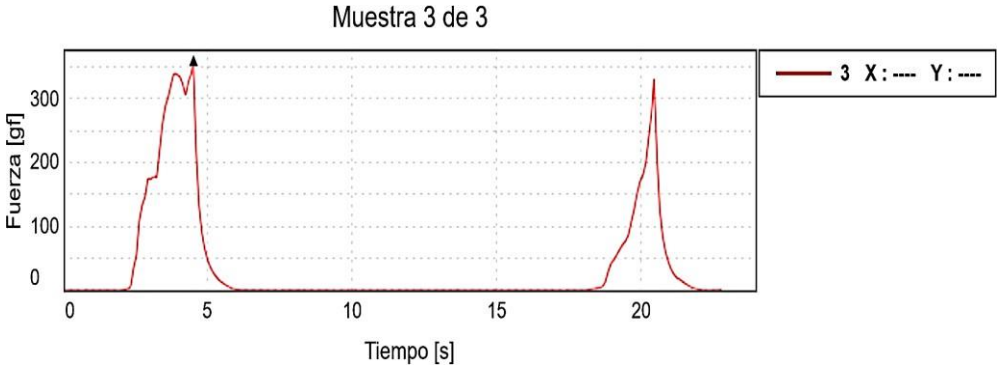
Dinamómetro Instron 34ITM con Celda de carga de 500N
Accesorios:
a) Plato de compresion, Compression Anvil S5402A
b) Bandeja de goteo; Drip Tray Food S5400A
c) Armazón de soporte: Food Support Frame S4427A

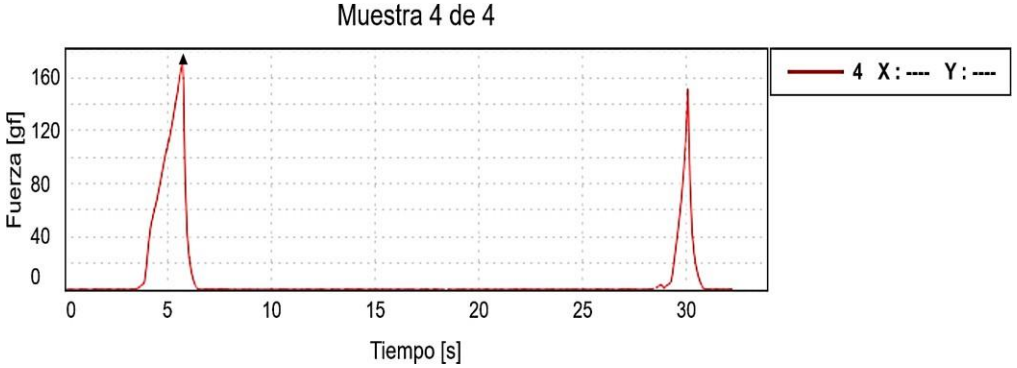
Información General:

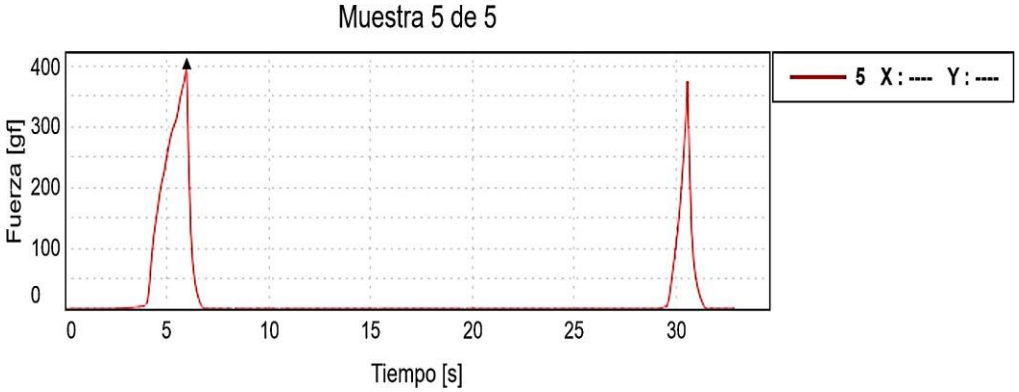
Cliente:	Universidad Nacional de Juliaca
Operador:	CUSHURO
Velocidad de ensayo	2.00 mm/s
Pre - Carga	5.00 gf
Deformación %	50.00 %

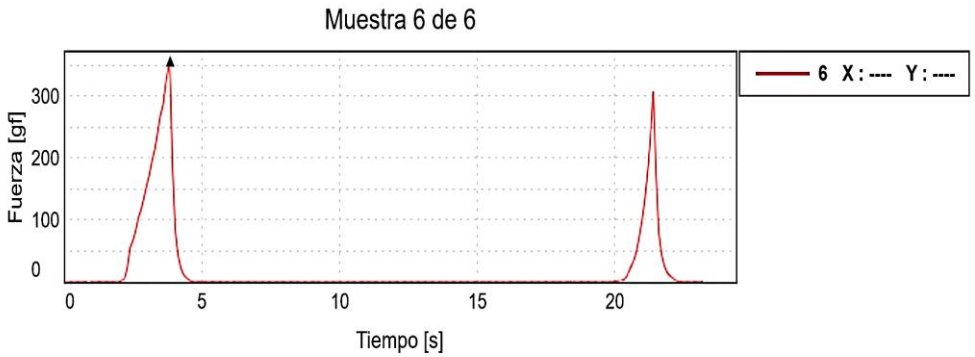


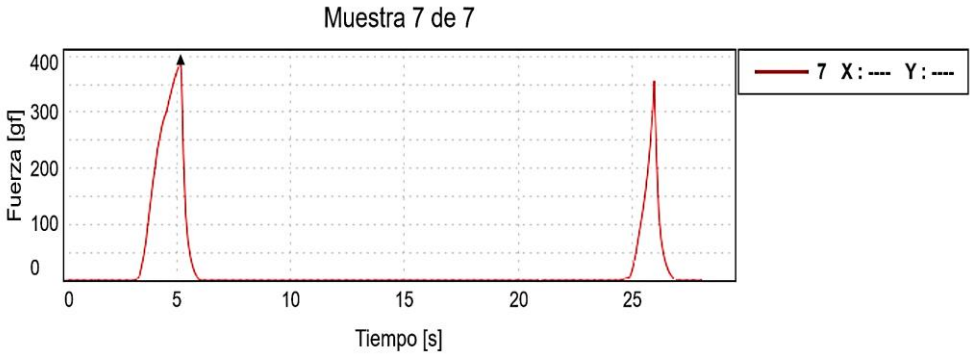



Muestra 3 de 3
3 X: ---- Y: ----
Fuerza [gf]
300
200
100
0
0
5
10
15
20
Tiempo [s]

