

Información Importante

La Universidad de La Sabana informa que el(los) autor(es) ha(n) autorizado a usuarios internos y externos de la institución a consultar el contenido de este documento a través del Catálogo en línea de la Biblioteca y el Repositorio Institucional en la página Web de la Biblioteca, así como en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad de La Sabana.

Se permite la consulta a los usuarios interesados en el contenido de este documento para todos los usos que tengan finalidad académica, nunca para usos comerciales, siempre y cuando mediante la correspondiente cita bibliográfica se le de crédito al documento y a su autor.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, La Universidad de La Sabana informa que los derechos sobre los documentos son propiedad de los autores y tienen sobre su obra, entre otros, los derechos morales a que hacen referencia los mencionados artículos.

BIBLIOTECA OCTAVIO ARIZMENDI POSADA
UNIVERSIDAD DE LA SABANA
Chía - Cundinamarca

**EFFECTO DEL RECOCIDO SOBRE LA RECUPERACIÓN DE SOLUTOS EN
CRIOCONCENTRACIÓN EN BLOQUE DE EXTRACTO DE CAFÉ**

CATALINA MARÍA ROBLES QUINTANA

**UNIVERSIDAD DE LA SABANA
FACULTAD DE INGENIERÍA
MAESTRÍA EN DISEÑO Y GESTIÓN DE PROCESOS
CHÍA, CUNDINAMARCA
2014**

**EFFECTO DEL RECOCIDO SOBRE LA RECUPERACIÓN DE SOLUTOS EN
CRIOCONCENTRACIÓN EN BLOQUE DE EXTRACTO DE CAFÉ**

CATALINA MARÍA ROBLES QUINTANA

**Trabajo de grado para optar al título de Magister en Diseño y Gestión de Procesos
Énfasis en Alimentos**

DIRECTORES

**Ruth Yolanda Ruiz Pardo Dr Ing.
MSc. Fabian Leonardo Moreno Moreno**

**UNIVERSIDAD DE LA SABANA
FACULTAD DE INGENIERÍA
MAESTRÍA EN DISEÑO Y GESTIÓN DE PROCESOS
CHÍA, CUNDINAMARCA
2014**

Nota de aceptación:

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

“Muchas veces, a lo largo de un mismo día, me doy cuenta que mi propia vida y sus logros se han construido gracias al trabajo de las personas que me rodean. También comprendo, con cuanta seriedad debo esforzarme para darles, en correspondencia, tanto como he recibido”

-Albert Einstein-

AGRADECIMIENTOS

A Dios por tantas bendiciones.

A mi familia y mis padres, por su amor y apoyo incondicional, por sus esfuerzos y sacrificios, por su ejemplo y sabiduría.

A Ruth Yolanda Ruiz Pardo y Fabián Leonardo Moreno Moreno, por su apoyo, paciencia, enseñanzas, consejos y aportes realizados para el desarrollo de este proyecto.

A Gustavo Camelo y a María Ximena Quintanilla por la asesoría brindada en el análisis de imágenes.

A Angie Zambrano por su colaboración en el procesamiento de las imágenes.

A Antonio, Edgar Cao, Jorge, Marta y Pilar por la paciencia y apoyo en el laboratorio.

A la Facultad de Psicología de la Universidad de La Sabana por el préstamo del criotomo (Leica CM1850).

A la Facultad de Ingeniería de la Universidad de la sabana por la Asistencia Graduada.

Agradecimiento especial a Colciencias, por la financiación de esta investigación bajo el proyecto 1230521-28461.

RESUMEN

Extracto acuoso de café fue crioconcentrado utilizando la técnica de bloque total, evaluando el efecto de las variables de temperatura de calentamiento ($T_c = -10$ y -5 °C) y tiempo de recocido ($t = 0$ y 12 h) sobre la eficiencia de concentración y la morfología de la estructura del hielo al aplicar ciclos de enfriamiento-calentamiento. Los resultados muestran que los efectos de la variable t y $t \cdot T_c$, presentan un efecto significativo sobre la eficiencia de concentración, por lo tanto al aumentar la temperatura y los tiempos en los cuales es sometida la muestra al recocido, se podrá aumentar su concentración, viéndose modificados los parámetros morfométricos de los cristales, los cuales presentan una relación con la recuperación de solutos en crioconcentración.

Palabras clave: Crioconcentración, recocido, morfología del cristal de hielo, café.

ABSTRACT

Coffee extract was freeze-concentrated using the total block technique. In order to, evaluate the effect of the heating variables ($T_c = -10$ y -5 °C); as well as the annealing time ($t = 0$ y 12 h), upon the concentration efficiency and the ice structure morphology, once the samples were subjected to the different freezing and thawing cycle. The results showed that t y $t \cdot T_c$ variables portrayed a high significance on the concentration efficiency. Thus, increasing the time and temperature values of the sample in the annealing state could possibly surge its concentration. Displayed by the crystal morphometric parameters been affected. This correlates directly with the solutes recovery under cryoconcentration.

Key Words: Cryoconcentration, annealing, ice crystal morphology, coffee.

CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN	1
2	MARCO TEÓRICO.....	4
2.1	CRIOCONCENTRACIÓN.....	4
2.2	CRISTALIZACIÓN.....	4
2.2.1	EQUILIBRIO TERMODINÁMICO SÓLIDO-LÍQUIDO DE SOLUCIONES ACUOSAS ALIMENTARIAS.....	4
2.2.2	ETAPAS PARA LA FORMACIÓN DE CRISTALES A PARTIR DE UNA SOLUCIÓN ACUOSA ALIMENTARIA	5
2.3	ETAPAS DE CRISTALIZACIÓN DEL HIELO	7
2.3.1	NUCLEACIÓN.....	7
2.3.2	CRECIMIENTO	8
2.3.3	RECRISTALIZACIÓN O MADURACIÓN	9
2.4	RESTRUCTURACIÓN DEL CRISTAL MEDIANTE EL RECOCIDO: “ANNEALING”	9
2.5	TÉCNICAS DE CRIOCONCENTRACIÓN.....	10
2.5.1	CRIOCONCENTRACIÓN POR SUSPENSIÓN.....	10
2.5.2	CRIOCONCENTRACIÓN POR PELÍCULA	10
2.5.3	CRIOCONCENTRACIÓN POR BLOQUE	11
2.6	ANÁLISIS DE IMÁGENES	11
3	ESTADO DEL ARTE	13
3.1	CRIOCONCENTRACIÓN.....	13
3.2	TÉCNICAS DE CRIOCOCONCENTRACIÓN	14
3.2.1	CRIOCONCENTRACIÓN POR SUSPENSIÓN.....	14
3.2.2	CRIOCONCENTRACIÓN POR PELÍCULA	15
3.2.3	CRIOCONCENTRACIÓN POR BLOQUE	17
3.3	RECOCIDO O ANNEALING	20
3.4	ANÁLISIS DE IMÁGENES	22
4	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	23
5	OBJETIVOS	24
5.1	GENERAL	24

5.2	ESPECÍFICOS.....	24
6	MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
6.1	MATERIALES.....	25
6.2	MÉTODOS.....	25
6.2.1	ENSAYOS DE TRATAMIENTOS TÉRMICOS A NIVEL MICROSCÓPICO	25
6.2.2	EQUIPO DE CRIOCONCENTRACIÓN EN BLOQUE Y PROTOCOLO DE CRIOCONCENTRACIÓN	26
6.2.3	DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE CICLOS DE ENFRIAMIENTO-CALENTAMIENTO Y RECOCIDO SOBRE LA EFICIENCIA DE RECUPERACIÓN DEL SOLUTO. DISEÑO EXPERIMENTAL.	27
6.2.4	EVALUACIÓN DEL EFECTO DE CICLOS DE ENFRIAMIENTO-CALENTAMIENTO Y RECOCIDO SOBRE LA ESTRUCTURA DEL CRISTAL DE HIELO ...	31
7	RESULTADOS	34
7.1	TRATAMIENTOS TÉRMICOS A NIVEL MICROSCÓPICO	34
7.2	PERFILES DE TEMPERATURA EN EL CRIOCONCENTRADOR EN BLOQUE	36
7.3	EFECTO DE LA APLICACIÓN DE CICLOS ENFRIAMIENTO-CALENTAMIENTO Y DE TIEMPOS DE RECOCIDO SOBRE LA EFICIENCIA DE RECUPERACIÓN DEL SOLUTO.....	37
7.4	EVALUACIÓN DEL EFECTO DE CICLOS DE ENFRIAMIENTO-CALENTAMIENTO Y RECOCIDO SOBRE LA ESTRUCTURA DEL CRISTAL DE HIELO	41
7.4.1	MICROESTRUCTURA OBSERVADA	42
7.4.2	DESCRIPTORES DIMENSIONALES Y DE FORMA	45
7.4.3	EFECTO DEL TIEMPO SOBRE LOS CAMBIOS EN LA ESTRUCTURA DEL HIELO FORMADO EN EL BLOQUE.....	51
8	CONCLUSIONES	54
9	RECOMENDACIONES	55
10	BIBLIOGRAFÍA	56

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Investigaciones en Crioconcentración por bloque	17
Tabla 2. Investigaciones realizadas sobre recocido o <i>annealing</i>	20
Tabla 3. Técnicas de obtención de imágenes de la estructura de los cristales de hielo.	22
Tabla 4. Tratamientos evaluados en los ciclos de enfriamiento y calentamiento	25
Tabla 5. Tratamientos térmicos evaluados	28
Tabla 6. Significancia de los efectos principales de los tratamientos.	40
Tabla 7. Descriptores dimensionales y de forma obtenidos para cada punto evaluado en el tratamiento T1 a 6.00 mm	53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de fases Sólido-Líquido incluyendo la transición vítrea, Adaptado de (Orrego Alzate, 2008).	5
Figura 2. Representación del proceso de congelación, mostrando las diferentes etapas y naturaleza del material congelado. Adaptado de (Singh et al., 2009).	6
Figura 3. Diagrama de fases del agua en estado sólido. Adaptado de (Sanz & Otero, 2005).	7
Figura 4. Tipos de nucleación y su clasificación. Adaptado de (Mullin, 2001b).	8
Figura 5. Número de publicaciones por año para las técnicas en crioconcentración. ..	13
Figura 6. Diagrama de equipo para crioconcentración en bloque (Moreno et al., 2014).	26
Figura 7. Proceso para crioconcentración en bloque.....	29
Figura 8. Rendimiento de solutos en crioconcentración. Adaptado de (Moreno et al., 2014).....	30
Figura 9. Extracción del bloque de hielo del crioconcentrador	31
Figura 10. Distancias de los cortes evaluados en el bloque. Vista superior.....	31
Figura 11. Pre-procesamiento y segmentación de las imágenes.	32
Figura 12. Perfiles de temperatura y puntos evaluados en los tratamientos.	34
Figura 13. Descriptores dimensionales de los cristales obtenidos en los tratamientos	36
Figura 14. Perfiles de temperatura de los tratamientos	37
Figura 15. Efecto en la recuperación de solutos e índice de concentración de los tratamientos.	38
Figura 16. Valores promedio en orden respecto al área bajo la curva Y vs. F	39
Figura 17. Descripción de los cristales de hielo.....	42
Figura 18. Imágenes de microscopía óptica (10X) de las estructuras de los cristales de hielo obtenidas en los cortes longitudinales del bloque para cada tratamiento.	43
Figura 19. Imágenes de microscopía óptica (10X) de las estructuras de los cristales de hielo obtenidos en los cortes transversales del bloque para cada tratamiento.....	44
Figura 20. Área en mm ² de los cristales de hielo obtenidos para cada tratamiento en los cortes realizados en el bloque.	46
Figura 21. Diámetro de Feret en mm de los cristales de hielo obtenidos para cada tratamiento en los cortes realizados en el bloque.....	47
Figura 22. Circularidad de los cristales de hielo obtenidos para cada tratamiento en los cortes realizados en el bloque.....	48
Figura 23. Relación de aspecto de los cristales de hielo obtenidos para cada tratamiento en los cortes realizados en el bloque.....	49
Figura 24. Representación de la posible conformación del cristal de hielo obtenido en el crioconcentrador en bloque.	50

Figura 25. Representación del cristal de hielo para un corte transversal de los tratamientos T1 y T4.....	51
Figura 26. Perfil de temperatura y puntos evaluados en el tratamiento T1 a 6.00mm de distancia en el bloque de hielo en crioconcentración a 10X.....	52
Figura 27. Descriptores dimensionales y de forma de los cristales obtenidos en los puntos del tratamiento T1 a 6.00mm de distancia.	53

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1.....	63
ANEXO 2.....	67
ANEXO 3.....	69

1 INTRODUCCIÓN

Las preocupaciones sobre el impacto de los alimentos sobre la salud, así como las consecuencias sociales y medioambientales, han dado lugar a cambios importantes en todas las etapas de la cadena alimentaria. Este fenómeno comprende tecnologías complejas, vínculos sociales, económicos y ambientales que requieren enfoques integrados de investigación, de acuerdo a los cambios en la demanda de los consumidores (Falguera, Aliguer, & Falguera, 2012). En la búsqueda de nuevas operaciones que permitan la transformación de los alimentos, sin que sean afectadas sus cualidades nutricionales y organolépticas, se han generado nuevas tecnologías de procesamiento para transformar los alimentos, permitiendo generar un valor agregado a los productos desarrollados.

El café es el *commodity* más valioso de los productos agrícolas tropicales. Se estima que los ingresos de exportación de los países productores en el año 2008/09 fueron más del doble de las cifras registradas durante los años de crisis de 2000 a 2004 (International Coffee Council, 2010). Adicionalmente, el consumo mundial ha tenido un fuerte crecimiento en los últimos años y se calcula que fue alrededor de 142 millones de sacos en comparación con 139,1 millones en 2011, esto representa un aumento del 2,1% en el año 2012 (International Coffee Council, 2013).

El café colombiano es reconocido a nivel mundial como el café suave con mejor calidad, en lo que aroma se refiere, siendo uno de los cinco primeros alimentos más producidos en el país (FAO, 2010), lo que lo convierte en un producto de alta importancia en el desarrollo económico del nacional.

La exportación del café colombiano se ha concentrado en el producto inicial de la cadena productiva, es decir, el café verde, el cual representa el 98,7% de las exportaciones del país (FAO, 2010). Aunque a nivel mundial haya bajado al sexto lugar del escalafón de países exportadores de café (Domínguez, 2012), la generación de nuevas tecnologías como la criocentración, abre grandes oportunidades para la generación de valor a la cadena productiva brindando nuevas oportunidades y soluciones que permitan fortalecer el sector.

Una de las formas de agregación de valor a la cadena productiva del café es la técnica de obtención para café soluble. Durante el proceso de obtención se requiere que al extracto se le retire el agua mediante procesos de concentración para posteriormente ser secada y de esta manera obtener los sólidos solubles secos en forma de polvo o granulados (Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, 2010).

La concentración convencionalmente es realizada por evaporación con el objetivo de reducir la cantidad de agua a eliminar en el secado y así reducir el consumo de energía

en las siguientes operaciones (Jansen, 2001), esta etapa por lo general, implica el calentamiento del producto y aunque, pueden ser alcanzados niveles altos de concentración, pueden perderse o alterarse algunos componentes que aportan a la calidad organoléptica y funcional del alimento (Sánchez, Ruiz, Auleda, Hernandez, & Raventós, 2009).

La crioconcentración es una técnica alternativa de concentración, la cual utiliza bajas temperaturas para lograr la separación de agua en forma de cristales de hielo, produciendo una fracción concentrada de alta calidad (Raventós, Hernández, Auleda, & Ibarz, 2006). Por esta razón, la crioconcentración ha sido reconocida como una tecnología prometedora de concentración ya que permite la separación del agua sin afectar la calidad de los concentrados, con un consumo bajo de energía (334 KJ/Kg) debido a que el calor latente de solidificación del agua es inferior al de evaporación (Nakagawa, Maebashi, & Maeda, 2010). La crioconcentración se puede adecuar particularmente para alimentos sensibles al calor que contengan compuestos volátiles asociados con el aroma, como en el caso del café, dado que el agua es retirada de la solución a bajas temperaturas, las pérdidas por evaporación del aroma pueden evitarse completamente, adicionalmente se disminuyen las reacciones químicas de degradación del producto (Thijssen H.A.C., Van Der Malen, 1981).

Se han desarrollado tres técnicas principales para crioconcentrar líquidos: crioconcentración en Suspensión, crioconcentración en Película (Sánchez et al., 2009) y crioconcentración en Bloque (Aider & de Halleux, 2009). La única técnica aplicada industrialmente, es la crioconcentración por suspensión (GEA Messo PT, 2011), la que tiene como principal desventaja la elevada inversión inicial necesaria en equipos, por lo que se están desarrollando técnicas de crioconcentración como la película y el bloque, para las que se requiere un solo equipo.

La crioconcentración en bloque ha sido reportada como una tecnología prometedora y eficaz de concentración, para producir alimentos líquidos concentrados con altas propiedades organolépticas y valores nutritivos debido a que emplea un fluido estático. Adicionalmente, la simplicidad de los equipos requeridos en esta técnica, pueden llegar a mejorar el costo de la crioconcentración; aunque presenta eficiencias de concentración bajas debido al oclusión o atrapamiento de solutos en la fase sólida formada (Aider & de Halleux, 2009).

Las investigaciones en crioconcentración en bloque han centrado sus estudios en determinar el efecto de varias variables operativas como las temperaturas de congelación y descongelación (Moreno, Robles, Sarmiento, Ruiz, & Pardo, 2013; Nakagawa, Nagahama, Maebashi, & Maeda, 2010), la velocidad de crecimiento del frente de congelación (Okawa, Ito, & Saito, 2009) y las concentración inicial, sobre la eficiencia de la concentración (Moreno, Raventós, Hernández, & Ruiz, 2014),

encontrando que en particular la concentración inicial de la solución tiene un efecto significativo sobre el nivel de concentración final alcanzado. Con el fin de mejorar la eficiencia de concentración, recientemente, se han publicado investigaciones en las que se utilizan otras tecnologías, como la aplicación de vacío (G. Petzold, Niranjana, & Aguilera, 2013), microondas, microondas en combinación con vacío (Moreno et al., 2013) y centrifugación (G. Petzold & Aguilera, 2013), si bien estas tecnologías han permitido mejorar el nivel de concentración alcanzado en crioconcentración en bloque, estos autores coinciden en proponer que la estructura o morfología del hielo es una de las causales de la pérdida en recuperación de solutos.

En estudios sobre congelación de soluciones acuosas, se ha reportado que el tamaño y la morfología de los cristales es un factor que influye en la oclusión del hielo formado en la congelación (H.D Goff, Verespej, & Jermann, 2003; Pardo, Suess, & Niranjana, 2002), lo que puede impactar en la eficiencia del proceso de crioconcentración. Algunos estudios evidencian que la aplicación de ciclos de enfriamiento y calentamiento, en adición a tiempos de mantenimiento a una temperatura, lo que se denomina recocado, puede tener efecto en la recuperación de los solutos (Nakagawa, Maebashi, & Maeda, 2009) y posiblemente en el tamaño y la morfología de los cristales. Por esta razón se propone estudiar el efecto de los ciclos de enfriamiento y calentamiento sobre la eficiencia de recuperación de solutos en crioconcentración en bloque de soluciones de café, al igual que analizar la microestructura formada durante estos procesos, ya que estos podrían mejorar la eficiencia de separación de la solución al ser concentrada (Li & Sun, 2002).

Teniendo en cuenta que la crioconcentración en bloque presenta grandes ventajas con respecto a la reducción de costos de procesamiento como una etapa previa para el secado por liofilización, la realización del presente proyecto proporcionará una herramienta para la profundización en el conocimiento de esta técnica como una nueva tecnología para el procesamiento de alimentos, permitiendo el fortalecimiento del sector cafetero nacional.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 CRIOCONCENTRACIÓN

La crioconcentración es una operación unitaria de separación para concentrar líquidos por medio de la congelación y la posterior separación de una fracción de agua congelada lo más pura posible. El proceso implica la reducción controlada de la temperatura de la solución de interés, por debajo de su punto de congelación, esto con el fin de evitar alcanzar la temperatura eutéctica en la que todos los componentes del producto se solidificarían a la vez (Raventós et al., 2006).

Entre los métodos existentes para concentrar alimentos líquidos, la crioconcentración, es la técnica que presenta las mayores ventajas para la obtención de productos de alta calidad sin pérdida apreciable en su sabor, aroma, color o valor nutritivo (Otero, Sanz, Guignon, & Sanz, 2012).

Durante la crioconcentración pueden suceder varias etapas para la formación de los cristales de hielo, estas son el subenfriamiento inicial, la nucleación, el crecimiento del cristal y la maduración, este proceso de formación del cristal se conoce como cristalización (Orrego Alzate, 2008); dependiendo de la forma en que suceden estas etapas, pueden producirse diferentes estructuras en el cristal de hielo formado, lo que puede impactar en la eficiencia lograda en la concentración de la solución.

A continuación se explican cada una de estas etapas de la formación del hielo y la estructura del hielo formado.

2.2 CRISTALIZACIÓN

2.2.1 EQUILIBRIO TERMODINÁMICO SÓLIDO-LÍQUIDO DE SOLUCIONES ACUOSAS ALIMENTARIAS

Desde el punto de vista termodinámico, la congelación es una transición de fase de primer orden donde se presenta y la cristalización de la solución (Navarrete, Grau, Boix, & Maupoey, 1998).

En la Figura 1, se muestra un diagrama de equilibrio de fases sólido-líquido típico de una solución acuosa. En la figura se observan la curva de congelación (AEC) y la curva de solubilidad (EC), adicionalmente se muestran en relación de la curva de transición vítrea (BDF) cual describe una transición de segundo orden. El punto eutéctico E es donde el hielo y el soluto cristalizan simultáneamente (máxima condición de concentración) a la temperatura final de la curva de congelación o temperatura eutéctica (T_e) del sistema. El punto D es inferior a la punto eutéctico E y está definido por la temperatura de transición vítrea (T_g). El contenido de agua en D es agua no congelable (Rahman, 2006).

La cristalización del soluto debajo de T_e está muy limitada pues en la fase concentrada no congelada (FCNC) la cristalización se ve obstaculizada por un incremento exponencial de la viscosidad. Al continuar el enfriamiento la FCNC sufre un proceso de transición entre un estado líquido viscoso y un estado vítreo (Orrego Alzate, 2008).

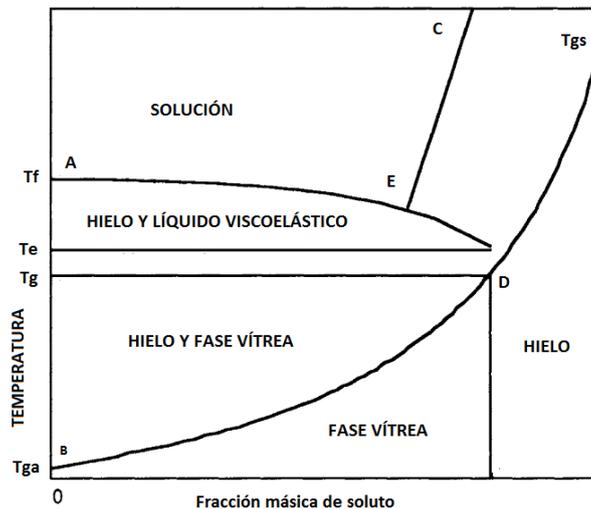


Figura 1. Diagrama de fases Sólido-Líquido incluyendo la transición vítrea, Adaptado de (Orrego Alzate, 2008).

La curva que describe la temperatura transición vítrea desciende desde T_{gs} del material amorfo puro hasta un valor teórico T_{ga} del agua pura (-135°C). El punto D fija el estado físico del soluto no cristizable. T_g es la máxima temperatura de transición vítrea (TV) y se ubica en la prolongación de la curva de equilibrio de congelación y la línea de TV (Orrego Alzate, 2008).

Las fases formadas (líquida y sólida) durante la congelación aunque tienden al equilibrio, cuando la solución es congelada rápidamente están alejadas de él, esto se debe en alguna medida por los fenómenos de transferencia de calor y masa que suceden durante el proceso de formación de los cristales (Roos, 1995b). A continuación serán descritos los procesos que suceden para la formación de la fase sólida durante la cristalización.

2.2.2 ETAPAS PARA LA FORMACIÓN DE CRISTALES A PARTIR DE UNA SOLUCIÓN ACUOSA ALIMENTARIA

La cristalización es a menudo un proceso de tres etapas que incluye la nucleación (formación de una estructura cristalina minúscula estable), el crecimiento o propagación del cristal hasta alcanzar un equilibrio y la maduración o reorganización de la estructura cristalina (Roos, 1995a).

Durante el proceso de cristalización (Figura 2) se presenta la disminución de la temperatura hasta el subenfriamiento, por debajo del punto de fusión, una vez que la

masa crítica de los núcleos es alcanzada, el sistema nuclea (B) liberando su calor latente más rápido que el calor que está siendo retirado del sistema (Akyurt, Zaki, & Habeebullah, 2002); seguida por una congelación de la masa total (C y D), que representa el tiempo o la duración de congelación; finalmente, la solución se congela totalmente llegando a la temperatura del medio refrigerante (Kiani & Sun, 2011). Estos procesos son acompañados por una reducción en el contenido calórico del material, disminuyendo las velocidades de las reacciones (Guillermo Petzold & Aguilera, 2009).

