



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Aplicación de criogeles de
carboximetilcelulosa como crioprotectores
para carne de cerdo (*Longissimus thoracis*)
en congelación.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

NADIA GUADALUPE GARCÍA MUÑOZ

ASESORES

Dr. José Luis Arjona Román.

M en C. Jonathan Coria Hernández.

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Tesis y Examen Profesional**

Aplicación de criogeles de carboximetilcelulosa como crioprotectores para carne de cerdo (*Longissimus thoracis*) en congelación.

Que presenta la pasante: **Nadia Guadalupe García Muñoz**
Con número de cuenta: **306766941** para obtener el Título de la carrera: **Ingeniería en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 30 de Noviembre de 2016.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Rosalía Meléndez Pérez	
VOCAL	Dr. José Luis Arjona Román	
SECRETARIO	Dra. María Guadalupe Sosa Herrera	
1er. SUPLENTE	M. en C. Víctor Manuel Avalos Avila	
2do. SUPLENTE	I.A. Maritza Rocandio Pineda	

NOTA: los sindocales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga*

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó en la Unidad de Investigación Multidisciplinaria en el Laboratorio número 13 Ingeniería de Procesos de Separación por Transferencia de Masa.

Agradecimiento a DGAP- UNAM, por apoyo financiero a proyectos PAPIIT IT203314 e IT201417

A la Universidad Nacional Autónoma de México por mostrarme la universalidad del conocimiento humano, por ampliar mis horizontes y perspectivas.

A todos los profesores de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, porque de todos siempre aprendí algo.

A los Dr. José Luis Arjona Román, Dr. Rosalía Meléndez Pérez y Dr. Marta Elvia Rosas Mendoza, gracias por confiar en las cualidades humanas del desarrollo intelectual, por saber que todos los seres humanos tienen algo que aportar siempre y cuando estén dispuestos a esforzarse por realizarlo; por enfrentarme al gran desafío de superar los límites y guiarme con firmeza y por enseñarme a confiar en mí misma a través de mis propios logros y fracasos. La gran enseñanza que regalan es la de conocer al maestro de la construcción de nuestro propio camino.

A M.C. Jonathan Coria Hernández, gracias por que mostró en todo momento confianza en el proyecto y por alentarme a no darme por vencida.

DEDICATORIAS

ORACIÓN AL TAEKWONDO

*Señor haz que mi Taekwondo
Sea un instrumento de paz y no de guerra.
Que en el triunfo mi felicidad sea tanta,
Que no necesite humillar ni degradar a mi oponente.*

*En la derrota señor,
Dame la madurez suficiente
Para asimilarla con toda la cortesía
Y responsabilidad que el duro entrenamiento
Me ha forjado.*

*Pero ante todo señor,
No permitas que la incapacidad
Para vencer a mi adversario,
Sea justificada demeritando
Y mucho menos tratando de dañar
Su imagen y honra.*

*Permite señor
Que la cortesía y la integridad
La perseverancia, el autocontrol
Y un espíritu indomable
Sean mi bendición*

*Gracias señor
Por permitirme entrenar y vivir.*

“El sabio a medias, reconociendo la irrealidad relativa del universo, se imagina que puede desafiar sus leyes, ese no es más que un tonto vano y presuntuoso que se estrellará contra las rocas y será aplastado por los elementos, en razón de su locura. El verdadero sabio conociendo la naturaleza del universo, emplea la Ley contra las leyes: las superiores contra las inferiores y por medio de la alquimia transmuta lo que no es deseable, en lo valioso y de esta manera triunfa. La maestría no consiste, no en sueños anormales, visiones o imágenes fantasmagóricas, sino en el sabio empleo de las fuerzas superiores contra las inferiores vibrando en los más elevados. La transmutación (no la negación presuntuosa) es el arma del Maestro.” (El Kybalion)

A mis padres Gregorio García Desales y Leticia Muñoz Quezada. Se dice que se eligen a las personas que serán nuestros maestros de vida, apenas comienzo a entender por qué los elegí; a través de ustedes he podido aprender la complejidad de la naturaleza humana y al mismo tiempo la grandeza del amor. Papá, palabras que te definen: corazón e inteligencia; mamá: fortaleza y perseverancia; siempre conmigo, ambos apoyándome aún en contra mía, enseñándome el significado de la palabra esfuerzo, perseverancia y valentía, siempre más allá de todo, amor infinito es el que siempre existirá en nuestra familia. Gracias por hacer posible mi manifestación física, por nunca rendirse logrando lo que se proponen y por amar la vida. Los amo.

A mi hermano Uriel García Muñoz. De la misma manera que elegí a mis padres, también elegí tenerte de compañero de vida. Siempre con la mirada adelante, con ambiciones y sueños por realizar. Trabajo duro y esfuerzo te han mostrado las verdades de tú interior. Gracias por apoyarme, sin ti esto y mucho más no habría sido posible. Que la vida te siga mostrando todo la potencialidad que habita en ti, que te colme de grandes enseñanzas y que aquello que realmente deseas hacer se realice. Gracias por ser mi hermano.

“Vengo hacia a ti con las manos vacías, no tengo armas, pero si soy obligado a defenderme, a defender mis principios o mi honor, si es cuestión de vida o muerte, de derecho o de injusticia, entonces aquí están mis armas: las manos vacías.” (El libro de los cinco anillos)

A mi gran maestro Sergio Pablo Martínez Venegas (Sexto Dan). “Si todo fuera fácil cualquiera lo haría”, sabias palabras que me han acompañado en este camino y que me acompañaran el resto de mi vida. Gracias por enseñarme a través de la marcialidad que los límites solo existen en nuestra mente, a encontrar mi propio camino a través del esfuerzo y a vivir cada momento que regala el presente a través de la contemplación de las posibilidades y las cualidades humanas. Gracias por la noble labor de guiarnos a todos los que somos sus alumnos y por creer en mí.

A mi primer maestro Juan Carlos Cruz Altamirano (Quinto Dan). Gracias por acercarme a este hermoso arte marcial, por ser mi primer maestro y por esas grandes palabras que nunca olvidaré “no es una carrera de velocidad sino de resistencia”.

“Todo regresa a su fuente original, tiene que regresar a su fuente original. Si entiendes la vida entonces también entiendes la muerte. La vida es un olvido de lo que es la fuente original y con la muerte se recuerda nuevamente. La vida se aleja de la fuente original, la muerte regresa a casa. La muerte no es desagradable, la muerte es bella. Pero la muerte es bella solamente para aquellos que han vivido su vida sin obstáculos, sin inhibición, sin represión. La muerte es bella solamente para aquellos que han vivido su vida maravillosamente, aquellos quienes no han tenido miedo a vivir, que han tenido el coraje para vivir; que amaron, que danzaron, que celebraron” (Osho)

A Claudia Ivonne Berber Muñoz †. Nos sorprendió el final inesperado, grandes lecciones dejaste, el plan de juegos que hacías cuando éramos pequeñas se acabó por un momento. Cuando te vuelva a ver te diré que el mundo es un puñado de maravillas, que cada persona es un universo a escala y que la eternidad apenas alcanza para entender solo un poco.

A Natalia Guadalupe Orellana Vidal †. Gracias a ti y a toda tu maravillosa familia que nos cuidó durante los primeros años de vida, por ser ejemplo y por acompañarnos en grandes aventuras.

A Cuy†. Por ser esa pequeñita que enfrentó muchas batallas, que siempre me acompañó y en silencio entendió mi alma.

“Quien conoce el Camino encontrará la dirección correcta aún sin una senda bien marcada por las pisadas. Quien sabe hablar no se equivoca. Quien sabe contar no comete errores en la cuenta. El mejor tesoro no tiene cerradura, pero nadie puede abrirlo. Los mejores lazos son aquellos que no se mantienen con nada material, pero es imposible romperlos.” (Lao Tse)

A mis amigos de todos los años, de muchas etapas, de muchas vivencias

A María de Lourdes Ayala Domínguez. Gracias por ser una de las personas que ha formado parte de mis alegrías universitarias y de la vida cotidiana, por imprimir sonrisas a los libros y por pasearme en tu bicicleta de la vida. Que la vida te siga mostrando la grandeza de tu alma, esa que siempre surge cuando decides mirar en ti misma, sigue adelante rodando.

A Ingrid Rodríguez Franco. Muchos años, muchas palabras, muchas anécdotas. Gracias por ser un referente de persona, por enseñar a través de tus acciones el significado de vivir, por mirar siempre adelante con todo el orgullo de saber que eres capaz de reinventarte día con día. Grandes enseñanzas darás toda tú vida. Gracias por todos estos años.

A Isaura Isabel Régulo Vásquez. La complejidad de la vida siempre se reduce a la simpleza y perfección inherente a ella. Gracias por ser una compañera de reflexiones interminables, por buscar la belleza de la vida en todo lo que te rodea, por la fortaleza de avanzar aún con las dificultades de la mente. Sigue en el camino del conocimiento de ti misma, sigue desafiando el orden establecido con tu propia vida y sigue compartiendo toda esa riqueza de tu alma, porque la vida te proporcionará siempre los elementos para manifestar tú potencialidad.

A Brenda Ramos Salazar. Viajera del alma. Gracias por que siempre inspiras a romper el molde, a pensar y a mirar más allá de los límites establecidos, por siempre mantener el centro en cualquier situación y por lanzarte a cumplir aquello que decides realizar. Sigue colmando de maravillas a tus ojos, alimenta tu alma con cada soplo que esta vida te ofrece y sigue siendo maestra de este viaje llamado vida.

A Diana Laura Laguna Morales. Caminante del cielo. Gracias por compartirme tu entusiasmo por vivir, tú curiosidad por conocer los misterios de la vida me recordó lo esencial de la vida. Siempre tendrás la edad para hacer lo que decidas, que tú camino este lleno de enseñanzas, que siempre te lleve a reconocer toda la chispa que habita en ti y aprendas a ver siempre lo esencial en todo lo que existe. El río fluye desde las montañas disfrutando del camino, no va contra las piedras, las acompaña y ambos, piedras y río se transforman, siendo renovados en cada proceso, que tu vida siempre te dé la oportunidad de crecer y aportar a los demás.

A Ana Rosa Bravo Bravo. Gracias por acompañarme durante los momentos más difíciles de la universidad, por alegrarme con pláticas y por estar ahí simplemente.

Que cada día de tu vida este llena de milagros y la gracia de la existencia siga iluminando cada paso que des.

“Significado de las palgwe (ley o mandato) en taekwondo:

- Conócete a ti mismo y está en armonía con el universo.

-Se responsable por ti mismo y leal a tus compromisos.

-Conoce los límites en los cuales tu libertad se inmiscuye con la libertad de los demás

-Se puro en motivo y recto en acción.”

A los grandes amigos que el Taekwondo me ha regalado: Sandra, Luis, Narda, Cinthya, Doña Andrea y a todos mis compañeros de la escuela “Richard Chun Taekwondo Zumpango”. Perdemos la fe cuando los resultados no se dan en el plazo que esperábamos, abandonamos nuestros sueños, nos generamos patologías que provienen de la ansiedad, del estrés, ¿Para qué? .Te propongo tratar de recuperar la perseverancia, la espera, la aceptación. Si no consigues lo que anhelas, no desesperes, quizá solo estés echando raíces. Con ustedes aprendo siempre el valor de cada ser humano, gracias por ser grandes compañeros de un arte marcial que nos ha regalado hermosos momentos. Que la dignidad de seguir aprendiendo sea nuestro sello de vida siempre y que el espíritu indomable habite en nosotros siempre.

ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN	vi
INTRODUCCIÓN	vi
1. ANTECEDENTES	
1.1 Congelación	1
1.1.1 Nucleación	1
1.1.2 Crecimiento del cristal de hielo	2
1.1.3 Curva de congelación	3
1.2 Carne	4
1.2.1 Estructura del tejido muscular	5
1.2.2 Congelación de la carne	7
1.2.3 Daños en la carne por la congelación	8
1.2.4 Pérdidas por goteo	10
1.3 Crioprotectores	12
1.3.1 Los biopolímeros como crioprotectores en los alimentos	13
1.3.2 Uso de crioprotectores en carne	15
1.4 Carboximetilcelulosa (CMC)	16
1.4.1 Características y usos en la industria	17
1.5 Criogeles	19
1.5.1 Mecanismo de formación de los criogeles	21
1.6 Calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés)	23
1.6.1 Calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC, por sus siglas en inglés)	24 25
1.6.2 Principio de operación de un calorímetro	
1.6.3 Uso de la calorimetría diferencial de barrido en el estudio de criogeles e hidrogeles	28

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1 Justificación del proyecto	34
2.2 Objetivo general	35
2.3 Objetivo particular 1	35
2.4 Objetivo particular 2	35
2.5 Hipótesis de trabajo	35
2.6 Cuadro metodológico	36
2.7 Metodología experimental	37
2.7.1 Objetivo particular 1	37
2.7.1.1 Actividad 1. Preparación de criogeles	37
2.7.1.2 Actividad 2. Análisis térmico mediante MDSC	39
2.7.2 Objetivo particular 2	40
2.7.2.1 Actividad 1. Inyección de criogeles a carne de cerdo	40
2.7.2.2 Actividad 2. Congelación en cámara de convección	40
2.7.2.3 Actividad 3. Análisis de pérdidas por goteo mediante descongelación	41

3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1 Objetivo particular 1	42
3.1.1 Historias térmicas de congelación	42
3.1.2 Puntos iniciales de congelación	43
3.1.3 Calorimetría diferencial de barrido modulada	47
3.1.3.1 Flujo de calor total	47
3.1.3.2 Temperaturas iniciales, máximas, finales y entalpías de evaporación en flujo de calor total	50
3.1.3.3 Flujo de calor no reversible	52
3.1.3.4 Temperaturas iniciales, máximas, finales y entalpías de evaporación en flujo de calor no reversible	53
3.1.3.5 Cp reversible	55

	Página
3.2 Objetivo particular 2	59
3.2.1 Pérdidas por goteo	59
3.2.2 Análisis estadístico de las pérdidas por goteo	60
4. CONCLUSIONES	66
5. BIBLIOGRAFÍA	68

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1 Transiciones medidas por DSC	27
Tabla 2 Número de ciclos aplicados a la dispersión de CMC al 2%	37
Tabla 3 Puntos iniciales de congelación en cada ciclo	45
Tabla 4 Temperaturas iniciales, máximas, finales y entalpías de evaporación en flujo de calor total	50
Tabla 5 Temperaturas iniciales, máximas, finales y entalpías de evaporación en flujo de calor no reversible	54
Tabla 6 Exudado en descongelación de carne sin criogel y con criogel con diferentes ciclos	59
Tabla 7 Prueba de Tukey para las medias de pérdidas por goteo	63

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Cinética de congelación del agua pura (a) y de una solución acuosa (b)	3
Figura 2 Estructura elemental del músculo esquelético	5
Figura 3 Formación de cristales según la cinética de nucleación	9
Figura 4 Efecto de la velocidad de congelación en la calidad de la carne	11
Figura 5 Molécula de carboximetilcelulosa	16
Figura 6 Molécula de carboximetilcelulosa en solución	17
Figura 7 Proceso de formación de un criogel	22
Figura 8 Perfil de temperaturas en un MDSC	25
Figura 9 Celda de DSC	26
Figura 10 Colocación de soporte para las muestras de cmc dentro del Dewar Nalgene	38
Figura 11 Tubos Falcon de 50 mL con dispersiones de cmc al 2%	38
Figura 12 Historias térmicas de congelación de los diferentes ciclos aplicados a CMC al 2%	42
Figura 13 Gráfico de la derivada de la temperatura con respecto al tiempo, de la primera historia térmica de la congelación aplicada a CMC al 2%	44
Figura 14 Termograma de flujo de calor total de la dispersión (sin ciclos) y de los criogeles	48
Figura 15 Termograma de flujo de calor no reversible de la dispersión (sin ciclos) y de los criogeles	52
Figura 16 Cp reversible de dispersión (sin ciclos) y de los criogeles	55
Figura 17 Exudado de muestras de carne en descongelación	61

RESUMEN

En este trabajo se presentan los resultados referentes al estudio sobre la capacidad de la carboximetilcelulosa para formar criogeles y su aplicación en la congelación de carne. Para la obtención de los criogeles se aplicaron 3 ciclos de congelación- descongelación utilizando la congelación rápida por contacto indirecto con nitrógeno líquido de 20 °C a -50 °C y descongelación por inmersión en agua a temperatura constante de 30°C. La estructura de los criogeles después de los ciclos se analizó mediante calorimetría diferencial de barrido (MDSC), se aplicó un calentamiento de 10 °C a 150 °C, con la finalidad de caracterizar la estructura a partir del agua libre evaporada. Los eventos que se registran en las señales de flujo de calor total, reversible y no reversible muestran que los criogeles se comportan de diferente forma dependiendo de cómo está compuesta la estructura. La diferencia de comportamiento puede dar lugar a diferencias en la funcionalidad, es decir en como los criogeles desarrollen la acción como crioprotector.

Para la aplicación en congelación de carne, se incorporaron los criogeles a muestras de carne mediante inyección y se les sometió a congelación en una cámara a -25 °C durante 24 horas, posteriormente se analizó la cantidad de exudado, mediante descongelación a temperatura de refrigeración durante 3 horas, encontrándose que la cantidad de exudado es mayor en carne sin gel que en carne con criogel de 3 ciclos, mientras que las muestras con gel sin ciclos, 1 y 2 ciclos no muestran diferencias estadísticas entre ellas.