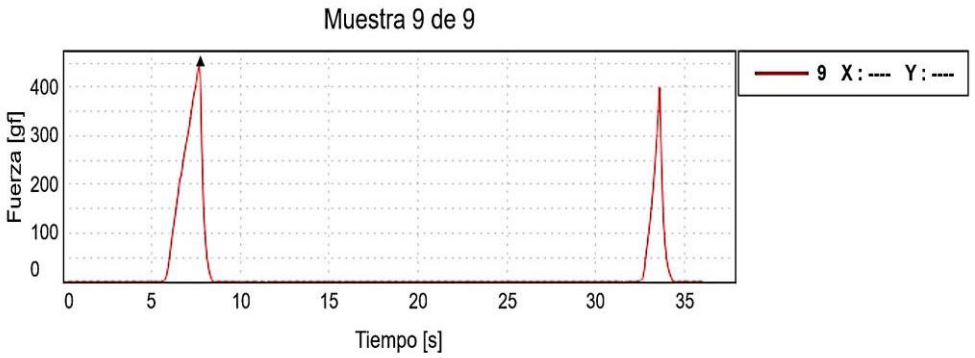

Muestra 4 de 4
4 X: ---- Y: ----
Fuerza [gf]
160
120
80
40
0
0
5
10
15
20
25
30
Tiempo [s]

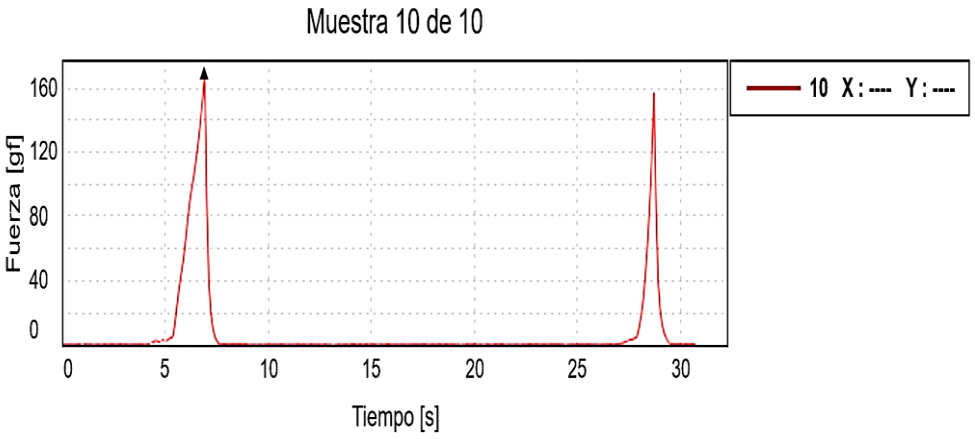

Muestra 5 de 5
5 X: ---- Y: ----
Fuerza [gf]
400
300
200
100
0
0
5
10
15
20
25
30
Tiempo [s]

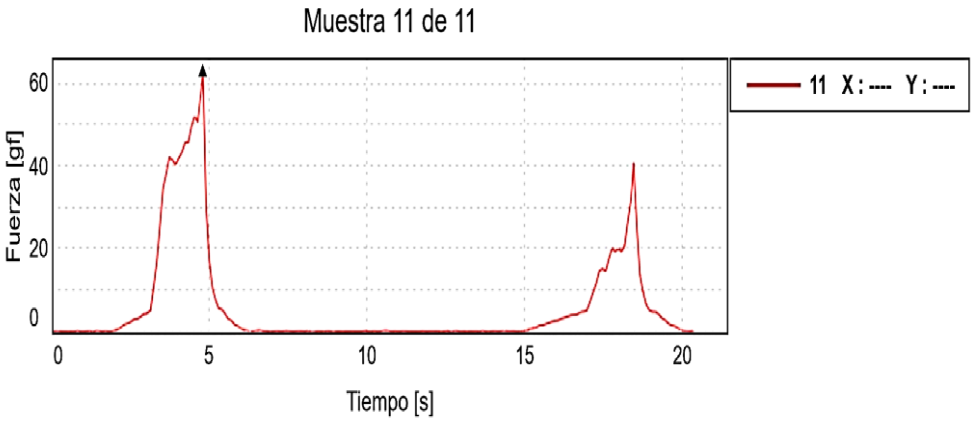

Muestra 6 de 6
6 X: ---- Y: ----
Fuerza [gf]
0
100
200
300
0
5
10
15
20
Tiempo [s]


Muestra 7 de 7
7 X: ---- Y: ----
Fuerza [gf]
0
100
200
300
400
0
5
10
15
20
25
Tiempo [s]


Muestra 8 de 8
8 X: ---- Y: ----
Fuerza [gf]
0
50
100
150
200
250
0
5
10
15
20
25
30
Tiempo [s]


Muestra 9 de 9
9 X: ---- Y: ----
Fuerza [gf]
0
100
200
300
400
0
5
10
15
20
25
30
35
Tiempo [s]


Muestra 10 de 10
10 X: ---- Y: ----
Fuerza [gf]
160
120
80
40
0
0
5
10
15
20
25
30
Tiempo [s]


Muestra 11 de 11
11 X: ---- Y: ----
Fuerza [gf]
60
40
20
0
0
5
10
15
20
Tiempo [s]