Durante la etapa de congelación, la FCNC es crioconcentrada. Por tanto, la velocidad de enfriamiento determinará el número de núcleos formados y el tamaño del cristal de hielo; siendo el enfriamiento lento el generador de una formación de cristales menores y más grandes. Después que la cristalización se completa, la temperatura desciende liberándose la energía como calor sensible (D a E), donde la fracción no congelada cristaliza (punto eutéctico) o se convierte en una matriz máximamente crioconcentrada (Singh, Kolhe, Wang, & Nema, 2009).

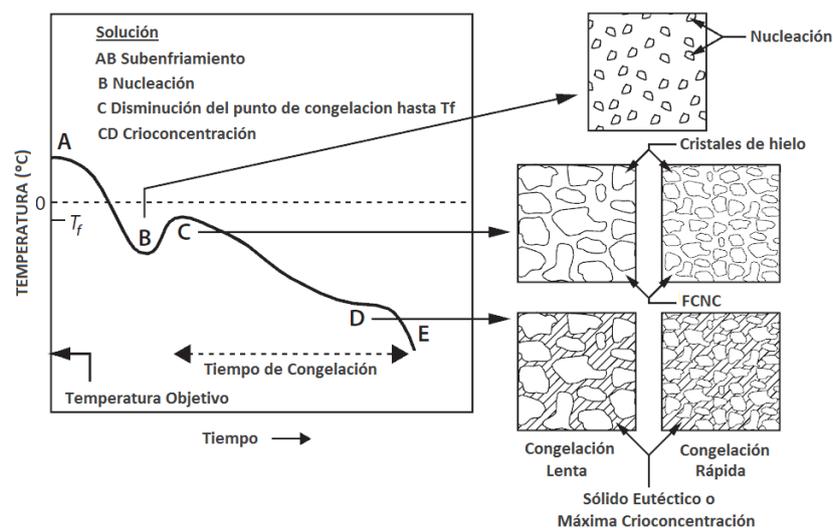


Figura 2. Representación del proceso de congelación, mostrando las diferentes etapas y naturaleza del material congelado. Adaptado de (Singh et al., 2009).

En la cristalización pueden existir varias formas cristalinas que dependen de la temperatura y la presión (Figura 3). Los procesos de crioconcentración se realizan a presión atmosférica, por tanto la congelación del agua formará cristales de hielo con una estructura hexagonal (Orrego Alzate, 2008).

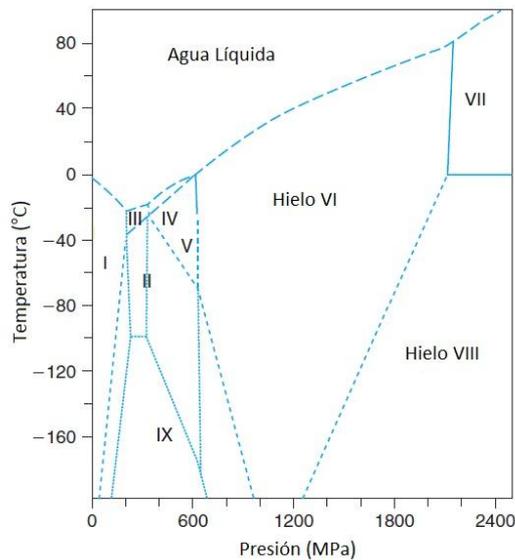


Figura 3. Diagrama de fases del agua en estado sólido. Adaptado de (Sanz & Otero, 2005).

Durante la crioconcentración, el grado de subenfriamiento, la nucleación y la velocidad con la crecen los cristales, determinan la concentración final de la solución obtenida, debido a que la morfología de hielo resultante afecta la eficiencia de la etapa de separación entre el hielo y la fracción concentrada, ya que la formación de grandes cristales de hielo de tamaño uniforme genera menores pérdidas durante la concentración de la solución (Orrego Alzate, 2008; Guillermo Petzold & Aguilera, 2009).

En los siguientes numerales se presenta la descripción de las etapas que suceden durante la cristalización del hielo.

2.3 ETAPAS DE CRISTALIZACIÓN DEL HIELO

2.3.1 NUCLEACIÓN

La nucleación es probablemente el paso más importante para controlar la distribución del tamaño de cristal durante la cristalización. La velocidad de congelación es generalmente el parámetro que se utiliza para controlar el tamaño y la distribución de los cristales de hielo en el sistema (Guillermo Petzold & Aguilera, 2009).

La nucleación consiste en la generación de pequeñas partículas estables capaces de crecer espontáneamente, para que esto suceda se requiere que las partículas alcancen un tamaño mínimo definido mediante un radio crítico (Mullin, 2001b).

La nucleación puede ocurrir de diversas formas. Como se observa en la Figura 4, existen dos tipos de nucleación: Primaria y Secundaria:

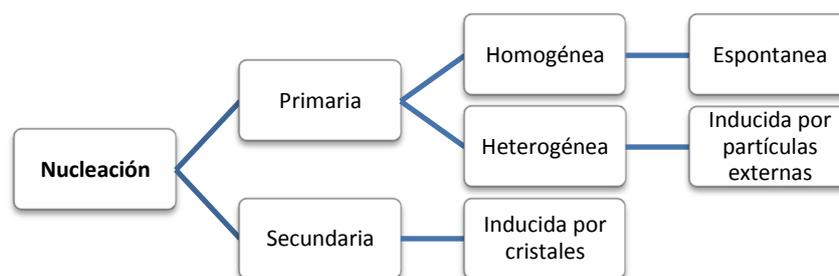


Figura 4. Tipos de nucleación y su clasificación. Adaptado de (Mullin, 2001b).

La nucleación primaria puede producirse de manera homogénea o heterogénea. La *nucleación primaria homogénea* se presenta generalmente en soluciones puras o libres de impurezas, a través de un proceso por el cual las moléculas de agua se ordenan de forma espontánea sin la intervención de la interface sólido-líquido; mientras que la *nucleación primaria heterogénea* implica la presencia de impurezas que pueden actuar como los sitios de nucleación aglomerando a su alrededor las partículas de agua (Roos, 1995a).

La nucleación secundaria ocurre en la presencia de cristales existentes en la solución. Estos nuevos núcleos pueden formarse por varios mecanismos, entre los que se encuentra la fragmentación de los cristales de siembra o por el choque de los cristales es entre sí y con las superficies de los recipientes donde están contenidos (Mullin, 2001b).

La nucleación heterogénea es más probable que ocurra en los alimentos debido a la presencia de impurezas (Roos, 1995a).

2.3.2 CRECIMIENTO

La etapa de nucleación en la cristalización es seguida por el crecimiento de cristales. Las principales teorías utilizadas para explicar este fenómeno de crecimiento de cristales incluyen superficie de energía, la capa de adsorción y las teorías reacción-difusión (Mullin, 2001a). Estas teorías describen principalmente la deposición de un soluto a partir de una solución. Para estos fenómenos de cristalización la principal fuerza impulsora es la reducción de la temperatura, aunque el gradiente de concentración en la fase líquida también influye en la velocidad de formación del cristal, por tanto, el principal factor de control es la tasa de transferencia de calor desde el cristal a la mayor parte del líquido (Kiani & Sun, 2011).

El crecimiento de cristales requiere que las moléculas sean capaces de difundirse a la superficie de los núcleos de crecimiento. La velocidad del proceso es muy sensible a la medida de sobresaturación o subenfriamiento, la temperatura y la presencia de impurezas (Roos, 1995a). El crecimiento es controlado por la tasa de calor latente que

se libera durante el cambio de fase y por la velocidad de transferencia de masa (difusión de las moléculas de agua de la solución al cristal y la cantidad de solutos que se encuentran fuera de la superficie de cristal en crecimiento) (Guillermo Petzold & Aguilera, 2009). Mientras que la cantidad de cristales de hielo aumenta y la temperatura disminuye, la concentración del soluto de la FCNC aumenta llegando a cierta concentración máxima de solutos en la que la cristalización se detiene y la matriz no congelada vitrifica (Orrego Alzate, 2008).

2.3.3 RECRISTALIZACIÓN O MADURACIÓN

La recrystalización se puede definir como cualquier cambio en el número, el tamaño, la forma la orientación o la perfección de cristales después de finalizada la solidificación inicial (Orrego Alzate, 2008). La recrystalización es el proceso en el cual, con el paso del tiempo, el promedio del tamaño de los cristales de hielo aumenta y su número disminuye por efecto de la redistribución del agua desde los pequeños cristales de hielo hacia los grandes (Guillermo Petzold & Aguilera, 2009).

Si la temperatura de congelamiento se incrementa durante un tiempo, algunos de los cristales de hielo, particularmente los más pequeños se funden, aumentando la cantidad de agua congelable. Por tanto, al disminuir la temperatura de congelamiento, la nucleación de los cristales no se llevará a cabo y el agua libre se congelara en la superficie de los cristales más grandes, obteniendo como resultado la disminución del número de cristales y el aumento en su tamaño (Roos, 1995b).

El tamaño, la morfología y la ubicación de los cristales de hielo, la tasa de congelación y por lo tanto la eficiencia de congelación, determinan las características finales de los cristales de hielo obtenidos en el tiempo de congelación (Li & Sun, 2002).

2.4 RESTRUCTURACIÓN DEL CRISTAL MEDIANTE EL RECOCIDO: “ANNEALING”

El recocido o *annealing* es el proceso de mantener (o exponer) un cristal en una solución, a una temperatura por debajo del punto de fusión durante un periodo de tiempo (Kubota, 2011). Este tratamiento es realizado después de la etapa de congelación, calentando la muestra por encima de la temperatura de transición vítrea y manteniéndola a una temperatura durante un tiempo determinado, esto le confiere a la muestra una cierta homogeneización de los cristales de hielo, permitiendo la reorganización de la estructura cristalina formada inicialmente en el sistema (Hottot, Vessot, & Andrieu, 2007).

En algunos estudios se puede evidenciar que por medio de tratamientos térmicos en los que se incluye los ciclos de calentamiento y enfriamiento, al igual que el sostenimiento de la muestra a una temperatura durante un tiempo específico (*annealing*), puede cambiar la morfología de la matriz sólida y puede tener efectos

sobre las oclusiones de soluto que se presentan en los cristales de hielo (H.D Goff et al., 2003; Nakagawa et al., 2009). Utilizar este tipo de mecanismos en la crioconcentración podría ser de interés, ya que podrían cambiarse las estructuras de la matriz sólida formada, permitiendo una mejor recuperación del soluto ocluido en el hielo.

A continuación se presentarán las diferentes técnicas de crioconcentración.

2.5 TÉCNICAS DE CRIOCONCENTRACIÓN

Se han desarrollado tres metodologías o técnicas principales para crioconcentrar líquidos: Crioconcentración en Suspensión, Crioconcentración en Película (Sánchez et al., 2009) y Crioconcentración en Bloque (Aider & de Halleux, 2009).

2.5.1 CRIOCONCENTRACIÓN POR SUSPENSIÓN

La crioconcentración por el método de suspensión consta de una fase inicial de formación del hielo (nucleación), seguido por una segunda fase que implica el crecimiento de los núcleos de hielo en la solución (Sánchez et al., 2009), lo que implica una cristalización parcial del agua y la posterior separación de los cristales de la concentración (Thijssen H.A.C., Van Der Malen, 1981). Donde el típico sistema de crioconcentración estará compuesto de un nucleador de hielo o intercambiador de paredes raspadas, un recristalizador y un separador de cristales de hielo (Sánchez et al., 2009). Actualmente, esta es la única técnica comercial, debido al gran número de equipos que tiene, es una técnica costosa, por lo que se están desarrollando técnicas como la crioconcentración en película y en bloque.

2.5.2 CRIOCONCENTRACIÓN POR PELÍCULA

La crioconcentración en película, a diferencia del método de suspensión, consiste en la formación de un cristal único de hielo, el cual se forma capa por capa en la superficie de intercambio de calor (en lugar de muchos cristales de hielo como en la crioconcentración por suspensión), de modo que la separación entre el cristal de hielo y la solución madre sea más fácil y se realice en el mismo equipo (Raventós et al., 2006).

La dirección del crecimiento del cristal tiende a ser paralela a la dirección de la transferencia de calor. La ventaja de esta técnica es que posibilita que el hielo permanezca unido a la superficie de intercambio de calor, mientras la solución fluye, lo que simplificando la etapa de separación de las fases (Ratkje & Flesland, 1995).

Se han estudiado dos técnicas para la crioconcentración por película: Crioconcentración en Placas y Crioconcentración Progresiva. La diferencia entre estas dos técnicas radica en los equipos que se utilizan para la formación de las capas de

hielo. La progresiva implica la cristalización en la parte inferior o lateral del recipiente o tubería, mientras que en la de placas la cristalización ocurre en unos placas (Sánchez et al., 2009).

2.5.3 CRIOCONCENTRACIÓN POR BLOQUE

En la crioconcentración en bloque la solución líquida se congela completamente y la temperatura del centro del producto se encuentra por debajo del punto de congelación. Posteriormente el bloque, es descongelado y la fracción concentrada se separa de la fracción de hielo por gravedad, la cual puede ser asistida por otras técnicas para mejorar su eficiencia (Aider & de Halleux, 2009). La crioconcentración en bloque ha sido reportada como una tecnología prometedora y eficaz de concentración, para producir alimentos líquidos concentrados con altas propiedades organolépticas y valores nutritivos. Una de las principales ventajas de esta técnica es la ausencia de partes móviles, como agitadores o bombas, lo que hace que sea una tecnología promisoriosa en lo que a costos se refiere.

Uno de los principales retos a resolver en esta técnica es la baja eficiencia en recuperación de solutos que puede presentar por diversos fenómenos, como se ha expuesto anteriormente, uno de ellos por la morfología del hielo.

En el siguiente párrafo se introducirá la técnica de análisis de imágenes, la que puede ser importante para caracterizar la morfología de la fase sólida o los cristales de hielo formados durante la crioconcentración.

2.6 ANÁLISIS DE IMÁGENES

El análisis y el procesamiento de imágenes es una herramienta que permite caracterizar cuantitativamente las micrografías obtenidas por diferentes microscopios o elementos la microestructura de los alimentos; este hecho es importante puesto que la estructura del alimento se relaciona con la nutrición, la estabilidad química y microbiológica, la textura y propiedades físicas, propiedades de transporte y la ingeniería del producto (Aguilera, 2005).

El análisis de imágenes requiere la captura de una imagen, por medio de microscopios y otros instrumentos disminuyendo o aumentando la escala o resolución, para estudiar su microestructura (Quevedo, Carlos, Aguilera, & Cadoche, 2002). Las imágenes se convierten en una serie de matrices con la ayuda de programas informáticos, que determinan los parámetros geométricos que permiten que las matrices obtenidas puedan ser contrastadas, oscurecidas, aclaradas, etc. (Campos-Mendiola et al., 2007).

La técnica de análisis de imágenes consiste en cinco etapas: ¹Adquisición de la imagen, la cual se obtiene por medio de cámaras digitales o microscopios, ²Pre-procesamiento

de la imagen, el cual tiene el objetivo de mejorar la información de la imagen obtenida, ³Segmentación, la cual divide o categoriza la imagen en objetos o partes para poder extraer la información de interés, ⁴Extracción de características, este hace referencia a la extracción de las características morfométricas o estructurales de los objetos en las imágenes como lo son el tamaño, forma, color y textura, y ⁵Clasificación, que utiliza la información obtenida para poder realizar la clasificación de los objetos de interés identificados en las imágenes (Pedreschi, Mery, & Marique, 2008).

En las aplicaciones en la ingeniería de los alimentos, alguna o todas de estas etapas han sido usadas para la extracción de información de las imágenes adquiridas con diferentes sistemas de captura. La información extraída es usada para trasladar la complejidad de los sistemas biológicos y alimenticios en datos numéricos, para después ser analizados para mejorar el entendimiento de las relaciones estructura-función de éstos materiales (Perea-Flores, 2011).

3 ESTADO DEL ARTE

El estado del arte estará centrado en la descripción de las investigaciones realizadas en las técnicas de crioconcentración y en los principios del recocido o *annealing*, los cuales son utilizados para formular la pregunta de investigación.

3.1 CRIOCONCENTRACIÓN

Los usos de la crioconcentración dependen del objetivo de procesamiento, el cual varía ampliamente dependiendo de las aplicaciones específicas. Estos van desde el logro de concentrados de alta calidad (alimentos líquidos) a la creación de sustancias ultra-puras (industria química). La crioconcentración permite obtener productos de primera calidad, preservando las propiedades del producto, aumentando su estabilidad, además de mejorar y reducir los costos de procesamiento de algunas técnicas industriales como la Liofilización y el Spray Drying (GEA Messo PT, 2011).

Adicionalmente, se han desarrollado aplicaciones de crioconcentración para la purificación de residuos industriales que contienen compuestos tóxicos o metales pesados, los cuales son difíciles de tratar mediante tratamientos biológicos (Wakisaka, Shirai, & Sakashita, 2001) como los contaminantes orgánicos de las plantas de celulosa y los efluentes en la refinería petrolera (Gao, Habib, & Smith, 2009).

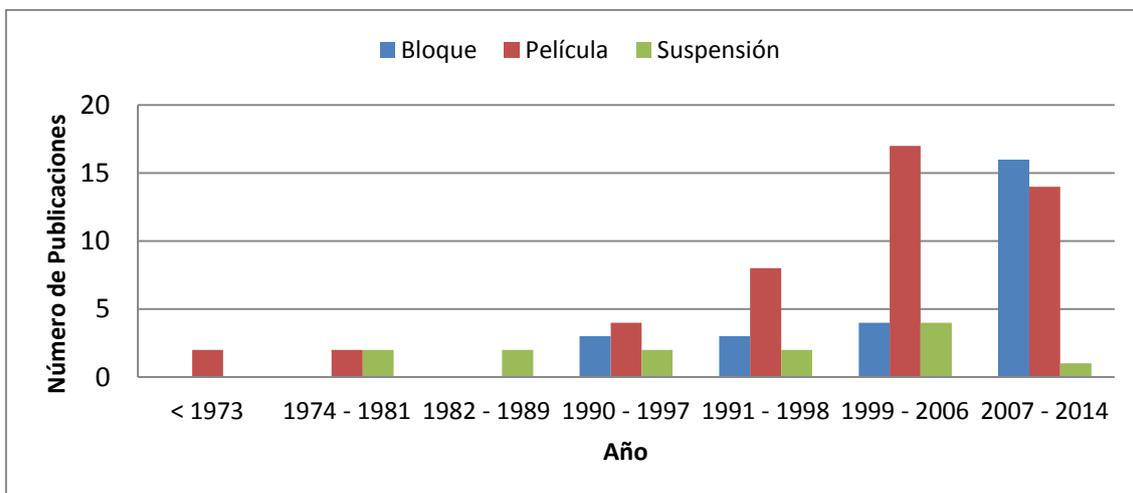


Figura 5. Número de publicaciones por año para las técnicas en crioconcentración.

Como se muestra en la Figura 5, desde que surgió esta técnica en los años setentas, las investigaciones realizadas han sido incrementales durante el tiempo. Inicialmente, se puede evidenciar que en sus inicios con la crioconcentración en suspensión, los estudios estaban centrados en el mejoramiento de las características organolépticas, el mejoramiento en la eficiencia y la disminución de costos del procesamiento. En esta búsqueda surgen dos nuevas técnicas, crioconcentración por película y en bloque, las cuales actualmente son el centro de las investigaciones viéndose disminuida las investigaciones realizadas en la crioconcentración por suspensión.

La única técnica aplicada industrialmente, es la crioconcentración por suspensión, la cual ha sido aplicada a extensos productos alimentarios para reducir volumen y economizar el embalaje, almacenamiento y transporte, manteniendo la calidad del producto original; y a productos nutracéuticos para el tratamiento de sustancia sensibles al calor permitiendo concentrar los componentes valiosos a partir de su fuente natural (GEA Messo PT, 2011).

3.2 TÉCNICAS DE CRICOCONCENTRACIÓN

3.2.1 CRICOCONCENTRACIÓN POR SUSPENSIÓN

A nivel industrial esta técnica fue desarrollada por Grenco N.V. (GEA) subsidiaria de Niro Inc. para jugos y extractos líquidos. Consta básicamente de tres etapas: cristalización en un intercambiador de calor de superficie raspada, maduración o crecimiento de los cristales de hielo formados en un recristalizador y la separación de los mismos en una columna de lavado (Roodenrijs, 1987). Los mayores costes del proceso tienen lugar en el intercambiador de calor de superficie raspada, debido a su complejidad, inversión inicial y alto consumo energético (tanto por la necesidad de rotación de las cuchillas, del agitador en el cristalizador y del sistema de raspado en el intercambiador de superficies raspadas, como por la baja temperatura a la que ha de mantenerse todos los equipos) (Sanz Martínez, Guignon, & Otero García, 2011).

Las investigaciones en crioconcentración por suspensión han sido centradas en dos problemáticas: el control de la nucleación y el crecimiento de los cristales para obtener cristales de hielo más grandes y de tamaño uniforme, para separar los cristales de hielo selectivamente a partir de la porción concentrada (Sánchez et al., 2009).

Las investigaciones de esta técnica comenzaron a principios de los años 70 con Huige y Thijssen (1972-1976), enfocadas al estudio y modelación del comportamiento de la nucleación de los cristales de hielo, etapa inicial de la crioconcentración. En los años 80 Braddock y Marcy (1985, 1987), determinaron los efectos de variables de procesamiento en la calidad de jugos de fruta. En los años 90, Schwartzberg (1990), Hartel y Espinel (1993), Kobayashi y Shirai (1996) orientaron sus estudios a mejorar la eficiencia y pureza de la formación de cristales de hielo en el proceso. A partir del 2000 investigaciones como las de Qin *et al.* (2006), Habib y Farid (2006-2008) y Otero *et al.* (2012) se enfocaron principalmente en encontrar nuevas técnicas para aumentar la viabilidad técnica de la crioconcentración por suspensión, debido a los inconvenientes, en cuanto a costo, que se presentan en el intercambiador de calor de superficie raspada.

Actualmente el proceso de crioconcentración por suspensión consta de una sección de cristalización, en donde parte del agua se convierte en cristales de hielo sólidos,

usando un sistema de refrigeración. Posteriormente, los cristales de hielo son separados con filtros, centrifugas o utilizando columnas de lavado (tecnología GEA Niro PT). Esta tecnología patentada es un proceso continuo operado en *batch*, el cual permite lograr un perfil de aroma superior, reduciendo los tiempos de operación de extracción (GEA Niro, n.d., 2008).

3.2.2 CRIOCONCENTRACIÓN POR PELÍCULA

3.2.2.1 PLACAS

La crioconcentración por placas consiste en la circulación continua de la solución sobre la superficie exterior de las placas a través de la cual se hace circular el refrigerante. La capa de hielo formada sobre la placa permite que la solución concentrada se pueda recolectar por gravedad. En comparación con los métodos convencionales, esta técnica es simple y económica ya que no requiere equipos adicionales para su procesamiento (columnas de lavado, centrifugas o prensas). El principal inconveniente que se presenta es alcanzar la eficiencia aceptable de concentración la cual depende del grado de concentración y pureza del hielo que se quiera obtener (Raventós et al., 2006).

Las investigaciones para esta técnica se han desarrollado principalmente a nivel de laboratorio o planta piloto aplicándolas para tratamiento de aguas residuales, soluciones de azúcares, leche y jugos (Sánchez et al., 2009). Más recientemente en mostos de uva, residuos de producción de tofu, entre otros (Auleda, Raventós, Sánchez, & Hernández, 2011; Belén et al., 2013; Belén, Sánchez, Hernández, Auleda, & Raventós, 2012; Sánchez, Hernández, Auleda, & Raventós, 2011).

A nivel de laboratorio Hartel (1993 y 1999), Flesland (1995), Chen (1998-1999), enfocaron sus estudios en la explicación fenomenológica del sistema, observando la tasa de crecimiento del hielo, la concentración de la solución y el grado de oclusión de soluto en la película de hielo.

A nivel de planta piloto Raventós (2006), Hernández (2009), Sánchez et al. (2011) y Belén et al. (2012-2013) estudiaron el proceso de concentración de soluciones acuosas de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) y jugos de pera y manzana en un crioconcentrador de placas múltiples; logrando en un tiempo corto una mayor concentración en la solución de sacarosa, además de encontrar los mejores resultados, en términos de pureza de hielo, en concentraciones iniciales bajas. Adicionalmente, se está estudiando la desalinización de varios tipos de fluidos, incluyendo soluciones de cloruro de sodio, agua de mar del Golfo de Arabia y salmueras de ósmosis inversa (Williams, Ahmad, & Connolly, 2013).

3.2.2.2 PROGRESIVA

La criocentración progresiva consiste en la cristalización unidireccional del agua presente en la solución, al igual que en la criocentración por placas, crece un único cristal de hielo adherido a las paredes de la superficie de intercambio de calor, la solución se va concentrando a medida que es circulada por el equipo. La solución se concentra debido a la exclusión de las moléculas de soluto desde el frente de congelación. Debido a la formación de un único cristal de hielo, se facilita la separación de los cristales de hielo de la solución concentrada (Gao & Shao, 2009; Liu, Miyawaki, & Nakamura, 1997).