INTRODUCCIÓN

La congelación es un método de conservación que se ha utilizado con la finalidad de mantener las características de los alimentos por más tiempo, sin embargo, al ser un método que implica la separación del agua pura de una solución en forma de cristales de hielo, presenta inconvenientes para la industria, ya que esta separación se manifiesta en crecimiento no controlado de cristales y como consecuencia existen alteraciones en la conformación estructural de los alimentos, los cuales al ser sistemas biológicos presentan un alto grado de complejidad debido a la presencia de agua, carbohidratos, lípidos, proteínas, estructuras celulares, fibras musculares, etcétera. Se han estudiado alternativas para disminuir los daños por congelación, desde el diseño de nuevos equipos de congelación, métodos como la congelación rápida con dióxido de carbono y con líquidos criogénicos, como el nitrógeno líquido y, hasta la adición de compuestos que no interfieran con las características finales del alimento, que sean biodegradables y que permitan mantener estable un alimento congelado.

En el caso de la carne se han realizado muchos estudios en relación a los efectos de la congelación sobre las características de capacidad de retención de agua, pérdidas por goteo, cambios en color debidos a la modificación de las proteínas, reacciones de oxidación de lípidos y proteínas. Entre las técnicas utilizadas para minimizar estos efectos se encuentra el uso de sistemas de congelación rápida, inyección de salmueras para aumentar la capacidad de retención de agua, congelación asistida por ultrasonido, etcétera.

El uso de biopolímeros de bajo y alto peso molecular, llamados comúnmente crioprotectores, se han utilizado en alimentos congelados como postres, purés de vegetales, helados, etcétera; con el fin de controlar las pérdidas de humedad durante la congelación y descongelación, manteniendo las características del producto, y sin interferir en gran medida con la formulación de los alimentos ya que no modifican el sabor y la apariencia. Los biopolímeros se utilizan en carne para formulaciones de carne molida con la finalidad de mantener la capacidad de

retención de agua, en el caso de las salmueras, éstos aportan viscosidad y ayudan a la incorporación de los componentes de la salmuera.

Los criogeles son materiales que se obtienen a partir de una dispersión de un biopolímero, con una capacidad de absorción de agua mayor que los hidrogeles que se preparan mediante dispersión en calentamiento o enfriamiento, debido a que el método de congelación y descongelación incrementa la cantidad de interacciones entre las cadenas de las moléculas del biopolímero. Estos criogeles han tenido aplicaciones principalmente en el área farmacéutica en formulación de medicamentos, en cuanto al área de alimentos no se han reportado aplicaciones de estos materiales, por lo que pueden tener un gran potencial de aplicación para mejorar formulaciones o para mantener la vida útil de los alimentos.

Los crioprotectores son biopolímeros que entran en contacto directo con los alimentos, por lo que es necesario el entendimiento de su composición y la forma en la que actúan. En este trabajo se plantea la posibilidad de que los criogeles puedan prevenir los daños por congelación, si se incorporan a una estructura celular, como la carne, reduciendo la movilidad del agua que se encuentra fuera de las fibras, disminuyendo los daños por el crecimiento de los cristales y las pérdidas por goteo.

Capítulo 1

ANTECEDENTES

1.1. CONGELACIÓN

La congelación involucra el descenso de la temperatura de un sistema, debajo de su punto inicial de congelación, convirtiendo el agua en hielo por la eliminación de calor latente, el cual está asociado al cambio de fase (Nicoletti, 2012).

La congelación es considerada como un método eficiente para la preservación de los alimentos a largo plazo, no solo por el efecto de las bajas temperaturas en las reacciones químicas y en el crecimiento microbiológico, también por el descenso de la actividad de agua (Nicoletti, 2012). Sin embargo las reacciones fisicoquímicas continúan durante el almacenamiento en congelación, solo que las bajas temperaturas disminuyen su velocidad.

La eficiencia de los métodos de congelación y de almacenamiento tiene un alto impacto en las propiedades organolépticas de los productos tras la descongelación (Agoulon, 2012). Debido a ello es importante, conocer los fundamentos de este proceso y su efecto en los alimentos.

Actualmente se investigan y desarrollan procesos innovadores de congelación, para mejorar las condiciones de congelación y la calidad del producto final (James, Purnell & James, 2015).

El proceso de congelación incluye dos pasos sucesivos: la formación de los cristales de hielo y el subsecuente aumento en el tamaño del cristal de hielo (Nicoletti, 2012).

1.1.1. NUCLEACIÓN

La nucleación es el reacomodo de las moléculas de agua en una partícula ordenada con un tamaño suficiente para sobrevivir y servir como sitio para promover el crecimiento del cristal (Nicoletti, 2012). Es decir que aparecen núcleos de hielo o agentes iniciadores para que la fase cristalina se desarrolle; para que esto ocurra

es necesario el subenfriamiento del sistema, ya que se requiere superar una barrera de energía que acompaña a la formación de la nueva fase.

En la superficie del cristal existe un intercambio de moléculas entre la fase líquida y sólida. Durante este proceso se libera calor latente de solidificación. La velocidad a la cual se lleva a cabo la nucleación depende de la temperatura del medio de congelación, la viscosidad del medio y el volumen de la muestra (Nicoletti, 2012).

Debido a la presencia de solutos la nucleación puede ser homogénea o heterogénea. La homogénea se produce en agua libre de impurezas. En la heterogénea las moléculas de agua se aglomeran alrededor de un material insoluble, reduciendo la energía necesaria para formar el núcleo y reduciendo el grado de subenfriamiento (Orrego, 2008).

1.1.2. CRECIMIENTO DEL CRISTAL DE HIELO

El crecimiento cristalino requiere que las moléculas de agua puedan difundirse hasta la superficie de los núcleos cristalinos (Orrego, 2008). A medida que se forman dichos núcleos estables las moléculas se adicionan en la interfase sólido líquido.

Cuando la cristalización procede las moléculas de agua difunden de la solución a la superficie de los cristales y contribuyen al crecimiento de la fase sólida, al mismo tiempo que los solutos son expulsados y se difunden fuera de la superficie sólida.

El tamaño y número de cristales formados depende de la velocidad de nucleación. Con altos grados de subenfriamiento, los cuales se obtienen con velocidades altas de congelación, la velocidad de nucleación es mayor que la de crecimiento de cristal, formándose varios núcleos en los que se distribuye el hielo en numerosos y pequeños cristales. A bajas velocidades de congelación los núcleos son pocos y los cristales suelen ser grandes.

1.1.3. CURVA DE CONGELACIÓN

La representación esquemática de la cinética de congelación es la curva de congelación. Esta cinética influye en las características y el crecimiento de los cristales de hielo, su tamaño y distribución está en función de la cinética de congelación (Agoulon, 2012).

Existen dos tipos de cinéticas, en la Figura 1 (a) se observa la cinética de congelación del agua, en condiciones ideales, a 1 atm de presión y libre de impurezas; como primer paso se reduce la temperatura sin que se formen cristales, lo que se conoce como subenfriamiento (A), para iniciar la cristalización del agua es necesario que exista un estímulo, es decir que se alcance una masa crítica de nucleación (B), cuando esto ocurre la temperatura aumenta hasta 0°C , debido a la liberación de calor latente, después del subenfriamiento y representa el inicio de la cristalización del hielo. Cuando se alcanza el punto inicial de congelación, la temperatura se mantiene constante (C) debido a que el agua y el hielo se encuentran en equilibrio hasta que toda el agua se congela. Después de que el agua se ha congelado la temperatura disminuye hasta que se aproxima a la temperatura de la atmósfera de congelación (D).

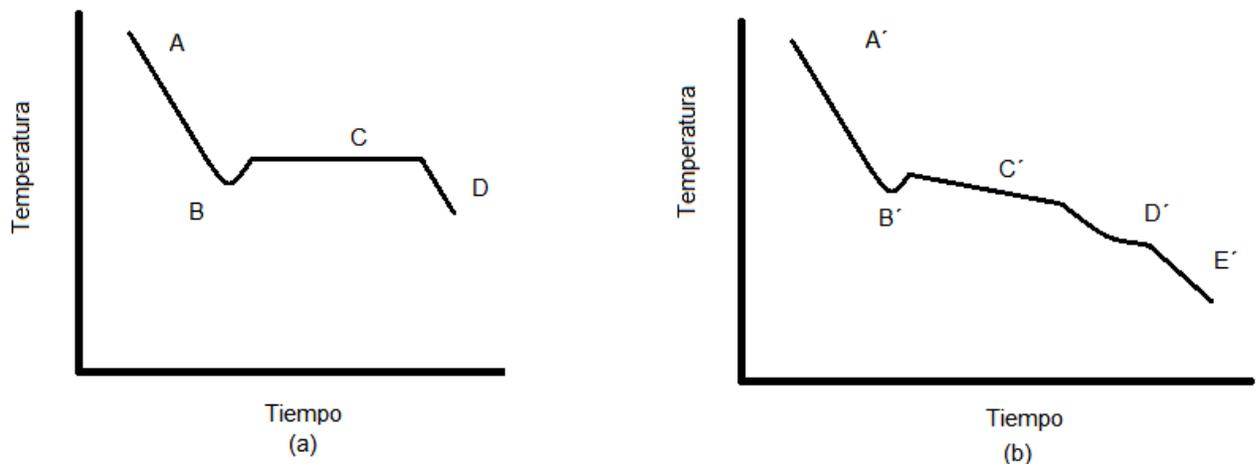


Figura 1. Cinética de congelación del agua pura (a) y de una solución acuosa (b). (Singh & Heldman, 1984).

En el caso de las soluciones, Figura 1 (b), la cinética es diferente a la del agua, debido a la presencia de solutos que modifican la nucleación y el crecimiento de los cristales. El subenfriamiento (A') es menor al del agua debido a que los solutos promueven una nucleación heterogénea. El punto inicial de congelación es menor al del agua, ya que los solutos reducen el número de moléculas de agua disponibles para que se lleve a cabo la transición líquido- sólido; lo cual se relaciona con las propiedades coligativas que dependen de la concentración del soluto. Una vez que se alcanza el punto inicial de congelación, la temperatura sigue disminuyendo a medida que la solución se congela y se separa más agua (C') debido a la concentración de los solutos que deprimen aún más, el punto de congelación. Ya que el agua disponible se cristalizó, la solución saturada puede experimentar una transición vítrea (D') y después el sistema sólido puede o no continuar enfriándose (E) dependiendo de las condiciones del proceso al que se someta.

1.2. CARNE

Es la estructura compuesta por fibra muscular estriada, acompañada o no de tejido conectivo elástico, grasa, hueso, fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos de las especies animales autorizadas para el consumo humano (NOM-030- ZOO- 1995).

En la legislación de alimentos el término “carne” incluye todas las partes de animales de sangre caliente, en forma fresca y procesada, que son aptas para consumo humano. En lenguaje coloquial, el término carne significa tejido músculo esquelético que contiene más o menos grasa adherida (Belitz, Grosch & Schieberle, 2009).

1.2.1. ESTRUCTURA DEL TEJIDO MUSCULAR

El músculo esquelético consiste en largas y delgadas células paralelas, organizadas dentro de un envoltorio de fibra. Cada una de esas fibras existe como una entidad separada rodeada de tejido conectivo, el endomisio. Numerosas fibras primarias del músculo se mantienen unidas en un envoltorio el cual se encuentra rodeado por una larga hoja delgada de tejido conectivo, el perimisio. Muchos de esos envoltorios se mantienen unidos y envueltos por una capa externa grande y delgada de tejido conectivo llamado epimisio (Belitz, Grosch & Schieberle, 2009). En la Figura 2 puede verse la estructura del músculo esquelético.

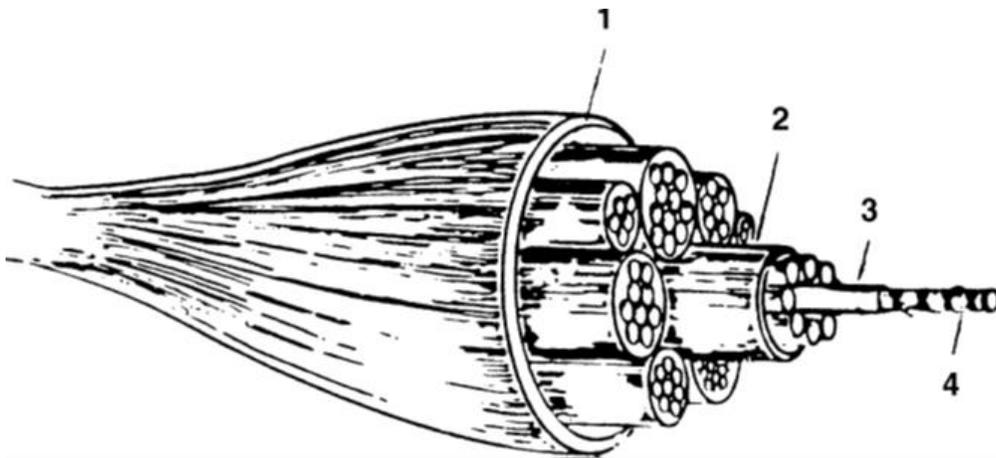


Figura 2. Estructura elemental del músculo esquelético, 1. Epimisio, 2. Perimisio, 3. Endomisio, 4. Fibra de músculo (Belitz, Grosch & Schieberle 2009).

Los músculos libres de grasa adherida contienen un promedio de 76% de humedad, 21.5 % de sustancias nitrogenadas, 1.5 % de lípidos y 1% de minerales. Adicionalmente hay cantidades variables de carbohidratos (0.05 a 0.2%).

Las proteínas son el componente mayoritario después del agua y representan la parte comestible y consiste de las proteínas actina y miosina, junto con pequeñas cantidades de colágeno, reticulina y elastina. También hay cantidades de pigmentos como mioglobina, nucleoproteínas, enzimas y otros componentes.

Las proteínas musculares se dividen en tres grupos (Belitz, Grosch & Schieberle, 2009):

a) Proteínas contráctiles, extraíbles con soluciones de sales concentradas (actomiosina, junto con tropomiosina y troponina), estas se encuentran en forma de fibrillas.

Las moléculas de miosina forman gruesos filamentos y representan alrededor del 50 % del total de proteínas presentes. La actina es el componente principal de los filamentos delgados y es menos soluble que la miosina.

La tropomiosina es una molécula altamente elongada, con un peso molecular de 68 000 Da y 100 % es una α hélice. La troponina se encuentra sobre los filamentos de la actina y controla el contacto entre los filamentos de miosina y actina durante la contracción muscular.

b) Proteínas solubles en agua o diluibles en soluciones de sales (mioglobina y enzimas), representan del 20 a 35 % del total de proteína del tejido muscular y forman parte del sarcoplasma que es un fluido que rodea al tejido conectivo.

La mioglobina es un pigmento rojo púrpura que consiste de cadenas péptidas de un peso molecular de 16.8 kDal y provee de oxígeno debido a su habilidad de ligarlo de forma reversible. El color de la carne está determinado por la proporción de mioglobina.

c) Proteínas insolubles (tejido conectivo y proteínas de membrana), forman parte del tejido conectivo que son tubos ligeros o redes de colágeno que encierran a cada uno de los mecanismos contráctiles.

El colágeno constituye 20 al 25% de la proteína total en mamíferos, mientras la elastina se encuentra en pequeñas cantidades en el tejido conectivo, es una proteína que forma fibras elásticas ya que puede estirarse y regresar a su forma original.

Las proteínas tienen una función importante ya que definen los parámetros de calidad de la carne, una vez que ésta se somete a algún proceso. La capacidad de

retención de agua es una de las propiedades que define las cualidades como ternura, jugosidad, firmeza, entre otras. Esta propiedad resulta afectada por la congelación lenta, debido a la pérdida de funcionalidad de las proteínas.

1.2.2. CONGELACIÓN DE LA CARNE.

La congelación es un método de preservación que permite alargar la duración de la carne. En almacenamiento de -18 a -20 °C y humedad relativa de 90 %, la duración es de 9 a 15 meses (Belitz, Grosch & Schieberle, 2009).

La capacidad de retención de agua de la carne congelada aumenta a medida que la temperatura de congelación es menor. A velocidades altas de congelación, se evita la formación de cristales de hielo grandes y el daño a las membranas, así como el cambio irreversible de las proteínas miofibrilares debida a la alta concentración de sales (Belitz, Grosch & Schieberle, 2009), derivada de la congelación.

A pesar de las ventajas de la congelación en cuanto a la duración de la carne, y la disminución de los cambios químicos y microbiológicos; estas tienden a ser contrarrestadas por la exudación de fluido en la descongelación. Dicho fluido se compone de proteínas, péptidos, aminoácidos, ácido láctico, purinas, vitaminas del complejo B y varias sales.

La formación del fluido está influenciado por dos factores, primero se encuentran aquellos relacionados con la forma en la cual el fluido se drenará de la carne y son el tamaño y la forma de las piezas de carne, la orientación del corte superficial con respecto a las fibras musculares, la presencia de vasos sanguíneos y la posibilidad de que ocurra evaporación o condensación dentro de la cámara de descongelación. En segundo lugar se encuentran los factores relacionados con el proceso de congelación de la carne y con la capacidad de retención de agua de las proteínas de los músculos; estos determinan el volumen de fluido que se formará (Lawrie, 2006).