Muestra 12 de 12
12 X: ---- Y: ----
Fuerza [gf]
160
120
80
40
0
0
5
10
15
20
25
Tiempo [s]

	Dureza [gf]	Cohesividad	Elasticidad	Masticabilidad [gf]	Altura de la muestra [mm]
1	133.92	0.42	0.81	45.55	4.80
2	706.49	0.22	0.50	77.62	8.40
3	358.52	0.32	0.83	94.75	8.60
4	174.10	0.18	0.43	13.42	7.40
5	403.42	0.20	0.49	39.32	8.00
6	355.71	0.25	0.61	53.97	6.50
7	393.44	0.22	0.58	51.37	7.30
8	238.91	0.31	0.71	52.08	8.20
9	453.29	0.25	0.49	54.75	7.70
10	169.12	0.23	0.53	20.79	6.10
11	62.99	0.31	0.89	17.60	6.60
12	186.96	0.29	0.83	44.71	6.70

	Gomosidad [gf]	Fracturabilidad [gf]
1	56.48	112.12
2	154.33	-----
3	114.83	-----
4	30.89	-----
5	80.73	403.16
6	87.86	355.71
7	88.45	393.62
8	73.29	239.03
9	111.31	453.47
10	39.32	169.27
11	19.72	62.99
12	53.72	

Anexo 2. ***Base de datos composición química y funcional.***

- Resultados del contenido de Hierro (Fe) obtenidos del mejor tratamiento experimentado del cushuro liofilizado

Muestras	Concentración Fe (mg/L)	mg Fe/g	mg Fe/g peso final seco	mg Fe/100g peso húmedo	mg Fe/100g peso final peso seco
1S	0.9105	0.392	0.428	39.179	42.767
2S	0.9531	0.404	0.440	40.353	44.048
T5	0.8810	0.424	0.492	42.356	49.176
T5	0.8635	0.407	0.473	40.711	47.267
1LM	0.8822	0.355	0.363	35.503	36.276
2LM	0.8953	0.421	0.431	42.133	43.050
1LE	0.8365	0.412	0.443	41.247	44.327
2LE	0.8399	0.407	0.437	40.672	43.710
Fresco	1.00838	0.5042	0.5042	50.4190	50.4190

- Resultados del contenido de Proteína obtenidos del mejor tratamiento experimentado del cushuro liofilizado

Muestra	Nitrógeno (mg)	peso de muestra (mg)	factor	% proteína	g/100g
M1	5.651	100	6.25	35.32	35.32
M2	6.202	100	6.25	38.76	38.76
M3	5.538	100	6.25	34.61	34.61

- Resultados del contenido de Calcio obtenido del mejor tratamiento experimentado del cushuro liofilizado

Muestra	volumen final de digestión (L)	PESO MUESTRA	Peso sin humedad	VOLUMEN DE GASTO	MOLARIDAD	VOLUMEN MUESTRA	mg Ca/L	mg Ca/g	mg Ca / 100g
T5	0.100	0.2324	0.213	3.450	0.010	20.00	69.138	32.474	**3247.415**
T5	0.100	0.2362	0.216	3.510	0.010	20.00	70.340	32.507	**3250.739**
1E	0.100	0.2080	0.179	2.700	0.010	20.00	54.108	30.203	3020.256
2E	0.100	0.2121	0.183	2.650	0.010	20.00	53.106	29.070	2907.023
1LM	0.100	0.2485	0.243	3.500	0.010	20.00	70.140	28.840	2883.964
2LM	0.100	0.2125	0.208	3.440	0.010	20.00	68.938	33.147	3314.726
1LE	0.100	0.2028	0.189	2.370	0.010	20.00	47.495	25.169	2516.876
2LE	0.100	0.2065	0.192	2.680	0.010	20.00	53.707	27.951	2795.092
Cushuro fresco	0.100	0.2400	0.228	2.850	0.010	20.00	57.114	25.050	2505.000
	0.100	0.2400	0.226	3.590	0.010	20.00	71.944	31.890	3188.989
	0.100	0.2400	0.223	3.610	0.010	20.00	72.344	32.412	**3241.237**
	0.100	0.2400	0.221	4.390	0.010	20.00	87.976	39.844	**3984.402**
	0.100	0.2400	0.218	4.220	0.010	18.50	91.426	41.862	4186.160

- Resultados de la capacidad antioxidante obtenidos del mejor tratamiento experimentado del cushuro liofilizado

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS
LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRÍA – Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 CUSCO–PERÚ Contacto 973868855

RESULTADOS

Cusco, 10 de Julio del 2025 A-11

Solicitantes : Nancy Verónica Quispe Cordova
Tipo de Análisis : Antioxidantes
Métodos : ABTS
Tipo de Muestra : Alga denominado Cushuro Liofilizado y Fresco
Cantidad : 2, con 50 gr de cada uno
Almacenamiento : 4 °C.

	Antioxidantes método DPPH repeticiones						Promedio		
Muestra en Materia seca	1	2	3	4	5	6	Trolox mg/100g	Trolox µmol/100g	% Inhb
Cushuro Liofilizado	130.620	125.527	130.021	138.409	126.426	127.324	129.7	518.3	66.2
Cushuro Fresco	196.850	201.594	209.895	198.036	215.824	214.638	206.1	823.6	26.1

% Inhb = Porcentaje de actividad antioxidante en el ensayo.

Condiciones de Análisis por Espectrofotómetro
Longitud de Onda : 734 nm
Celda de Lectura : Cubetas de Vidrio de 1cm
Ecuación de la curva patrón : $y = 0.0332x - 0.005$, $R^2 = 0.9958$

Nota:
Los resultados obtenidos en la determinación de actividad antioxidante expresa los mg, µmoles equivalentes Trolox que están presente en 100 gr de muestra, se incluye el porcentaje de actividad antioxidante.