Esta técnica se ha aplicado principalmente a la purificación de materiales orgánicos. Históricamente, la criocentración progresiva fue propuesta como una técnica de concentración en pequeña escala para propósitos analíticos aplicable tanto para soluciones acuosas como orgánicas (Chabarov & Aider, 2013; Miyawaki, Liu, Shirai, Sakashita, & Kagitani, 2005; Munson-McGee, 2014).

Han sido desarrolladas dos métodos dentro de criocentración progresiva, los cuales son desarrollados en equipos Verticales o Tubulares.

La criocentración vertical progresiva consta de un recipiente cilíndrico, un baño de enfriamiento, un sistema para la inmersión del recipiente en el baño, un agitador y un recubrimiento térmico para controlar el nivel y el crecimiento del hielo formado. El coeficiente de distribución de soluto entre la formación del hielo y la fase líquida es el más importante, ya que depende de la velocidad de avance del frente del hielo y la transferencia de masa de la interface en la agitación (Liu et al., 1997). Este método ha sido aplicado para soluciones acuosas de glucosa y sacarosa, zumo de tomate y pulpa de frambuesa (Liu et al., 1997; Miyawaki, Kato, & Watabe, 2012). Más recientemente para la desalinización del agua y concentración de vitaminas (Fujioka, Wang, Dodbiba, & Fujita, 2013; Iritani, Katagiri, Okada, Cao, & Kawasaki, 2013).

En la criocentración progresiva tubular, los cristales de hielo crecen en la superficie interna de un tubo enfriado por un refrigerante. El sistema comprende dos tubos conectados, donde la solución circula dentro del tubo mientras que el refrigerante circula fuera, generándose la fase sólida en las paredes internas de los tubos y la solución concentrada fluye a través del anillo que aún no ha congelado (Miyawaki et al., 2005). Se ha estudiado que un sistema de hielo tubular con un área de gran superficie de refrigeración es un método eficaz para la concentración de jugo de tomate y soluciones de sacarosa, aumentando el rendimiento y la productividad (Miyawaki et al., 2012).

3.2.3 CRIOCONCENTRACIÓN POR BLOQUE

Como se puede evidenciar en la Figura 5, a partir del 2007 las investigaciones sobre la crioconcentración en bloque incrementaron, debido a las grandes ventajas operativas que ofrece esta técnica, reportándose 16 publicaciones (Ver Tabla 1). Las investigaciones de técnica han sido aplicadas a: Suero lácteo (Aider, de Halleux, & Akbache, 2007; Aider, de Halleux, & Melnikova, 2008, 2009, 2007), Miel de Maple (Aider & de Halleux, 2008a), jugo de frutas (Aider & de Halleux, 2008b; Burdo, Kovalenko, & Kharenko, 2008; Nakagawa, Nagahama, et al., 2010), tratamiento de aguas residuales (Gao et al., 2009), desalinización de agua (Okawa et al., 2009), soluciones de colorantes (Nakagawa et al., 2009; Nakagawa, Maebashi, et al., 2010), leche (Aider & Ounis, 2012), soluciones de sacarosa (G. Petzold & Aguilera, 2013; G. Petzold et al., 2013) y café (Moreno et al., 2014, 2013).

Estas investigaciones están enfocadas principalmente a los estudios de las variables operativas como la temperatura de congelación y descongelación, la velocidad de congelación, las concentraciones obtenidas y tipos de soluciones además de la combinación con otros equipos para aumentar la eficiencia del proceso.

Tabla 1. Investigaciones en Crioconcentración por bloque

Matriz	Referencias	Descripción	Resultados
Suero lácteo	(Aider, de Halleux, & Akbache, 2007) (Aider, de Halleux, & Melnikova, 2007)	Evaluaron el impacto de la crioconcentración en la composición, analizando la fracción de hielo y la concentración obtenida en los volúmenes recuperados en cuatro y cinco etapas.	Obtuvieron una fracción concentrada significativa y la distribución de los componentes en las fracciones Observaron que la eficiencia del proceso disminuye al aumentar los niveles de crioconcentración.
Suero lácteo	(Aider et al., 2008)	Estudiaron el efecto y la eficiencia de las etapas de crioconcentración por gravedad y asistida por microondas.	Desarrollaron una técnica efectiva y eficiente para la concentración del soluto. Se identificó que el número de etapas de crioconcentración afectaban la eficiencia y productividad de la operación.
Suero lácteo	(Aider et al., 2009)	Evaluaron el impacto en las condiciones de procesamiento, optimizando el sistema de crioconcentración al minimizar la cantidad de	Encontraron una nueva y efectiva aplicación para recuperar y generar valor agregado en la industria.

		sólidos retenidos en la fracción de hielo. Se evaluaron las propiedades emulsionantes y espumantes en función de las etapas de crioconcentración.	
Miel de maple	(Aider & de Halleux, 2008a)	Estudiaron la eficiencia de recuperación por gravedad y asistida por microondas	Las temperaturas y el modo de descongelación no presentan un efecto significativo sobre la recuperación, aunque la crioconcentración asistida por microondas permite una disminución en el tiempo de recuperación.
Jugos de cereza y durazno	(Aider & de Halleux, 2008b)	Estudiaron la producción de jugos concentrados.	Obtuvieron una mejor calidad de producto y un mayor perfil aromático; señalando a la crioconcentración en bloque como una tecnología prometedora y efectiva en la industria de jugos, además de ser amigable con el ambiente.
-	(Burdo et al., 2008)	Presentan un modelo estático de las condiciones de la influencia combinada en el proceso de congelación.	Se ve la necesidad de investigar experimentalmente, obteniendo los campos de temperatura y de concentración en el sistema.
jugo de manzana	(Nakagawa, Nagahama, et al., 2010)	Probaron el desempeño de la crioconcentración, variando las condiciones de congelación y descongelación.	Este método se rige por la elución del soluto de una fase congelada a una fase líquida, donde la concentración aumenta con el tiempo, recuperando la mayoría de los solutos.
Efluentes industriales petroquímicos	(Gao et al., 2009)	Estudiaron la eliminación de compuestos contaminantes orgánicos.	Removieron satisfactoriamente los contaminantes ayudando la eficiencia de separación, reduciendo la influencia de la temperatura de congelación y la concentración inicial de impurezas.

Colorante ($C_{34}H_{24}N_6Na_4O_{16}S_4$)	(Nakagawa et al., 2009)	Estudiaron los fenómenos de concentración durante la congelación y descongelación en una solución acuosa de colorante.	La solución obtenida durante la descongelación mostró una mayor concentración que la solución original y la concentración no corresponde con la cantidad de soluto localizado en la matriz congelada.
Colorante ($C_{34}H_{24}N_6Na_4O_{16}S_4$) y fenol	(Nakagawa, Maebashi, et al., 2010)	Investigaron el fenómeno de la concentración durante la congelación y descongelación de la solución.	Las condiciones evaluadas de congelación no separan eficazmente los solutos de la zona congelada. Sin embargo, las concentraciones de las fracciones obtenidas durante el paso de descongelación eran más altas que el nivel de concentración de la fase congelada.
Leche	(Aider & Ounis, 2012)	Estudiaron el efecto de las etapas de crioconcentración en la eficacia de la técnica por gravedad y asistido por microondas	Los efectos de las etapas son significativos y el microondas ayuda a aumentar la eficiencia con respecto al tiempo de obtención de la fracción descongelada.
Sacarosa	(G. Petzold & Aguilera, 2013) (G. Petzold et al., 2013)	Estudiaron el efecto sobre la eficiencia de la concentración, mediante la combinación de tecnologías (vacío y centrifugación).	La aplicación de estas tecnologías mejora la eficiencia de recuperación y tiempos de procesamiento.
Café	(Moreno et al., 2013)	Evaluaron el efecto de la temperatura de congelación, modo de descongelación y modo de separación (técnica por gravedad, vacío y asistido por microondas) con respecto al rendimiento de solutos de café, ajustando los datos obtenidos a un modelo monomolecular para comparar la calidad de separación por medio de la relación de recuperación soluto para cada	La combinación del modo de separación asistido por microondas y por vacío mostraron los mejores resultados en términos de relación de recuperación soluto.

		tratamiento.	
Café	(Moreno et al., 2014)	Evaluaron los efectos de la fracción de masa inicial, la temperatura de enfriamiento, la temperatura de calentamiento y la dirección de congelación en café, además de medir el efecto de la crioconcentración en los compuestos bioactivos.	La dirección de congelación y la temperatura de enfriamiento influían significativamente en la recuperación soluto y los compuestos bioactivos se distribuyeron en proporción al contenido total de sólidos en el hielo y líquido encontrando que la crioconcentración por bloque es una técnica efectiva para preservar las propiedades funcionales de los extractos de café.

Debido al interés que ha despertado la crioconcentración en bloque, esta técnica será abordada en el presente estudio, de igual forma del estado del arte puede concluirse que uno de los principales problemas de la técnica es la falta de eficiencia en la recuperación del soluto, esto debido que el hielo crece ocluido durante la congelación, es por esto que técnicas como el recocido o los ciclos de calentamiento y enfriamiento pueden ser de interés para modificar la estructura del hielo y de esta forma tener un impacto en la recuperación del soluto. A continuación se describe el estado del arte de la técnica de recocido.

3.3 RECOCIDO O ANNEALING

De acuerdo a la revisión bibliográfica realizada, se ha podido evidenciar que los tratamientos de recocido o *annealing* en soluciones acuosas no han sido estudiados extensamente, y sus investigaciones se han realizado durante el estudio de las transiciones de fases, obteniendo como resultado que el periodo de tiempo al cual son sometidas las muestras tiene un efecto sobre la morfología de los cristales de hielo. Estas investigaciones están resumidas en la Tabla 2.

Tabla 2. Investigaciones realizadas sobre recocido o *annealing*.

Referencias	Descripción
(Chirife & Buera, 1997)	Describe el por qué el hielo no puede formar una fase ordenada a 0 K y cómo conseguir un estado ordenado de hielo; concluyendo que al ser agregada al agua una impureza, esta acelera dramáticamente el movimiento de las moléculas para cambiar el cristal de estado desordenado a un equilibrio dentro del tiempo de experimentación.
(Schoof, Bruns, Fischer, Heschel, & Rau, 2000)	Investigó las condiciones de congelación para formar una morfología de cristal estable en una placa de hielo, encontrando que las muestras estudiadas fueron influenciadas de una manera diferente por los parámetros de congelación y las concentraciones de soluto.

(Sei, Gonda, & Arima, 2002)	Realizó observaciones <i>in-situ</i> para evaluar cómo la trehalosa suprime el crecimiento de cristales de hielo y protege a los organismos de la congelación.
(Lieseback, Rades, & Lim, 2003)	Investigó la influencia del tiempo, temperatura y velocidad de congelamiento de recocado sobre la temperatura de transición vítrea, encontrando que cada una de estas variables afecta el resultado del experimento
(Shibkov, Golovin, Zheltov, Korolev, & Leonov, 2003)	Presentó el resultado del estudio <i>in-situ</i> de la formación de patrones del crecimiento de un cristal de hielo en agua súper pura en el rango de subenfriamiento $-0,1 < \Delta T < -30^{\circ}\text{C}$.
(Nasello, Di Prinzio, & Guzmán, 2005)	Analizó, para agua pura, la migración límite de los enlaces al ser sometidos a los tratamientos térmicos de recocado cercanos al punto de fusión.
(Rahman, 2006)	Identificó que las condiciones experimentales, tales como la velocidad de enfriamiento, tamaño de la muestra y las condiciones del recocado utilizados afectan la estructura cristalina del hielo.
(Koza, Hansen, May, & Schober, 2006)	Mostró que existe una correlación entre las condiciones de preparación de las estructuras de hielo amorfo, sus propiedades estructurales microscópicas y la cinética de transformación; obteniendo que el grado de heterogeneidad puede ser suprimida progresivamente cuando mayores presiones y temperaturas se aplican para la preparación de la muestra.
(Hottot et al., 2007)	Presentó un conjunto de datos experimentales que muestran la influencia de diversos parámetros del proceso de congelación que determinan la estructura del material congelado sobre las propiedades de textura del liofilizado.
(Pardo et al., 2002)	Realizó una investigación para conocer la relación entre la tasa de congelación y el tamaño medio del cristal de hielo en extractos de café, donde pudo evidenciar que la variabilidad en el tamaño de cristal medio tiende a aumentar a medida que disminuye la tasa de congelación, como la propagación en la distribución del tamaño de cristal.
(H.D Goff et al., 2003)	Probó que tratamientos térmicos (ciclos de enfriamiento y calentamiento) pueden influir en la microestructura de soluciones alimenticias (agua-sacarosa) afectando a su vez el grado de retención de sólidos en el hielo.
(Okawa et al., 2009)	Estudió el efecto de la orientación de los cristales en crioconcentración para aguas residuales. De acuerdo al cambio que se generaba en la morfología inicial del cristal, se encontró que el tratamiento que genera un grado mayor de retención de sólidos, es cuando son formadas varias placas de hielo, y un cristal de hielo formado solo con dirección de crecimiento en un eje.

Aunque la mayoría de estudios han sido realizados a niveles experimentales con técnicas de microscopía, se ha podido evidenciar que de acuerdo a las concentraciones de las soluciones, los ciclos térmicos, los tiempos y velocidades de congelación a los que se expone la solución, los cristales de hielo presentarán cambios estructurales, aumentando el rendimiento de recuperación.

3.4 ANÁLISIS DE IMÁGENES

Para verificar el cambio en la estructura del hielo en un tratamiento de recocido puede resultar de utilidad el análisis de imágenes. Aunque, con respecto al estudio por análisis de imágenes para cristales de hielo formados en soluciones alimentarias no se ha evidenciado mayor información.

De acuerdo a la investigación realizada, se ha podido evidenciar que la adquisición de imágenes que puedan mostrar la estructura del hielo puede realizarse por medio de varias técnicas de microscopía, aunque en algunas de ellas se requiera un tratamiento previo de la muestra. Estas técnicas estas resumidas en la Tabla 3.

Tabla 3. Técnicas de obtención de imágenes de la estructura de los cristales de hielo.

Técnica de observación	Referencias	Descripción
Crio-microscopio	(Schoof et al., 2000) (Sei et al., 2002) (Nasello et al., 2005) (Koza et al., 2006)	Se obtuvieron imágenes <i>in-situ</i> por medio un crio-microscopio el cual utiliza una cámara de refrigeración para mantener la temperatura de congelación deseada del experimento.
Microscopio por fluorescencia	(Pardo et al., 2002)	Se presentó una metodología de liofilización para el análisis de los cristales y el procesamiento de las imágenes obtenidas.
Microscopía de luz fría y microscopía electrónica de barrido (SEM).	(H.D Goff et al., 2003)	Se observó la microestructura de una solución de sacarosa observando el grado de oclusión en los cristales de hielo
Estereoscopio	(Okawa et al., 2009)	Se observó la diferencia de la morfología inicial de hielo y su influencia sobre la concentración por congelación.

4 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

El objetivo de la crioconcentración es lograr la separación del agua lo más pura posible. De acuerdo a la bibliografía consultada se ha podido evidenciar que varios autores han podido evidenciar que el tamaño, la morfología y la oclusión de sólidos en los cristales de hielo dependen de las condiciones de congelación, de ciclos de enfriamiento-calentamiento y de condiciones de maduración o recocado (H.D Goff et al., 2003; Nakagawa et al., 2009; Okawa et al., 2009; Pardo et al., 2002), por lo tanto este tipo de tratamientos durante la crioconcentración en bloque pueden llegar a impactar en la recuperación del soluto, modificando la eficiencia del proceso. Las condiciones de congelación durante la crioconcentración en bloque ya han sido estudiadas por algunos autores, sin embargo, el estudio del efecto de los ciclos de enfriamiento-calentamiento, y el recocado en la crioconcentración en bloque aún es bajo.

Por esta razón, se propone estudiar el efecto de los ciclos de enfriamiento-calentamiento y los tiempos de mantenimiento de estas matrices a una temperatura (recocado), el que también podría denominarse maduración, sobre la eficiencia de recuperación del soluto en la crioconcentración en bloque de soluciones acuosas de café.

De acuerdo a los postulados anteriormente mencionados se ha formulado la siguiente pregunta de investigación:

¿CUÁL ES EL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE CICLOS DE ENFRIAMIENTO-CALENTAMIENTO DURANTE LA CRIOCONCENTRACIÓN EN BLOQUE DE SOLUCIONES DE CAFÉ SOBRE LA EFICIENCIA EN LA CONCENTRACIÓN?

Esto permitirá ampliar el conocimiento sobre las variables y parámetros operativos que afectan a la crioconcentración en bloque. Se busca posibilitar el uso futuro de nuevas tecnologías más eficientes, económicas y aplicables a productos como el café liofilizado o nuevos productos como concentrados de café y sus derivados.

5 OBJETIVOS

5.1 GENERAL

Evaluar el efecto de ciclos de enfriamiento y calentamiento sobre la eficiencia de recuperación del soluto en crioconcentración en bloque de soluciones acuosas de café.

5.2 ESPECÍFICOS

Determinar el efecto de la temperatura de calentamiento y tiempo de recocido o *annealing* sobre la recuperación de soluto de soluciones de café al aplicar ciclos de enfriamiento y calentamiento durante la crioconcentración en bloque.

Evaluar el efecto de la temperatura de calentamiento y tiempo de recocido o *annealing* sobre la estructura del hielo de café en crioconcentración en bloque por medio de análisis de imágenes.

6 MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 MATERIALES

Se prepararon soluciones de café liofilizado de un mismo lote de proceso, suministrado por Buencafé Liofilizado de Colombia (Federación Nacional de Cafeteros, Colombia). El café se disolvió en agua destilada a 35°C por 20 minutos y almacenado a 4°C por 12 horas.

La concentración de sólidos fue ajustada antes del inicio de la criocentración mediante refractometría (Atago Pal 100, Japón), por medio de la relación entre grados Brix y fracción de sólidos representada por la ecuación $X_s = 0.0087^\circ Brix$ (Moreno et al., 2014).

6.2 MÉTODOS

6.2.1 ENSAYOS DE TRATAMIENTOS TÉRMICOS A NIVEL MICROSCÓPICO

Se sometieron 21 μL de la solución a ciclos de enfriamiento-calentamiento y tiempos de recocido, como se observa en la Tabla 4. La temperatura de la solución se controló por medio de una cámara de refrigeración (INSTECHCS321i). La solución se enfrió inicialmente hasta una temperatura de -20°C a 2 °C/min para posteriormente ser sometida a los tratamientos evaluados. Para el primer tratamiento la muestra se mantuvo a -20°C con recocido de 1 hora, en el segundo tratamiento la muestra se calentó hasta -5°C a 2 °C/min sin recocido y el tercer tratamiento se calentó hasta -5°C a 2 °C/min y a recocido de 1 hora. Finalmente para los tres tratamientos la muestra fue enfriada nuevamente hasta -20°C a 2 °C/min.

Tabla 4. Tratamientos evaluados en los ciclos de enfriamiento y calentamiento

TRATAMIENTO	Puntos de Medición	T1	T2	T3
Temperatura enfriamiento	P1	-20°C	-20°C	-20°C
Temperatura calentamiento	P2	-	-5°C	-5°C
Tiempo recocido	P3	1 h	0 h	1 h
Temperatura enfriamiento	P4	-	-20°C	-20°C

La captura de imágenes de los cristales de hielo se realizó utilizando una cámara digital acoplada a un microscopio Nikon Eclipse Ti con un objetivo de 10X, la cámara de refrigeración se adaptó a la platina del microscopio.

Se tomaron imágenes en los diferentes puntos de los tratamientos con una resolución de 1280 x 960 píxeles y 20 ms de exposición, se evaluó la Dimensión Fractal de Textura (DFT) de cada punto observado por medio del *plugin* SDBC del software *ImageJ* (National Institute of Health, USA), tomando 9 crops (430 x 320 píxeles) para cada imagen obtenida. Adicionalmente, se obtuvieron los descriptores dimensionales (Área

y Diámetro de Feret) de los cristales formados al final de los tratamientos (P4), por medio del software *ImageJ*.

Se determino la DFT por medio del algoritmo Modificado de Conteo Diferencial de Cajas. Este algoritmo se basa en un gráfico de superficie de intensidad, el cual es generado a partir de imágenes en escala de grises 2D (Perea-Flores, 2011).

6.2.2 EQUIPO DE CRIOCONCENTRACIÓN EN BLOQUE Y PROTOCOLO DE CRIOCONCENTRACIÓN

El diagrama del equipo utilizado para realizar la crioconcentración en bloque se muestra en la Figura 6 (Moreno et al., 2014). Este equipo consta de un recipiente cilíndrico (1) al cual se le introducen 160 g de la solución de café a crioconcentrar. El recipiente está provisto de una camisa interna (2) y una externa (3) para la circulación del fluido de enfriamiento y calentamiento, el cual es una mezcla etilenglicol/agua 53% m/m que viene de los baños termostáticos (4 y 5) Polystat, (Cole Parmer, USA). Los baños están provistos de un control de temperatura (6 y 7) que permite manejar un intervalo de -35°C a $150^{\circ}\text{C} \pm 0.01^{\circ}\text{C}$. Los baños envían los fluidos de intercambio de calor a las camisas externa o interna mediante un sistema de ductos y válvulas (8). El fluido de enfriamiento/calentamiento pasa por un sistema de bombas y válvulas (8) que lo dirige a la camisa interna (2) o externa (3). El fluido de la camisa interna (2) pasa por una válvula de salida (9) a un recipiente (10) que se encuentra sobre una balanza (11).

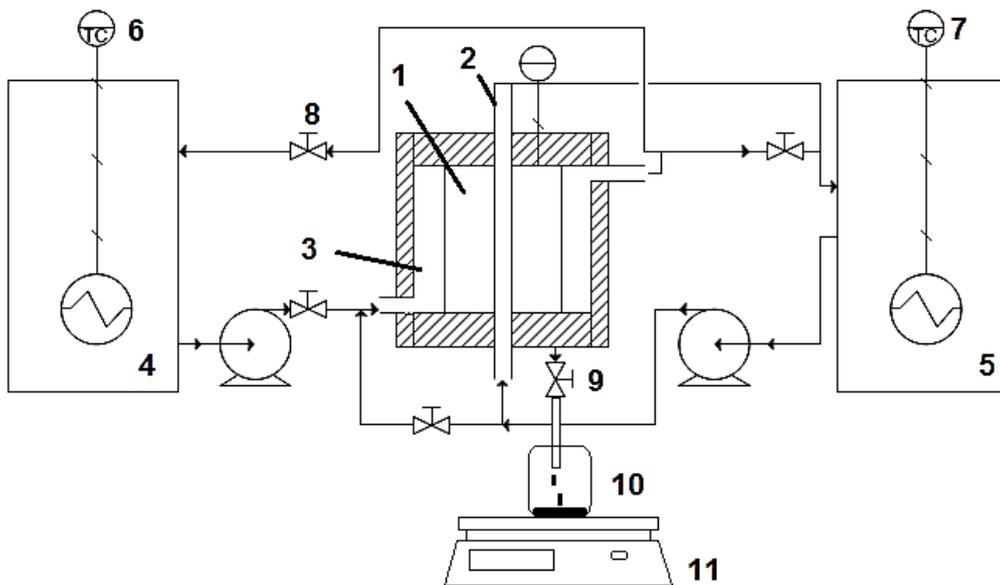


Figura 6. Diagrama de equipo para crioconcentración en bloque (Moreno et al., 2014).

Durante los ensayos se ajustaron las temperaturas en los baños termostáticos de manera que la transferencia de calor sucede unidireccionalmente, en sentido radial desde la camisa interna del equipo. Una vez la muestra ha sido sometida a los ciclos de enfriamiento-calentamiento y su temperatura interna permanece constante, se procede con la fase de descongelación permitiendo el paso del fluido de calentamiento a través desde la camisa exterior del recipiente. Se abre la válvula de salida (9),

recolectando la muestra descongelada en el recipiente (10) ubicado sobre una balanza (11) (Ohaus PA3102, USA), de $3100 \text{ g} \pm 0.01 \text{ g}$ registrando la masa recuperada. Durante la descongelación, la temperatura en la pared interna del recipiente se fija un grado Celsius por debajo de la temperatura de fusión de la muestra para evitar el descongelamiento, manteniendo la descongelación unidireccional. Se separaron diez fracciones másicas iguales de la solución descongelada y se realizó la medición de la concentración por refractometría (Atago Pal 100, Japón). La concentración de sólidos es expresada como fracción másica de sólidos totales (Xs).

Para cada uno de los tratamientos se evaluó la temperatura de la solución en cuatro puntos equidistantes del equipo (12), utilizando sensores de temperatura PT100 - IP65 (Testo, Alemania) de 2 mm de diámetro, con rango de medición -50 a $300^\circ\text{C} \pm 0.01^\circ\text{C}$, estos sensores se conectan a un datalogger 176 T2 (Testo, Alemania) que envía los datos a un PC para el registro segundo a segundo de la variación térmica de la muestra.

6.2.3 DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE CICLOS DE ENFRIAMIENTO-CALENTAMIENTO Y RECOCIDO SOBRE LA EFICIENCIA DE RECUPERACIÓN DEL SOLUTO. DISEÑO EXPERIMENTAL.