El proceso de congelación determina el tamaño y la cantidad de cristales de hielo formados en la carne, por lo que el conocimiento de los daños en la carne, resultado de las condiciones, es necesario para evitar el daño a las proteínas musculares.

1.2.3. DAÑOS EN LA CARNE POR CONGELACIÓN

La migración de humedad es el cambio físico más importante que ocurre en los alimentos congelados. Este fenómeno se manifiesta de varias formas: pérdida de humedad por sublimación, absorción y redistribución de la humedad en los alimentos o sus componentes, recristalización del hielo y las pérdidas por goteo en descongelación (Orrego, 2008).

El deterioro por hielo en muchos casos, se explica por los cristales de hielo del interior de la estructura celular de los alimentos. El resultado es una presión mecánica que puede dañar la estructura celular de los productos como la carne, frutas y verduras (Agoulon, 2012).

También la concentración de los solutos, debida a la separación del agua, puede causar desbalances en la química del sistema alimenticio. En tejidos de plantas y animales la deshidratación de las células puede romper membranas o las paredes celulares y distorsionar la estructura de los tejidos afectando la textura después de la descongelación y la retención de agua (Mac Donald & Lanier, 1997).

En la carne el agua está dentro y entre las fibras musculares, esto crea compartimientos en el tejido que complican el proceso de congelación. Cuando se congela, la concentración de los solutos (proteínas, carbohidratos, lípidos, vitaminas y minerales) aumenta, y la homeostasis del sistema se interrumpe (Lawrie, 1998). Lo que lleva a cambios que se reflejan en las proteínas y su desnaturalización.

Es por ello que la mayor parte de la investigación realizada sobre la congelación y descongelación de la carne se ha enfocado en la reducción de las pérdidas de humedad (Leygonie, Britz & Hoffman, 2012).

Recordando que el tamaño y la distribución de los cristales está en función de la cinética de congelación. La congelación lenta y la congelación rápida, producen cinéticas distintas. En la Figura 3 se observan estas diferencias.

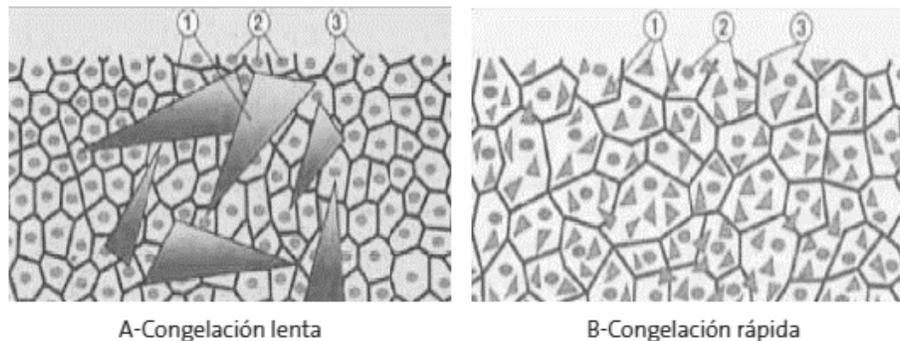


Figura 3. Formación de cristales según la cinética de nucleación, 1) cristales de hielo, 2) núcleos de células, 3) paredes de células, (Agoulon, 2012)

El índice de crecimiento de cristales se relaciona con la capacidad de eliminar calor de donde se estén formando los cristales de hielo, que es relativo a las características del producto y la temperatura del medio (Agoulon, 2012). Considerando las cinéticas, los cristales formados en la congelación lenta, Figura 3 (A), son resultado de un menor número de núcleos y por tanto de un crecimiento de cristales grandes; en el caso contrario, la congelación rápida, figura 3 (B), propicia el surgimiento de más núcleos que dan lugar a cristales más pequeños.

En la congelación de la carne, la velocidad a la cual se lleva a cabo es un factor importante. A velocidades rápidas el agua se congela entre los filamentos de miosina y actina, en agregados tan pequeños que no destruyen la estructura. A medida que el tiempo de congelación aumenta, el daño estructural al músculo también aumenta (Lawrie, 2006), debido a la formación de cristales que modifican la estructura de las proteínas.

Añón y Calvelo (1980) en un estudio de carne de res encontraron que, a medida que el tiempo para congelar (definido como el tiempo para pasar de -1 a -7 C°) disminuye por debajo de 15 a 20 minutos, la cantidad de fluido disminuye rápidamente, esto asociado al aumento en la formación de hielo intracelular. Con tiempos de congelación entre 20 y 200 minutos la cantidad de goteo fue mayor y asociado con la formación de hielo extracelular.

Las velocidades de congelación comerciales son muy lentas para formar hielo intracelular. Con dichas velocidades los cristales de hielo tienden a formarse primero fuera de las fibras, ya que la presión osmótica extracelular es menor que la del interior (Chambers & Hale, 1932).

Las cualidades que se afectan por los métodos de congelación en carne son la ternura, la jugosidad y la forma en que se retiene el agua (Agoulon, 2012).

Se ha reportado que la pérdida de agua está relacionada con la ruptura de la estructura de la fibra muscular, así como la modificación y/o desnaturalización de las proteínas (Leygonie, Britz & Hoffman, 2012). Siendo la miosina la proteína más afectada (Wagner & Añón, 1985).

1.2.4. PÉRDIDAS POR GOTEO

La pérdida por goteo es definida como la cantidad de líquido exudado en la superficie de la carne, sin la aplicación de una fuerza mecánica externa, utilizando únicamente la gravedad (SAGARPA, 2011).

La carne al ser una estructura celular, retiene agua. Una vez que se congela ésta puede cambiar de ubicación, se observa en la figura 4 que debido a que la concentración de sales disueltas es menor afuera de la célula que en su interior, el agua que está entre ellas congela primero (Orrego, 2008), por lo tanto se forma hielo extracelular y al mismo tiempo, en el fluido que queda sin congelar se concentran los solutos, aumentando en fuerza iónica y extrae agua osmóticamente del interior de la célula muscular. Esa agua congela sobre los cristales que ya existen,

causando que aumenten de tamaño, por tanto distorsionando y destruyendo las fibras (Moran, 1929).

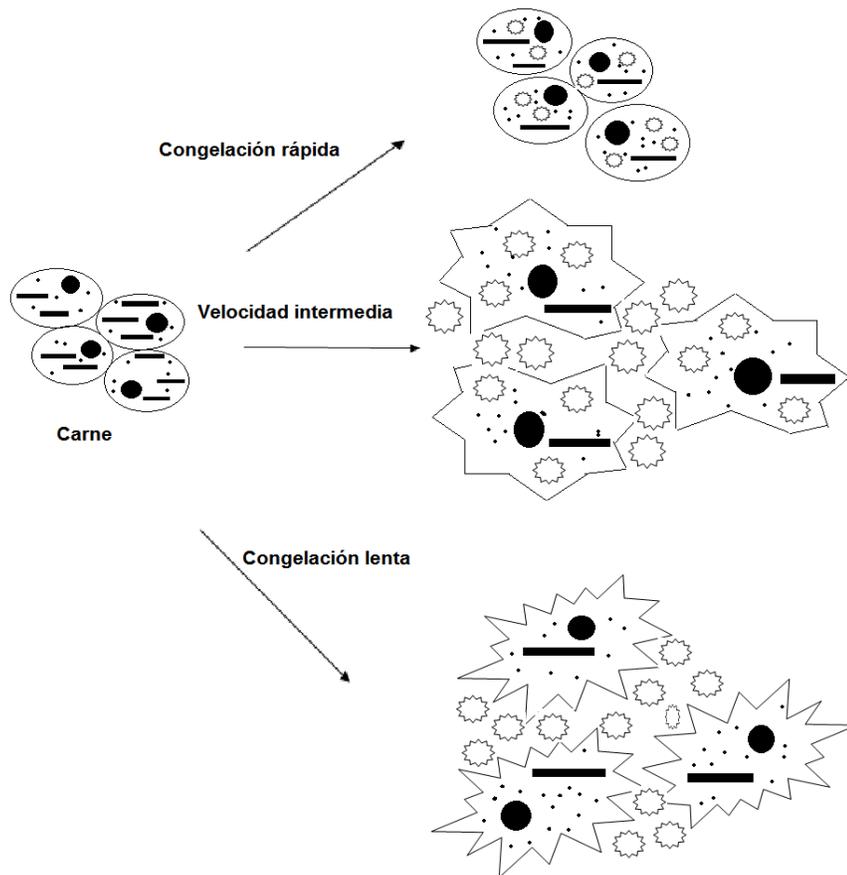


Figura 4: Efecto de la velocidad de congelación en la calidad de la carne. Fuente (Congélation et Qualité de la Viande, Claude Genot, INRA Edition, 2000, citada Agoulon, 2012.)

Si la congelación es lenta las células resultarán dañadas debido a la crioconcentración de los solutos y a la distorsión por los cristales de hielo grandes. Si es rápida, los cristales pequeños que se forman en muchos lugares disminuirá la distorsión de las fibras musculares.

Se debe considerar que las proteínas no pueden retener la misma cantidad de agua, que en su estado nativo, debido a la crioconcentración de los solutos en el líquido que queda sin congelar. Dicho fluido al aumentar en fuerza iónica desnaturaliza a las proteínas. Esto junto con los cambios ocasionados por el crecimiento de cristales contribuye a la pérdida de agua de las proteínas del músculo y de la incapacidad de estas para reabsorber, durante la descongelación, toda el agua removida, siendo manifestada como goteo (Moran, 1929).

Estas pérdidas por goteo afectan a la carne, ya que la humedad es un parámetro de calidad, es importante realizar su medición para evaluar las formas en las que pueden evitarse o disminuirse.

La medición de las pérdidas por goteo es afectada por el tiempo que dure la medición, por lo que el tiempo debe estandarizarse y reportarse. Otro factor es la geometría de la pieza, una pieza delgada tendrá mayor pérdida que una de mayor grosor. En la medida en que se incrementan los cortes en la pieza, aumentará la pérdida por lo que éstos deben ser los menos posibles cortando la carne con trazos rectos y continuos. Asimismo, se debe considerar la temperatura de la medición, a mayor temperatura mayor pérdida por goteo (SAGARPA, 2011).

1.3. CRIOPROTECTORES

La congelación y descongelación de los alimentos puede tener un efecto perjudicial en las propiedades sensoriales y la capacidad de retención de agua, como resultado de una ruptura de las células o de los componentes celulares o cambios en la estructura de ciertas macromoléculas (Downey, 2003).

Para minimizar los daños causados por dichos procesos se han utilizado crioprotectores (Fernández, Álvarez & Canet, 2008), los cuales son componentes que interactúan con el agua, disminuyendo la velocidad de crecimiento del cristal de hielo y alterando su forma, mejorando la calidad y alargando la duración de los alimentos congelados.

El término crioprotector incluye todos los compuestos que contribuyen a prevenir los cambios perjudiciales en los alimentos causados por los procesos de congelación y descongelación o el almacenamiento en congelación. Estas sustancias pueden añadirse durante el procesamiento y en la formulación del producto o producirse de forma natural en organismos vivos de los cuales derivan los alimentos (Mac Donald & Lanier, 1997).

Mac Donald & Lanier (1997), hacen una distinción entre la funcionalidad de un crioprotector en alimentos que han sido sometidos a un proceso de aquellos que conservan su estructura celular. En el caso de los alimentos procesados, en los cuales el mezclado con el crioprotector es posible, la función consiste en estabilizar un componente, el cual es un biopolímero. Para los alimentos con estructura celular como lo son las frutas, verduras y carnes, la crioprotección consiste en estabilizar la estructura, esto se logra controlando el movimiento del agua para prevenir el colapso celular. Estas distinciones son quizás análogas a la estabilización de las proteínas en la industria farmacéutica y la criopreservación de células y órganos en el campo de la medicina.

Como crioprotectores se cuenta con muchos compuestos, algunos de éstos son: azúcares, aminoácidos, polioles, metilaminas, polímeros de carbohidratos, polímeros sintéticos (polietilenglicol, PEG) proteínas (albúmina sérica, BSA), y algunas sales inorgánicas (fosfato de potasio y sulfato de amonio) (Mac Donald & Lanier, 1997).

1.3.1. LOS BIOPOLÍMEROS COMO CRIOPROTECTORES EN LOS ALIMENTOS

La funcionalidad de los biopolímeros es variada, ya que poseen características únicas debidas a su estructura molecular (Semenova, 2007). La presencia de grupos polares y no polares los hace capaces de establecer interacciones y controlar la reología y la textura de los sistemas acuosos mediante la estabilización de las emulsiones, suspensiones y espumas (Nicoletti, 2012).

Los hidrocoloides y las proteínas son dos tipos de biopolímeros que pueden afectar la cristalización del hielo (Dickinson, 1998). Los biopolímeros son capaces de modificar la viscosidad del medio en el que se encuentran y de formar geles, cuya firmeza se ha asociado con la inhibición del crecimiento del cristal de hielo y al cambio en su morfología (Muhr & Blanshard, 1986). La velocidad de cristalización se reduce a medida que aumenta el tiempo de maduración del gel y su elasticidad. Por esta razón se puede decir que existe un traslape entre la crioprotección y otros tipos de estabilización de alimentos (Mac Donald & Lanier, 1997).

Esto es evidente cuando se adicionan biopolímeros capaces de retener agua al helado ya que, ayudan a prevenir el crecimiento del cristal y se ha sugerido que esta acción puede atribuirse a su estructura (Nicoletti, 2012). Esta capacidad ha sido estudiada para explicar el mecanismo mediante el cual llevan a cabo esta forma de crioprotección.

Blond (1988) estudió la velocidad de cristalización del hielo en soluciones de macromoléculas y en geles de carboximetilcelulosa (cmc). El autor explica que el descenso de la velocidad de cristalización es consecuencia de un efecto mecánico de las macromoléculas sobre el crecimiento del cristal ejercido en la interfase de cristalización. A su vez, menciona que este efecto puede aumentar con el tamaño de la macromolécula, ya que al ser más largas pueden enredarse e inmovilizarse, disminuyendo la propagación del hielo. Cuando las cadenas del polímero interactúan y forman una red estructurada la acción mecánica aumenta. La importancia de este efecto puede variar acorde a la naturaleza y el número de zonas de unión en la red, por lo tanto la velocidad a la que se propaga el hielo en una solución es mayor que en un gel.

Frommer & Lancet (1971) explica la acción de las proteínas anticongelantes, las cuales son un tipo de biopolímeros capaces de modificar el punto inicial de la congelación del agua de forma no coligativa. En su estructura poseen una parte hidrofílica que interactúa con el hielo y una parte hidrofóbica que impide que las moléculas de agua continúen agregándose a la superficie del cristal de hielo. Esto

afecta las fuerzas interfaciales entre el hielo y el líquido alterando la condición de equilibrio. Estas proteínas son biopolímeros con estructura de tipo α -hélice.

1.3.2. USO DE CRIOPROTECTORES EN CARNE

En la descongelación de la carne, las pérdidas por goteo aparecen debido a la modificación de la estructura por los cristales de hielo durante la congelación. Por ello se han investigado métodos novedosos para la congelación de carne a escala de laboratorio, sin embargo, estos son generalmente más caros que sus contrapartes convencionales (Leygonie, Britz & Hoffman, 2012).

Existe un tipo de biopolímeros llamados proteínas anticongelantes, las cuales han sido observadas en el plasma de peces capaces de sobrevivir en aguas polares. Su función consiste en disminuir la temperatura de congelación y suprimir el crecimiento de los núcleos de hielo, por tanto inhiben su formación, alterando el crecimiento del cristal y retardando la recristalización en el almacenamiento congelado (James, Purnell & James, 2015).

La adición de proteínas anticongelantes puede controlar la estructura y el tamaño de los cristales de hielo en alimentos congelados (Leygonie, Britz & Hoffman, 2012).

Payne, Sandford, Harris & Young (1994) aplicaron glucoproteínas anticongelantes de bacalao de la Antártica, las cuales consisten en polímeros α -helicoidales con unidades repetidas de Ala- Ala- Thr, con galactosa- N-acetilgalactosamina unida vía grupos hidroxilo con treonina. La aplicación se realizó mediante el remojo de las porciones de carne y antes de la congelación a una temperatura de -20°C . Los resultados mostraron que el tamaño de cristal se redujo en comparación con las muestras sin remojar. Los autores explican que las proteínas disminuyen el punto inicial de congelación del agua por un mecanismo no coligativo llamado adsorción - inhibición y también alteran el tamaño del cristal llevando a la formación de hielo similar a agujas en vez de cristales grandes.

Payne & Young (1995) mostraron que cuando las glucoproteínas del bacalao se inyectan en corderos, 24 horas antes del sacrificio, el cristal de hielo en los músculos congelados fue menor que en aquellos que no fueron inyectados y las pérdidas por goteo en descongelación fueron menores.

1.4. CARBOXIMETILCELULOSA (CMC)

Entre los biopolímeros utilizados en la industria de los alimentos, está la carboximetilcelulosa, que se usa como espesante, para la retención de agua y el control de la cristalización.

La carboximetilcelulosa es un derivado de celulosa con grupos carboxilo (-CH₂ - COOH) unidos a algunos grupos hidroxilo de los monómeros de glucopiranososa que constituyen el esqueleto de celulosa (Nicoletti, 2012), como puede observarse en la Figura 5. Es producto de la reacción de la celulosa en una solución de hidróxido de sodio y su esterificación con monocloroacetato de sodio. Debido a la presencia de tres grupos hidroxilo reactivos en cada unidad D- glucopiranosil, es posible introducir tres grupos carboximetilo sodio por cada unidad. Dicho producto se describiría con un grado de sustitución de tres (Feddersen y Thorp, 1993).