Anexo 3. ***Base de datos de los cálculos para las curvas de los isotermas de sorción***

- Datos para el modelo GAB

Modelo de GAB				
Insumo	**Aw**	**X_WO**	**Xw (base seca)**	**aw/Xw**
cloruro de litio	0.1120	4.50	0.0471	2.377
potassium agetag, cristal	0.2250	5.49	0.0581	3.873
nitrato de sodio	0.3300	7.50	0.0811	4.070
Cloruro de sodio	0.7500	13.45	0.1554	4.826
sulfato de amonio	0.8000	15.22	0.1795	4.456
cloruro de potasio	0.8340	18.05	0.2203	3.786
barium chloride D.C. (Bacl2-2H2O)	0.9000	20.35	0.2555	3.523

- Datos para el modelo BET

Modelo de BET				
Insumo	**a_W**	**X_WO**	**Xw (base seca)**	**aw/((1-aw)*we)**
cloruro de litio	0.1120	4.50	0.0471	2.6767
potassium agetag, cristal	0.2250	5.49	0.0581	4.9979
nitrato de sodio	0.3300	7.50	0.0811	6.0746
Cloruro de sodio	0.7500	13.45	0.1554	19.3048
sulfato de amonio	0.8000	15.22	0.1795	22.2812
cloruro de potasio	0.8340	18.05	0.2203	22.8102
barium chloride D.C. (Bacl2-2H2O)	0.9000	20.35	0.2555	35.2260

- Datos para el modelo Oswin

Modelo de Oswin					
Sales	**a_W**	**X_WO**	**Xw (base seca)**	**lnwe**	**lnaw/1-aw**
cloruro de litio	0.112	4.5	0.04712	-3.055049	-2.070473
potassium agetag, cristal	0.225	5.49	0.05809	-2.845777	-1.236763
nitrato de sodio	0.33	7.5	0.08108	-2.512306	-0.708185
Cloruro de sodio	0.75	13.45	0.15540	-1.861743	1.098612
sulfato de amonio	0.8	15.22	0.17952	-1.717449	1.386294
cloruro de potasio	0.834	18.05	0.22026	-1.512964	1.614246
barium chloride D.C. (Bacl2-2H2O)	0.9	20.35	0.25549	-1.364561	2.197225

Anexo 4. *Base de datos y muestra de cálculos para obtener la vida útil*

- Datos obtenidos de las cámaras de temperatura del envase en vidrio (Día 1 hasta el Día 30) Replicas

Variable	Envase / Temp	Réplica 1 (R1)	Réplica 2 (R2)	Réplica 3 (R3)	Promedio (X̄)	Desv. Est. (DE)
Proteína (%)	Vidrio 25°C	32.321	32.285	32.303	**32.303**	0.018
(Inicial: 38.76%)	PET 25°C	29.315	29.260	29.289	**29.288**	0.028
	Vidrio 35°C	27.450	27.400	27.416	**27.422**	0.026
	PET 35°C	26.155	26.102	26.133	**26.130**	0.027
	Vidrio 45°C	26.160	26.110	26.120	**26.130**	0.026
	PET 45°C	24.145	24.095	24.120	**24.120**	0.025
Actividad de Agua (A_w)	Vidrio 25°C	0.462	0.458	0.460	**0.460**	0.002
(Inicial: 0.33)	PET 25°C	0.503	0.497	0.500	**0.500**	0.003
	Vidrio 35°C	0.481	0.479	0.480	**0.480**	0.001
	PET 35°C	0.532	0.528	0.530	**0.530**	0.002
	Vidrio 45°C	0.501	0.499	0.500	**0.500**	0.001
	PET 45°C	0.573	0.567	0.570	**0.570**	0.003

Humedad (%)	Vidrio 25°C	7.05	7.06	7.10	**7.10**	0.040
(Inicial: 6.1%)	PET 25°C	7.23	7.35	7.40	**7.40**	0.050
	Vidrio 35°C	7.14	7.15	7.20	**7.20**	0.050
	PET 35°C	7.45	7.76	7.80	**7.80**	0.040
	Vidrio 45°C	7.25	45.92	46.00	**45.99**	0.066
	PET 45°C	7.84	43.65	43.70	**43.71**	0.066
Luminosidad (L^*)	Vidrio 25°C	46.05	45.92	46.00	45.99	0.066
	PET 25°C	43.78	43.65	43.70	**43.71**	0.066
	Vidrio 35°C	47.62	47.50	47.56	**47.56**	0.060
	PET 35°C	47.58	47.53	47.57	**47.56**	0.026
	Vidrio 45°C	52.68	52.55	52.63	**52.62**	0.066
	PET 45°C	55.12	55.00	55.06	**55.06**	0.060
Coordenada a^*	Vidrio 25°C	0.62	0.60	0.61	**0.61**	0.010
	PET 25°C	0.30	0.28	0.29	**0.29**	0.010
	Vidrio 35°C	0.57	0.55	0.56	**0.56**	0.010
	PET 35°C	0.57	0.55	0.56	**0.56**	0.010
	Vidrio 45°C	0.94	0.92	0.93	**0.93**	0.010
	PET 45°C	0.22	0.20	0.21	**0.21**	0.010
Coordenada b^*	Vidrio 25°C	5.98	5.94	5.96	**5.96**	0.020
	PET 25°C	3.63	3.59	3.61	**3.61**	0.020
	Vidrio 35°C	3.70	3.66	3.68	**3.68**	0.020
	PET 35°C	3.70	3.66	3.68	**3.68**	0.020
	Vidrio 45°C	5.94	5.90	5.92	**5.92**	0.020
	PET 45°C	4.43	4.39	4.41	**4.41**	0.020

- Resumen de Datos obtenidos de las cámaras de temperatura del envase en vidrio (Dia 1 hasta el Dia 30)

ENVASES DE VIDRIO

DIA 1

	INDICADORES		VARIABLES DE RESPUESTA					
MUESTRA	TEMPERATURA ◦C	TIEMPO (dias)	PROTEINAS (g/100g)	AW	HUMEDAD	COLOR (patron)		
						L*	a*	b*
M1	25	1	38.763562	0.44	6.94	47.64	0.21	4.62
M2	35	1	38.763562	0.44	6.94	47.63	0.23	4.61
M3	45	1	38.763562	0.44	6.94	47.63	0.21	4.63