Las soluciones de café fueron sometidas a cuatro tratamientos térmicos como se observa en la Tabla 5. Para cada tratamiento, inicialmente la temperatura del refrigerante fue de -20°C , esta temperatura se mantenía hasta lograr la estabilización térmica de la muestra, posteriormente se elevaba la temperatura del refrigerante a la temperatura de ensayo (T_c) y nuevamente la muestra se llevaba hasta estabilización y se sometía la muestra al tiempo de recocido o *annealing* (t), finalmente la muestra fue enfriada (primer paso) con refrigerante a -20°C , para posteriormente realizar la recuperación de cada 10% de la fracción inicial a 40°C .

Tabla 5. Tratamientos térmicos evaluados

Paso		TRATAMIENTOS				DESCRIPCIÓN
		T1	T2	T3	T4	
1	Temperatura de enfriamiento (T)	-20°C	-20°C	-20°C	-20°C	Congelación inicial de la solución hasta estabilización térmica.
2	Temperatura de calentamiento (T _c)	-5°C	-5°C	-10°C	-10°C	Calentamiento de la solución a la temperatura T _c hasta estabilización térmica.
3	Tiempo de recocido o <i>annealing</i> (t)	12 h	0 h	12 h	0 h	Recocido: Maduración de los cristales a temperatura de calentamiento en el tiempo.
4	Temperatura de enfriamiento (T)	-20°C	-20°C	-20°C	-20°C	Enfriamiento de la solución a temperatura de congelación inicial hasta estabilización térmica.
5	Temperatura de recuperación (T _H)	40°C	40 °C	40 °C	40 °C	Recuperación cada 10% de la solución inicial crioconcentrada, midiendo los sólidos solubles presentes en cada fracción.

De acuerdo a lo reportado en la literatura, se ha podido evidenciar que factores como la concentración inicial de solutos, la dirección de congelación y la temperatura de enfriamiento pueden llegar a tener una influencia significativa sobre la recuperación de solutos (Aider & de Halleux, 2008b; Moreno et al., 2014, 2013). Es decir que a concentraciones iniciales altas, velocidad de congelación y temperaturas de descongelación altas la crioconcentración en bloque no es eficiente.

Por esta razón, para seleccionar los niveles de las variables de estudio en el presente trabajo, se tomaron condiciones no favorables para la crioconcentración en bloque. Esto con el fin de evaluar la viabilidad de mejorar la eficiencia de la concentración mediante la aplicación de ciclos de enfriamiento-calentamiento y tiempos de recocido o *annealing*. Adicionalmente se tuvo en cuenta que los niveles escogidos estuvieran dentro de los límites usuales de operación en la crioconcentración.

Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado, para el desarrollo de la presente investigación se decidió utilizar una concentración inicial del 15% P/p , temperatura de enfriamiento de -20°C, temperaturas de calentamiento de -5 y -10°C en dirección de congelación desde la camisa interna del equipo y temperatura de descongelación de 40°C, para la recuperación de las 10 fracciones desde la camisa externa del equipo, como se observa en la Figura 7.

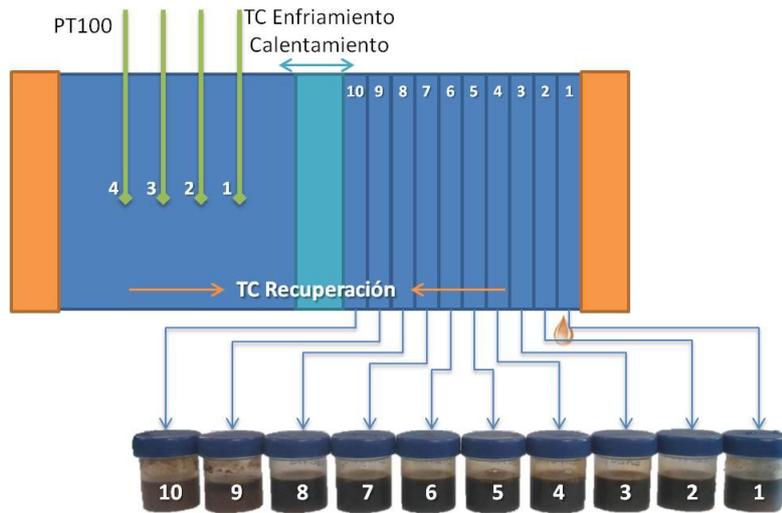


Figura 7. Proceso para crioconcentración en bloque
TC: Dirección de Transferencia de Calor

Los variables evaluadas en los tratamientos térmicos fueron la temperatura de calentamiento (T_c) y tiempo de recocido o *annealing* (t) sobre la recuperación de soluto en el equipo para crioconcentración en bloque. Se utilizó un diseño factorial completo de dos factores con dos niveles (2^2) para un total de 4 tratamientos, todos los tratamientos fueron realizados por triplicado.

Adicional a estos tratamientos, se cuenta con un ensayo que sirve como blanco (B), el cual no fue sometido a ningún ciclo de enfriamiento-calentamiento y/o tiempo de recocido. Este tratamiento fue sometido a la misma temperatura de enfriamiento, temperatura de calentamiento, dirección de congelación y se recuperación de las muestras. El tratamiento fue realizado igualmente por triplicado.

6.2.3.1 Análisis de datos

Para la evaluación de las fracciones recuperadas se tuvieron como variables de respuesta la fracción de recuperación de solutos (Y) y el índice de concentración (IC) por cada una de las fracciones de descongelación recuperadas (f), los cuales son descritos a continuación.

Fracción de descongelación (f): Se define como la relación entre la masa de líquido descongelado y la masa inicial de la solución (Eq. 1).

$$f = \frac{m_{liq}}{m_{sol\ 0}} \quad (1)$$

Donde:

m_{liq} : masa de líquido descongelado

$m_{sol\ 0}$: masa inicial de la solución

Rendimiento de recuperación de solutos (Y): Se define como la relación entre la masa de soluto recuperado en la fracción líquida crioconcentrada y la masa de soluto en la solución inicial (Eq. 2).

$$Y = \frac{m_{s\ liq}}{m_{s\ 0}} \quad (2)$$

Donde:

$m_{s\ liq}$: masa de soluto en la fracción líquida descongela
 $m_{s\ 0}$: masa de soluto en la solución inicial

Índice de concentración (IC): Se define como relación entre la fracción de sólidos del líquido crioconcentrado y la fracción de sólidos en la solución inicial (Eq. 3).

$$IC = \frac{X_{s\ liq}}{X_{s\ 0}} \quad (3)$$

Donde:

$X_{s\ liq}$: concentración de sólidos en la fracción líquida descongela
 $X_{s\ 0}$: concentración de sólidos en la solución inicial

Área bajo la curva: Este método fue propuesto por Moreno et al 2014. El área permite la comparación entre tratamientos. Es un valor acotado entre 0 (recuperación del 0% de los solutos iniciales) y 1 (recuperación instantánea del 100% de los solutos iniciales, caso ideal), por esto cuanto mayor sea el área, mayor cantidad de solutos se recupera en una menor fracción de descongelación.

La gráfica Y vs. f (Figura 8) representa la cantidad de soluto que se alcanza a recuperar, por tanto entre más alejada este la curva de la diagonal habrá mayor recuperación. La diagonal representa cuando no hay recuperación de solutos, por tanto todo lo que esté por encima de esta diagonal representará lo que se alcanza a recuperar.

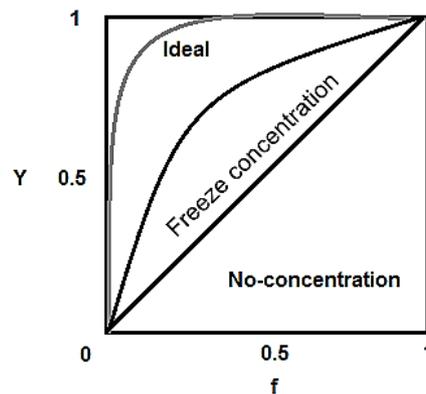


Figura 8. Rendimiento de solutos en crioconcentración. Tomado de (Moreno et al., 2014)

El área bajo la curva Y vs. f de los tratamientos es obtenida mediante el software estadístico SAS 11.0 por medio del procedimiento de regresión SP_line.

Para determinar la significancia de los efectos principales y combinados de los factores de estudio sobre el área bajo la curva Y vs f, se realiza un análisis de regresión por

superficie de respuesta, mediante el software estadístico SAS 11.0 con un intervalo de confianza del 95%.

6.2.4 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE CICLOS DE ENFRIAMIENTO-CALENTAMIENTO Y RECOCIDO SOBRE LA ESTRUCTURA DEL CRISTAL DE HIELO

Se extrajeron los bloques formados en tratamientos del diseño experimental expuesto en el numeral 6.2.3, al finalizar la aplicación de los ciclos (paso 4, Tabla 5), este bloque se trasladaba a una atmósfera a -20°C , en la que se realizaban cortes sobre el bloque de café congelado para obtener muestras representativas del bloque formado, como se muestra en la Figura 9.

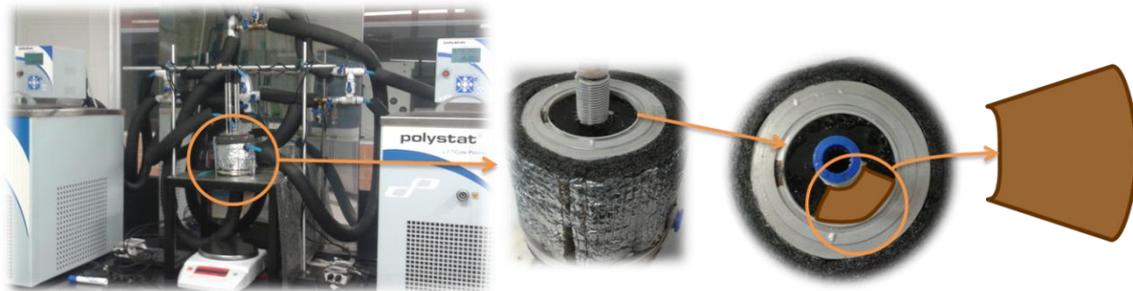


Figura 9. Extracción del bloque de hielo del crioconcentrador

Fueron realizados cortes transversales y longitudinales de $60\mu\text{m}$ de espesor a las muestras obtenidas del bloque, en un criotomo (Leica CM1850) a -20°C , para ser observados dentro de una cámara de refrigeración (INTEC HCS301i) que permitía el control de la temperatura de la muestra a -20°C de igual manera.

Para los cortes transversales fueron adquiridas las imágenes de los cristales de hielo a 6 distancias del bloque formado, estos cortes se realizaban en la dirección de la transferencia de calor, como se muestra en la Figura 10.

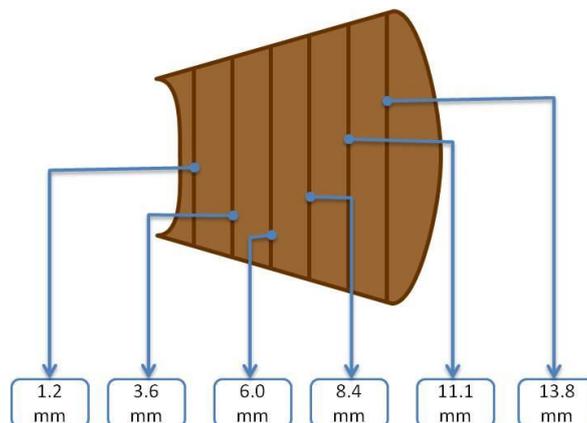


Figura 10. Distancias de los cortes evaluados en el bloque. Vista superior

La captura de imágenes de los cristales de hielo se realizó utilizando una cámara digital acoplada a un microscopio Nikon Eclipse Ti con un objetivo de 10X, la cámara de refrigeración se adaptó a la platina del microscopio.

Las imágenes se tomaron con una resolución de 1280 x 960 píxeles, las cuales fueron procesadas y segmentadas por medio del software *ImageJ* (National Institute of Health, USA), como se muestra en la Figura 11.

La imagen original obtenida (1) es transformada a 8 bits (2), los cristales de hielo son identificados por medio del uso del *threshold* automático (3). Los cristales de hielo son identificados manualmente para segmentar la imagen originalmente capturada (4). Las imágenes segmentadas fueron superpuestas sobre la original para comprobar la segmentación realizada (5).

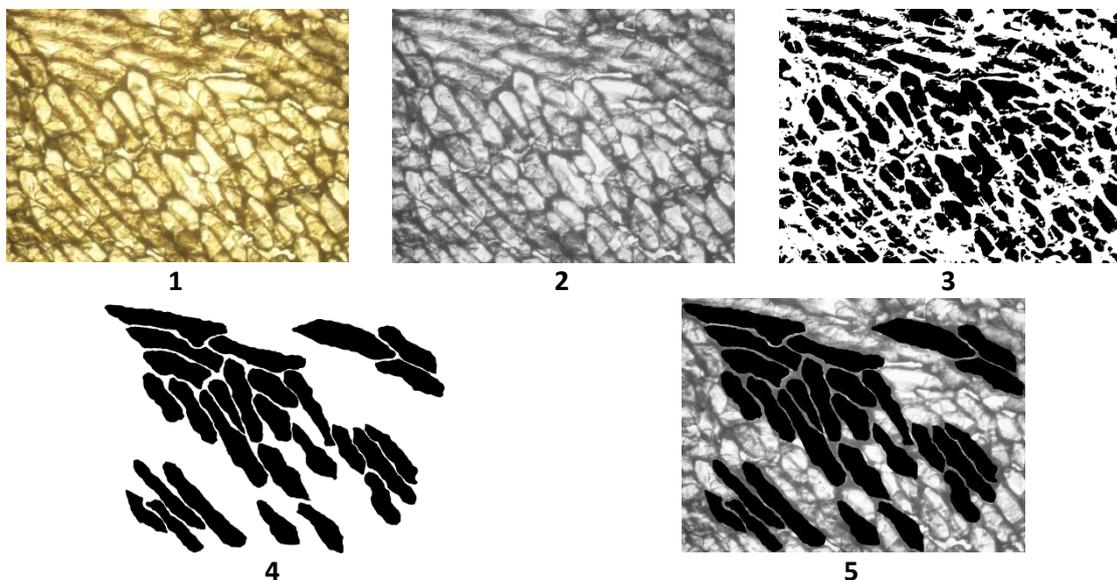


Figura 11. Pre-procesamiento y segmentación de las imágenes.

La calibración del tamaño de los cristales de hielo en las imágenes adquiridas se realizó mediante la captura de un cuadrante de la cámara de *neubauer*, con el mismo objetivo (10X) y misma distancia de trabajo utilizados en los ensayos.

6.2.4.1 Análisis de imágenes

Para evaluar los cristales de hielo segmentados en las imágenes adquiridas (extracción de parámetros), se utilizaron parámetros morfométricos, los cuales proporcionan una la información adecuada de las dimensiones y de la forma de los cristales para el análisis de la estructura del objeto en estudio:

Descriptores dimensionales (Mendoza, 2012)

Perímetro (P): El perímetro es definido como el número de píxeles pertenecientes al contorno de un objeto.

Área (A): Es definida como el plano bidimensional con contornos definidos. Es la suma de los píxeles de una región definida. Este parámetro puede utilizarse para describir el encogimiento global de un objeto.

Diámetro de Feret (DF): Este parámetro describe la forma de un objeto. Es la distancia más larga entre dos puntos cualesquiera a lo largo del límite de selección.

Descriptores de forma

Circularidad (C): Es un factor que indica que tanto un objeto se circunscribe a un círculo. Este factor varía entre los valores 0.0 y 1.0, donde un valor de 1.0 indica un círculo perfecto (Eq. 4).

$$C = 4\pi \frac{A}{P^2} \quad (4)$$

Donde:
A: Área
P: Perímetro

Relación de Aspecto (AR): Es una medida de la elongación de un objeto, indicando la proporción entre el ancho y alto del objeto evaluado (Eq. 5).

$$AR = \frac{Max}{Min} \quad (5)$$

Donde:
Max: Eje mayor
Min: Eje menor

Los parámetros analizados de las imágenes obtenidas, fueron realizados en un mínimo de 150 cristales de hielo por grupo, buscando un error menor al 8% en la media de los valores obtenidos.

7 RESULTADOS

7.1 TRATAMIENTOS TÉRMICOS A NIVEL MICROSCÓPICO

Los perfiles de temperatura obtenidos durante la evaluación de los ciclos de enfriamiento-calentamiento se pueden observar en la Figura 12, al igual que las imágenes adquiridas en el tiempo de cada punto del tratamiento. Estos muestran los cambios presentados en los cristales de hielo al ser aplicadas diferentes temperaturas y tiempos de recocido durante el tratamiento térmico.

Los tiempos de evaluación de cada tratamiento fueron de 80 min para T1, 45 min para T2 y 100 min para T3. El punto P1 representa el primer enfriamiento realizado en la muestra, el punto P2 muestra el aumento de la temperatura hasta estabilización térmica, el punto P3 representa el tiempo en el cual la muestra fue sometida a recocido y el punto P4 representa el enfriamiento final del tratamiento.

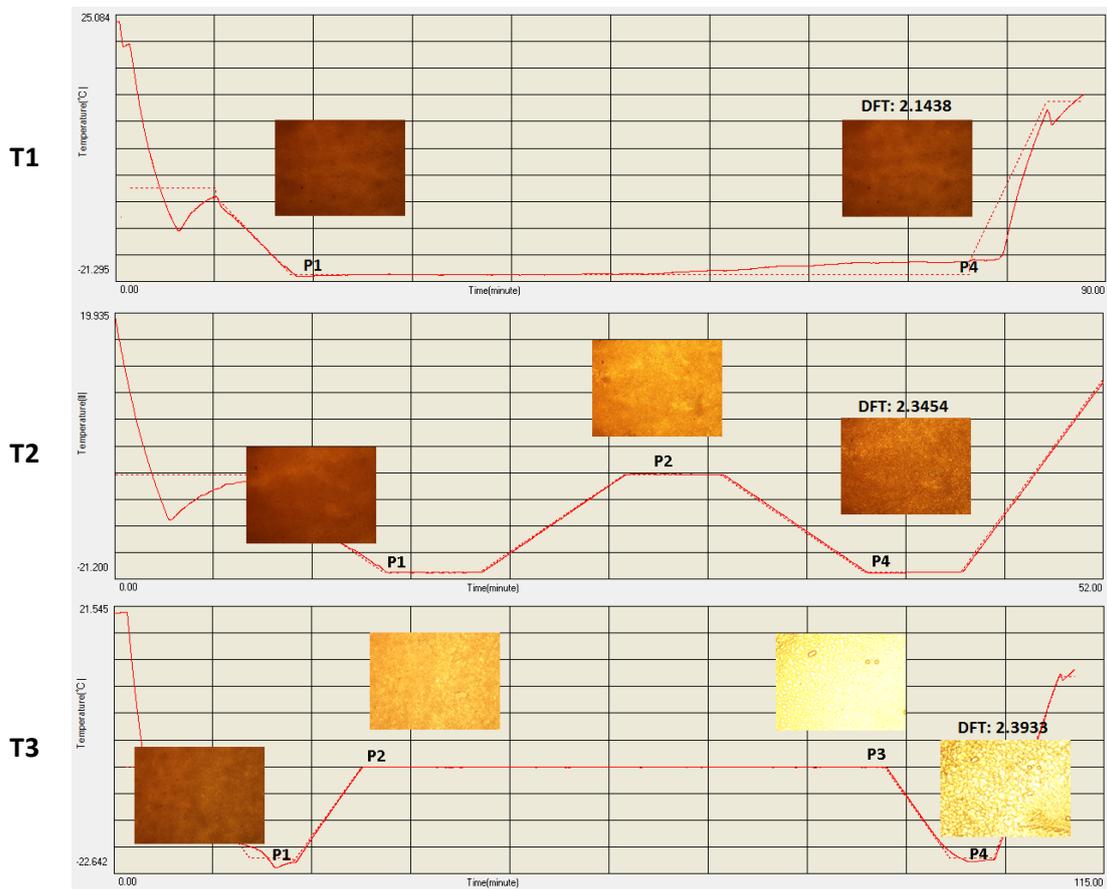


Figura 12. Perfiles de temperatura y puntos evaluados en los tratamientos.

Para los tres tratamientos evaluados, en el punto P1 se observó una formación de múltiples cristales de minúsculo tamaño, lo que puede deberse al subenfriamiento inicial (la muestra alcanza temperaturas de $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$, y la temperatura de congelación, para la concentración estudiada, es de $-2,3\text{ }^{\circ}\text{C}$) y a la velocidad a la cual sucedió la

nucleación en la muestra (Orrego Alzate, 2008). En el punto P2 se presenta el primer cambio en la morfología del cristal, al aumentar la temperatura en la muestra, esto puede ser debido al crecimiento de los cristales provocado por un aumento en la velocidad de transferencia del agua desde la solución concentrada hacia la fase sólida (Delgado & Sun, 2001). En el punto P3 se observa el cambio ocurrido al aplicar el recocido a la temperatura de calentamiento, apreciando un aumento en el tamaño de los cristales formados inicialmente, esto puede ser debido a que el recocido permite el aumento del tamaño y una posible reorganización de la estructura cristalina formada inicialmente en el sistema (Hottot et al., 2007). Esta reorganización pudo darse debido a que durante este tiempo se llevan a cabo fenómenos de transferencia de masa y calor que permiten que el agua de la solución concentrada migre hacia los cristales de hielo, permitiendo el aumento del tamaño de los cristales.

De acuerdo al análisis de DFT realizado, se pudo evidenciar que en el tratamiento T1 no se presentan cambios significativos ($\alpha=0,05$) entre las imágenes obtenidas en los puntos P1 y P4, a pesar de exponer la muestra a un recocido a la misma temperatura de enfriamiento evaluada (-20°C por 1h). Sin embargo, el segundo y tercer tratamiento, si presentaron diferencia significativa ($\alpha=0,05$) en la DFT, entre los puntos P1 y P4, al aplicar los ciclos de enfriamiento-calentamiento y recocido a una temperatura cercana a la de congelación. Esto podría estar asociado a la influencia que ejerce la temperatura y el recocido sobre el movimiento de las moléculas de agua, logrando una redistribución y cambio en la morfología del cristal de hielo (Li & Sun, 2002).

La DFT obtenida al final de los tratamientos (P4, Figura 12), con valores de 2.1438 ± 0.0376 para T1, 2.1438 ± 0.0145 para T2 y 2.3933 ± 0.0180 para T3 presentaron diferencia significativa ($\alpha=0,05$) entre los datos, lo cual evidencia que los cristales de hielo formados se ven afectados por la temperatura de calentamiento y el tiempo recocido.

Los descriptores dimensionales calculados en P4 para los cristales se presentan en la Figura 13 indicando el área y el diámetro de Feret de cada tratamiento.

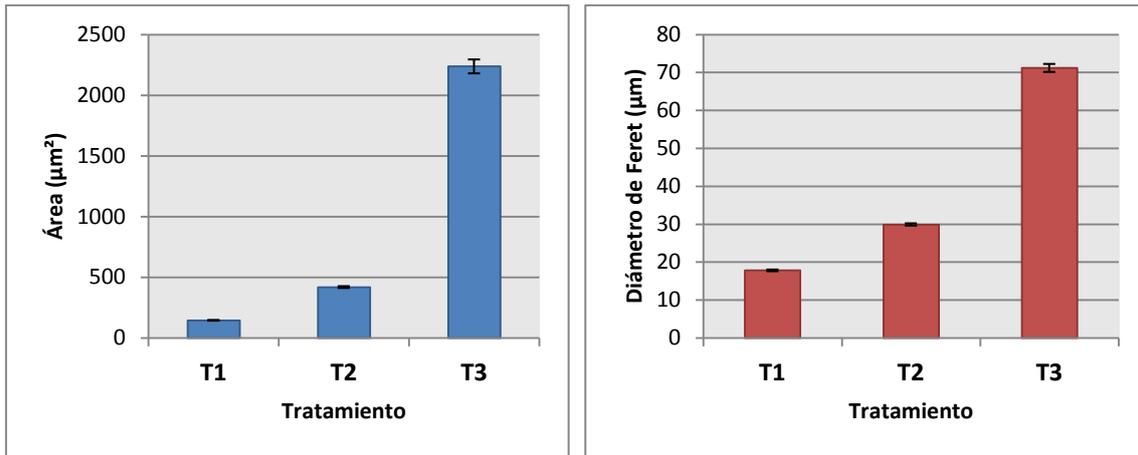


Figura 13. Descriptores dimensionales de los cristales obtenidos en los tratamientos

De acuerdo a los parámetros evaluados, se pudo evidenciar que la temperatura de calentamiento y el recocido afectan al tamaño del cristal (área y diámetro de Feret), obteniendo el mayor efecto para el tratamiento T3.

Estos resultados muestran que el efecto del recocido sobre los cristales de hielo es mayor sobre cambios en tamaño cuando se utilizan temperaturas cercanas a la temperatura de congelación. Por esto, se podría decir que los cristales requieren de un tiempo adecuado para crecer y eliminar solutos de la estructura cristalina y que es necesario darles movilidad a las moléculas de agua a través de temperaturas cercanas al punto de congelación.