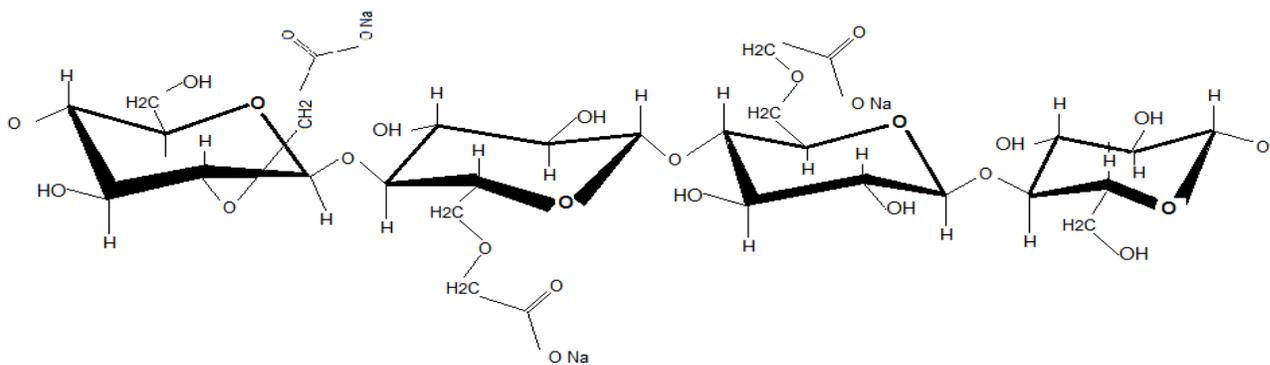


Figura 5. Molécula de carboximetilcelulosa (Luna M.J.F., 2011)

1.4.1. CARACTERÍSTICAS Y USOS EN LA INDUSTRIA

Dado que es posible introducir de uno a tres grupos carboximetilo, al sustituir los grupos hidroxilo en la estructura de la celulosa para formar la carboximetilcelulosa se tiene diferentes grados de sustitución siendo 3 el máximo grado de sustitución. Estos grupos carboximetilo se encuentran fuera de la estructura principal de celulosa, como puede verse en la Figura 6, y ocasionan que los grupos hidroxilo de la cadena principal de la celulosa estén separados y no formen enlaces entre sí, por lo que el agua puede hidratar a las moléculas y promover que estas se plieguen hacia la solución (Hoefler, 1971).

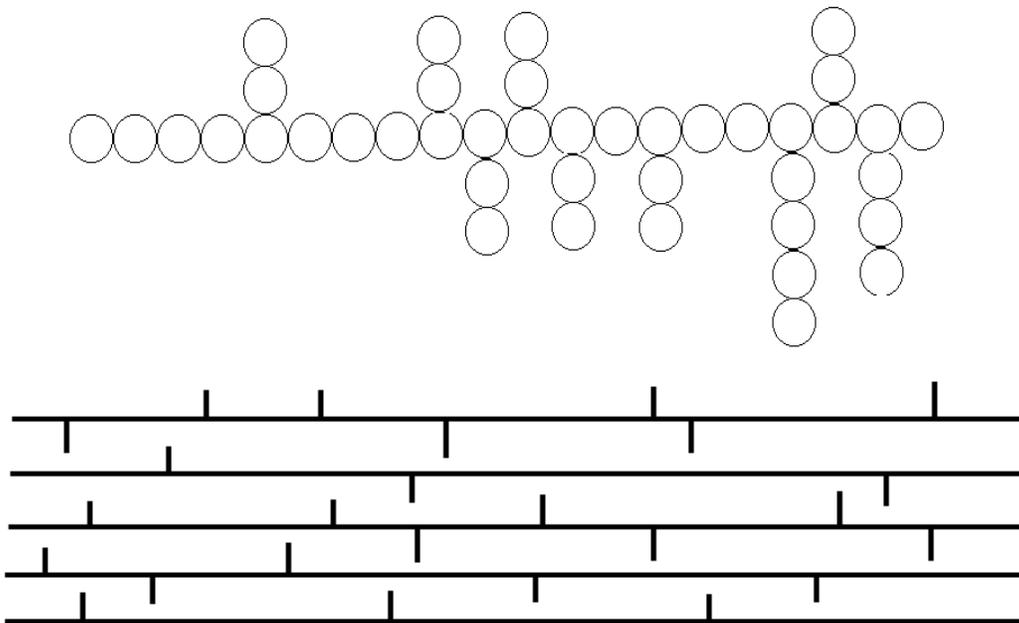


Figura 6. Moléculas de carboximetilcelulosa en solución (Hoefler, 1971).

Es evidente que las características que definen la funcionalidad de la carboximetilcelulosa dependen de la estructura es decir del grado de sustitución y de otro factor conocido como grado de polimerización, es decir la longitud de la cadena.

La distribución de los grupos carboximetilo afecta el comportamiento del biopolímero. Las secciones no sustituidas en las unidades de glucopiranosas tienden a interactuar a través de enlaces de hidrógeno y generar tixotropía, es decir se desarrolla una estructura dependiente del tiempo, en las soluciones. El grado de polimerización tiene un efecto en la acción espesante la cual es mayor con el aumento en la longitud de la cadena y más viscosa es la solución. El aumento en la viscosidad se debe a la interacción de la cadena a altas concentraciones (Feddersen & Thorp, 1993).

Otra característica de la carboximetilcelulosa es el carácter fluidificante de sus disoluciones, debido a que las moléculas tienden a orientarse en dirección al flujo cuando la fuerza aplicada aumenta y la viscosidad o resistencia al flujo disminuye. Cuando se aplica una fuerza menor la viscosidad aparente es alta debido a la orientación al azar y a la interacción de las moléculas, causando un aumento a la resistencia al flujo.

La tixotropía es un fenómeno que consiste en un cambio en la viscosidad que depende del tiempo y se caracteriza por el aumento de la viscosidad cuando una disolución permanece en reposo por cierto tiempo. Si se aplica un esfuerzo de cizalla suficiente, la estructura se rompe y la viscosidad se reduce. La razón de este fenómeno es la forma en la que están distribuidos los sustituyentes en la carboximetilcelulosa ya que las zonas sin sustituir tienden a asociarse.

Para preparar las disoluciones de carboximetilcelulosa es necesario tomar en cuenta el solvente, el tamaño de partícula, la velocidad de cizalla y el método de dispersión. Las partículas gruesas se disuelven lentamente mientras que las pequeñas se hidratan rápidamente y empleado agua caliente es posible dispersar más rápido que en agua fría. Considerando las características estructurales, aumentando el grado de sustitución se disuelve más rápido, pero un alto peso molecular disminuye la velocidad de disolución (Feddersen & Thorp, 1993).

Su uso en la industria se basa principalmente en su habilidad de retener agua. Kumsah, Pass & Phillips (1976) al estudiar la cantidad de agua no congelable de disoluciones de CMC, encontraron que es capaz de retener grandes cantidades de

agua, por lo que sugiere un arreglo multicapa de las moléculas de agua. La capacidad de hidratación es atribuida a la interacción de los grupos hidroxilo con las moléculas de solvente y su conformación permite un buen ajuste con la estructura del agua, además de la solvatación de los grupos hidrofílicos de CMC, existe una retención de las moléculas de solvente, dentro de los pliegues del polímero.

En mezclas para pastel se usa para retener la humedad, controlar la viscosidad y dar volumen y uniformidad al pastel. En rellenos para pay controla la sinéresis y la textura. En jarabes bajos en calorías se usa para dar viscosidad. En alimentos para mascotas facilita la extrusión y se usa como agente de retención de humedad. En helados reduce el crecimiento del hielo y provee de estabilidad ante la congelación y la descongelación (Feddersen & Thorp, 1993). Esta aplicación en el helado puede ser usada para estudiar la posibilidad de que la carboximetilcelulosa sea capaz de establecer enlaces por medio de la congelación y descongelación de sus disoluciones.

Debido a la presencia de grupos carboxilo, Wu & Zhang (2009) estudiaron la gelificación de la carboximetilcelulosa y mencionan que al tener dichos grupos, puede formar geles a bajo pH mediante la técnica de congelación - descongelación. Esta capacidad puede ser de utilidad para obtener materiales que por el método de estructuración que se usa, son llamados “criogeles”.

1.5. CRIOGELES

Los criogeles son sistemas de gel cuya formación ocurre en disoluciones de dispersiones coloidales o precursores potencialmente capaces de gelificar (Lozinsky, 2014). Es decir que los criogeles son resultado de la gelificación criotrópica (del griego “kryos” (escarcha) y “tropos” (causa)), la cual se lleva a cabo mediante la separación del solvente en forma de hielo y la concentración del polímero en la región sin congelar.

Es importante diferenciar a los criogeles de los geles. Los geles son sistemas de polímero con solvente inmovilizado, en el cual las macromoléculas forman una red tridimensional (Lozinsky, Galaev, Plievam Savina, Jungvid & Mattiasson, 2003). Zhang, Zhang F. & Wu (2013) mencionan que los hidrogeles poseen una estructura tridimensional que se obtiene de algún tipo de polímero natural o sintético que puede absorber y retener una cantidad significativa de agua o fluido biológico. El solvente inmovilizado previene el colapso del sistema ya que no permite la formación de una masa compacta de polímero. Por otro lado, su estructura es creada por grupos hidrofílicos presentes en los polímeros y su morfología es determinada por el método de preparación del gel.

También definen a los criogeles como resultado de la criogelación o crioestructuración; es decir del tratamiento criogénico al que se somete una solución o dispersión de un polímero capaz de formar un gel. Lo anterior indica que, la congelación es un paso esencial para que las cadenas de polímero interactúen y formen zonas de unión en los criogeles. Este tipo de gelificación lleva a que la principal característica estructural sea un sistema de grandes poros interconectados (Lozinsky, Galaev, Plievam Savina, Jungvid & Mattiasson, 2003).

Al ser la congelación el paso importante en donde se lleva a cabo la gelificación, dentro de las disoluciones congeladas Okay, (2014) distingue dos fases, una que contiene sólidos, es decir los cristales de solvente congelado, los cuales moldean los poros del criogel, y una fase no congelada llamada "microfase de líquido no congelado" donde se concentra el soluto y se lleva a cabo la gelificación. Dichas condiciones de formación son factores clave en la morfología macroporosa, en sus características fisicoquímicas y en consecuencia en sus capacidades operacionales.

El tamaño y la forma de los cristales de hielo influyen en la estructura de los criogeles (Lozinsky, Kurochkin, & I. Kurochkin, 2008). Es evidente que las condiciones de cada ciclo de congelación y descongelación, es decir, tipo de polímero usado, la velocidad de congelación, número de ciclos, la velocidad de

descongelación, darán como resultado diferencias en la movilidad de las moléculas en los criogeles.

El mecanismo para la formación de un criogel de forma general sigue los siguientes pasos: separación de fase debida a la formación del cristal de hielo, entrecruzamiento y polimerización, seguida de la descongelación de los cristales de hielo para formar una red de poros interconectados (Kumar, Mishra, Reinwold & Bhat, 2010).

1.5.1. MECANISMO DE FORMACIÓN DE LOS CRIOGELES

Lozinsky, Kurochkin & Kurochkin I. (2008), definen los siguientes pasos para la formación de los criogeles:

- a) Enfriamiento de la solución inicial hasta el punto donde se inicia la cristalización del sistema.
- b) La congelación del sistema cuando la masa principal de líquido es cristalizado y el polímero es concentrado en la microfase de líquido no congelado.
- c) Incubación del sistema.
- d) Descongelación del sistema.

Como se observa en la Figura 7, el sistema inicial (Figura 7(a)) contiene a las macromoléculas en la solución, las cuales son capaces de formar un gel; al solvente y en algunos casos a solutos de bajo peso molecular. Dicho sistema se somete a congelación y en ese estado (Figura 7 (b)) se forman cristales de solvente congelado y una microfase de líquido sin congelar. Debido a la crioconcentración, la concentración del polímero aumenta en la zona sin congelar y se da la formación de los enlaces del criogel, estos surgen de la interacción entre las cadenas vecinas de polímero debido a los enlaces hidrógeno de los grupos hidroxilo (Lozinsky, Kurochkin, & I. Kurochkin, 2008). De hecho, debido a la crioconcentración, la formación del gel en dichos sistemas congelados procede algunas veces más rápido

que en el medio líquido usando la misma concentración inicial de precursores (Lozinsky, Galaev, Plievam Savina, Jungvid & Mattiasson, 2003). Los cristales actúan como formadores de los poros, una vez que se descongela el sistema (Figura 7 (c)) los espacios que ocupaban los cristales se rellenan con solvente y la tensión superficial entre el solvente y la fase de gel redondea a los poros (Lozinsky, Galaev, Plievam Savina, Jungvid & Mattiasson, 2003). Como resultado, el sistema contendrá cadenas de polímero, solvente y macroporos.

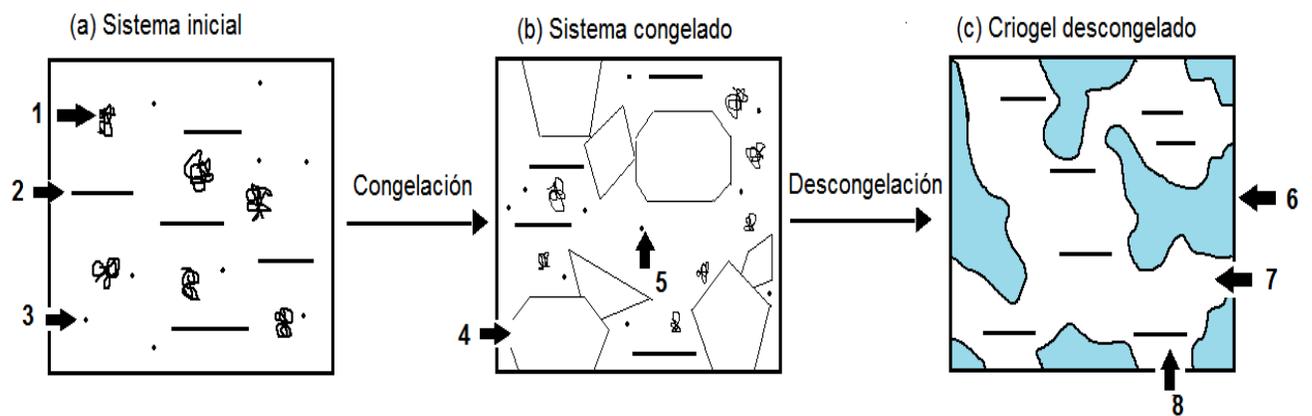


Figura 7. Proceso de formación de un criogel. (1 , macromoléculas en una solución; 2, disolvente; 3 , solutos de bajo peso molecular ; 4 , cristales de disolvente congelado; 5, microfases líquido sin congelar ; 6 , polímero ; 7 , macroporos ; 8 , disolvente.) (Lozinsky, 2003).

No hay un procedimiento general para la preparación de ningún criogel, para cada caso específico se requiere una investigación preliminar para encontrar las condiciones requeridas para obtener los materiales con las características deseadas (Lozinsky, 2014).

Muchos de los polisacáridos capaces de formar criogeles tienen una gran cantidad de grupos hidroxilo y carboxilo en el esqueleto de las cadenas de polímero

esto sugiere que la naturaleza de las uniones intermoleculares y las zonas de unión en la mayoría de los criogeles es el enlace hidrógeno (Zhang, F. Zhang & Wu, 2013).

Para el estudio de las interacciones presentes, no solo en los criogeles, sino en los materiales en general, se ha utilizado la calorimetría diferencial de barrido la cual es una técnica de análisis térmico usada para analizar la estructura y el comportamiento cuando se someten a un perfil de temperatura.

1.6. CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC, por sus siglas en inglés)

La materia se puede describir mediante las variables físicas: energía total, temperatura, volumen, presión, número de moles y masa. Siendo las extensivas, aquellas cuyas magnitudes son aditivas cuando se aumenta el sistema, y las intensivas aquellas que son independientes de la extensión del sistema y estas son la temperatura y la presión.

Las seis técnicas más básicas que permiten la determinación de las variables de estado son: 1) termometría, 2) análisis térmico diferencial, 3) calorimetría, 4) análisis termomecánico, 5) dilatometría y 6) termogravimetría (Wunderlich, 2005).

El análisis térmico es una técnica analítica que establece los datos experimentales para las variables de estado. Este término puede aplicarse a cualquier técnica que involucre la medida de una cantidad física, mientras la temperatura cambia o se mantiene de forma controlada (Wunderlich, 2005). Usualmente la temperatura se mantiene constante o se incrementa con el tiempo aunque también se puede añadir una pequeña modulación para separar la respuesta del calorímetro. Más adelante se hablará de esto.

La calorimetría diferencial de barrido es una técnica de análisis térmico, la cual se ha usado por más de dos décadas para medir las temperaturas y los flujos de calor asociados con las transiciones en los materiales como función del tiempo y la temperatura. Dichas mediciones proveen de información cuantitativa y cualitativa

sobre los cambios físicos y químicos que envuelven procesos endotérmicos o exotérmicos o cambios en la capacidad calorífica (Gill, Sauerbrunn & Reading, 1993).