- Resumen de datos obtenidos de las cámaras de temperatura del envase en PET (Día 1 hasta el Día 30)

DIA 30

	INDICADORES		VARIABLES DE RESPUESTA					
MUESTRA	TEMPERATURA ◦C	TIEMPO (dias)	PROTEINAS (g/100g)	AW	HUMEDAD	COLOR (sacado de camara)		
						L*	a*	b*
M1	25	30	32.302969	0.46	7	45.99	0.61	5.96
M2	35	30	27.421625	0.48	7.1	47.56	0.56	3.68
M3	45	30	26.1295	0.5	7.2	52.62	0.93	5.92

ENVASES DE PET

DIA 1

	INDICADORES		VARIABLES DE RESPUESTA					
MUESTRA	TEMPERATURA ◦C	TIEMPO (dias)	PROTEINAS (g/100g)	AW	HUMEDAD	COLOR (patron)		
						L*	a*	b*
M1	25	1	38.763562	0.44	6.94	47.62	0.23	4.62
M2	35	1	38.763562	0.44	6.94	47.63	0.23	4.61
M3	45	1	38.763562	0.44	6.94	47.63	0.22	4.63

DIA 30

	INDICADORES		VARIABLES DE RESPUESTA					
MUESTRA	TEMPERATURA ◦C	TIEMPO (dias)	PROTEINAS (g/100g)	AW	HUMEDAD	COLOR (sacado de camara)		
						L*	a*	b*
M1	25	30	29.288063	0.5	7.2	43.71	0.29	3.61
M2	35	30	26.1295	0.53	7.4	47.56	0.56	3.68
M3	45	30	24.11956	0.57	7.8	55.06	0.21	4.41

- Cálculos matemáticos para obtener el contenido químico del cushuro liofilizado

Fórmula base (orden 1)

$$ln(\frac{A}{A_0}) = -k \cdot t$$

Donde:

A_0 = valor inicial
A = valor final
t = tiempo (30 días)
k = constante de velocidad

Temp (°C)	Temp (K)
25	298.15
35	308.15
45	318.15

Cálculo de k por indicador

a) Proteínas

☑ **M1 (25°C)**

ln(32.30/38.76)=−k·30
ln 0.83333333
-0.18232156 =−k·30
k=0.182/30
K= 0.00607739 $día^{-1}$

T (K)	k (día^-1)
298.15	0.00607
308.15	0.01156
318.15	0.01316

☑ **M2 (35°C)**

ln(27.42/38.76)=−k·30
ln 0.70743034 =−k·30
-0.3461 =−k·30
K= 0.0115372 $día^{-1}$

Cálculo de k por indicador

a) Proteínas

☑ **M1 (25°C)**

ln(29.288/38.76)=−k·30
ln 0.75555655
-0.28030065 =−k·30
k=0.182/30
K= 0.00934336 $día^{-1}$

☑ **M2 (35°C)**

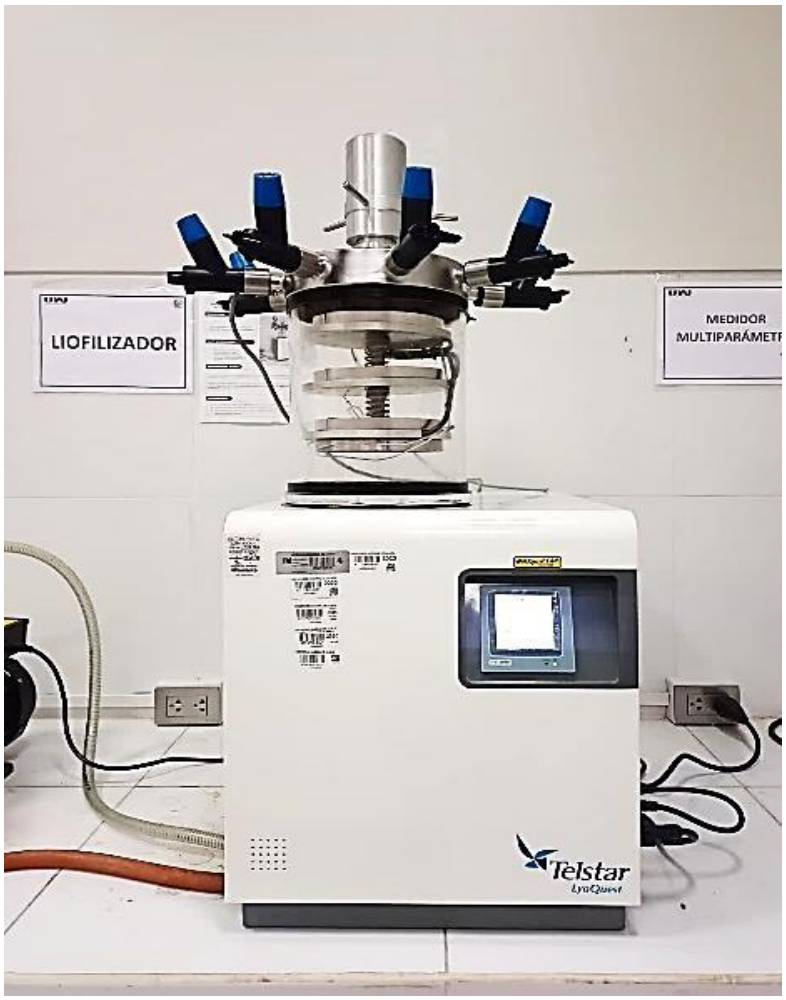
ln(26.13/38.76)=−k·30
ln 0.67407376 =−k·30
-0.3944 =−k·30
K= 0.01314719 $día^{-1}$