7.2 PERFILES DE TEMPERATURA EN EL CRIOCONCENTRADOR EN BLOQUE

Los perfiles de temperatura obtenidos durante la evaluación de los ciclos de enfriamiento-calentamiento en crioconcentración en bloque se muestran en la Figura 14. Los perfiles fueron generados para observar el comportamiento térmico de la solución en el tiempo, mostrando el registro de los sensores en cada punto del bloque de hielo, donde el sensor 1 es el más cercano a la camisa externa del equipo.

Estos perfiles corresponden a los tratamientos sometidos al recocido o *annealing* de 0 y 12 h a temperaturas de calentamiento de -5 y -10°C.

Los gráficos muestran la congelación y subenfriamiento inicial de la muestra, hasta estabilización térmica, a la temperatura de enfriamiento T. Posteriormente, se muestra el periodo de transición de la muestra hasta alcanzar la temperatura de calentamiento T_C , para dar inicio al recocido o *annealing*. Finalmente, se muestra la etapa de subenfriamiento hasta llegar a la temperatura T de la muestra y de esta manera comenzar con la recuperación las fracciones de descongelación a la temperatura de recuperación T_H .

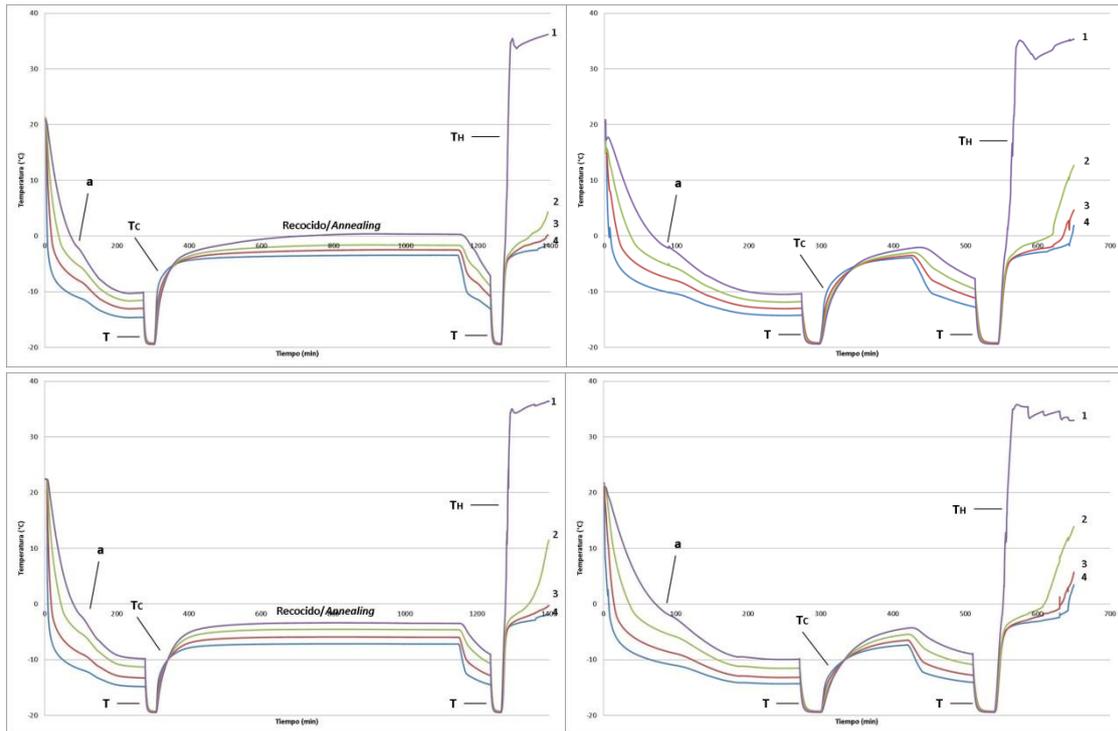


Figura 14. Perfiles de temperatura de los tratamientos

En los perfiles de temperatura se observa el subenfriamiento inicial en la muestra hasta llegar al punto **a**, este intervalo muestra una inflexión que puede estar relacionada con el cambio de fase de la solución, seguido por la congelación de toda la muestra, hasta lograr la estabilidad térmica de la muestra (T). Este comportamiento en el perfil de temperatura puede observarse en estudios como los de Nakagawa et al. 2010 y Moreno et al. 2014.

7.3 EFECTO DE LA APLICACIÓN DE CICLOS ENFRIAMIENTO-CALENTAMIENTO Y DE TIEMPOS DE RECOCIDO SOBRE LA EFICIENCIA DE RECUPERACIÓN DEL SOLUTO.

Los resultados de los ensayos para determinar el efecto de los ciclos de enfriamiento-calentamiento y tiempos de recocido sobre la recuperación de soluto en crioconcentración en bloque se muestran a continuación.

En la Figura 15 (A) se muestra el comportamiento del índice de concentración (IC) respecto a la fracción de descongelación (f), la cual representa la capacidad que tuvo la fracción recuperada en concentrarse con respecto a la concentración inicial. En la Figura 15 (B) se muestra el comportamiento del Rendimiento de recuperación de soluto (Y) respecto a la fracción de descongelación (f) que representa la cantidad de solutos recuperados, por tanto, entre más alejada esta la curva de la diagonal habrá mayor recuperación.

(A).

(B).

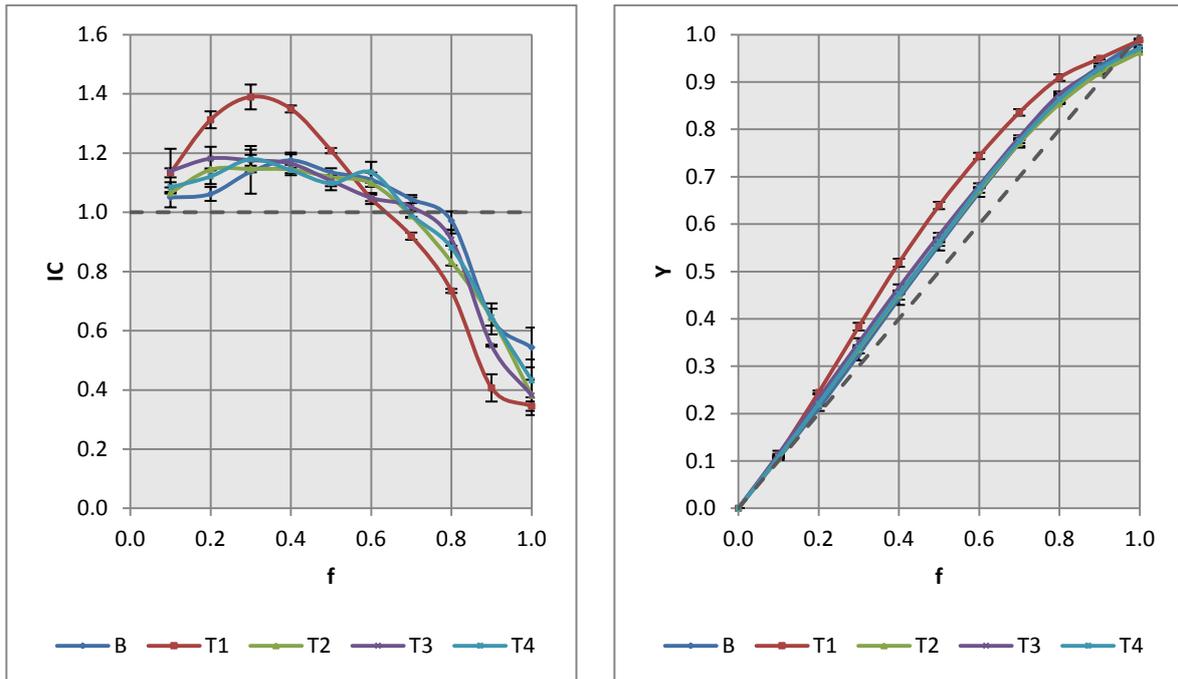


Figura 15. Efecto en la recuperación de solutos e índice de concentración de los tratamientos.

De la Figura 15 (A), se observa que el IC respecto a f , para todos los tratamientos, tiene un comportamiento acorde con lo reportado en la literatura (Moreno et al. 2014), obteniendo en las primeras fracciones IC mayores a 1, recuperando la mayor parte de soluto. Para el tratamiento T1 se alcanzó un $IC_{max}=1.4$ en $f=0.3$, lográndose concentrar hasta 1.4 veces más que la concentración inicial en la tercera fracción recuperada. El comportamiento del IC de los tratamientos T2, T3 y T4 es similar al blanco con $IC_{max}=1.2$, obtenidos en las cuatro primeras fracciones.

Adicionalmente, se muestra la línea horizontal en $IC=1$ que corresponde al punto en el cual debe detenerse la descongelación para evitar diluir la muestra y recuperar la mayor cantidad de sólidos posible (Moreno et al., 2014). Para el tratamiento T1 en $f=0.6$ se han recuperado el 74.4% de sólidos de café, lo cual muestra una mayor eficiencia en la recuperación con respecto a los demás tratamientos, presentando valores en $f=0.6$ de 67.2% para T2, 68.1% para T3, 67.6% para T4 y 66.7% para B.

Comparando los resultados del IC_{max} obtenidos respecto a ensayos similares de Moreno et al. 2014 (Criocentración en bloque de soluciones de café con concentración inicial de 15°Brix), se observa que el IC_{max} del tratamiento T1 es 17% mayor, lo que podría indicar que el ciclo de enfriamiento calentamiento y el recocado pueden tener un efecto positivo en el aumento de la eficiencia de recuperación en criocentración en bloque.

De igual forma se presentan los resultados del rendimiento de recuperación de solutos (Figura 15-B), los cuales concuerdan con el índice de concentración obtenidos. Se

observa que el tratamiento T1 presentó la mayor recuperación de solutos y los tratamientos T2, T3 y T4, presentan un comportamiento similar al blanco. Estos resultados pueden estar presentando debido a que durante el recocido o *annealing*, el aumento de la concentración en la solución, es inducido por la elución de solutos del cristal de hielo, posiblemente debido al cambio en la estructura de los cristales. (H.D Goff et al., 2003; Nakagawa, Maebashi, et al., 2010).

En la Figura 16 se presentan los resultados del área bajo la curva Y vs. f (Moreno et al., 2014) de los tratamientos T1, T2, T3, T4 y del ensayo blanco (B).

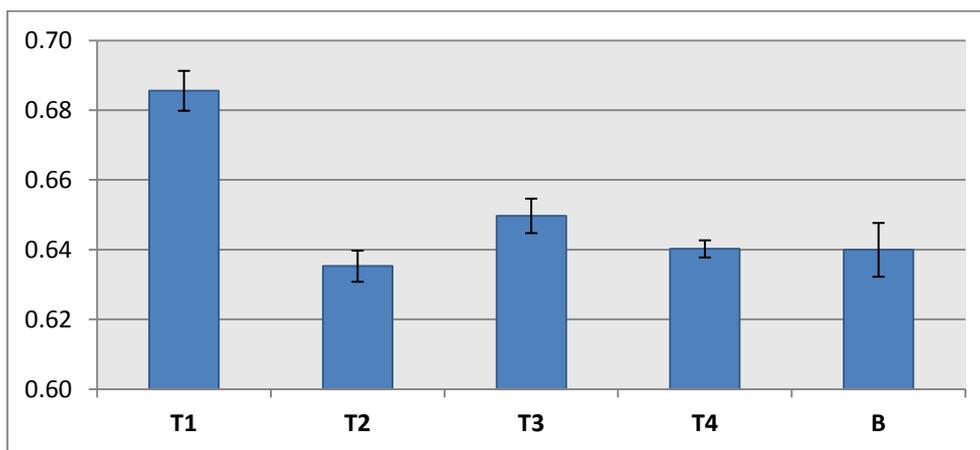


Figura 16. Valores promedio en orden respecto al área bajo la curva Y vs. F

Los resultados obtenidos muestran que el tratamiento T1 ($T_c = -5^\circ\text{C}$ y $t = 12$ h) presentó la mayor área bajo la curva, es decir, la mayor recuperación de solutos para crioconcentración en bloque, con valor de 0.6856; seguida por T3 ($T_c = -10^\circ\text{C}$ y $t = 12$ h) con valor de 0.6497. De esta forma, se evidencia que el recocido o *annealing* permitió una mayor recuperación que los tratamientos T2 y T4, los cuales no se sometieron al recocido, además de no presentar diferencia significativa ($\alpha = 0,05$) con respecto al blanco, con valores de 0.6353 para T2 y 0.6403 para T4.

Estos resultados pueden presentarse debido a los cambios ocurridos en la estructura de los cristales de hielo, los cuales al ser sometidos a las temperaturas de calentamiento y tiempos de recocido o *annealing* permitieron que se diera el fenómeno de la recrystalización (Guillermo Petzold & Aguilera, 2009).

Aunque se presentaron cambios significativos para el tratamiento T1, posiblemente, las condiciones de los tratamientos T2, T3 y T4 no fueron lo suficientemente extremas para poder cambiar la estructura de los cristales de hielo inicialmente formados, para conseguir estructuras que faciliten la elución de solutos en la matriz de hielo conformada (Kozá et al., 2006).

Para determinar la significancia de los efectos principales y los efectos combinados sobre el área bajo la curva Y vs. f , se realizó un análisis de regresión por superficie de respuesta, por medio de un modelo del área en función de la temperatura de calentamiento (T_c) y del tiempo de maduración o recocado (t), los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Significancia de los efectos principales de los tratamientos.

Parámetro	Estimador	Pr > t
Intercepto	0.630	> 0.0001
T_c	-0.001	0.4645
t	0.008	0.0002*
$T_c * T_c$	0	-
t * T_c	0.001	0.0021*
t * t	0	-

*Estadísticamente significativo, $\alpha < 0.05$

La regresión obtenida mostró un ajuste adecuado de los datos con $R^2=0.9031$, presentando un comportamiento lineal del área en función de la temperatura de calentamiento (T_c) y la combinación de las variables del tiempo de maduración o recocado (t) y la temperatura de calentamiento ($t * T_c$), que también puede ser llamado recocado:

$$A = a T_c + b t + c t T_c + d$$

Los resultados del análisis estadístico muestran que los efectos de la variable t y el efecto combinado de las variables $t * T_c$, presentan un efecto significativo sobre el área bajo la curva para los intervalos estudiados.

De acuerdo a estos resultados, se evidencia que el efecto del tiempo y el recocado o *annealing* tiene una correlación positiva con respecto al área bajo la curva obtenida, por lo tanto al aumentar el valor de estas variables se podrá aumentar la recuperación de solutos en crioconcentración. Esto puede ser debido a que el recocado o *annealing* es un proceso cinético en el cual la velocidad en la que se presente el fenómeno de la cristalización se verá afectado por el tiempo al cual sea sometida la solución (Kubota, 2011).

La temperatura de calentamiento no presenta un efecto significativo dentro de los niveles estudiados en comparación con el tiempo de recocado o *annealing*. Esto indica que el tiempo de recocado o *annealing* es más importante que la temperatura de calentamiento, esto puede deberse a que a las concentraciones estudiadas, la transferencia de masa en la fase líquida concentrada es el fenómeno controlante y los efectos inducidos por transferencia de calor no alcanzan a modificar el resultado de la

crioconcentración (Aider & de Halleux, 2008a, 2008b; Gao et al., 2009; Sánchez, Ruiz, Raventós, Auleda, & Hernández, 2010).

En conclusión, se puede evidenciar que al someter una muestra a recocido o *annealing* por un determinado tiempo y a una temperatura cercana a la de congelación, se podrá aumentar la eficiencia de recuperación de solutos en crioconcentración en bloque. Estos resultados, se pueden estar presentando debido a que se mejora la transferencia de masa tanto de agua hacia los cristales de hielo, como de la salida de solutos desde los cristales por elución, esto puede inducir un cambio en la conformación de la estructura cristalina inicialmente formada, permitiendo la reorganización del cristal de hielo, facilitando la recuperación de solutos contenidos en el bloque, mejorando la concentración y recuperación de sólidos en el proceso (Nakagawa et al., 2009; Sánchez et al., 2010).

7.4 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE CICLOS DE ENFRIAMIENTO-CALENTAMIENTO Y RECOCIDO SOBRE LA ESTRUCTURA DEL CRISTAL DE HIELO

De acuerdo a los resultados obtenidos en el numeral 7.3, se pudo evidenciar que al menos uno de los tratamientos afecta la eficiencia de recuperación en crioconcentración, por tanto, se ve la necesidad de evaluar la microestructura formada por los cristales de hielo en el bloque.

Para evaluar el efecto de la temperatura de calentamiento y el tiempo de maduración o recocido sobre la estructura del hielo de café en crioconcentración en bloque, fueron realizados los cortes transversales y longitudinales a las muestras representativas del bloque de hielo en cada uno de los tratamientos.

7.4.1 MICROESTRUCTURA OBSERVADA

En la Figura 17 se observa la estructura característica que presentan los cristales de hielo en cada uno de los cortes realizados. Los cristales de hielo aparecen en color blanco y la fase crioconcentrada de café en color café oscuro, en algunas ocasiones se podrá observar en los cristales de hielo la posible oclusión de los solutos.

Estos cristales presentan una estructura hexagonal debido a que las temperaturas y presiones de trabajo utilizadas generan este tipo de estructuras, estos hielos son llamados hielos Tipo 1 (Akyurt et al., 2002).

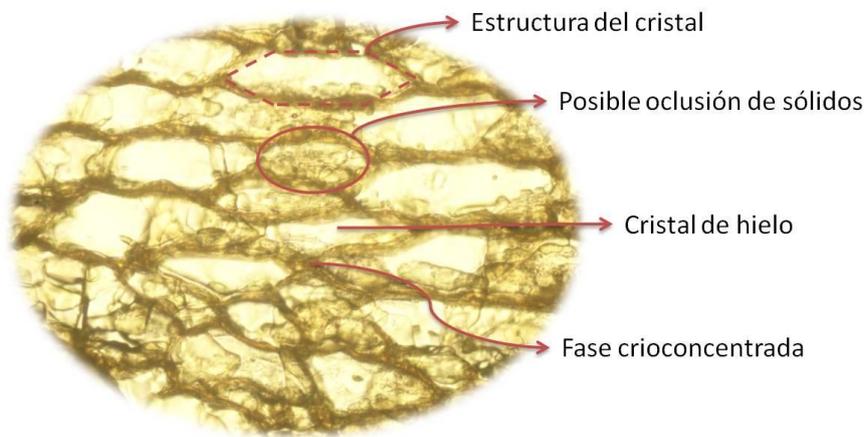


Figura 17. Descripción de los cristales de hielo

En la Figura 18 y Figura 19 se muestran los ejemplos de las imágenes obtenidas en los cortes longitudinales y trasversales realizados en el bloque formado para cada uno de los tratamientos, que fueron sometidos a los ciclos de enfriamiento-calentamiento para crioconcentración en bloque, mostrando los cambios ocurridos en los cortes realizados.

La Figura 18 muestra los ejemplos de los cristales de hielo formados al realizarse cortes longitudinales de cada tratamiento evaluado en crioconcentración en bloque.

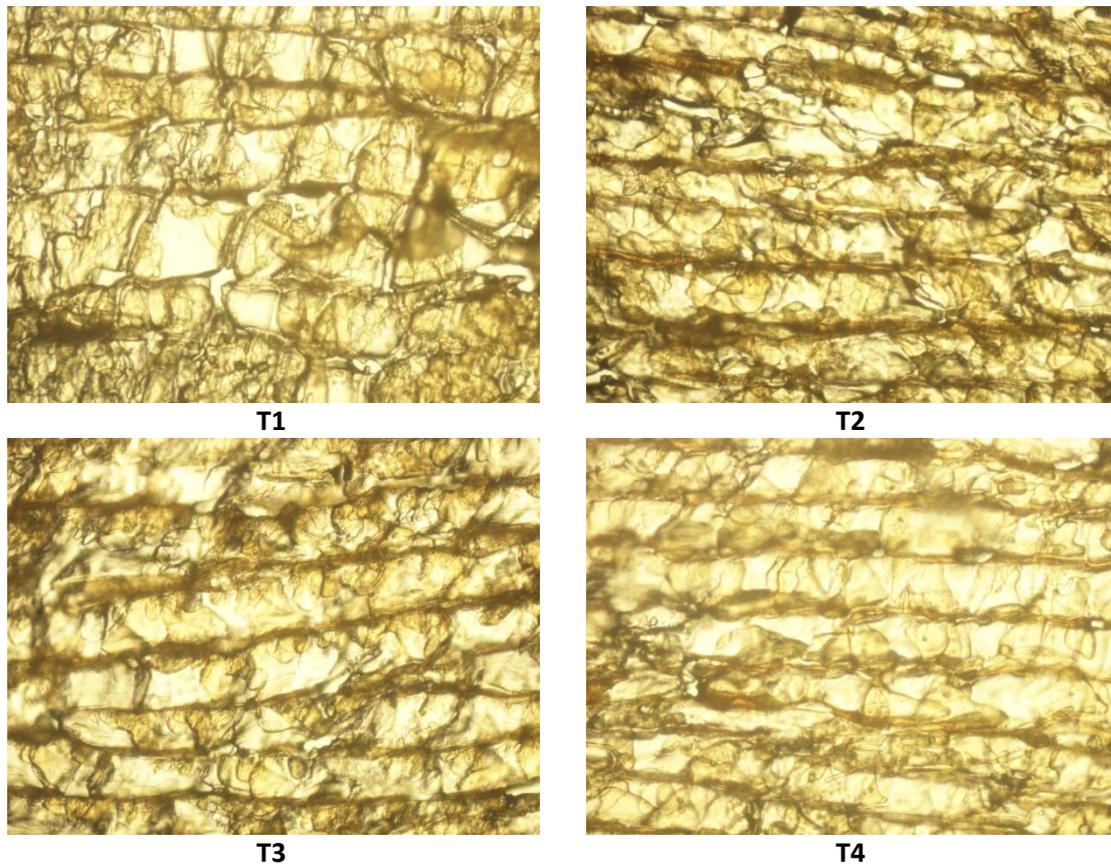


Figura 18. Imágenes de microscopía óptica (10X) de las estructuras de los cristales de hielo obtenidas en los cortes longitudinales del bloque para cada tratamiento.

En estas imágenes se observa que los cristales de hielo obtenidos presentan canales más grandes que el tamaño de la fotografía, lo cual genera que no se pueda determinar el tamaño específico para los cuatro tratamientos (cristales incompletos). Esto indica que el crecimiento de los cristales de hielo es continuo, a medida en que se aleja de la pared de enfriamiento, al ser paralelo a la dirección de la transferencia de calor (Farhangdoust, Zamanian, Yasaei, & Khorami, 2013).

El comportamiento que se observa en las estructuras de los cristales de hielos formados al realizarse cortes longitudinales es diferente al cambiar la orientación del corte, como se verá en la Figura 19.

En la Figura 19 se muestran los ejemplos de las imágenes adquiridas en cada una de las distancias evaluadas en los cortes transversales descritos en la Figura 10, los cuales fueron realizados en dirección perpendicular a la transferencia de calor.

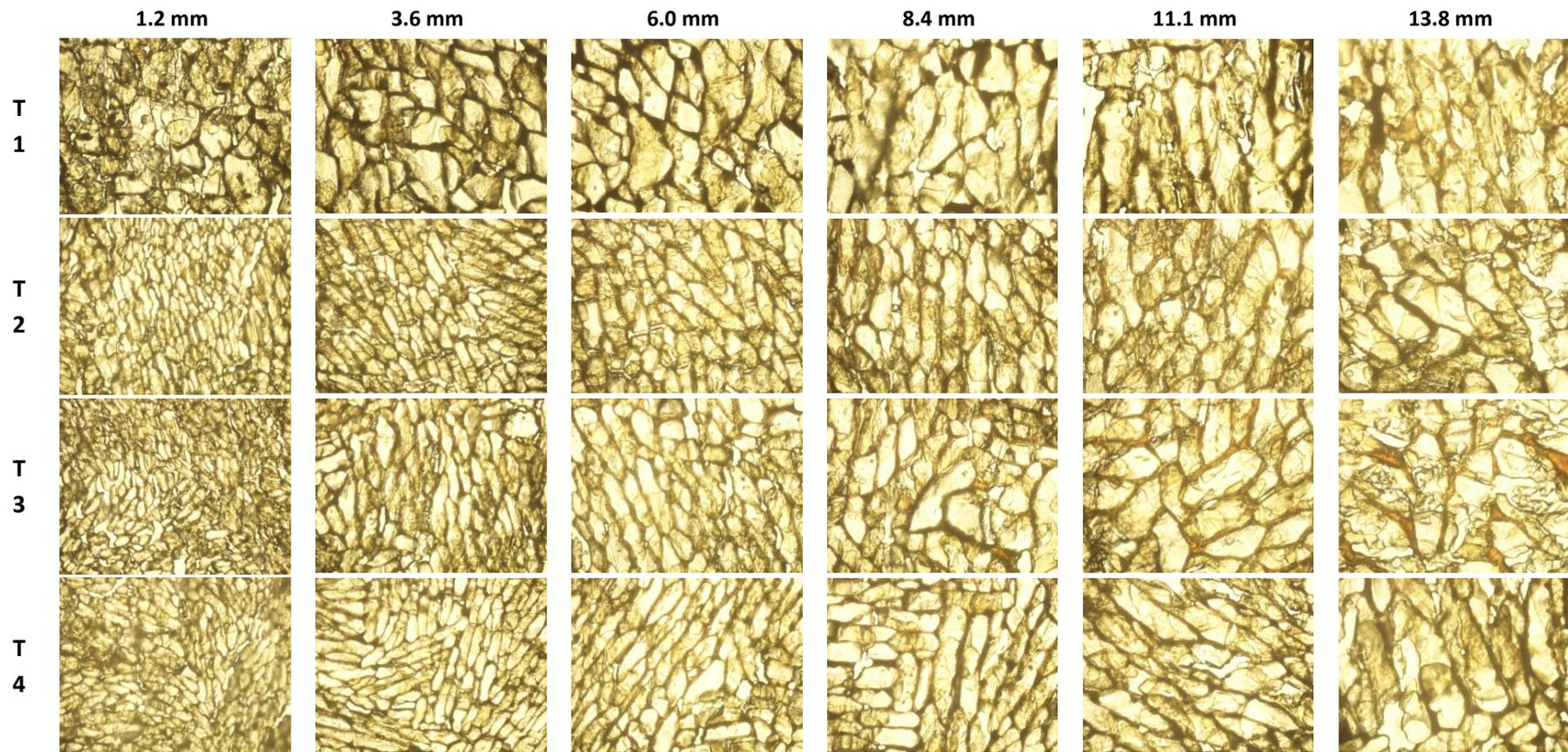


Figura 19. Imágenes de microscopía óptica (10X) de las estructuras de los cristales de hielo obtenidos en los cortes transversales del bloque para cada tratamiento.