La capacidad calorífica, C_p , es definida como la cantidad energía requerida para aumentar la temperatura de un material, una unidad de temperatura. Si la temperatura de un material requiere que se eleve dos veces más rápido, se necesita el doble de energía. De esta manera se puede medir la capacidad calorífica cuando la temperatura aumenta, dividiendo el flujo de calor entre la velocidad de calentamiento, es más, si se utiliza una rampa de temperatura lineal modulada por una onda sinusoidal, se obtiene un segundo método de medición de la capacidad calorífica examinando la amplitud de la modulación (Lacey, Price & Reading, 2006).

1.6.1 CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO MODULADA (MDSC, por sus siglas en inglés)

El calorímetro diferencial de barrido modulado, en esencia se basa en la medida simultánea de capacidad calorífica de la muestra usando la respuesta a la rampa lineal y la respuesta a la modulación y comparándolos (Lacey, Price & Reading, 2006), consiste en sobreponer un cambio sinusoidal u otro cambio periódico en la temperatura sobre la velocidad de calentamiento principal (Wunderlich, 2005). Durante las transiciones las dos respuestas dan diferentes valores.

Este método es una extensión de la calorimetría diferencial de barrido y brinda información sobre las características reversibles y no reversibles de los eventos térmicos y tiene la habilidad de medir directamente la capacidad calorífica (Gill, Sauerbrunn & Reading, 1993).

En la Figura 8 se observa el perfil de temperaturas donde se representa la rampa de calentamiento lineal y la modulación que se sobrepone. El flujo de calor total que se obtiene se compone de dos partes, una que sigue la modulación, la

parte reversible y otra que no la sigue, la parte no reversible (Wunderlich, 2005). La componente reversible se relaciona con los cambios en la capacidad calorífica, las modificaciones que dependen de la velocidad de barrido de la temperatura y pueden ser reversibles mediante un ciclo de calentamiento/ enfriamiento. La componente no reversible está ligado a la cinética, las modificaciones que aparecen en esta señal dependen solo de la temperatura (Ribeiro & Grolier, 1999) una vez iniciadas no pueden ser reversibles con un ciclo de calentamiento - enfriamiento. Estas denominaciones de reversible y no reversible indican que están en función de las condiciones a las cuales se realizan las pruebas.

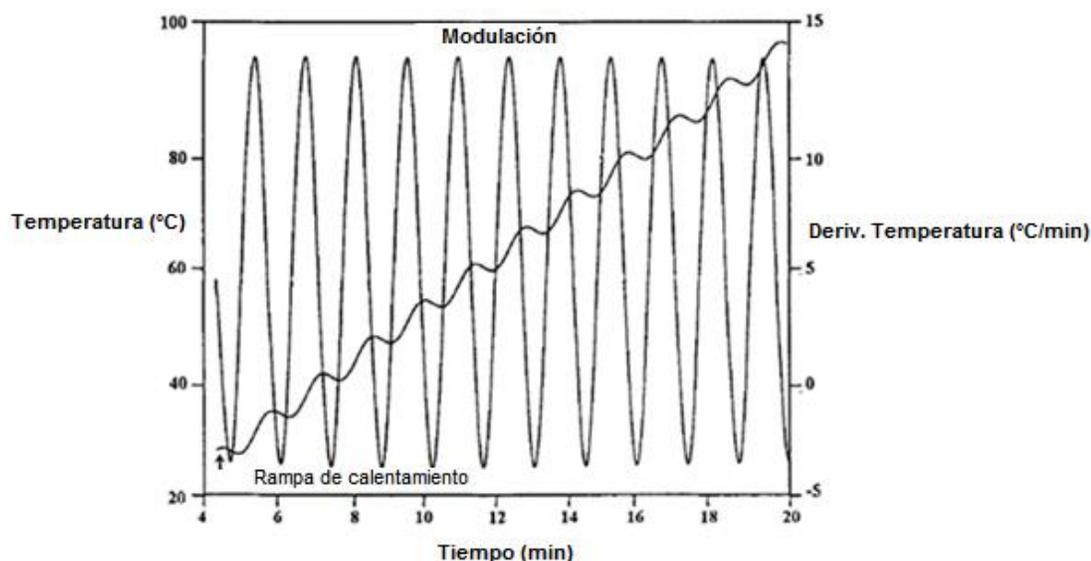


Figura 8. Perfil de temperaturas en un MDSC (por sus siglas en inglés), se observa la rampa de calentamiento lineal y la modulación sinusoidal (Gill, Sauerbrunn & Reading, 1993).

1.6.2. PRINCIPIO DE OPERACIÓN DE UN CALORÍMETRO

La celda de un calorímetro, Figura 9, consta de un plato o charola de metal que contiene a la muestra y una charola vacía que sirve como referencia. Estos se

colocan sobre un disco termoeléctrico de constantan, que sirve como elemento para la transferencia de calor (Gill, Sauerbrunn & Reading, 1993), los termopares conectados a las charolas miden las diferencias de temperatura entre la referencia y la muestra.

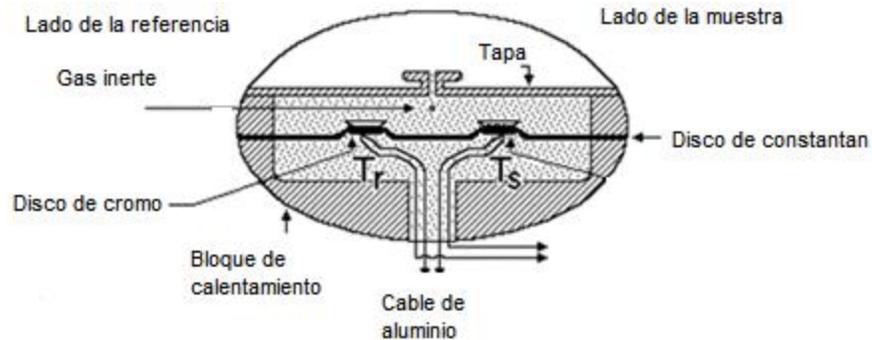


Figura 9. Celda de DSC donde se muestra el disco de constantan, la referencia y la muestra (Wunderlich, 2005).

En un calorímetro con la opción de modulación, se utiliza la misma celda, la diferencia radica en que el perfil de temperatura es una onda sinusoidal que se superpone a la rampa principal de temperatura lineal. Esta modulación da como resultado tres variables relacionadas con la temperatura, las cuales son la velocidad de calentamiento, la amplitud de modulación y la frecuencia de modulación, estas variables describen la respuesta del calorímetro en la siguiente ecuación:

$$\frac{dQ}{dt} = -\frac{dT}{dt} [Cp + f''(t, T)] + f(t, T) \quad (1)$$

La ecuación 1 en donde dQ/dt = el flujo de calor que fluye en la muestra, $-dT/dt$ = velocidad de calentamiento, Cp = capacidad calorífica de la muestra, t = tiempo, T = temperatura, $f''(t, T)$ = componente termodinámico del flujo de calor y $f(t, T)$ = flujo de calor cinéticamente limitado, describe la respuesta del calorímetro.

Considerando que el flujo de calor esta descrito por dos componentes, el efecto de ellas depende de la transición que se está evaluando, en el caso de las transiciones que dependen de la velocidad de calentamiento tienden a incrementar cuando se usan velocidades altas y las dependientes de la temperatura absoluta una vez iniciadas no pueden revertirse (Gill, Sauerbrunn & Reading, 1993). A continuación en la cuadro 1 se presentan las transiciones que se estudian comúnmente en la calorimetría.

Tabla 1. Transiciones medidas por DSC (Gill, Sauerbrunn & Reading, 1993).

TRANSICIÓN	CARACTERÍSTICAS.
Transición vítrea	Dependiente de la frecuencia
Fusión	Dependiente de la frecuencia y la amplitud
Cristalización fría	No reversible
Relajación	No reversible
Curado	No reversible
Evaporación	No reversible
Descomposición	No reversible

En la Tabla 1 se observa que las transiciones tienen la característica de ser reversible o no reversible. Esto implica que los datos obtenidos durante las pruebas pueden ser dependientes del tiempo y la temperatura a las cuales se realizaron o pueden no depender de dichas variables. Para realizar una medición más clara, se utiliza la calorimetría diferencial modulada, la cual permite separar los eventos reversibles y no reversibles, que en ocasiones pueden estar ocultos o son poco visibles en una curva del calorímetro sin modulación.

Como ejemplo de lo anterior la cristalización o la evaporación de un material volátil en un polímero pueden ser procesos reversibles si se considera que la prueba se realice con un tiempo suficiente para que los cristales se derritan y la humedad perdida se reabsorba. Es por esto que el término no reversible denota que, al tiempo

y a la temperatura a las cuales se realizó la medición, el proceso fue no reversible a pesar de que podría ser reversible (Lacey, Price & Reading, 2006).

Las transiciones vítreas provocan un cambio en la capacidad calorífica, estas dependen del tiempo y no ocurren en condiciones de equilibrio (Wunderlich, 2005). El cambio que ocurre en la capacidad calorífica se puede interpretar como una discontinuidad. Su posición varía con la velocidad de calentamiento y con la frecuencia, lo cual indica que es un evento cinético (Lacey, Price & Reading, 2006). El cambio de un polímero de un estado fluido o rígido es dependiente del tiempo es decir que si se aplica un esfuerzo varias veces en un periodo de tiempo corto el polímero puede ser elástico; si se aplica por más tiempo puede sufrir una distorsión permanente y no retornar a su forma original.

En el caso de las transiciones de primer orden, como la evaporación, la adición de calor no se muestra como un incremento en la temperatura, sino como un cambio en la estructura que se caracteriza con el calor latente, siendo la temperatura constante (Wunderlich, 2005). El factor que determina la velocidad de la transición es la velocidad a la cual el calorímetro puede proveer calor. El área bajo el pico es la medida del calor latente de transición (Lacey, Price & Reading, 2006).

1.6.3. USO DE LA CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO EN EL ESTUDIO DE CRIOGELES E HIDROGELES

La calorimetría diferencial de barrido es una técnica ampliamente usada para la caracterización de los materiales; en los polímeros, se ha logrado caracterizarlos mediante las temperaturas en las cuales experimenta un cambio como una transición de fase o transición vítrea.

En los polímeros se han identificado tres tipos de agua, estrechamente ligada o no congelable, débilmente ligada y agua no ligada, las cuales pueden congelarse, los cambios en la temperatura de fusión de los cristales está relacionado con la fuerza con la cual las moléculas de agua están ligadas a las cadenas de polímero,

dado que la movilidad del agua en los polímeros es reducida debido a la estructura ordenada de la matriz con el agua (Bhaskar, Ford & Hollingsbee, 1998). Dicha información permite determinar las aplicaciones para las cuales son aptos.

En el caso de los criogeles, la calorimetría ha permitido estudiar la forma en la cual se lleva a cabo el proceso de gelificación durante los ciclos de congelación y descongelación. También se ha logrado identificar los factores que influyen en la forma en como los polímeros establecen sus enlaces entre los grupos responsables de las zonas de unión en los criogeles, tales como la velocidad de congelación, la cantidad y estructura del polímero usado, de la misma manera, se ha estudiado el grado de estructuración de estos materiales mediante la medida de la cantidad de agua no congelable, dichos resultados se muestran en términos de entalpía de fusión.

La calorimetría se ha utilizado en combinación con las medidas reológicas para caracterizar tanto térmicamente como mecánicamente a los criogeles y así obtener una caracterización más amplia.

Actualmente muchos polisacáridos como el hialurón, carboximetilcurdlan, carboximetilcelulosa, xantana, β - glucanos, algarrobo, almidón, maltodextrina y agarosa son capaces de formar criogeles. Generalmente el grado de gelificación o la estabilidad y el comportamiento mecánico del gel depende del pH, la temperatura de congelación, el tiempo de congelación, el periodo y ciclos de congelación-descongelación, mientras que la estabilidad y propiedades mecánicas usualmente aumentan con el incremento de ciclos y el tiempo de congelación (Zhang, F. Zhang & Wu, 2013).

Tanaka, Hatakeyama & Hatakeyama H. (1998), analizaron criogeles de algarrobo mediante medidas reológicas y calorimétricas. La rigidez de los criogeles aumentó cuando el ciclo se repitió más de tres veces, esto se explica por la interacción de los grupos hidroxilo de las moléculas con el aumento de los ciclos.

Hatakeyama, Naoi, Iijima & Hatakeyama H. (2003), analizaron la cantidad de agua no congelable de criogeles de algarrobo mediante la calorimetría diferencial de barrido. A partir de que el agua que está restringida por la matriz del polímero no muestra transición de fase de primer orden, el agua no congelable fue calculada a partir del pico de fusión en los criogeles e indica que la zona de unión se vuelve más densa con el aumento del número de ciclos. Los resultados muestran que la disminución de la cantidad de agua no congelable con el aumento de los ciclos es consecuencia de que las moléculas de algarrobo se alinean con cada ciclo, confirmando que la gelificación es afectada por la velocidad de congelación que a su vez influye en el tamaño del hielo formado. El tamaño de los cristales de hielo se relaciona con las zonas de unión, ya que las cadenas de algarrobo son apiladas debido al crecimiento de hielo.

Iijima, Hatakeyama T. & Hatakeyama H. (2012) estudiaron la formación de criogeles de algarrobo usando la calorimetría diferencial de barrido y pruebas termomecánicas. Sus resultados indican que para la formación de la red en los criogeles es necesario que se tenga una apropiada estructura molecular, es decir que los bloques de galactosa deben estar distribuidos de tal forma que puedan hacer contacto con otra galactosa mediante un enlace de hidrógeno entre los grupos hidroxilo. Los autores plantean que cuando se lleva a cabo la congelación la movilidad de las cadenas de algarrobo en la solución disminuye debido a que el agua que rodea a la molécula comienza a congelar y por lo tanto la distancia intermolecular disminuye. De las pruebas termomecánicas se observó que con el aumento de la velocidad de congelación hay un aumento en el módulo de Young (parámetro que caracteriza las propiedades elásticas de un material), los resultados indican que con un enfriamiento rápido se forma una red densa y empaquetada. Durante el primer ciclo de congelación no se observó la formación de una red, sin embargo con el aumento de éstos, las cadenas moleculares se agregan y las zonas de unión aumentan. Con una velocidad de congelación rápida, la temperatura y entalpía de fusión de los cristales disminuye, sugiriendo que ocurre un equilibrio molecular con los ciclos y más cadenas de polímero son incluidas en las zonas de unión del criogel.

Considerando que el agua es el componente mayoritario en muchos materiales, también se puede usar la entalpía de evaporación como un indicativo de la forma en que se encuentra estructurado un gel ya que la difusión del agua se ve afectada por las características de la matriz de polímero y también, un retraso en la remoción del agua, así como el incremento en la entalpía de transición (calor de vaporización), son generalmente interpretados como un indicativo de la fuerte unión del agua al sustrato (Biliaderis, 1983).

En un estudio a geles de carbopol, Fresno & Jiménez (2005), aplican la calorimetría diferencial de barrido para determinar la distribución del agua en dichos geles. Los valores de fusión del agua libre se utilizan para la caracterización de la red matricial de polímero y demuestran que un incremento de la concentración de polímero y el pH producen un incremento lineal en la entalpía de fusión. Concluyeron que la entalpía es un parámetro complementario en la caracterización del grado de estructuración de los geles. El mayor grado de desarrollo estructural incrementa la proporción de agua retenida en relación a la libre, disminuyendo el valor de entalpía.

Borgogna, Bellich, Zorzon, Lapasin & Cesáro, (2010), estudiaron la influencia de diferentes componentes en el comportamiento viscoelástico de las soluciones iniciales y realizaron la caracterización térmica de geles de alginato e hidroxipropilmetilcelulosa. Los cambios en la temperatura dependientes de la evaporación del agua se tomaron como evidencia de la velocidad con la que se evapora el agua del sistema, como el componente mayoritario es el agua, ésta puede estar distribuida en diferentes formas. Los resultados tuvieron como objetivo cuantificar estas formas y el proceso de deshidratación durante el calentamiento y los termogramas de la evaporación del agua en varios sistemas de gel mostraron diferencias de las muestras líquidas como el agua pura o la solución de alginato.

Bellich, Borgogna, Cok & Cesáro, (2011) analizaron las curvas calorimétricas de soluciones y geles de alginato y su mezcla con hidroxipropilmetilcelulosa, con la finalidad de extraer parámetros numéricos de cada curva. Tomando la medida de la evaporación del agua como una determinación de un fenómeno que es debido a la

difusión a través de la estructura porosa del gel, la razón fue desarrollar un método simple para entender las propiedades de una matriz compleja de gel en términos de un calorímetro. Siendo el agua el componente mayoritario los eventos térmicos pueden asociarse al proceso de evaporación del agua libre, aunque están más o menos restringidos durante la difusión por la dimensión de los poros del gel, como consecuencia los termogramas dependen de la composición de la matriz. Los resultados muestran que la evaporación del agua en sistemas no gelificantes es más rápida que en otros sistemas y el cambio en la entalpía de evaporación está relacionado con la composición del sistema, es decir que, al aumentar la complejidad de la estructura de la matriz se observa un aumento en la fracción de agua ligada y la evaporación se observa a temperaturas más altas.