☑ **M3 (45°C)**

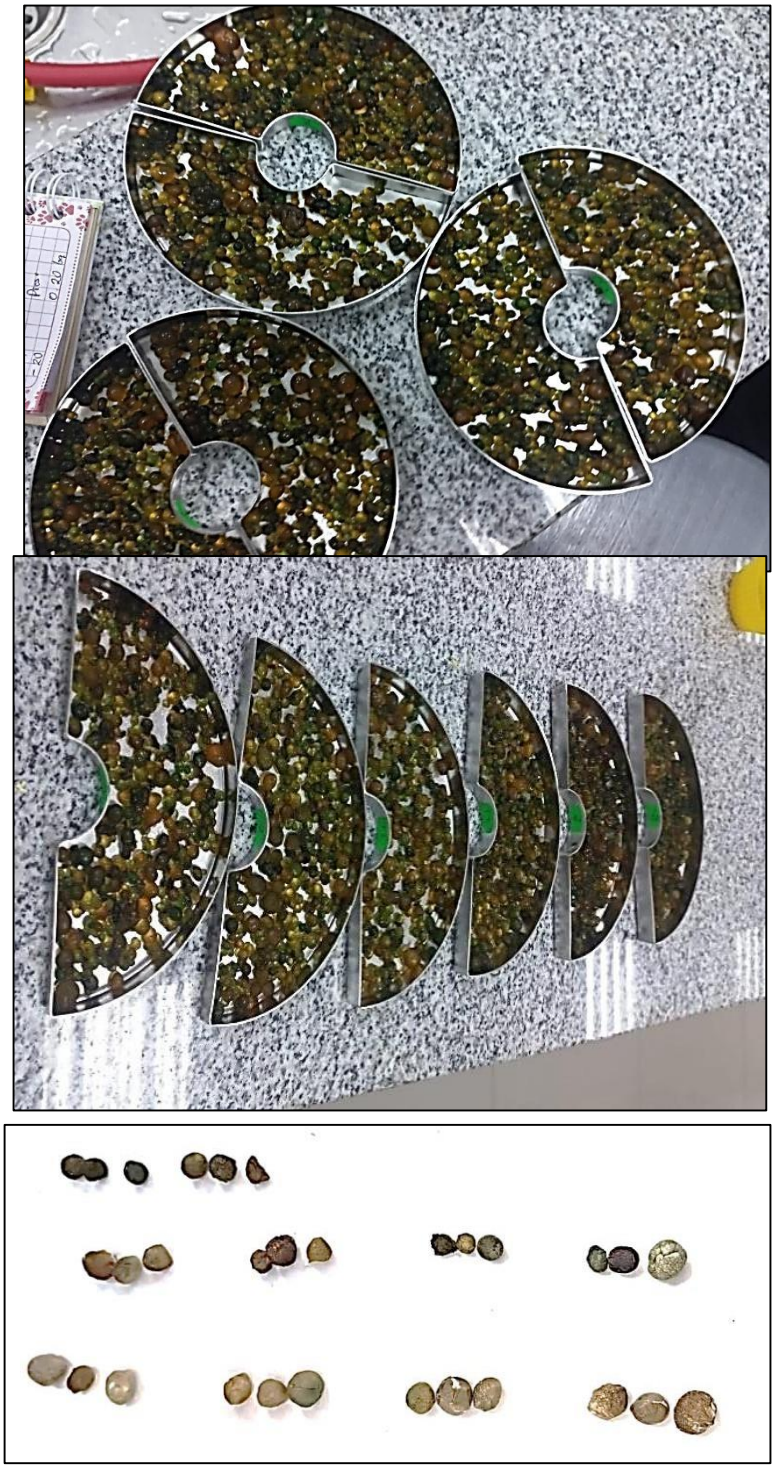
ln(26.13/38.76)=−k·30
ln 0.62222249 =−k·30
-0.47445755 =−k·30
K= 0.01581525 $día^{-1}$

Anexo 5. ***Panel fotográfico***

- Equipo Liofilizador, Marca Telestar, Modelo LYOQUEST.55



- Muestras De Cushuro fresco en placas para la liofilización



- Muestras De Cushuro Liofilizado Después De 23 Horas Pasando Por Los 3 Procesos:



- Pesado de las Muestras Liofilizadas



- Muestras Liofilizadas en frascos por tratamiento con sus réplicas.







- Experimentos realizados en el labotario del objetivo específico 1, medición de la humedad.

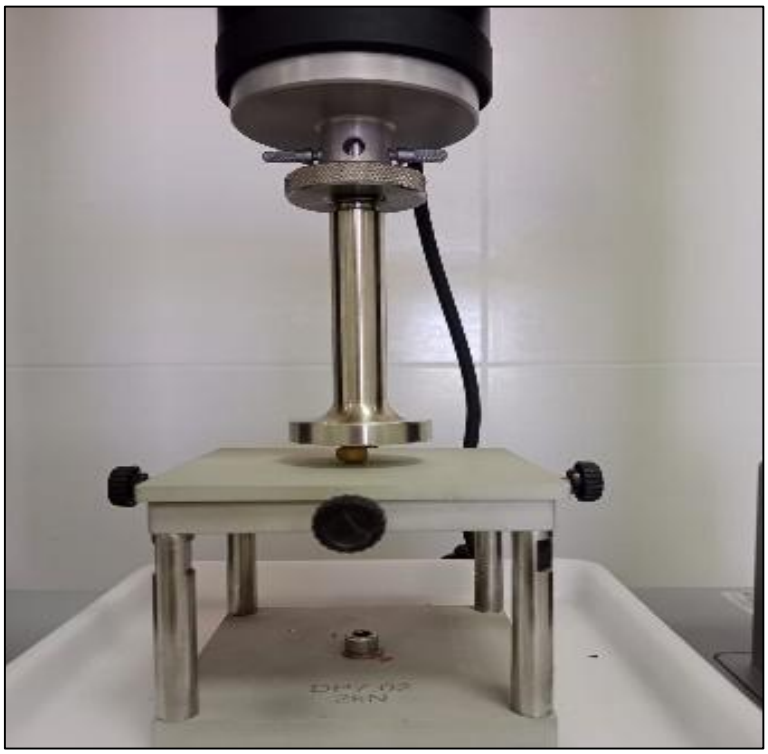




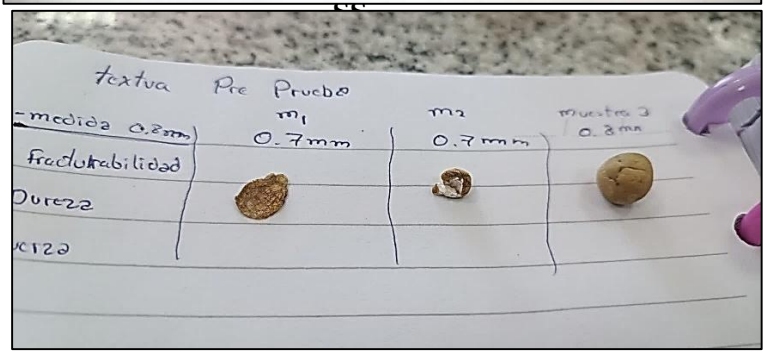
- Experimentos realizados en el labotario del objetivo específico 1, medición de la actividad de agua