Estas imágenes muestran, para cada uno de los tratamientos, un cambio en la estructura y un aumento en el tamaño de los cristales a medida que avanza el frente de congelación, posiblemente, debido a que la velocidad de transferencia de calor es mayor en el radio interno, permitiendo la nucleación inicial de los cristales (muchos cristales pequeños) para generar su crecimiento a medida que avanzaba el frente de congelación (Orrego Alzate, 2008).

Adicionalmente, para los tratamientos T1 y T3, los cuales fueron sometidos a recocido o *annealing*, se observa un mayor tamaño de los cristales formados, en comparación a los tratamientos T2 y T4. Esto puede ser debido a que el recocido permite el crecimiento del tamaño del cristal de hielo, por un aumento en la transferencia de masa y una posible reorganización de la estructura cristalina formada inicialmente en el sistema (Nakagawa, Hottot, Vessot, & Andrieu, 2006), presentando un posible engrosamiento, el cual produciría una mejor ruta para la elución de los solutos contenidos en la matriz sólida formada inicialmente (Nakagawa, Maebashi, et al., 2010).

7.4.2 DESCRIPTORES DIMENSIONALES Y DE FORMA

Las siguientes figuras muestran los descriptores dimensionales y de forma calculados a partir del procesamiento y análisis de las imágenes al realizar los cortes transversales (en dirección de la transferencia de calor) en el bloque de hielo, para cada uno de los tratamientos, en crioconcentración en bloque.

Estos resultados pueden dar una aproximación con respecto al tamaño y la estructura de los cristales de hielo obtenidos en cada grupo evaluado.

En la Figura 20 se observan los resultados obtenidos con respecto al área promedio de los cristales de hielos para cada tratamiento en cada distancia de los cortes realizados.

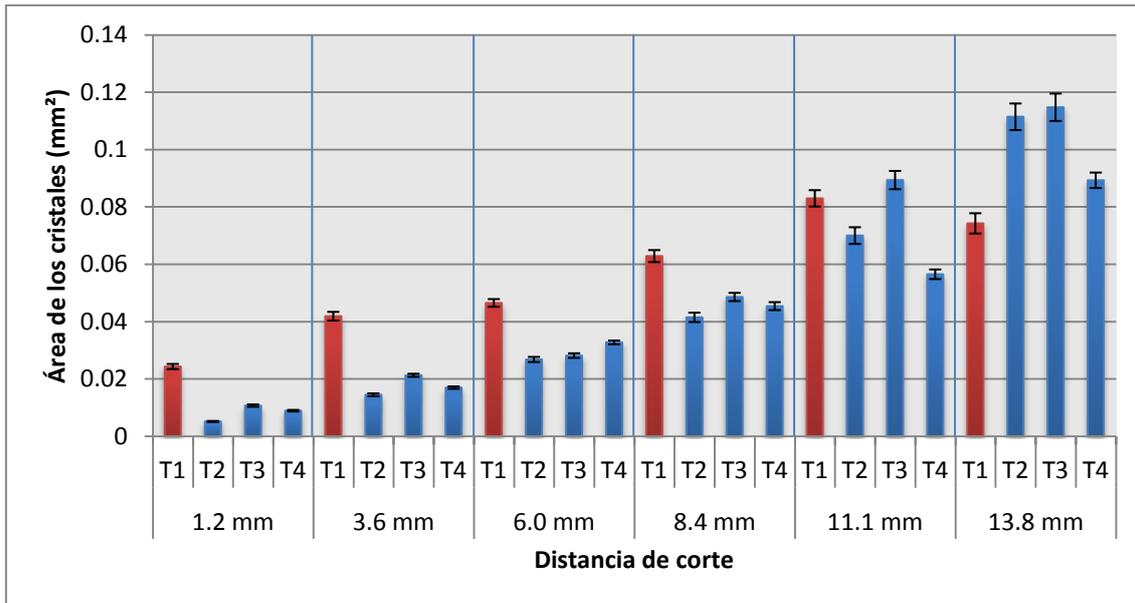


Figura 20. Área en mm² de los cristales de hielo obtenidos para cada tratamiento en los cortes realizados en el bloque.

De acuerdo al área promedio obtenida, se puede evidenciar un crecimiento en el tamaño del cristal a medida que avanza el frente de congelación en los cortes realizados en el bloque, obteniendo un área promedio de 0.0243 mm² a los 1.2 mm de distancia y de 0.0742 mm² a los 13.8 mm de distancia para el tratamiento T1, 0.0051 mm² y 0.1114 mm² para el tratamiento T2, 0.0107 mm² y 0.1147 mm² para el tratamiento T3 y de 0.0089 mm² y 0.0893 mm² para el tratamiento T4, respectivamente.

Adicionalmente, se observa que para cada corte realizado en el bloque, obtenido del crioconcentrador, el tratamiento T1 ($T_c = -5^\circ\text{C}$ y $t = 12$ h) presenta la mayor área promedio con respecto a los demás tratamientos, además, se observa que el tratamiento T3 ($T_c = -10^\circ\text{C}$ y $t = 12$ h) presenta un mayor tamaño del cristal en comparación con los tratamiento T2 y T4, los cuales no fueron sometidos a recocido o *annealing*.

Estos resultados muestran una posible relación con respecto a la recuperación de solutos mostrada en los resultados del numeral 7.2, estos resultados pueden estar indicando que al afectar el crecimiento del cristal por medio del recocido o *annealing*, el aumento del tamaño del cristal, afectará la recuperación de solutos en crioconcentración en bloque.

En la Figura 21 se muestran los resultados obtenidos con respecto al diámetro de Feret promedio de los cristales de hielos para cada tratamiento en cada distancia de los cortes realizados.

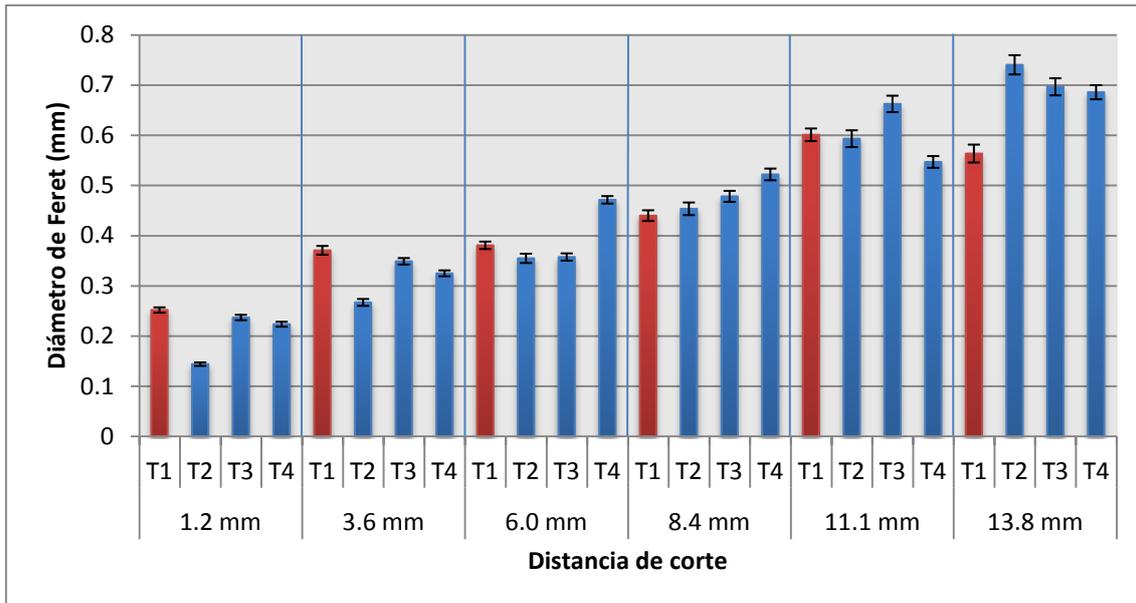


Figura 21. Diámetro de Feret en mm de los cristales de hielo obtenidos para cada tratamiento en los cortes realizados en el bloque.

Estos resultados muestran un aumento en el diámetro de Feret a medida que avanza el frente de congelación, obteniendo valores de 0.2519 mm a los 1.2 mm de distancia y de 0.5635 mm a los 13.8 mm de distancia para el tratamiento T1, 0.1441 mm y 0.7402 mm para el tratamiento T2, 0.2369 mm y 0.6964 mm para el tratamiento T3 y de 0.2236 mm y 0.6856 mm para el tratamiento T4, respectivamente.

Aunque existe un aumento en el tamaño del cristal con respecto a su diámetro, a medida que avanza el frente de congelación, no se evidencia una dependencia del diámetro de Feret con el área de los cristales de hielo y la recuperación de solutos para crioconcentración en bloque.

En la Figura 22 se muestran los resultados obtenidos con respecto a la circularidad promedio que presentan los cristales de hielos para cada tratamiento en cada distancia de los cortes realizados.

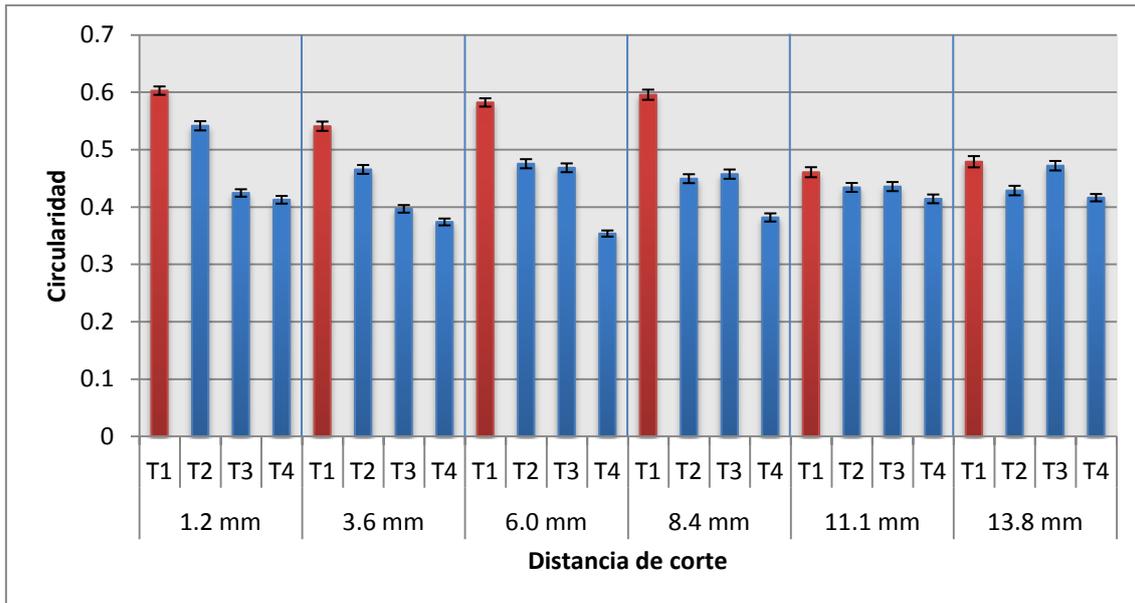


Figura 22. Circularidad de los cristales de hielo obtenidos para cada tratamiento en los cortes realizados en el bloque.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede observar que el tratamiento T1 presenta una mayor circularidad en cada uno de los cortes realizados, estos valores se encuentran en el rango de 0.46 - 0.60, lo cual puede estar indicando, al igual que los resultados obtenidos del área del cristal, una posible relación con respecto a la recuperación de solutos, es decir, que si el cristal de hielo presenta una forma cercana a la de una circunferencia, se podrá recuperar una mayor concentración de sólidos en crioconcentración en bloque. Esto puede ser debido a que esta geometría de los cristales favorece la creación de una estructura con menor tortuosidad, lo que favorecería la salida de la solución crioconcentrada de la matriz de hielo y en consecuencia la recuperación de solutos.

En la Figura 23 se muestran los resultados obtenidos con respecto a la relación de aspecto promedio obtenida en los cristales de hielos, para cada tratamiento, en cada distancia de los cortes realizados.

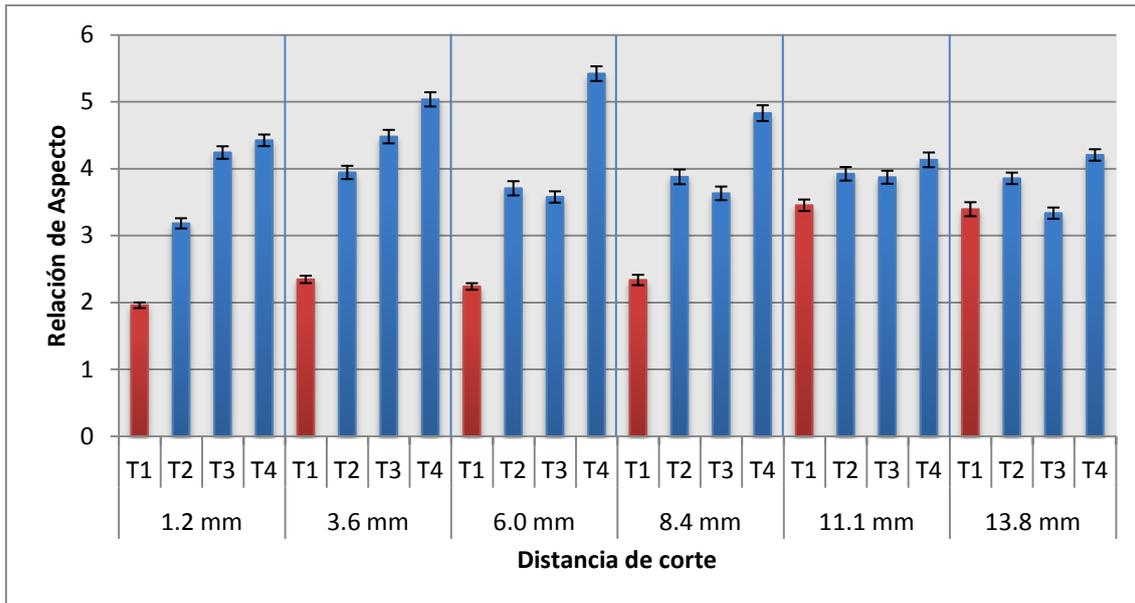


Figura 23. Relación de aspecto de los cristales de hielo obtenidos para cada tratamiento en los cortes realizados en el bloque.

Estos resultados muestran la dependencia con respecto a la circularidad, ya que a una mayor circularidad habrá una menor relación de aspecto, obteniendo para el tratamiento T1 ($T_c = -5^\circ\text{C}$ y $t = 12$ h) los valores más bajos en cada uno de los cortes realizados, presentando valores entre 1.96 - 3.45 y para el tratamiento T4 ($T_c = -10^\circ\text{C}$ y $t = 0$ h) la mayor relación de aspecto en cada corte, estos valores se encuentran en el rango de 4.13 - 5.42.

De acuerdo a los descriptores dimensionales y de forma obtenidos, se evidencia que a medida que avanza el frente de congelación en el bloque de hielo, el tamaño del cristal de hielo aumenta en los tratamientos con respecto al área y diámetro de Feret, aunque no se evidencia una dependencia del diámetro de Feret con el área de los cristales de hielo.

Adicionalmente, se evidencia que la aplicación de temperaturas de calentamiento y tiempos de recocido o *annealing*, afectan a la morfología del cristal de hielo obtenido, ya que se presenta un aumento en la circularidad y por tanto la disminución en la relación de aspecto.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la evaluación de la recuperación de solutos y los resultados en la evaluación de la estructura cristalina formada en el bloque de hielo, se evidencia que al someter una solución acuosa de café a los ciclos de enfriamiento-calentamiento en crioconcentración en bloque, se podrá modificar la estructura de los cristales de hielo formados, aumentando en su área y circularidad, obteniendo, de esta manera, una mayor recuperación del soluto.

Teniendo en cuenta el comportamiento que presentó la estructura cristalina en los cortes transversales y longitudinales realizados al bloque, para los tratamientos evaluados en crioconcentración en bloque. Se construyó un modelo en base a los descriptores dimensionales y de forma, calculados para el diámetro de Feret y Relación de aspecto, planteando que el cristal de hielo crece de la forma como se muestra en la Figura 24.

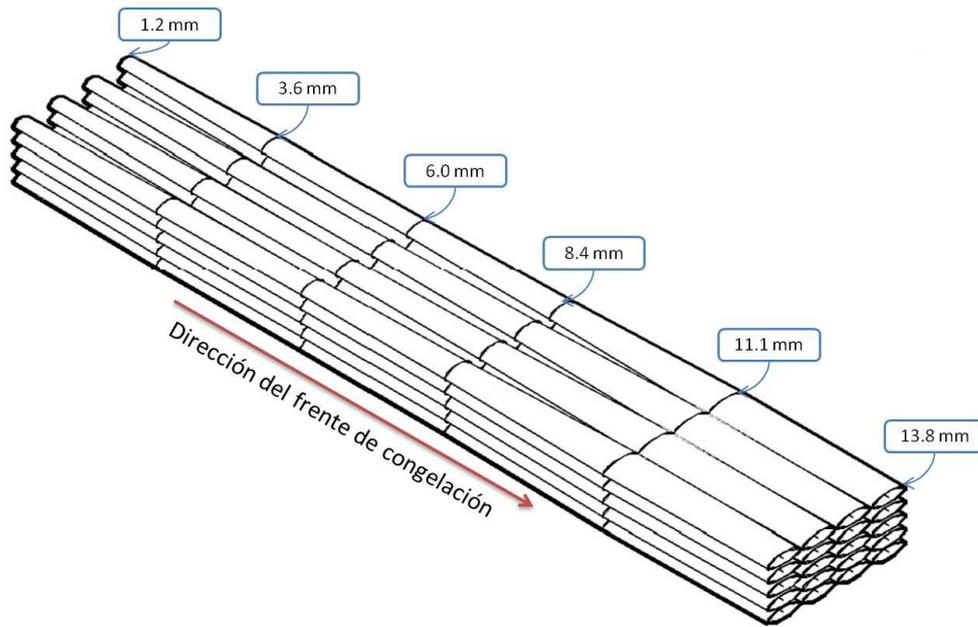


Figura 24. Representación de la posible conformación del cristal de hielo obtenido en el crioconcentrador en bloque.

El cristal de hielo, al crecer perpendicular al frente de congelación, presentará un crecimiento de menor tamaño al estar más cerca del frente de congelación, el cual irá creciendo a medida que se dé la transferencia de calor del radio interno hacia el externo del crioconcentrador. De igual forma, a medida que el frente de congelación avance se presentará el crecimiento continuo del cristal de hielo, al estar perpendicular a la transferencia de calor.

En la Figura 25 se observa la representación de los cristales de hielo para los tratamientos T1 ($T_c = -5^\circ\text{C}$ y $t = 12$ h) y T4 ($T_c = -10^\circ\text{C}$ y $t = 0$ h), obtenidos al realizar un corte transversal a 3.6 mm del bloque, calculado a partir del diámetro de Feret y la relación de aspecto promedio de los cristales. Estos muestran el cambio en la morfometría ocurridos al someter la estructura cristalina a sus respectivas temperaturas de calentamiento y tiempos de recocido o *annealing*.

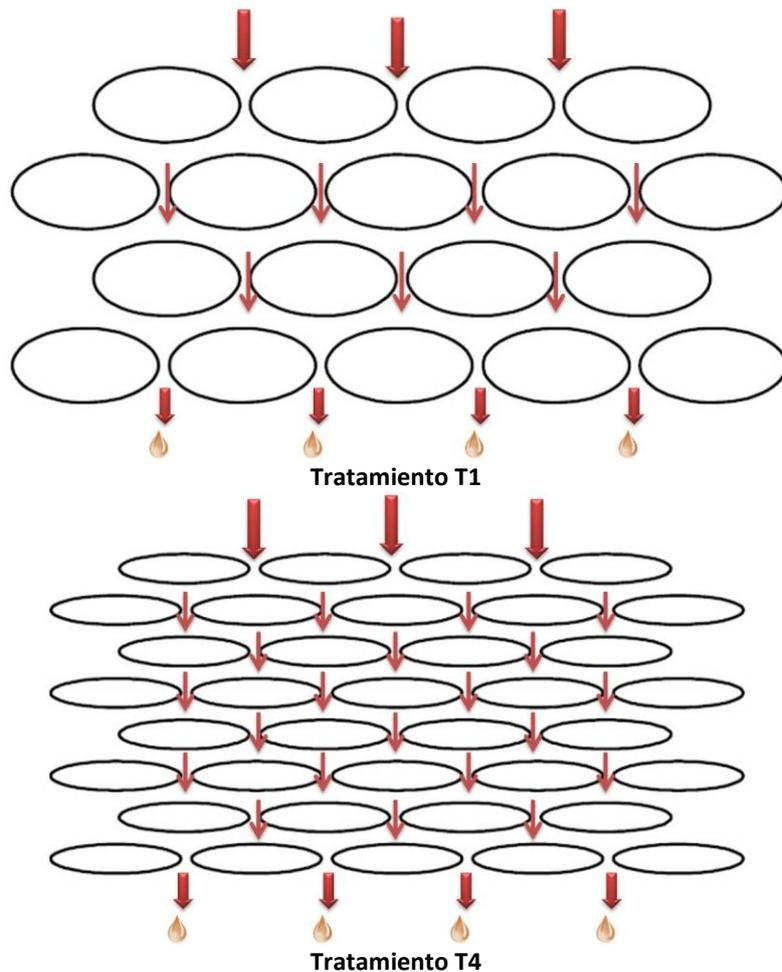


Figura 25. Representación del cristal de hielo para un corte transversal de los tratamientos T1 y T4.

De acuerdo a los cambios ocurridos en la estructura cristalina, se puede observar que la morfología de los cristales de hielo cambia en su tamaño y circularidad al ser sometida a $T_c = -5^\circ\text{C}$ y $t = 12$ h, el cual, a su vez, presentó un aumento del 17% en la recuperación de solutos. Esto puede ser debido al aumento del tamaño y la circularidad de los cristales, facilitando la elución de solutos desde los cristales y formando, posiblemente, caminos menos tortuosos (Figura 25), que permiten que el líquido concentrado en la fase de separación, tenga una mayor concentración.

7.4.3 EFECTO DEL TIEMPO SOBRE LOS CAMBIOS EN LA ESTRUCTURA DEL HIELO FORMADO EN EL BLOQUE

Teniendo en cuenta que el tratamiento T1, muestra los valores más representativos en los descriptores de dimensión y de forma, además de presentar una mejor eficiencia en la recuperación en crioconcentración al aplicar los ciclos de enfriamiento-calentamiento. Fue evaluado cada cambio realizado en el tratamiento T1 a 6.00 mm de distancia en el bloque de hielo obtenido en el crioconcentración, observando los cambios ocurridos durante el tiempo del proceso, como lo muestra en la Figura 26.