Vyas, Pradhan, Pavaskar & Lachke, (2004) analizaron el contenido de agua en sustratos de celulosa, con análisis térmico diferencial (DTA) y termogravimetría (TG). Las curvas de vaporización de DTA para las diferentes muestras indican que la cantidad de agua ligada fue evaporada a una temperatura mayor que el agua libre en la superficie. Las pérdidas de peso se observaron en dos pasos, correspondiendo al agua libre y al agua ligada en las curvas de TG. Los resultados mostraron que la cantidad de agua depende de la estructura de la celulosa, a menor cristalinidad mayor contenido de agua ligada, es decir que el grado de ordenamiento en la estructura influye en lo anterior. El tipo de celulosa Walseth mostró la pérdida de agua en dos pasos, la evaporación del agua libre ocurrió por encima de 60 °C y aproximadamente a 80 °C para el agua ligada, debido a que el agua ligada depende de la arquitectura molecular de las cadenas de celulosa y de su capacidad para formar enlaces de hidrógeno con el agua, la cantidad de agua ligada varía, además se sabe que existe un reacomodo molecular en la región amorfa de la celulosa y esta es reversible, debido a la absorción y desorción de agua.

Villetti, Soldi, Pires, Borsali & Soldi V., (2002), analizaron la estabilidad térmica y los parámetros cinéticos de la degradación de sodio hialuron, xantana y metilcelulosa, encontrando que en calentamiento de 25 a 90 °C la pérdida de masa es dependiente de la temperatura y la composición. La metilcelulosa muestra una

sola pérdida de masa correspondiente a la reacción de degradación mientras que xantana y el hialuron sódico muestran dos pérdidas, la primera es la que corresponde a la pérdida de agua y la segunda a la degradación.

Capítulo 2

DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1 JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

La congelación es uno de los procesos más aplicados para la conservación de los alimentos y se basa en el cambio de estado del agua contenida en la estructura. Al pasar de estado líquido a sólido se dan una serie de cambios físicos, químicos y biológicos. Entre los cambios más importantes se encuentran los cambios de estructura relacionados con el crecimiento de los cristales de hielo; esto se refleja comúnmente en las pérdidas por goteo que surgen debido a que la estructura original se ha modificado y no es capaz de retener el agua por lo que esta sale.

Se han planteado distintas alternativas para mejorar las condiciones de la congelación y evitar los cambios en los alimentos debido al proceso. Una de estas opciones es la utilización de sustancias que tienen la capacidad de interactuar con los componentes del alimento para modificar la forma en que se da el crecimiento de cristales, llamadas crioprotectores, entre ellos se encuentran los carbohidratos y las proteínas, los cuales son biopolímeros con capacidad de retención de agua.

Por otra parte, algunos biopolímeros son capaces de formar criogeles, que son sistemas que se obtienen mediante la repetición de ciclos de congelación-descongelación de dispersiones, por lo que estos materiales tienen diferentes grados de estructuración y propiedades que dependen de las condiciones a las que se lleven a cabo los ciclos.

Los criogeles no requieren la utilización de otro componente para llevar a cabo su estructuración, más que la dispersión del biopolímero, y la utilización de diferente número de ciclos, permitiendo que se utilicen concentraciones más bajas que las que se utilizan para la obtención de los hidrogeles mediante calentamiento o enfriamiento; por lo que representan una alternativa, ya que se busca que estos no alteren a los alimentos y que no sean un peligro para el consumidor.

Los crioprotectores al ser aditivos, entran en contacto directo con los componentes y pueden alterar la estabilidad de los alimentos, por lo que se requiere

investigar más compuestos que permitan proteger a los alimentos de los daños por el crecimiento de cristales; para ello es necesario el entendimiento de su estructura y la forma en la que actúan.

Tomando en cuenta lo anterior en el presente trabajo se plantea la posibilidad de que los criogeles puedan prevenir los daños por congelación, si se incorporan a un alimento con estructura celular, como la carne, reduciendo la movilidad del agua que se encuentra fuera de las fibras del músculo, manteniendo las características de la carne en la congelación, disminuyendo los daños por el crecimiento de los cristales y las pérdidas por goteo.

2.2 OBJETIVO GENERAL. Evaluar la factibilidad del uso de criogeles de carboximetilcelulosa como crioprotectores, mediante el análisis de su estructura y su aplicación en el proceso de congelación de carne de cerdo.

2.3 OBJETIVO PARTICULAR 1. Determinar los cambios en la estructura de los criogeles, debidos a tres ciclos de congelación / descongelación, mediante el análisis de puntos iniciales de congelación, flujos de calor, entalpías y capacidad calorífica para relacionarlo con la capacidad de su uso como crioprotectores.

2.4 OBJETIVO PARTICULAR 2. Determinar el número de ciclos en los criogeles que permitan reducir los daños por congelación en carne de cerdo mediante el análisis de las pérdidas por goteo, para relacionarlo con la capacidad de su uso como crioprotectores.

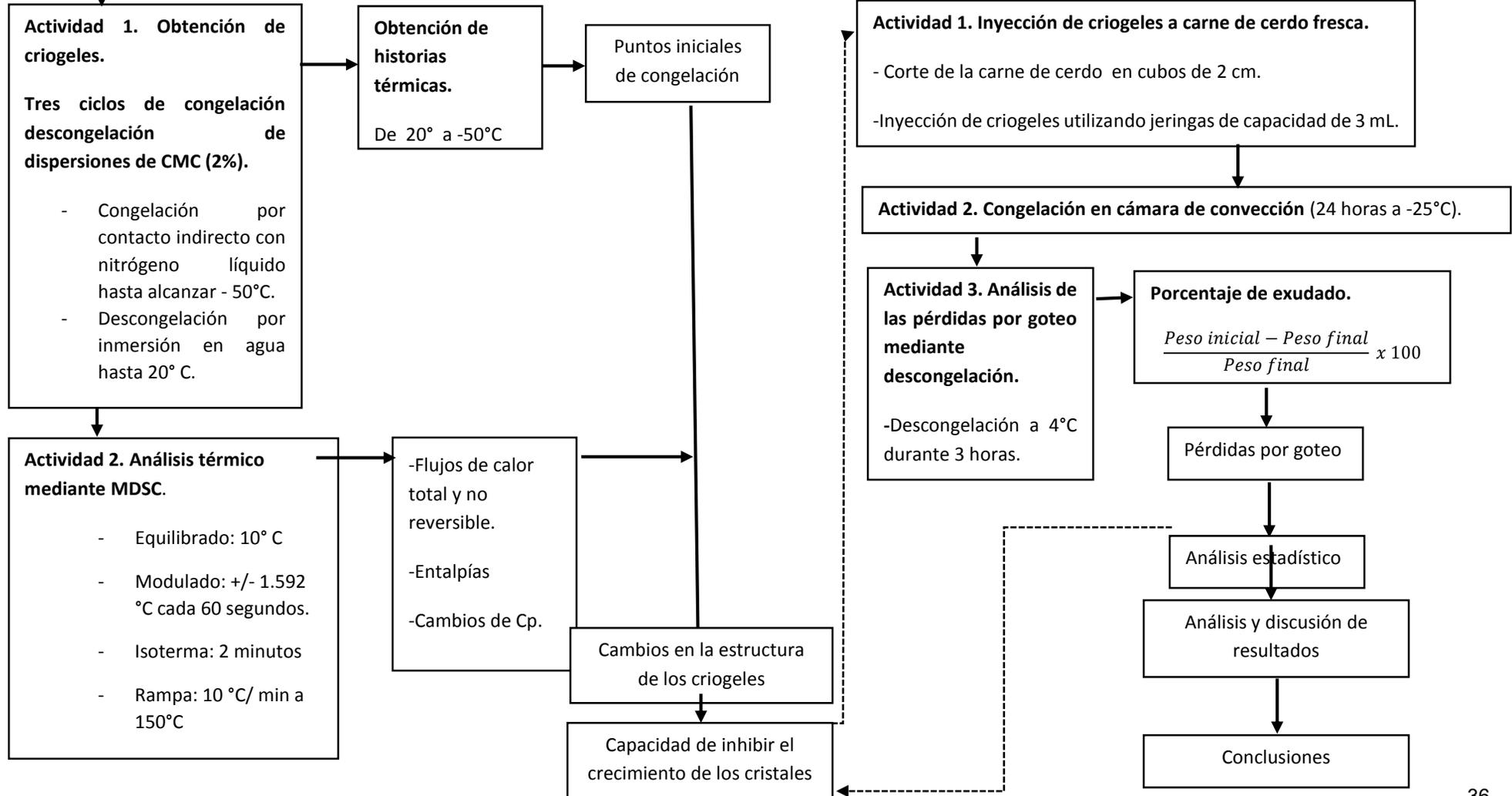
2.5 HIPÓTESIS DE TRABAJO. Las pérdidas por goteo se reducirán al aplicar un criogel con el mayor número de ciclos de congelación- descongelación debido a que su estructura estará compuesta por enlaces más fuertes entre las cadenas de polímero, permitiendo una mayor interacción con el agua extracelular de la carne, lo que se reflejará en un menor crecimiento de cristales de hielo.

APLICACIÓN DE CRIOGELES DE CARBOXIMETILCELULOSA COMO CRIOPROTECTORES PARA CARNE DE CERDO (*Longissimus thoracis*) EN CONGELACIÓN

OBJETIVO GENERAL. Evaluar la factibilidad del uso de criogeles de carboximetilcelulosa como crioprotectores, mediante el análisis de su estructura y su aplicación en la congelación de carne de cerdo

OBJETIVO PARTICULAR 1. Determinar los cambios en la estructura de los criogeles, debidos a tres ciclos de congelación- descongelación, mediante el análisis de puntos iniciales de congelación, flujos de calor, entalpías y capacidad calorífica para relacionarlo con la capacidad de su uso como crioprotectores

OBJETIVO PARTICULAR 2. Determinar el número de ciclos de los criogeles que permitan reducir los daños por congelación en carne de cerdo mediante el análisis de las pérdidas por goteo, para relacionarlo con la capacidad de su uso como crioprotectores



2.7 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

El trabajo se dividió en dos objetivos particulares, el primero de ellos se refiere al estudio de los criogeles. La determinación de los cambios en la estructura de los criogeles fue necesario ya que una estructura firme es asociada a la capacidad para inhibir el crecimiento de los cristales de hielo.

2.7.1 OBJETIVO PARTICULAR 1. Determinar los cambios en la estructura de los criogeles, debidos a tres ciclos de congelación- descongelación, mediante el análisis de puntos iniciales de congelación, flujos de calor, entalpías y capacidad calorífica para relacionarlo con la capacidad de su uso como crioprotectores.

2.7.1.1 Actividad 1. Preparación de criogeles.

La metodología empleada para la preparación de los criogeles se basó en lo reportado por Okay (2004) quien recopila distintas técnicas de preparación de criogeles. La preparación de los criogeles partió de dispersiones de carboximetilcelulosa con concentración de 2%. Se utilizó agua destilada a temperatura de 20 °C. Las dispersiones se llevaron a cabo en el equipo UltraTurrax, a 10 000 rpm durante 15 minutos.

Las dispersiones preparadas y el número de ciclos a la que se sometieron se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Número de ciclos aplicados a la dispersión de carboximetilcelulosa al 2%

Dispersión de CMC al 2%	Número de ciclos de congelación- descongelación.
1	Sin ciclos
2	1 ciclo
3	2 ciclos
4	3 ciclos

Para la congelación se utilizó nitrógeno líquido por contacto indirecto, contenido en un Dewar Nalgene de 1L de capacidad. Para sujetar las dispersiones de carboximetilcelulosa se colocó un disco con cuatro orificios dentro del Dewar, como se observa en la Figura 10.

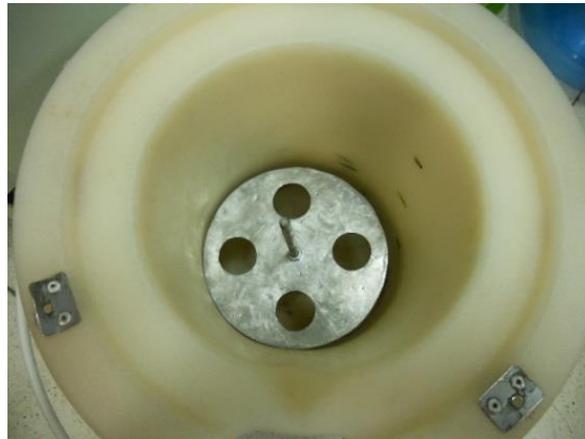


Figura 10. Colocación del soporte para las muestras de CMC dentro del Dewar Nalgene.

Las dispersiones se colocaron en Tubos Falcon de 50 mL, Figura 11, a los que se les hizo un orificio en la tapa para colocar los termopares.



Figura 11. Tubos Falcon de 50 mL con dispersión CMC al 2%.

La recolección de datos de las historias térmicas de cada ciclo se realizó de la temperatura de 20 °C a -50 °C por medio del software Test Link SE 309.

Después de la congelación, las dispersiones se descongelaron mediante la inmersión en agua a 30 °C hasta que alcanzaran la temperatura de 20 °C. Este procedimiento se repitió hasta que se obtuvieron los tres ciclos.

Las historias térmicas se utilizaron para obtener los puntos iniciales de cada ciclo, mediante el cálculo de la primera derivada y a partir de estos determinar si existen cambios en la estructura para comprobar que son capaces de formar criogeles en estas condiciones.

2.7.1.2 Actividad 2. Análisis térmico mediante Calorimetría Diferencial de Barrido Modulada (MDSC).

El instrumento utilizado fue un Calorímetro Diferencial de Barrido con Modulación de Temperatura marca TA Instruments serie 2920. El análisis tiene como finalidad analizar la estructura de los criogeles con los diferentes ciclos de congelación- descongelación, para relacionarlo con su capacidad de inhibir el crecimiento de los cristales de hielo.

El peso aproximado de las muestras fue de 9 miligramos (mg) y el procedimiento utilizado fue:

1. Pesar la charola y su tapa, una vez pesados colocar la cantidad de muestra necesaria, cuidando que no queden burbujas que puedan alterar el flujo de calor; sellar con la prensa y volver a pesar.
2. A continuación colocar la referencia y la muestra en el disco de constatan.
3. Establecer las condiciones de la prueba, para este trabajo fueron:
 - Equilibrado: 10 ° C
 - Modulado: ± 1.592 °C cada 60 s.
 - Isotherma: 2 minutos
 - Rampa: 10 °C/ min hasta 150 °C
 - De 10 a 150 °C

2.7.2 OBJETIVO PARTICULAR 2. Determinar el número de ciclos en los criogeles que permitan reducir los daños por congelación en carne de cerdo mediante el análisis de las pérdidas por goteo, para relacionarlo con la capacidad de su uso como crioprotectores.

Los criogeles fueron inyectados a carne de cerdo (*Longissimus thoracis*) que se sometió a congelación lenta y después fue descongelada para determinar la cantidad de exudado.

2.7.2.1 Actividad 1. Inyección de criogeles a carne de cerdo fresca.

La carne de cerdo se cortó en cubos de 2 cm. Los criogeles con diferentes ciclos de congelación- descongelación se aplicaron utilizando jeringas de capacidad de 3 mL. Para la cantidad de criogel que debía inyectarse se recurrió al porcentaje utilizado en la inyección de marinados en la industria cárnica, el cual es de 7 a 15 % del peso de la carne fresca (www.cein.inaope.mx).

2.7.2.2 Actividad 2. Congelación en cámara de convección.

Los cubos de carne con criogel se colocaron en frascos de plástico y se sometieron a congelación por 24 horas en una cámara de congelación por convección marca Tor Rey a -25 °C.

2.7.2.3 Actividad 3. Análisis de las pérdidas por goteo mediante descongelación.

El análisis de las pérdidas por goteo se realizó a partir de la cantidad de exudado; la metodología utilizada se basó en el Manual de análisis de la calidad de muestras de carne de la SAGARPA y se describe a continuación:

1. Colocar cada cubo de carne en una bolsa de plástico junto con papel absorbente.
2. Para descongelar se meten las muestras al refrigerador a temperatura de 4°C durante 3 horas.
3. Registrar los pesos iniciales y finales para obtener la cantidad de exudado mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Exudado} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso final}} \times 100$$

Se realizaron tres repeticiones, asimismo se utilizó el Análisis de Varianza Simple (ANOVA) de una sola vía para el tratamiento estadístico de los datos con nivel de significancia de 5% ($\alpha = 0.5$), para comprobar la existencia de diferencias entre las medias de las muestras de carne con criogel, se realizó una prueba de comparación de medias (prueba de Tukey), considerando un nivel de significancia de 5% con cinco tratamientos y tres repeticiones cada uno.

Capítulo 3

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En este capítulo se presentan los resultados, así como su análisis, siguiendo el orden planteado en los objetivos del capítulo dos.

3.1 OBJETIVO PARTICULAR 1

Como se mencionó anteriormente, el objetivo particular 1 contempló el proceso de formación de los criogeles de cmc, por medio del análisis de los puntos iniciales de congelación y de la estructura de los criogeles obtenidos, mediante la calorimetría diferencial de barrido (MDSC) para correlacionar su comportamiento con su capacidad de uso como criogeles.

3.1.1 HISTORIAS TÉRMICAS DE CONGELACIÓN.

Se registraron las historias térmicas de congelación de los tres tratamientos de los criogeles de cmc, usando un termopar tipo k. Dichas historias térmicas se presentan en la Figura 12.