- Experimentos realizados en el labotario del objetivo específico 1, medición de la textura







- Experimentos realizados en el labotario del objetivo específico 1, medición del color con el equipo



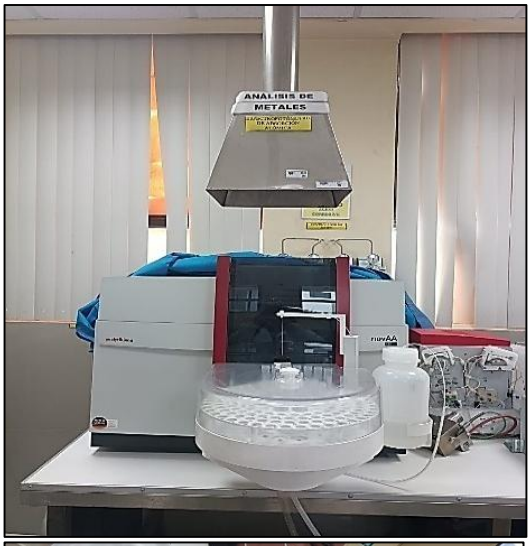
- Experimentos realizados en el labotario del objetivo específico 1, medición del volumen

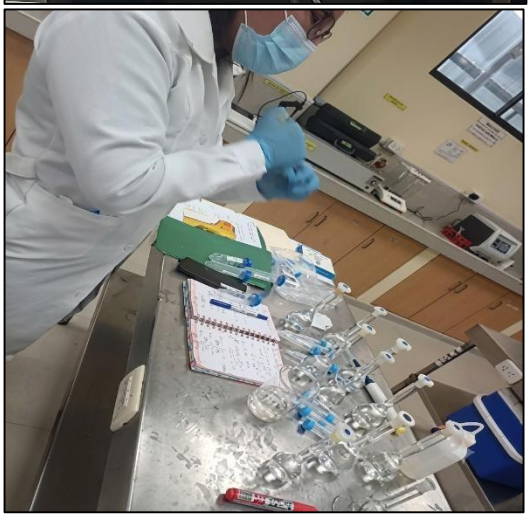


- Experimentos realizados en el labotario del objetivo específico 1, medición de la rehidratación



- Experimentos realizados en el labotario del objetivo específico 2, medición del contenido de Hierro

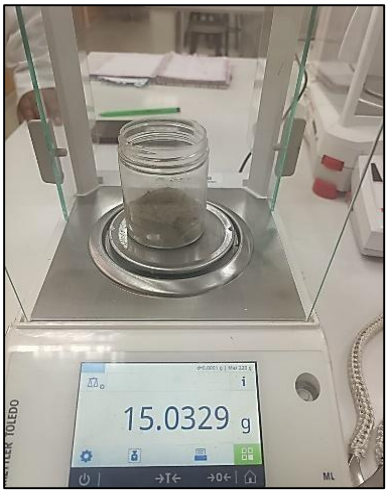






- Experimentos realizados en el labotario del objetivo específico 2, medición del contenido de la Capacidad Antioxidante











- Experimentos realizados en el labotario del objetivo específico 2, medición del contenido de Calcio









- Experimentos realizados en el labotario del objetivo específico 2, medición del contenido de Proteínas



- Experimentos realizados en el labotario del objetivo específico 3, medición de la temperatura para la vida útil




WESTTUNE
0.502 g
TARE
ZERO





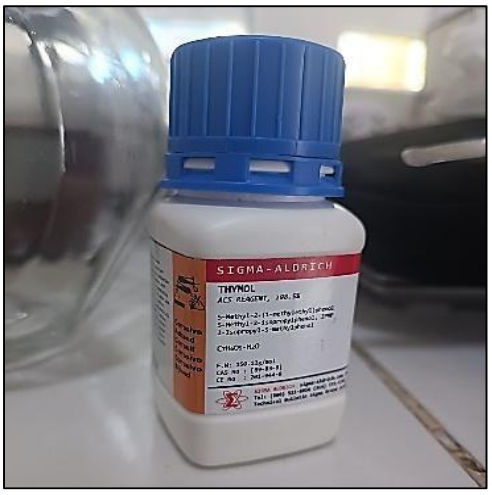
- Experimentos realizados en el labotario del objetivo específico 4, medición para las isotermas

***PESADO DE LAS SALES 2 Gr. Por sal**





*** Compuesto quimico Timol usado en las sales mayores 0.65 Aw**



***Frascos acondicionados para las muestras con sales**



*analisis Aw despues de 30 dias de almacenamiento



***Muestras almacenados en temperatura ambiente**



Anexo 6. *Resultados de ANOVA seleccionados de las características fisicoquímicas del cushuro liofilizado*

Tabla 10: ***Resultados del ANOVA seleccionado para la humedad del cushuro liofilizado***

Fuente	Suma de Cuadrados	df	Cuadrado Medio	valor- f	valor-p	
Modelo	143.18	3	47.73	8.00	0.0007	sign
A-temperatura	143.18	3	47.73	8.00	0.0007	
Residual	149.18	25	5.97			
falta de ajuste	75.56	7	10.79	2.64	0.0459	sign
Error Puro	73.62	18	4.09			
Total Corregido	292.36	28				

Nota: A = temperatura de congelación. df = grados de libertad. Valores de $p < 0,05$ indican efecto significativo de los factores evaluados sobre la humedad del cushuro liofilizado.