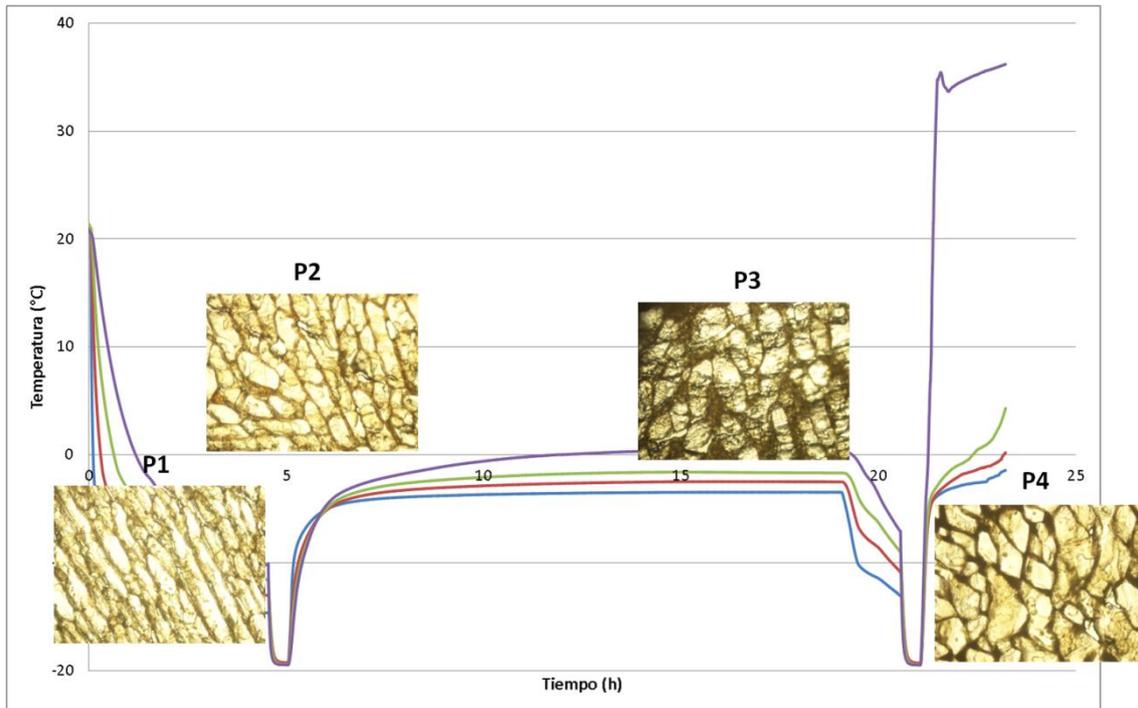


Figura 26. Perfil de temperatura y puntos evaluados en el tratamiento T1 a 6.00mm de distancia en el bloque de hielo en crioconcentración a 10X.

De la Figura 26, se observa que en el punto P1 se forman pequeños cristales de hielo de forma alargada e irregular, lo cual puede deberse a la velocidad en la que se dio la congelación de la solución (Orrego Alzate, 2008). En el punto P2 se presenta el primer cambio en la morfología del cristal al aumentar la temperatura en el bloque hasta -5°C , observándose un cambio en la forma y el tamaño del cristal; esto puede ser debido a que el aumento en la temperatura permitió que los cristales de hielo tuvieran una mayor movilidad para cambiar su distribución (H.D. Goff, Caldwell, Stanley, & Maurice, 1993). En el punto P3 se puede observar el cambio ocurrido al aplicar el recocido o *annealing* de 12 h a -5°C , donde se observa la posible reorganización de los cristales, cambiando su forma y tamaño; esto puede estar presentándose debido a la maduración de *Ostwald*, la cual permite que durante el tiempo de recocido o *annealing*, se lleven a cabo fenómenos de transferencia de masa, por medio de la fusión de los de los pequeños cristales de hielo inicialmente formados, hacia los más grandes, permitiendo el aumento del tamaño de los cristales de hielo y la disminución en su cantidad (Guillermo Petzold & Aguilera, 2009). En el punto P4 se muestra la estructura final de los cristales al bajar la temperatura hasta -20°C después del recocido o *annealing*, presentándose un mayor tamaño y una posible reorganización de los cristales en comparación al primer punto (Hottot et al., 2007).

Los descriptores dimensionales y de forma obtenidos para cada punto evaluado en el tratamiento T1 a 6.00 mm de distancia en el bloque de hielo obtenido en el crioconcentración, se muestran en la Figura 27.

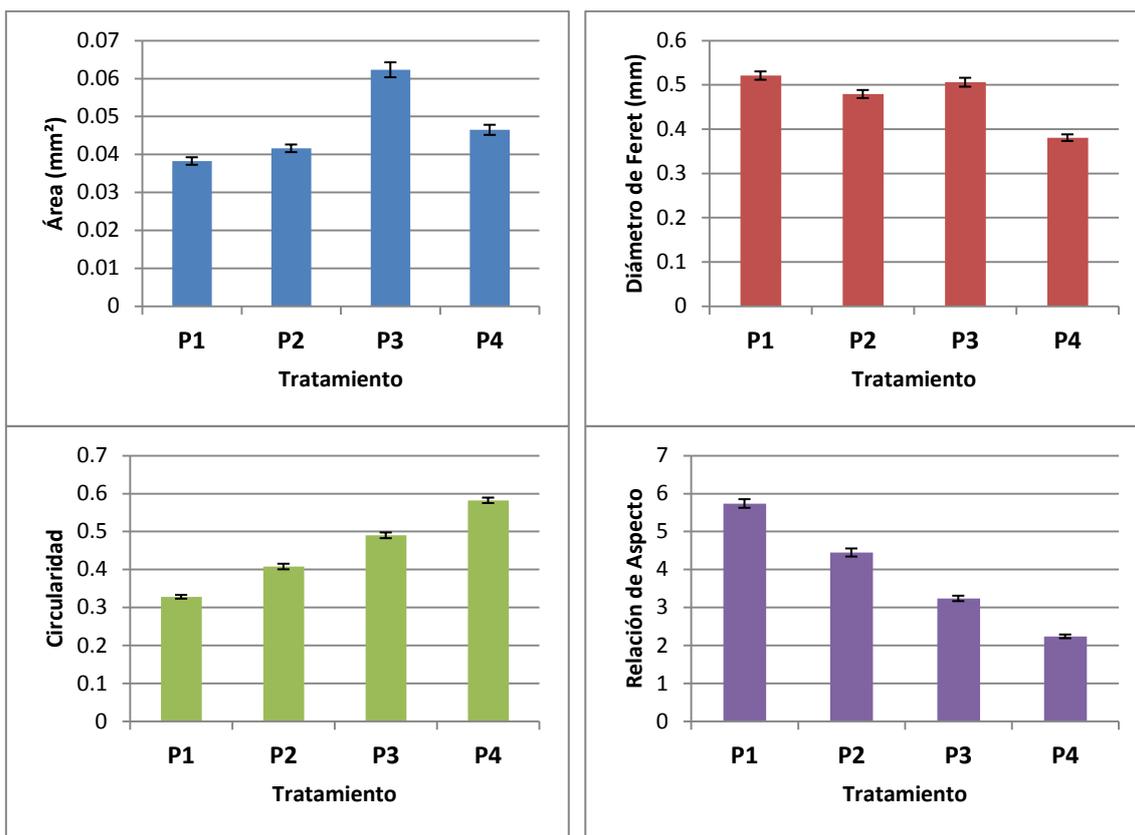


Figura 27. Descriptores dimensionales y de forma de los cristales obtenidos en los puntos del tratamiento T1 a 6.00mm de distancia.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede evidenciar que en el tiempo del tratamiento T1, se presentan cambios en la morfometría del cristal de hielo obtenido. El tamaño del cristal muestra un mayor valor de área en el punto P3, con valor de 0.062 mm² y diámetro de Feret de 0.506 mm, esto puede estar presentando debido a que el área puede afectarse por el descenso de la temperatura al finalizar los ciclos de enfriamiento-calentamiento.

Los descriptores de forma muestran un aumento en la circularidad y por tanto una disminución en la relación de aspecto a medida en que se avanza en el perfil de temperatura presentando los valores de la Tabla 7.

Tabla 7. Descriptores dimensionales y de forma obtenidos para cada punto evaluado en el tratamiento T1 a 6.00 mm

	P1	P2	P3	P4
Área (mm²)	0.038	0.042	0.062	0.046
Diámetro de Feret (mm)	0.521	0.479	0.506	0.381
Circularidad	0.328	0.408	0.490	0.582
Relación de Aspecto	5.738	4.447	3.238	2.238

8 CONCLUSIONES

Los efectos de la variable tiempo de maduración (t) y la combinación de la misma con la temperatura de calentamiento ($t \cdot T_c$), que también puede ser llamado recocado o *annealing*, presentan un efecto significativo sobre el área bajo la curva de recuperación de solutos para los intervalos estudiados en crioconcentración en bloque de soluciones acuosas de café, por lo tanto, al aumentar la temperatura y los tiempos en los cuales es sometida la muestra al recocado o *annealing*, se podrá aumentar la recuperación de solutos en crioconcentración.

La eficiencia en la recuperación de solutos, de soluciones de café, aumenta significativamente al ser sometida a una temperatura de calentamiento de -5°C y tiempo de recocado o *annealing* de 12 h.

La aplicación de temperaturas de calentamiento y tiempos de recocado o *annealing*, durante la crioconcentración en bloque de soluciones de café afectan la morfología del cristal. En general, se aumenta el tamaño y la circularidad de los cristales de hielo y se disminuye la relación de aspecto de los mismos, lo que disminuye la tortuosidad del recorrido que tiene que hacer la fracción concentrada a través de los canales de la matriz porosa de hielo en la fase de separación; esto se traduce en una mayor recuperación de solutos de hasta un 17% más de recuperación.

La aplicación de los ciclos de enfriamiento-calentamiento modifica la morfología de la estructura cristalina inicialmente formada en el bloque de hielo, los cuales aumentan su tamaño y su circularidad en cada punto del ciclo. La reorganización de los cristales sugiere una descongelación parcial de los cristales pequeños, que permite el crecimiento de cristales más grandes.

A medida que avanza el frente de congelación en el bloque de hielo, el tamaño del cristal de hielo aumenta, lo que se refleja en un aumento del área y del diámetro de Feret; sin embargo, no se evidencia una dependencia del diámetro de Feret con el área de los cristales de hielo.

El análisis de imágenes es una herramienta útil para la evaluación, cuantificación y análisis de los cambios morfométricos y estructurales de los cristales de hielo formados en crioconcentración en bloque.

El recocado o *annealing* puede ser una estrategia útil para aumentar la eficiencia de la concentración de solutos en crioconcentración en bloque.

9 RECOMENDACIONES

Teniendo en cuenta el alcance de la presente investigación y de acuerdo a los resultados obtenidos, se sugiere para investigaciones futuras:

Estudiar el comportamiento de los ciclos de enfriamiento-calentamiento en crioconcentración en bloque a diferentes concentraciones iniciales de café.

Estudiar la congelación en dirección paralela a la transferencia de calor.

Modelar matemáticamente el tamaño de los cristales en función de las condiciones de temperatura y recocido o *annealing*.

Estudiar el perfil de concentración en el bloque de hielo formado en el crioconcentrador.

10 BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera, J. M. (2005). Why food microstructure? *Journal of Food Engineering*, 67(1-2), 3–11. doi:10.1016/j.jfoodeng.2004.05.050
- Aider, M., & de Halleux, D. (2008a). Passive and microwave-assisted thawing in maple sap cryoconcentration technology. *Journal of Food Engineering*, 85(1), 65–72. doi:10.1016/j.jfoodeng.2007.07.025
- Aider, M., & de Halleux, D. (2008b). Production of concentrated cherry and apricot juices by cryoconcentration technology. *LWT - Food Science and Technology*, 41(10), 1768–1775. doi:10.1016/j.lwt.2008.02.008
- Aider, M., & de Halleux, D. (2009). Cryoconcentration technology in the bio-food industry: Principles and applications. *LWT - Food Science and Technology*, 42(3), 679–685. doi:10.1016/j.lwt.2008.08.013
- Aider, M., de Halleux, D., & Akbache, A. (2007). Whey cryoconcentration and impact on its composition. *Journal of Food Engineering*, 82(1), 92–102. doi:10.1016/j.jfoodeng.2007.01.025
- Aider, M., de Halleux, D., & Melnikova, I. (2007). Skim Milk Whey Cryoconcentration and Impact on the Composition of the Concentrated and Ice Fractions. *Food and Bioprocess Technology*, 2(1), 80–88. doi:10.1007/s11947-007-0023-0
- Aider, M., de Halleux, D., & Melnikova, I. (2008). Gravitational and microwave-assisted thawing during milk whey cryoconcentration. *Journal of Food Engineering*, 88(3), 373–380. doi:10.1016/j.jfoodeng.2008.02.024
- Aider, M., de Halleux, D., & Melnikova, I. (2009). Skim acidic milk whey cryoconcentration and assessment of its functional properties: Impact of processing conditions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(3), 334–341. doi:10.1016/j.ifset.2009.01.005
- Aider, M., & Ounis, W. Ben. (2012). Skim milk cryoconcentration as affected by the thawing mode: gravitational vs. microwave-assisted. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(1), 195–202. doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02826.x
- Akyurt, M., Zaki, G., & Habeebullah, B. (2002). Freezing phenomena in ice – water systems. *Energy Conversion and Management*, 43, 1773–1789.
- Auleda, J. M., Raventós, M., Sánchez, J., & Hernández, E. (2011). Estimation of the freezing point of concentrated fruit juices for application in freeze concentration. *Journal of Food Engineering*, 105(2), 289–294. doi:10.1016/j.jfoodeng.2011.02.035
- Belén, F., Benedetti, S., Sánchez, J., Hernández, E., Auleda, J. M., Prudêncio, E. S., ... Raventós, M. (2013). Behavior of functional compounds during freeze concentration of tofu whey. *Journal of Food Engineering*, 116(3), 681–688. doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.01.019

- Belén, F., Sánchez, J., Hernández, E., Auleda, J. M., & Raventós, M. (2012). One option for the management of wastewater from tofu production: Freeze concentration in a falling-film system. *Journal of Food Engineering*, 110(3), 364–373. doi:10.1016/j.jfoodeng.2011.12.036
- Burdo, O. G., Kovalenko, E. A., & Kharenko, D. A. (2008). Intensification of the processes of low-temperature separation of food solutions. *Time*, 28, 311–316. doi:10.1016/j.applthermaleng.2006.02.035
- Campos-Mendiola, R., Hernández-Sánchez, H., Chanona-Pérez, J. J., Alamilla-Beltrán, L., Jiménez-Aparicio, a., Fito, P., & Gutiérrez-López, G. F. (2007). Non-isotropic shrinkage and interfaces during convective drying of potato slabs within the frame of the systematic approach to food engineering systems (SAFES) methodology. *Journal of Food Engineering*, 83(2), 285–292. doi:10.1016/j.jfoodeng.2007.02.027
- Chabarov, A., & Aider, M. (2013). Mathematical modeling and experimental validation of the mass transfer during unidirectional progressive cryoconcentration of skim milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1–9. doi:10.1016/j.ifset.2013.08.001
- Chirife, J., & Buera, M. P. F. (1997). A Simple Model for Predicting the Viscosity of Sugar and Oligosaccharide Solutions. *Science*, 8774(97).
- Delgado, A. E., & Sun, D. (2001). Heat and mass transfer models for predicting freezing processes - a review. *Journal of Food Engineering*, 47, 157–174.
- Domínguez, J. C. (2012). Colombia baja al sexto lugar de exportación de café. *EL TIEMPO*. Retrieved from <http://www.eltiempo.com/archivo/documento/CMS-12174750>
- Falguera, V., Aliguer, N., & Falguera, M. (2012). An integrated approach to current trends in food consumption: Moving toward functional and organic products? *Food Control*, 26(2), 274–281. doi:10.1016/j.foodcont.2012.01.051
- FAO, O. de las N. U. para la alimentación y A. (2010). Perfiles de países de la FAO, Colombia: Sector Agropecuario. Retrieved from <http://www.fao.org/countryprofiles/index.asp?lang=es&iso3=COL&subj=4>
- Farhangdoust, S., Zamanian, a., Yasaei, M., & Khorami, M. (2013). The effect of processing parameters and solid concentration on the mechanical and microstructural properties of freeze-casted macroporous hydroxyapatite scaffolds. *Materials Science and Engineering: C*, 33(1), 453–460. doi:10.1016/j.msec.2012.09.013
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (2010). Café de Colombia, un Café Sobresaliente. Retrieved from <http://www.cafedecolombia.com>
- Fujioka, R., Wang, L. P., Dodbiba, G., & Fujita, T. (2013). Application of progressive freeze-concentration for desalination. *Desalination*, 319, 33–37. doi:10.1016/j.desal.2013.04.005

- Gao, W., Habib, M., & Smith, D. W. (2009). Removal of organic contaminants and toxicity from industrial effluents using freezing processes. *Desalination*, 245(1-3), 108–119. doi:10.1016/j.desal.2008.06.013
- Gao, W., & Shao, Y. (2009). Freeze concentration for removal of pharmaceutically active compounds in water. *Desalination*, 249(1), 398–402. doi:10.1016/j.desal.2008.12.065
- GEA Messo PT. (2011). Freeze Concentration IceCon the next generation. Retrieved from <http://www.gea-messo-pt.com/geacrystal/cmsresources.nsf/filenames/freezeconcentration-sm-052011.pdf>
- GEA Niro. (n.d.). A freeze concentration that is second to none. Retrieved from <http://www.niro.com/freeze-concentration.html>
- GEA Niro. (2008). *Niro Process Technology B.V. Melt Crystalization & wash column separation. GEA Niro Process Technology.*
- Goff, H. ., Verespej, E., & Jermann, D. (2003). Glass transitions in frozen sucrose solutions are influenced by solute inclusions within ice crystals. *Thermochimica Acta*, 399(1-2), 43–55. doi:10.1016/S0040-6031(02)00399-4
- Goff, H. D., Caldwell, K. B., Stanley, D. W., & Maurice, T. J. (1993). The Influence of Polysaccharides on the Glass Transition in Frozen Sucrose Solutions and Ice Cream. *Journal of Dairy Science*, 76(5), 1268–1277. doi:10.3168/jds.S0022-0302(93)77456-1
- Hottot, A., Vessot, S., & Andrieu, J. (2007). Freeze drying of pharmaceuticals in vials: Influence of freezing protocol and sample configuration on ice morphology and freeze-dried cake texture. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 46(7), 666–674. doi:10.1016/j.cep.2006.09.003
- International Coffee Council. (2010). Development strategy for coffee, (September).
- International Coffee Council. (2013, August). Informe mensual sobre el mercado de café, 1–6. Retrieved from <http://dev.ico.org/documents/cy2012-13/cmr-0813-c.pdf>
- Iritani, E., Katagiri, N., Okada, K., Cao, D.-Q., & Kawasaki, K. (2013). Improvement of concentration performance in shaking type of freeze concentration. *Separation and Purification Technology*, 120, 445–451. doi:10.1016/j.seppur.2013.10.015
- Jansen, H. (2001). CONCENTRACIÓN POR CONGELACIÓN DE DISOLUCIONES ACUOSAS: UN NUEVO MÉTODO PARA OBTENER PRODUCTOS INNOVADORES DE ALTA CALIDAD. *Vigilancia Tecnológica En El Sector de Transformados Vegetales*, 10, 13 – 15.
- Kiani, H., & Sun, D.-W. (2011). Water crystallization and its importance to freezing of foods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 22(8), 407–426. doi:10.1016/j.tifs.2011.04.011

- Koza, M. M., Hansen, T., May, R. P., & Schober, H. (2006). Link between the diversity, heterogeneity and kinetic properties of amorphous ice structures. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 352(42-49), 4988–4993. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2006.02.162
- Kubota, N. (2011). Effects of cooling rate, annealing time and biological antifreeze concentration on thermal hysteresis reading. *Cryobiology*, 63(3), 198–209. doi:10.1016/j.cryobiol.2011.06.005
- Li, B., & Sun, D.-W. (2002). Effect of power ultrasound on freezing rate during immersion freezing of potatoes. *Journal of Food Engineering*, 55(3), 277–282. doi:10.1016/S0260-8774(02)00102-4
- Liesebach, J., Rades, T., & Lim, M. (2003). A new method for the determination of the unfrozen matrix concentration and the maximal freeze-concentration. *Thermochimica Acta*, 401, 159–168.
- Liu, L., Miyawaki, O., & Nakamura, K. (1997). Progressive Freeze-Concentration of Model Liquid Food. *Food Engineering*, 3(4), 348–352.
- Mendoza, R. E. E. (2012). *EVALUACIÓN DE CARACTERES MORFOLÓGICOS Y ESTRUCTURALES DEL GRANO DE ARROZ VARIEDAD MORELOS A-98 MEDIANTE ANÁLISIS FRACTAL DE IMÁGENES DIGITALES*. INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL.
- Miyawaki, O., Kato, S., & Watabe, K. (2012). Yield improvement in progressive freeze-concentration by partial melting of ice. *Journal of Food Engineering*, 108(3), 377–382. doi:10.1016/j.jfoodeng.2011.09.013
- Miyawaki, O., Liu, L., Shirai, Y., Sakashita, S., & Kagitani, K. (2005). Tubular ice system for scale-up of progressive freeze-concentration. *Journal of Food Engineering*, 69(1), 107–113. doi:10.1016/j.jfoodeng.2004.07.016
- Moreno, F. L., Raventós, M., Hernández, E., & Ruiz, Y. (2014). Block freeze-concentration of coffee extract: Effect of freezing and thawing stages on solute recovery and bioactive compounds. *Journal of Food Engineering*, 120, 158–166. doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.07.034
- Moreno, F. L., Robles, C. M., Sarmiento, Z., Ruiz, Y., & Pardo, J. M. (2013). Effect of separation and thawing mode on block freeze-concentration of coffee brews. *Food and Bioprocess Processing*, (February), 1–7. doi:10.1016/j.fbp.2013.02.007
- Mullin, J. W. (2001a). Crystal growth. In *Crystallization* (Fourth., pp. 216–288). Oxford.
- Mullin, J. W. (2001b). Nucleation. In *Crystallization* (Fourth., pp. 181–215). Oxford.
- Munson-McGee, S. H. (2014). D- and G-optimal experimental designs for the partition coefficient in freeze concentration. *Journal of Food Engineering*, 121, 80–86. doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.08.018

- Nakagawa, K., Hottot, A., Vessot, S., & Andrieu, J. (2006). Influence of controlled nucleation by ultrasounds on ice morphology of frozen formulations for pharmaceutical proteins freeze-drying. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 45(9), 783–791. doi:10.1016/j.cep.2006.03.007
- Nakagawa, K., Maebashi, S., & Maeda, K. (2009). Concentration of aqueous dye solution by freezing and thawing. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 87(5), 779–787. doi:10.1002/cjce.20213
- Nakagawa, K., Maebashi, S., & Maeda, K. (2010). Freeze-thawing as a path to concentrate aqueous solution. *Separation and Purification Technology*, 73(3), 403–408. doi:10.1016/j.seppur.2010.04.031
- Nakagawa, K., Nagahama, H., Maebashi, S., & Maeda, K. (2010). Usefulness of solute elution from frozen matrix for freeze-concentration technique. *Chemical Engineering Research and Design*, 88, 718–724. doi:10.1016/j.cherd.2009.11.007
- Nasello, O. B., Di Prinzio, C. L., & Guzmán, P. G. (2005). Temperature dependence of “pure” ice grain boundary mobility. *Acta Materialia*, 53(18), 4863–4869. doi:10.1016/j.actamat.2005.06.022
- Navarrete, N. M., Grau, A. M. A., Boix, A. C., & Maupoey, P. F. (1998). Transiciones de fase en alimentos. In U. P. de Valencia (Ed.), *Termodinámica y Cinética de Sistemas Alimento Entorno* (pp. 219–272). Valencia. Retrieved from http://books.google.com.co/books?id=bLQ_Lj6C4p8C&pg=PA112&lpg=PA112&dq=diagrama+de+fases+sacarosa&source=bl&ots=e2yVTShqWx&sig=tnHRKzRM7YvDp6KRZ7AQHFU1Sf0&hl=es&sa=X&ei=hpyFUJDpJYSi8gT7wIHQCw&ved=0CBwQ6AEwAA#v=onepage&q=diagrama+de+fases+sacarosa&f=false
- Okawa, S., Ito, T., & Saito, A. (2009). Effect of crystal orientation on freeze concentration of solutions. *International Journal of Refrigeration*, 32(2), 246–252. doi:10.1016/j.ijrefrig.2008.06.001
- Orrego Alzate, C. E. (2008). Congelación. In *Congelación y Liofilización de Alimentos* (pp. 1 – 43). Colombia: Orrego A.C.E.
- Otero, L., Sanz, P., Guignon, B., & Sanz, P. D. (2012). Pressure-shift nucleation: A potential tool for freeze concentration of fluid foods. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 13, 86–99. doi:10.1016/j.ifset.2011.11.003
- Pardo, J. M., Suess, F., & Niranjana, K. (2002). AN INVESTIGATION INTO THE RELATIONSHIP BETWEEN FREEZING RATE AND MEAN ICE CRYSTAL SIZE FOR COFFEE EXTRACTS, 80(September).
- Pedreschi, F., Mery, D., & Marique, T. (2008). Quality Evaluation and Control of Potato Chips and French Fries. In *Computer Vision Technology for Food Quality Evaluation*. Da-Wen Sun (pp. 545–566). Amsterdam.