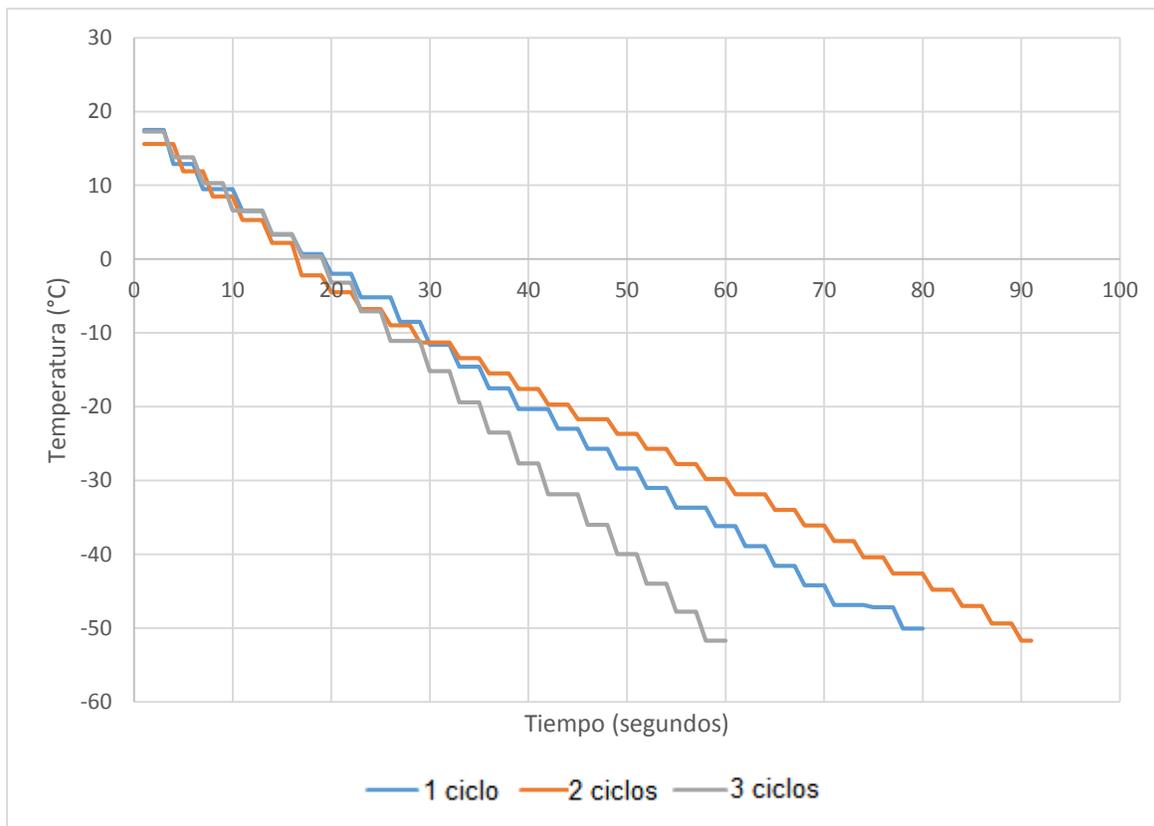


Figura 12. Historia térmica de congelación de los ciclos de congelación de CMC 2%.

Como puede observar en la Figura 12, las historias térmicas no muestran el típico cambio del punto inicial de congelación a simple vista, debido a que se trata de una congelación rápida. El tamaño y número de cristales formados es resultado de la velocidad de nucleación y crecimiento (Zaritzky, 2010). Se realizó un análisis de los cambios en la pendiente de las historias térmicas, para comprobar si existe un cambio en la movilidad del biopolímero durante el transcurso de los ciclos.

Los cambios de pendiente en las historias térmicas pueden indicar que la movilidad del agua y de las cadenas de polímero ha disminuido debido a la formación de los cristales de hielo. Las diferencias entre la primera y la segunda historia puede indicar que la temperatura inicial de congelación se ha desplazado debido a un cambio en la movilidad de las cadenas del polímero, el cual ya había sido congelado previamente, provocando un descenso; además, se observa que el tiempo requerido para alcanzar la temperatura de $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, es mayor para el segundo ciclo (91 segundos), que para el primer ciclo (80 segundos), los cambios en la pendiente de las historias térmicas se mantienen en valores menores como consecuencia de una disminución en la movilidad del agua y las cadenas del polímero ya que existe un incremento en la cantidad de hielo. En el tercer ciclo, también puede darse un cambio en la temperatura inicial de congelación, debido a los cambios de movilidad.

En las historias térmicas no se observa claramente una declinación de la curva que indica la concentración del polímero, sin embargo, mediante el análisis de los cambios de la pendiente de las curvas junto con el dato teórico, permitieron determinar si existen cambios entre los ciclos de congelación.

3.1.2. PUNTOS INICIALES DE CONGELACIÓN.

Mediante un análisis de las historias térmicas se determinó el punto de congelación de cada una, siendo éste el punto donde la temperatura se mantiene constante, formando una meseta, u ocasionando un cambio de pendiente en la gráfica. Este

punto es donde los cristales de hielo y el agua líquida coexisten (Machado & Vélez, 2008).

Utilizando el concepto de derivada, se realizó el análisis de las historias térmicas, como ejemplo se muestra la Figura 13 en la que se analizó la historia térmica de la primera congelación.

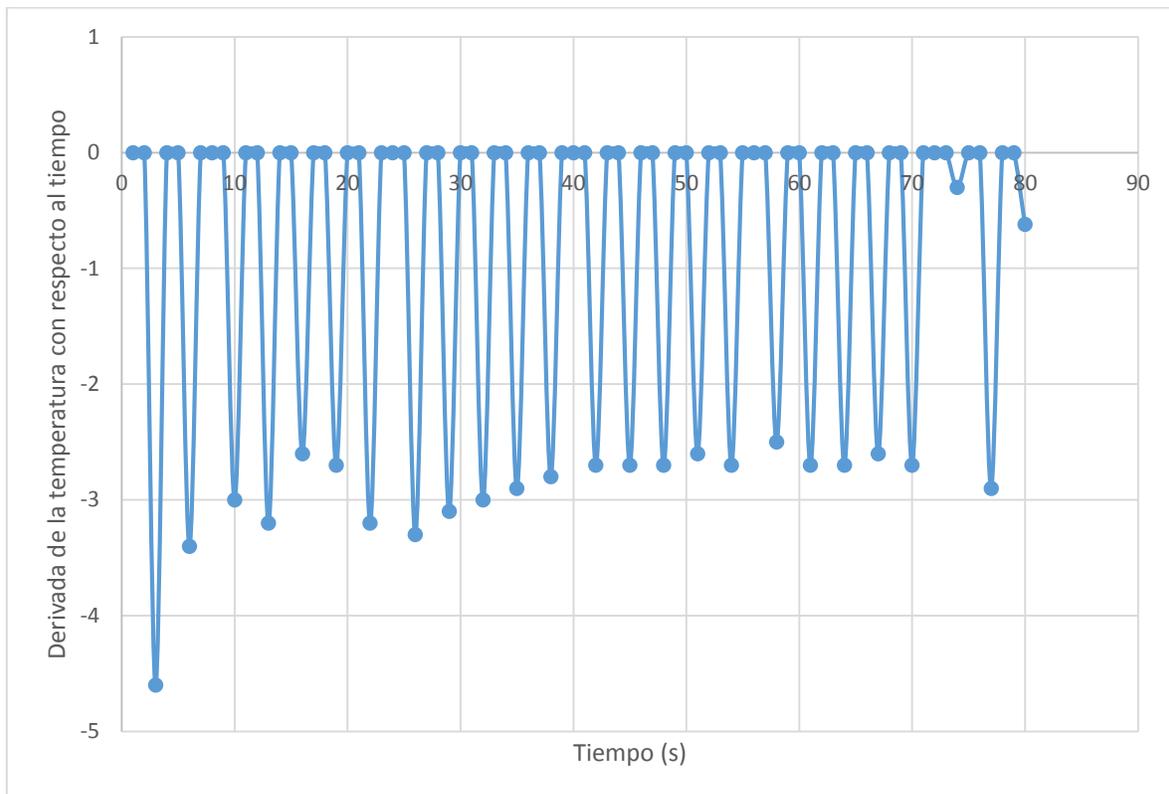


Figura 13. Gráfico de la derivada de la temperatura con respecto al tiempo, de la primera historia térmica de la congelación aplicada a CMC al 2%

Considerando que los cambios de pendiente representan la presencia de cristales en el sistema, el cambio más pronunciado se determinó como la temperatura de inicio del proceso para las historias térmicas, en el caso de la primera congelación se observa que el pico representativo corresponde a -2°C , en donde la derivada tiene un cambio significativo. Los resultados que se obtuvieron se encuentran en la Tabla 3.

Tabla 3. Puntos iniciales de congelación (PIC) de cada ciclo.

Número de ciclo	1 ciclo	2 ciclos	3 ciclos
PIC (°C)	-2	-2.2	-3.2

Machado & Vélez, (2008) realizaron un estudio sobre el proceso de congelación de diez alimentos mexicanos para determinar el efecto del cambio de fase, los puntos iniciales de congelación varían de $-0.01\text{ }^{\circ}\text{C}$ para el nopal, hasta $-35.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ para la pasta de mole, el puré de mamey con $-3.25\text{ }^{\circ}\text{C}$, aguacate $-3.00\text{ }^{\circ}\text{C}$, chile poblano $-1.75\text{ }^{\circ}\text{C}$, la pulpa de mango $-1.62\text{ }^{\circ}\text{C}$ y la clara de huevo $-1.48\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los autores mencionan que las diferencias se deben al contenido de humedad de éstos, un mayor contenido de sólidos solubles provoca una depresión mayor del punto. La presencia de otros componentes, como grasa, proteína y cenizas, los cuales influyen también, esto explica la razón por la cual el mole, con un contenido de grasa alto y de humedad bajo, presentó un punto de congelación tan bajo.

El cambio que se observa entre las tres historias de congelación, puede deberse a varios factores, los cuales se explican a continuación.

En sistemas viscosos, el volumen de difusión puede influenciar la velocidad de nucleación; a alta concentración, o alta viscosidad la nucleación del hielo resulta inhibida (Nicoletti, 2012). Considerando lo anterior, el cambio en los puntos iniciales de congelación responde al hecho de que en cada ciclo existe un aumento en las interacciones del polímero debido a la cristalización del agua, las cuales permiten la creación de una estructura que modifica el proceso de formación de hielo, por lo tanto no es debido a la modificación de las propiedades coligativas; más bien el cambio se debe a que la estructura desarrollada por el biopolímero no permite que el frente de hielo avance.

El impedimento mecánico que ejerce un biopolímero en una solución fue estudiada por Blond (1988) y menciona que la velocidad de cristalización es lenta

en soluciones de biopolímeros, dicho fenómeno es probablemente consecuencia de un efecto mecánico de los polímeros sobre el crecimiento del cristal.

Otro aspecto importante a considerar dentro del proceso de formación de los criogeles, es la capacidad del biopolímero para cambiar su configuración con los ciclos de congelación- descongelación. La presencia de grupos carboxilo que salen de la estructura y los grupos hidroxilo de la cadena principal ayudan a dicha capacidad. Muchos polisacáridos capaces de formar criogeles tienen una gran cantidad de grupos hidroxilo y carboxilo en el esqueleto de las cadenas de biopolímero, esto sugiere que la naturaleza de las uniones intermoleculares y las zonas de unión en la mayoría de los criogeles son puentes de hidrógeno (Zhang, Zhang & Wu, 2013).

Si se considera el mecanismo de formación de criogeles propuesto por Lozinsky *et al.* (2003), se puede decir que los cambios en las temperaturas muestran que en cada ciclo, la movilidad del biopolímero de cmc experimenta cambios, debidos al aumento de las interacciones entre sus cadenas, como resultado de la concentración durante la congelación, favoreciendo de esta manera, la creación de una estructura más fuerte, el hecho de que los puntos iniciales de congelación aumenten puede reflejar un aumento en la resistencia que presenta el criogel, al inicio de la formación de hielo. Es por lo anterior que el número de ciclos afecta la estructura de los criogeles.

Lozinsky *et al.* (2008) en una investigación de las propiedades fisicoquímicas y de morfología de criogeles de poli- vinil alcohol (PVA), encontraron que el número de ciclos afecta las propiedades de los criogeles, ya que en el transcurso de los ciclos, puede aumentar el carácter cooperativo de las interacciones entre cadenas en los nudos de unión de la red de polímero. Aumentando los ciclos, las cadenas residuales se incluyen en las zonas de unión y se forma una red, densa y empaquetada por el enfriamiento rápido (Iijima, Hatakeyama & Hatakeyama, 2012).

En cuanto al biopolímero, es importante mencionar que la forma en la que se prepara la disolución inicial que dará origen al criogel, influye en su formación, ya que el método puede proporcionar mayores puntos de interacción para la formación

de redes. Feddersen & Thorp (1993) mencionan que la formación de un gel de cmc con bajo nivel de sustitución, es decir con pocos grupos hidroxilo capaces de establecer interacciones con el solvente, puede llevarse a cabo con un cizallamiento previo, esto se debe probablemente a la disgregación de las micelas en regiones cristalinas, que provee de más puntos potenciales para la reticulación. Considerando esto, probablemente el cizallamiento de la solución inicial de cmc contribuyó a que durante los ciclos, el biopolímero pudiera tener más puntos para crear uniones.

Aunado a lo anterior; la cmc es un polianión que con el aumento de la concentración, asume una configuración menos extendida (Kumsah, Pass & Phillips, 1976). Esto también puede explicar la forma en como el biopolímero va creando uniones en la zona sin congelar durante cada ciclo, por lo que hay más de una forma en la cual el biopolímero crea la estructura del criogel.

3.1.3. CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO MODULADA

En el análisis térmico se obtuvieron los flujos de calor total, reversible y no reversible, con la finalidad de analizar las diferencias en su comportamiento, resultado de los ciclos de congelación y descongelación; para relacionarlo con la capacidad de su uso como crioprotectores, partiendo de que la firmeza de un gel ha sido asociada a la inhibición del cristal.

3.1.3.1 FLUJO DE CALOR TOTAL

A continuación se muestran los termogramas de flujo de calor total (Figura 14) de la dispersión de cmc y los criogeles con 1, 2 y 3 ciclos de congelación y descongelación.

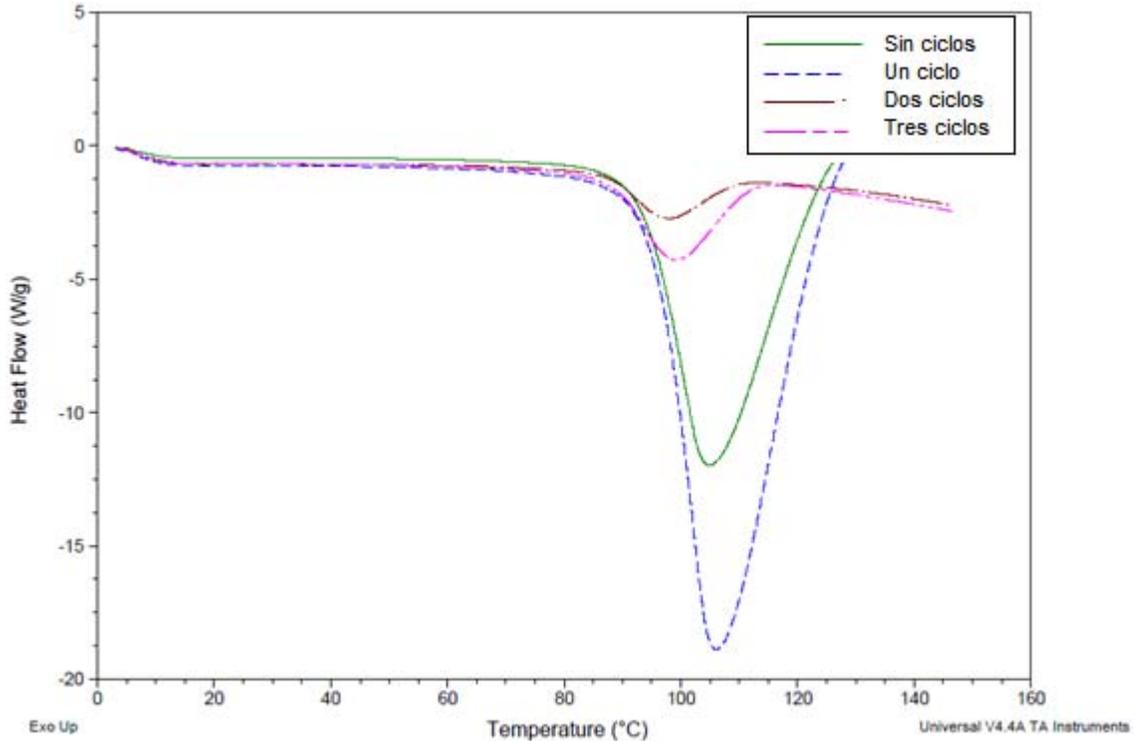


Figura 14. Termogramas de flujo de calor total de la dispersión (sin ciclos) y de criogeles.