– **Rehidratación**

Tabla 11: ***Resultados del ANOVA seleccionado para el IR del cushuro liofilizado***

Fuente	**Suma de Cuadrados**	**df**	**Cuadrado Medio**	**valor-f**	**valor-p**	
Modelo	4575.49	3	1525.16	15.07	< 0.0001	sig
A-temperatura	4575.49	3	1525.16	15.07	< 0.0001	
Residual	2631.68	26	101.22			
falta de ajuste	1347.92	7	192.56	2.85	0.0328	sig
Error Puro	1283.77	19	67.57			
Total Corregido	7207.17	29				

Nota**:** IR = índice de rehidratación; A = temperatura de congelación; df = grados de libertad.

Valores de $p < 0,05$ indican diferencia significativa

– **Volumen**

Tabla 12: ***Resultados ANOVA seleccionado para el volumen del cushuro liofilizado***

Fuente	**Suma de Cuadrados**	**df**	**Cuadrado Medio**	**valor-f**	**valor-p**	
Modelo	4.15	3	1.38	5.19	0.0061	sign
A-temperatura	4.15	3	1.38	5.19	0.0061	
Residual	6.92	26	0.2663			
falta de ajuste	2.39	7	0.3419	1.43	0.2493	
						sign
Error Puro	4.53	19	0.2384			
Total Corregido	11.07	29				

Nota**:** A = temperatura de congelación; df = grados de libertad. Valores de $p < 0,05$ indican diferencias significativas.

– **Actividad de agua**

Tabla 13: ***Resultados ANOVA seleccionado para la actividad de agua del cushuro liofilizado***

Fuente	**Suma de Cuadrados**	**df**	**Cuadrado Medio**	**valor-f**	**valor-p**	
Modelo	0.8080	3	0.2693	40.04	< 0.0001	sig
A-temperatura	0.8080	3	0.2693	40.04	< 0.0001	
Residual	0.1749	26	0.0067			
falta de ajuste	0.0763	7	0.0109	2.10	0.0942	sig
Error Puro	0.0986	19	0.0052			
Total Corregido	0.9828	29				

Nota**:** Aw = actividad de agua; A = temperatura de congelación; df = grados de libertad. Valores de p < 0,05 indican diferencias significativas.

– **Color**

Tabla 14: ***Resultados Anova para la diferencia de color del cushuro liofilizado***

Fuente	**Suma de Cuadrados**	**df**	**Cuadrado Medio**	**valor-f**	**valor-p**	
Modelo	590.13	3	196.71	7.64	0.0008	sig
A-temperatura	590.13	3	196.71	7.64	0.0008	
Residual	669.49	26	25.75			
falta de ajuste	474.92	7	67.85	6.63	0.0005	sig
Error Puro	194.57	19	10.24			
Total Corregido	1259.62	29				

Nota: A = temperatura de congelación; df = grados de libertad. Valores de $p < 0,05$ indican efecto significativo de los factores evaluados sobre la diferencia de color del cushuro liofilizado.

– **Textura**

Tabla 15: ***Resultados Anova para la dureza del cushuro liofilizado***

Fuente	**Suma de Cuadrados**	**df**	**Cuadrado Medio**	**valor-f**	**valor-p**	
Modelo	3.403E+05	3	1.134E+05	33.71	< 0.0001	sig
A-temperatura	3.403E+05	3	1.134E+05	33.71	< 0.0001	
Residual	87481.52	26	3364.67			
falta de ajuste	67172.27	7	9596.04	8.98	< 0.0001	sig
Error Puro	20309.25	19	1068.91			
Total Corregido	4.278E+05	29				

Nota: A = temperatura de congelación; df = grados de libertad. Valores de $p < 0,05$ indican diferencias significativas en la dureza del cushuro liofilizado.

Tabla 16: ***Resultados Anova para la cohesividad del cushuro liofilizado***

Fuente	Suma de Cuadrados	df	Cuadrado Medio	Valor- f	Valor-p	
Modelo	2.35	11	0.2137	5.99	0.0001	Sig
A-temperatura	0.5299	3	0.1766	4.95	0.0082	
B- presión	0.4033	2	0.2016	5.65	0.0098	
AB	1.42	6	0.2362	6.62	0.0003	
Error Puro	0.8565	24	0.0357			
Total Corregido	3.21	35				

Nota: A = temperatura de congelación; B = presión de sublimación; AB = interacción entre los factores; df = grados de libertad. Valores de $p < 0,05$ indican diferencias significativas.

Tabla 17: ***Resultados Anova para la elasticidad del cushuro liofilizado***

Fuente	**Suma de Cuadrados**	**df**	**Cuadrado Medio**	**valor-f**	**valor-p**	
Modelo	0.3006	3	0.1002	8.66	0.0004	sig
A-temperatura	0.3006	3	0.1002	8.66	0.0004	
Residual	0.3010	26	0.0116			
falta de ajuste	0.1079	7	0.0154	1.52	0.2210	sig
Error Puro	0.1931	19	0.0102			
Total Corregido	0.6015	29				

Nota: A = temperatura de congelación; df = grados de libertad. Valores de $p < 0,05$ indican diferencias significativas.

Tabla 18: ***Resultados Anova para la masticabilidad del cushuro liofilizado***

Fuente	**Suma de Cuadrados**	**df**	**Cuadrado Medio**	**valor-f**	**valor-p**	
Modelo	5844.42	3	1948.14	6.60	0.0018	sign
A-temperatura	5844.42	3	1948.14	6.60	0.0018	
Residual	7679.21	26	295.35			
falta de ajuste	6796.04	7	970.86	20.89	< 0.0001	sign
Error Puro	883.17	19	46.48			
Total Corregido	13523.63	29				

Nota: A = temperatura de congelación; df = grados de libertad. Valores de $p < 0,05$ indican diferencias significativas.