- Perea-Flores, M. de J. (2011). *Efecto del secado por lecho fluidizado en la estructura de semillas de Ricinus communis y en la extracción de su aceite como fuente alternativa de biocombustibles*. Instituto Politécnico Nacional. Retrieved from <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/755/browse?value=Ricinus+communis&type=subject>
- Petzold, G., & Aguilera, J. M. (2009). Ice Morphology: Fundamentals and Technological Applications in Foods. *Food Biophysics*, 4(4), 378–396. doi:10.1007/s11483-009-9136-5
- Petzold, G., & Aguilera, J. M. (2013). Centrifugal freeze concentration. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. doi:10.1016/j.ifset.2013.05.010
- Petzold, G., Niranjana, K., & Aguilera, J. M. (2013). Vacuum-assisted freeze concentration of sucrose solutions. *Journal of Food Engineering*, 115(3), 357–361. doi:10.1016/j.jfoodeng.2012.10.048
- Quevedo, R., Carlos, L.-G., Aguilera, J. M., & Cadoche, L. (2002). Description of food surfaces and microstructural changes using fractal image texture analysis. *Journal of Food Engineering*, 53(4), 361–371. doi:10.1016/S0260-8774(01)00177-7
- Rahman, M. S. (2006). State diagram of foods: Its potential use in food processing and product stability. *Trends in Food Science & Technology*, 17(3), 129–141. doi:10.1016/j.tifs.2005.09.009
- Ratkje, S. K., & Flesland, O. (1995). Modelling the Freeze Concentration Process by Irreversible Thermodynamics. *Entropy*, 25, 553–567.
- Raventós, M., Hernández, E., Auleda, J., & Ibarz, A. (2006). Concentration of aqueous sugar solutions in a multi-plate cryoconcentrator. *Journal of Food Engineering*, 79(2), 577–585. doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.02.017
- Roodenrijs, J. P. (1987). Apparatus for separating a mixture into solid and liquid component. United States.
- Roos, Y. H. (1995a). Physical State and Molecular Mobility. In *Phase Transitions in Foods* (pp. 19–48). San Diego.
- Roos, Y. H. (1995b). Water and Phase Transitions. In *Phase Transitions in Foods* (pp. 73–107). San Diego.
- Sánchez, J., Hernández, E., Auleda, J. M., & Raventós, M. (2011). Freeze concentration of whey in a falling-film based pilot plant: Process and characterization. *Journal of Food Engineering*, 103(2), 147–155. doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.10.009
- Sánchez, J., Ruiz, Y., Auleda, J. M., Hernandez, E., & Raventós, M. (2009). Review. Freeze Concentration in the Fruit Juices Industry. *Food Science and Technology International*, 15(4), 303–315. doi:10.1177/1082013209344267

- Sánchez, J., Ruiz, Y., Raventós, M., Auleda, J. M., & Hernández, E. (2010). Progressive freeze concentration of orange juice in a pilot plant falling film. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(4), 644–651. doi:10.1016/j.ifset.2010.06.006
- Sanz Martínez, P. D., Guignon, B., & Otero García, L. M. (2011). MÉTODO DE CRIOCONCENTRACIÓN DE LÍQUIDOS. Retrieved from <http://hdl.handle.net/10261/40595>
- Sanz, P. D., & Otero, L. (2005). High-Pressure Freezing. In Da-Wen Sun (Ed.), *Emerging technologies for food processing* (pp. 627–652). London.
- Schoof, H., Bruns, L., Fischer, A., Heschel, I., & Rau, G. (2000). Dendritic ice morphology in unidirectionally solidified collagen suspensions. *Journal of Crystal Growth*, 209, 122–129.
- Sei, T., Gonda, T., & Arima, Y. (2002). Growth rate and morphology of ice crystals growing in a solution of trehalose and water. *Journal of Crystal Growth*, 240(1-2), 218–229. doi:10.1016/S0022-0248(02)00875-8
- Shibkov, A. A., Golovin, Y. I., Zheltov, M. A., Korolev, A. A., & Leonov, A. A. (2003). Morphology diagram of nonequilibrium patterns of ice crystals growing in supercooled water. *Physica A*, 319, 65–79. doi:10.1016/S0378-4371(02)01517-0
- Singh, S. K., Kolhe, P., Wang, W., & Nema, S. (2009). Large-Scale Freezing of Biologics A Practitioner's Review, Part One: Fundamental Aspects. *BioProcess International*, 7(9), 32–44.
- Thijssen H.A.C., Van Der Malen, B. (1981). IMPLICATIONS ON QUALITY OF ENERGY SAVINGS IN THE CONCENTRATION OF FOODS. *Resources and Conservation*, 7, 287–299.
- Wakisaka, M., Shirai, Y., & Sakashita, S. (2001). Ice crystallization in a pilot-scale freeze wastewater treatment system. *Change*, 40, 201–208.
- Williams, P. M., Ahmad, M., & Connolly, B. S. (2013). Freeze desalination: An assessment of an ice maker machine for desalting brines. *Desalination*, 308, 219–224. doi:10.1016/j.desal.2012.07.037

ANEXO 1

EVALUACIÓN ESTADÍSTICA DE LOS DATOS OBTENIDOS EN LA RECUPERACION DE SOLUTOS EN SAS

1. CÁLCULO DEL ÁREA BAJO LA CURVA

CÓDIGO SAS:

```
DM'LOG;CLEAR';  
DM 'OUT;CLEAR';
```

```
DATA CAFE; INPUT f Y;  
LABEL f='f'  
      Y= 'Y';  
DATALINES;
```

0.0	0.00
0.1	0.112
0.2	0.223
0.3	0.340
0.4	0.454
0.5	0.562
0.6	0.677
0.7	0.772
0.8	0.857
0.9	0.923
1.0	0.966

```
;
```

```
RUN;  
QUIT;
```

```
proc expand data=CAFE out=three method=spline ;  
  convert y=total/observed=(beginning,total) transformout=(sum) ;  
  id f;  
run;
```

```
proc sort data=three;  
  by descending total;  
run;
```

```
proc print data=three(obs=1) noobs label;  
  title 'Approximate Integral Using Spline method';  
  var total;  
  label total="Spline Area";  
run;
```

```
proc expand data=CAFE out=three method=join;  
  convert y=total/observed=(beginning,total) transformout=(sum) ;  
  id f;  
run;
```

```
proc sort data=three;  
  by descending total;  
run;
```

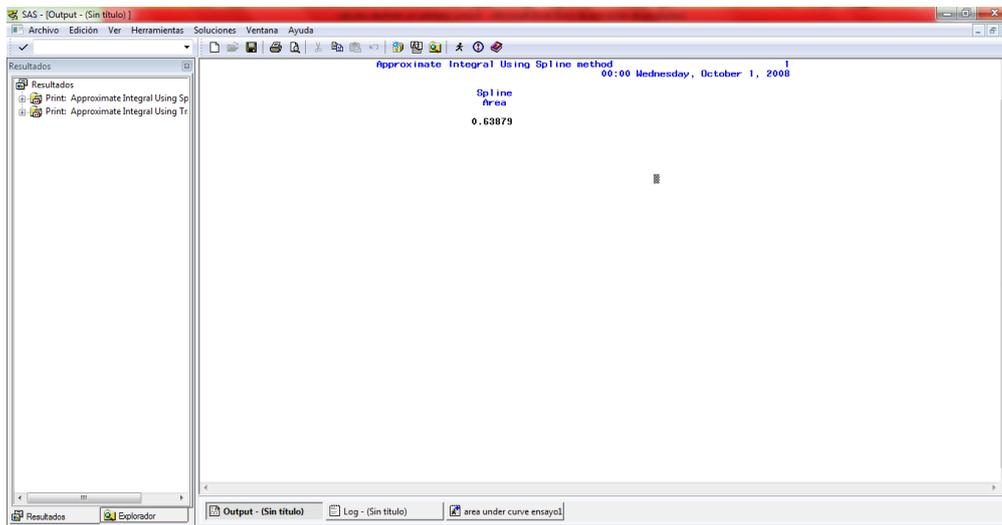
```
proc print data=three(obs=1) noobs label;
```

```

title 'Approximate Integral Using Trapezoid Rule';
var total;
label total="Trapezoid Area";
run;

```

RESULTADO QUE ARROJA EL PROGRAMA



2. ANÁLISIS DE REGRESIÓN POR SUPERFICIE DE RESPUESTA

CÓDIGO SAS

```

DM' LOG; CLEAR';
DM' OUT; CLEAR';
DATA CRIO; INPUT TA t A;
DATALINES;

```

-5	12	0.68943
-5	12	0.69301
-5	12	0.67435
-5	0	0.63015
-5	0	0.63159
-5	0	0.64421
-10	12	0.64732
-10	12	0.65925
-10	12	0.64266
-10	0	0.64506
-10	0	0.63695
-10	0	0.63879

```
;
```

```

RUN;
QUIT;

```

```

PROC RSREG DATA=CRIO;
MODEL A = TA t;
RUN;
QUIT;

```

RESULTADOS OBTENIDOS

Approximate Integral Using Trapezoid Rule

Procedimiento RSREG

Codificar coeficientes para las variables independientes

Factor	Sustraído de	Dividido por
TA	-7.500000	2.500000
t	6.000000	6.000000

Superficie de respuesta para la variable A

Media de respuesta	0.652731
Raíz MSE	0.007893
R-cuadrado	0.9031
Coefficiente de variación	1.2092

Regresión	Suma de cuadrados				
	DF	tipo I	R-cuadrado	F-Valor	Pr > F
Lineal	2	0.003394	0.6602	27.24	0.0003
Cuadrático	0	0	0.0000	.	.
Producto cruzado	1	0.001249	0.2429	20.04	0.0021
Modelo total	3	0.004643	0.9031	24.84	0.0002

Residual	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media
Error total	8	0.000498	0.000062299

Estimador del parámetro de Error los datos

Parámetro	DF	Estimador	estándar	Valor t	Pr > t	codificados
Intercept	1	0.630367	0.010190	61.86	<.0001	0.652731
TA	1	-0.000990	0.001289	-0.77	0.4645	0.007726
t	1	0.007590	0.001201	6.32	0.0002	0.014939
TA*TA	0	0	.	.	.	0
t*TA	1	0.000680	0.000152	4.48	0.0021	0.010201
t*t	0	0	.	.	.	0

Procedimiento RSREG

Factor	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TA	2	0.001965	0.000982	15.77	0.0017
t	2	0.003927	0.001963	31.52	0.0002

Procedimiento RSREG

Análisis canónico de superficie de respuesta basado en datos codificados

Factor	Valor crítico	
	Codificado	Descodificado
TA	-1.464505	-11.161261
t	-0.757373	1.455763

Valor predicho en un punto fijo 0.641416

Autovalores	Vectores propios	
	TA	t
0.005100	0.707107	0.707107
-0.005100	0.707107	-0.707107

Stationary point is a saddle point.

ANEXO 2

ANÁLISIS DE RESULTADOS PARA TRATAMIENTOS TERMICOS A NIVEL MICROSCOPIO

1. ANÁLISIS PARA DFT

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA DFT

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>
Entre grupos	0,3157428	2	0,1578714	196,950548	1,28722E-15
Dentro de los grupos	0,01923789	24	0,00080158		
Total	0,3349807	26			

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA DFT ENTRE T1 Y T2

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,18305284	1	0,18305284	225,64634	7,47819E-11	4,49399842
Dentro de los grupos	0,0129798	16	0,00081124			
Total	0,19603264	17				

2. ANÁLISIS DE LOS PUNTOS EVALUADOS EN LOS TRATAMIENTOS

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA T1

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,00552794	2	0,00276397	2,29440592	0,122512845	3,40282611
Dentro de los grupos	0,02891174	24	0,00120466			
Total	0,03443968	26				

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA T2

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,35758121	2	0,17879061	228,022608	2,43865E-16	3,40282611
Dentro de los grupos	0,0188182	24	0,00078409			
Total	0,37639941	26				

ANÁLISIS DE VARIANZA PARA T3

<i>Origen de las</i>	<i>Suma de</i>	<i>Grados de</i>	<i>Promedio de los</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico</i>
----------------------	----------------	------------------	------------------------	----------	---------------------	----------------------

<i>variaciones</i>	<i>cuadrados</i>	<i>libertad</i>	<i>cuadrados</i>			<i>para F</i>
Entre grupos	0,98279624	4	0,24569906	66,254069	4,15928E-17	2,60597495
Dentro de los grupos	0,14833749	40	0,00370844			
Total	1,13113373	44				

ANEXO 3

PARTICIPACIÓN EN EVENTOS

1. XII Congreso Interamericano de Microscopía, CIACEM 2013.



ANÁLISIS DEL CRECIMIENTO DE CRISTALES DE HIELO EN SOLUCIONES DE CAFÉ EN UN CRIOCONCENTRADOR EN BLOQUE CILÍNDRICO

C.M. Robles¹, F.L. Moreno^{1,2}, M.X. Quintanilla¹, Y. Ruiz^{*1}

¹ Ingeniería de Producción Agroindustrial. Facultad de Ingeniería, Universidad de La Sabana, km 7 vía autopista Norte, Chía, Colombia

² Doctorado en Biociencias. Universidad de La Sabana, km 7 vía autopista Norte, Chía, Colombia.

*Corresponding author: yuth.ruiz@unisabana.edu.co Tel. +571 8615555, Ext: 25217

INTRODUCCIÓN

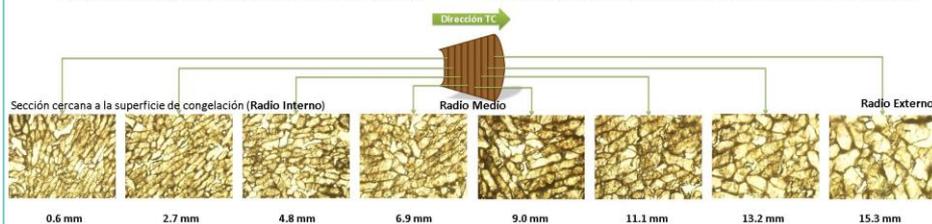
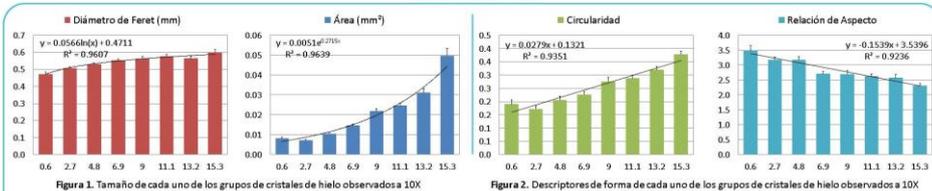
La crioconcentración en bloque es una nueva técnica de separación a bajas temperaturas, que permite obtener cristales de hielo y una solución concentrada; teniendo como objetivo lograr la separación del agua lo más pura posible. En crioconcentración el proceso de congelación presenta fenómenos de cristalización, donde una velocidad alta de transferencia de calor (TC) produce cristales de hielo desordenados y con mayor occlusión de solutos.

Un beneficio de esta técnica es la conservación de las propiedades funcionales y organolépticas de las soluciones, y su principal inconveniente, la pérdida de solutos en los cristales de hielo formados. Con el fin de aportar al entendimiento del comportamiento de la estructura del hielo durante la crioconcentración de soluciones de café, el objeto de la investigación fue analizar la estructura de los cristales de hielo generados en un crioconcentrador en bloque.

METODOLOGÍA



RESULTADOS



A medida que avanza el frente de congelación (Figura 3), el tamaño de los cristales aumentó (Figura 1), al igual que su circularidad y redondez, disminuyendo la relación de aspecto (Figura 2), esto puede ser debido a que la velocidad de TC es mayor en el radio interno, generando cristales de hielo mas pequeños y desordenados, de un área promedio inicial de 0,00823 mm², diámetro de Feret de 0.473, circularidad de 0.191, redondez de 0.343 y relación de aspecto de 3,478. Los cristales que crecieron en el radio externo, presentan un mayor tamaño y un cambio en su ordenación, de un área promedio final de 0.0498 mm², diámetro de Feret de 0.6 mm, circularidad de 0.378, redondez de 0.484 y relación de aspecto de 2,309, debido a que la TC es menor.

Cabe resaltar que se encontraron posibles relaciones logarítmicas, exponenciales y de primer orden entre la distancia de observación del corte de hielo y los diferentes parámetros morfométricos evaluados con R² (eres cuadrados) mayores a 0.9.

CONCLUSIÓN

Durante la crioconcentración en bloque de soluciones de café, en un crioconcentrador cilíndrico se presentan diferentes estructuras y tamaños de los cristales de hielo debido a la diferencia de la TC a través del recipiente, lo que puede tener un efecto en la occlusión de solutos.

REFERENCIAS

- Aguilera, J. M. (2003). Drying and Dried Products Under the Microscope. *Food Science and Technology International*, 9, 137-143.
- Alder, M., & Halleux, D. De. (2009). Cryoconcentration technology in the bio-food industry: Principles and applications. *IWT - Food Science and Technology*, 42(3), 679-685.
- Goff, H., Verespej, E., & Iermann, D. (2003). Glass transitions in frozen sucrose solutions are influenced by solute inclusions within ice crystals. *Thermochimica Acta*, 399(1-2), 43-55.
- Moreno, F. L., Robles, C. M., Sarmiento, Z., Ruiz, Y., & Pardo, J. M. (2013). Effect of separation and thawing mode on block freeze-concentration of coffee brews. *Food and Bioprocess Technology*, 1-7.
- Moreno, F. L., Raveiro, M., Hernández, E., & Ruiz, Y. (2014). Block freeze-concentration of coffee extract: Effect of freezing and thawing stages on solute recovery and bioactive compounds. *Journal of Food Engineering*, 170, 158-166.
- Pardo, J. M., Sues, F., & Naranjo, K. (2002). AN INVESTIGATION INTO THE RELATIONSHIP BETWEEN FREEZING RATE AND MEAN ICE CRYSTAL SIZE FOR COFFEE EXTRACTS. 80(September).
- Roos, Y. H. (1995). Water and Phase Transitions. In *Phase Transitions in Foods* (pp. 73-107). San Diego.

2. IX Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos, CIBIA 2014.



EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL RECOCIDO Y CICLOS DE CALENTAMIENTO-ENFRIAMIENTO SOBRE LA ESTRUCTURA DE HIELOS DE SOLUCIONES DE CAFÉ MEDIANTE ANÁLISIS DE IMÁGENES

C.M. Robles¹, F.L. Moreno^{1,2}, M.X. Quintanilla¹, Y. Ruiz^{*1}

¹ Ingeniería de Producción Agroindustrial, Facultad de Ingeniería, Universidad de La Sabana, km 7 vía autopista Norte, Chia, Colombia

² Doctorado en Biotecnología, Universidad de La Sabana, km 7 vía autopista Norte, Chia, Colombia.

*Corresponding author: ruth.ruiz@unisabana.edu.co Tel. +571 8615555, Ext: 25217

INTRODUCCIÓN

La congelación consiste en la cristalización y crecimiento de hielo a partir de un líquido subenfriado. Los cristales de hielo formados durante la congelación pueden variar su forma y tamaño dependiendo de diferentes variables como la velocidad de congelación, el nivel de subenfriamiento inicial de la solución, la naturaleza de la solución, la concentración de los solutos, principalmente.

El recocido es el proceso de mantener (o exponer) un cristal de hielo de una solución, a una temperatura por debajo del punto de fusión durante un periodo de tiempo. Este tratamiento es realizado después de la etapa de congelación, calentando la muestra por encima de la temperatura de transición vítrea, esto le confiere a la muestra una cierta homogeneización de los cristales de hielo, permitiendo la reorganización de la estructura cristalina formada inicialmente en el sistema.

Este tipo de cambio estructurales se han evaluado con diversas herramientas, en el caso de los alimentos, el análisis de imágenes permite cuantificar parámetros morfométricos de diferentes sistemas con el objetivo de caracterizarlos y evidenciar diferencias entre ellos.

METODOLOGÍA

21 µL de solución de café liofilizado
Cámara de refrigeración INSTEC HCS321I
Temperatura trabajo: -20°C

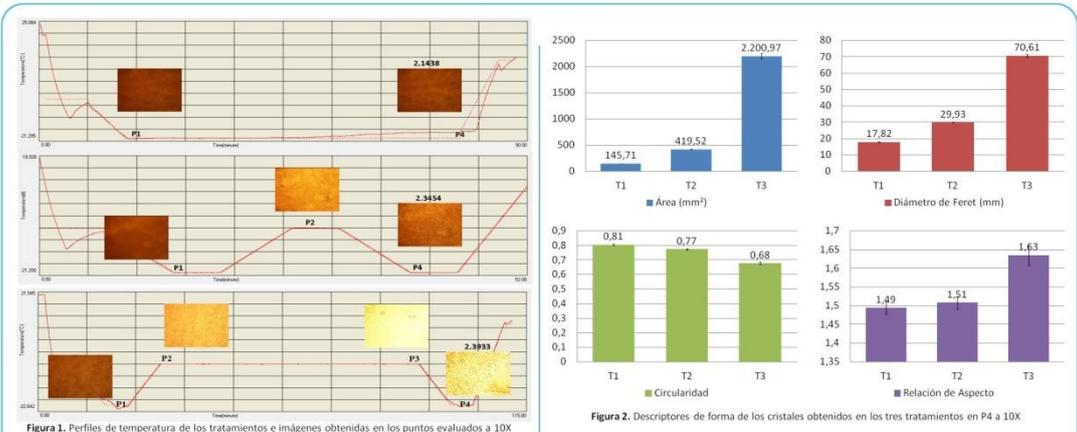
	T1	T2	T3
Temperatura enfriamiento (°C)	P1 -20	-20	-20
Temperatura calentamiento (°C)	P2 -	-5	-5
Tiempo recocido	P3 1 h	0 h	1 h
Temperatura enfriamiento (°C)	P4 -	-20	-20

Diseño Experimental

Captura de imágenes:
Microscopio Nikon Eclipse Ti
Campo claro y Objetivo 10X, 20 ms
1280x960 pixeles

1. Dimensión Fractal de Textura (DFT)
2. Descriptores de forma (Área, Diámetro de Feret, Circularidad, Relación de Aspecto)
Procesamiento: Software ImageJ

RESULTADOS



Para el primer tratamiento no existe una diferencia significativa ($\alpha=0,05$) en la textura de las imágenes a pesar de exponer la muestra a un recocido a la misma temperatura de enfriamiento evaluada. Sin embargo, el segundo y tercer tratamiento, se presentó una diferencia significativa ($\alpha=0,05$) en la DFT al aplicar los ciclos de enfriamiento-calentamiento y recocido a una temperatura mayor que la de congelación.

La DFT obtenida al final de los tratamientos evaluados (P4), con valores de 2.1438 ± 0.0376 para T1, 2.1438 ± 0.0145 para T2 y 2.3933 ± 0.0180 para T3 presentaron diferencia significativa ($\alpha=0,05$) entre los datos.

De acuerdo a los parámetros evaluados se pudo evidenciar que la temperatura de calentamiento y el recocido afectan al tamaño del cristal (área y diámetro de feret), presentándose un aumento dentro de los tratamientos evaluados, además de la disminución en su circularidad y por tanto el aumento en su relación de aspecto, presentando los valores de la tabla 2.

CONCLUSIÓN

La combinación de la temperatura de calentamiento y recocido afectan significativamente la DFT, evidenciándose un incremento en el tamaño del cristal obtenido y un cambio en la morfología del cristal aumentando su relación de aspecto y disminuyendo la redondez.

El análisis de imágenes es una herramienta útil para la evaluación, cuantificación y análisis de los cambios morfométricos y estructurales de los cristales de hielo.

REFERENCIAS

Aguilera, Isidre Miguel. 2005. "Why Food Microstructure?" *Journal of Food Engineering* 67 (1-2) (March): 3-11.

Falguera, Victor, Nuria Alguero, and Maria Falguera. 2012. "An Integrated Approach to Current Trends in Food Consumption: Moving Toward Functional and Organic Products?" *Food Control* 26 (2) (August): 274-281.

Hettler, Annelie, Salvatore Vescoli, and Milan Anisovich. 2007. "Freeze Drying of Pharmaceutical Crystals: Influence of Freezing Protocol and Sample Configuration on Ice Morphology and Freeze-Dried Cake Texture." *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 46 (7) (July): 666-674.

Kiani, Hossain, and Da-Wei Sun. 2011. "Water Crystallization and Its Importance to Freezing of Foods: A Review." *Trends in Food Science & Technology* 22 (8) (August): 407-426.

Kubota, Noriaki. 2011. "Effects of Cooling Rate, Annealing Time and Biological Antifreeze Concentration on Thermal Hysteresis Reading." *Cryobiology* 63 (3) (December): 198-209.

Li, Bing, and Da-Wei Sun. 2002. "Effect of Power Ultrasound on Freezing Rate During Immersion Freezing of Potatoes." *Journal of Food Engineering* 55 (3) (December): 277-282.

Nalagavva, Kiran, Sheela Maabadi, and Koji Maeda. 2009. "Concentration of Aqueous Dye Solution by Freezing and Thawing." *The Canadian Journal of Chemical Engineering* 87 (5) (October): 779-787.

Orrego Alzate, Carlos Eduardo. 2008. "Congelación." In *Congelación y Liofilización de Alimentos*, 1-43. Colombia: Orrego A.C.E.

Pastoldi, Guillermo, and Jose M. Aguilera. 2009. "Ice Morphology: Fundamentals and Technological Applications in Foods." *Food Biophysics* 4 (4) (October 22): 378-396.

Russ, John C. 2004. *Image Analysis of Food Microstructure*. First Boca Raton: CRC PRESS.

Singh, Satish K., Parag Kothle, Wei Wang, and Sandeep Nema. 2009. "Large-Scale Freezing of Biologicals: A Practitioner's Review, Part One: Fundamental Aspects." *BioProcess Technical*.