Bellich, Borgogna, Cok y Cesáro, (2011) estudiaron el proceso de evaporación del solvente en esferas de alginato, y en combinación con quitosán e hidroxipropilmetilcelulosa. Concluyeron que la evaporación depende del proceso de difusión a través de la estructura porosa del gel, ya que está más o menos restringido por la dimensión de los poros y que la evolución de la curva de evaporación depende de la composición de la matriz del gel, es decir de la presencia de compuestos que influyen en la cantidad de agua retenida por la estructura y la forma en que éstos interactúan. Lo anterior indica la capacidad de los biopolímeros para retener el agua debido a sus propiedades estructurales y a la forma en como establecen zonas de unión.

En los termogramas (Figura 14), se puede realizar una comparación entre los flujos donde se observan diferencias entre la dispersión de cmc y los criogeles. Por otra parte se notan diferencias también entre los criogeles.

Dichas diferencias entre las curvas de evaporación del agua libre muestran que el proceso de formación de los criogeles mediante la congelación y la descongelación da como resultado diferencias, no solo en cuanto a la rigidez, también en el tamaño de los poros presentes. La diferencia entre la dispersión de cmc y el primer ciclo muestra que probablemente existía una estructura previamente formada, la cual al aplicar la primera congelación y descongelación experimentó una ruptura que modificó el tamaño de los poros, lo cual influyó en la evaporación del agua libre; claramente se observan diferencias entre la dispersión sin ciclos y los criogeles con dos y tres ciclos, probablemente a partir del segundo ciclo, la concentración dio lugar a la formación de una estructura con mayor número de uniones las cuales permiten que se retenga una mayor cantidad de agua. Sin embargo las diferencias entre el segundo y el tercer ciclo pueden ser debidas a la modificación en el tamaño de los poros, es posible considerar que si bien existen mayores uniones en la red del criogel con el aumento de los ciclos, también es probable que el crecimiento de los cristales lleve a un aumento del tamaño de los poros. Lozinsky *et al.* (2008) mencionan que la cristalización del agua en los microporos del criogel conduce a una expansión física de los poros y es acompañada por un incremento en el número de contactos intermoleculares de la red de polímero en las paredes de los macroporos, esto incrementa la rigidez. Es posible que la compactación de la fase de gel sea facilitada por el estrés físico durante la congelación del agua. Lo anterior puede explicar las diferencias en las señales, no solo de flujo de calor total, también de señales reversibles y no reversibles.

Estos cambios en el comportamiento indican que el biopolímero tiene respuestas muy distintas bajo calentamiento, estas respuestas son resultado de la estructura del criogel y pueden influir en la forma en cómo actúan como crioprotectores, la evaporación muestra que la cantidad de agua libre varía con

cada ciclo, disminuyendo conforme se aumenta el ciclo, la diferencias en la evaporación pueden deberse también a la modificación en el tamaño del poro; la constante durante los ciclos es la creación de un criogel que retiene mayor cantidad de agua.

3.1.3.2 TEMPERATURAS INICIALES, MÁXIMAS, FINALES Y ENTALPÍAS DE EVAPORACIÓN

Las entalpías de evaporación se obtuvieron a partir del flujo de calor total, se realizó la integración del área bajo la curva, obteniéndose los resultados reportados en la Tabla 4.

Tabla 4. Temperaturas iniciales, máximas, finales y entalpías de evaporación en flujo de calor total.

Número de ciclos	Temperatura inicial (°C)	Temperatura máxima (°C)	Temperatura final (°C)	Entalpía (J/g)
Sin ciclos	83.83	104.93	125.1	1224
Un ciclo	84.01	106.13	126.49	1925
Dos ciclos	84.9	97.66	109.47	107.7
Tres ciclos	83.83	99.05	113.57	247.3

Bellich, Borgogna, Cok y Cesáro, (2011) mencionan que el cambio en la entalpía de evaporación está relacionado con la composición. Al aumentar la complejidad de la estructura de la matriz se observa un aumento en la fracción de agua ligada. Las diferencias que se observan en la evaporación son atribuidas a la presencia de más componentes en los geles de alginato, ya que la adición de quitosan e hidroxipropilmetilcelulosa que son polímeros hidrofílicos, refuerzan la

matriz del gel y pueden retener mayor cantidad de agua. Lo anterior hace referencia a la capacidad de los biopolímeros para retener agua de diferentes formas, ya sea por los grupos funcionales presentes en su estructura o por la forma en que establecen enlaces para crear una red.

El aumento en la complejidad puede verse no solo como un aumento en las uniones de la red del polímero con cada ciclo, también puede verse como un aumento en el tamaño de poro. Las entalpías de evaporación muestran diferencias en la forma en que el agua libre se evapora de los criogeles, el agua se mueve dentro de los criogeles de diferentes formas dependiendo de cómo se constituya. En el caso de la dispersión sin ciclos, pudo retener cierta cantidad de agua mayor que el criogel con un ciclo, el cual debido a la congelación experimentó un cambio en la movilidad de las cadenas de biopolímero que permitió que se obtuviera una mayor cantidad de agua libre, es por eso que la entalpía de evaporación del criogel con un ciclo es mayor al que no tiene ciclos. Comparando las entalpías de los criogeles con uno, dos y tres ciclos, se observa una disminución de la entalpía; sin embargo, hay un aumento de la entalpía del criogel con dos ciclos al de tres ciclos, probablemente el cambio se deba a que el agua libre al evaporarse pase entre poros de mayor tamaño, que son resultado de las congelaciones que aumentan el tamaño del poro.

Las temperaturas de inicio, máximo y término de proceso de evaporación se modifican conforme se aumentan los ciclos de congelación y descongelación, esto puede corresponder a la forma en cómo se encuentra el agua ligada a la estructura, al estar débilmente ligada, o presente en la superficie del material, la evaporación del agua libre puede iniciarse antes, mientras que el agua ligada se evaporará a una temperatura mayor, debido a que la estructura del gel es un impedimento para que el agua ligada cambie de fase.

3.1.3.3 FLUJO DE CALOR NO REVERSIBLE

El flujo de calor total representa la suma de la contribución reversible y la no reversible. El flujo de calor no reversible está ligado a la cinética. La Figura 15 muestra los termogramas de flujo de calor no reversible de la dispersión sin ciclos y los criogeles con uno, dos y tres ciclos.

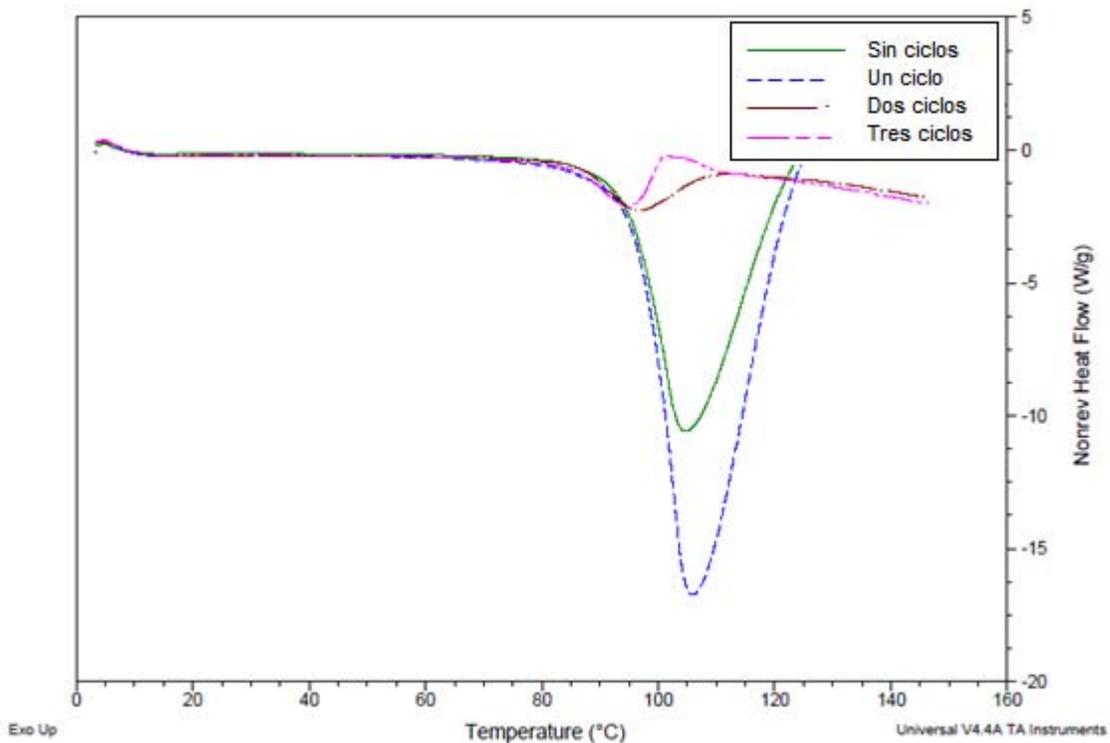


Figura 15. Termogramas de flujo de calor no reversible de dispersión (sin ciclos) y criogeles.

El flujo de calor no reversible está conectado a procesos que no pueden ser modulados del todo, como la reorganización, la cristalización irreversible o pérdidas de calor y también puede ser la pérdida de material volátil (Wunderlich, 2005).

Como se observa en la Figura 15, existe una clara diferencia entre las señales de la dispersión sin ciclos, con uno y dos ciclos con la señal del criogel con tres ciclos. Esta diferencia puede mostrar que durante la evaporación del solvente, la estructura del criogel experimenta algún evento no reversible, el cual puede ser una compactación debido al amontonamiento del biopolímero durante la extracción del solvente, si bien la evaporación se trata del agua libre, probablemente el criogel presente una respuesta irreversible de compactación, resultado de la rigidez que adquirió debido a los ciclos que hicieron que su estructura fuera más fuerte y responda a la evaporación del solvente mediante la compactación. En el caso contrario, se puede inferir que la dispersión y los criogeles con uno y dos ciclos tienen un comportamiento diferente al del criogel con tres ciclos durante la evaporación, y tal vez experimenten una reorganización que pueda ser reversible y por lo tanto no se manifiesta en esta señal no reversible. Lo anterior puede ser un indicio de que la estructura de los criogeles con uno y dos ciclos, si bien es capaz de soportar la evaporación del solvente, no tiene una rigidez tal que pueda experimentar una compactación irreversible, como puede ser el caso del criogel con tres ciclos.

3.1.3.4 TEMPERATURAS INICIALES, MÁXIMAS, FINALES Y ENTALPÍAS EN FLUJO DE CALOR NO REVERSIBLE

La Tabla 5 presenta las temperaturas y entalpías para el flujo de calor no reversible, obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 5. Temperaturas iniciales, máximas, finales y entalpías en flujo de calor no reversible.

Número de ciclos	Temperatura inicial (°C)	Temperatura máxima (°C)	Temperatura final (°C)	Entalpía (J/g)
Sin ciclos	81.86	104.81	125.1	1111
Un ciclo	81.26	105.94	124.49	1640
Dos ciclos	81.71	96.59	109.47	117.9
Tres ciclos	82.32	94.76	113.27	63.99

Como se observa en la Tabla 5, los valores de entalpía en flujo de calor no reversible muestran diferencias con las entalpías de flujo de calor total; estos valores representan la energía que se requiere para llevar a cabo la evaporación del agua libre. Las diferencias en cuanto a las temperaturas pueden mostrar que la evaporación puede retrasarse debido a la forma en la que se encuentra retenida el agua en la estructura, como en el flujo de calor total, las temperaturas de inicio, máximo y término de proceso se modifican conforme se aumentan los ciclos de congelación y descongelación.

Nuevamente se observan diferencias entre la dispersión y los criogeles, así como entre los criogeles, habiendo un cambio entre la dispersión sin ciclos y el criogel con un ciclo, este cambio puede mostrar que en el gel sin ciclos se formó una estructura que retuvo cierta cantidad de agua, mientras que en el criogel con un ciclo, la entalpía aumenta debido a que existe una mayor cantidad de agua libre que puede ser evaporada, conforme se aumentan el número de ciclos, la estructura del criogel atrapa más agua y la entalpía de evaporación disminuye.

En el segundo ciclo (Figura 15), se observa que la entalpía es menor a la del criogel con un ciclo, sin embargo, para el tercer ciclo, en donde se observa un pico exotérmico, la entalpía es menor, esto puede atribuirse a que el criogel con tres ciclos se comporta de una forma tal que, durante la evaporación experimenta una compactación o reorganización que resulta irreversible y dicha energía se manifiesta con un pico exotérmico en el flujo de calor, mientras que las muestras sin

ciclos, con uno y dos ciclos no presentan este comportamiento. Esto puede explicarse nuevamente por la existencia de una estructura rígida que si bien es resistente al proceso de evaporación del agua libre, experimenta una compactación que no puede ser reversible.

3.1.3.4 Cp REVERSIBLE

En el flujo de calor reversible es posible observar aquellos eventos que tienen que ver con el cambio en la capacidad calorífica, es decir modificaciones que dependen de la estructura.

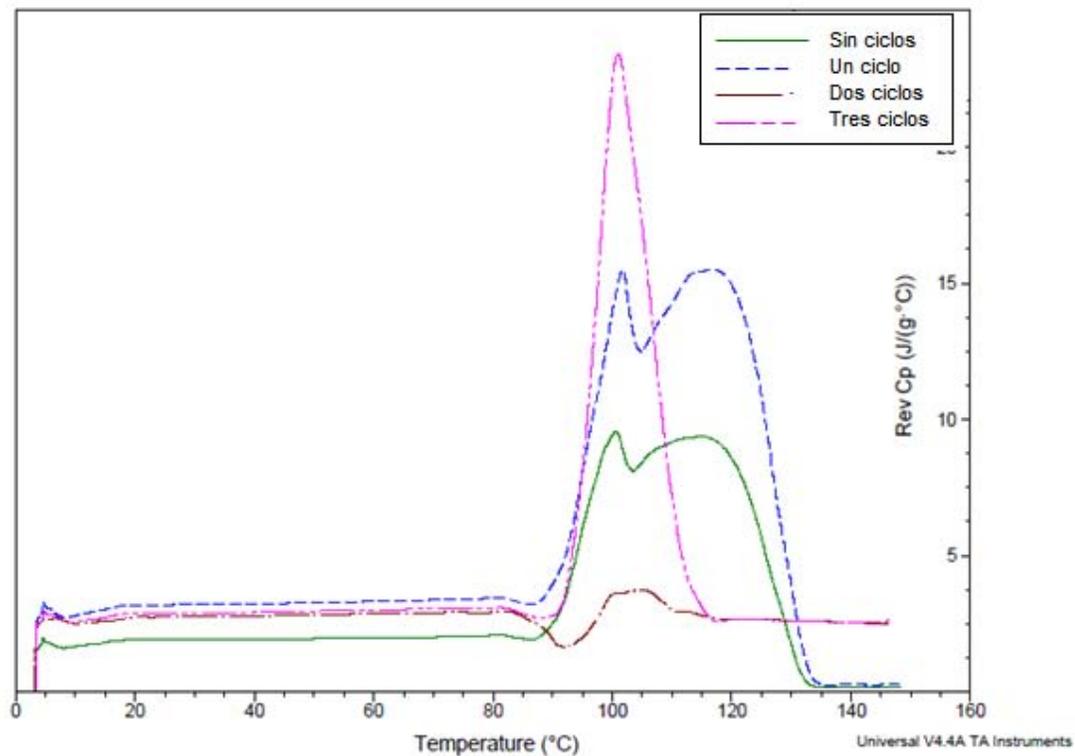


Figura 16. Termogramas de Cp reversible de dispersión (sin ciclos) y de criogeles.

En la Figura 16 se observan los cambios de la capacidad calorífica durante la evaporación del agua libre, de forma general se puede decir que estos eventos están relacionados con un posible reacomodo de la molécula de biopolímero debido a la extracción del agua.

Estos cambios que experimenta el biopolímero durante la evaporación muestran que es capaz de resistir el calentamiento ya sea mediante un reacomodo reversible o a una compactación no reversible, probablemente los eventos reversibles le permiten tener al biopolímero una mayor flexibilidad frente a diferentes eventos térmicos como pueden ser un calentamiento o un enfriamiento; existen evidencias de un reacomodo molecular en las moléculas de celulosa, las cuales son reversibles debido a la adsorción y desorción de agua (Vyas, Pradhan, Pavaskar & Lachke, 2004); mientras que la compactación del criogel con tres ciclos muestra la existencia de una estructura con una rigidez que le permite mantener su estructura sin cambios.

Es importante señalar que estos resultados dependen del comportamiento del biopolímero, las condiciones no estacionarias favorecen los eventos que no permiten un reacomodo gradual de la molécula de biopolímero.

Existen diferencias en los cambios que experimentan los criogeles y la dispersión sin ciclos durante la evaporación del agua libre que se muestra en las señales de flujo de calor total y no reversible. De forma general la dispersión sin ciclos, así como los criogeles con uno y dos ciclos muestran dos cambios importantes en la capacidad calorífica; mientras que el criogel con tres ciclos muestra un solo cambio importante.

La dispersión sin ciclos y el criogel con un ciclo, muestran dos cambios en la capacidad calorífica, los cuales inician a temperaturas cercanas a los 91 °C, indicando la presencia de agua libre susceptible a ser evaporada debido a la cantidad de capacidad calorífica, la cual es alta. El segundo cambio se caracteriza por una disminución de la cantidad de capacidad calorífica, lo cual es un indicativo del reacomodo de la estructura de la cmc como resultado de la evaporación del agua libre. El criogel con dos ciclos muestra también dos cambios importantes, sin

embargo, la temperatura a la cual inicia se desplaza hasta alrededor de los 96 °C indicando una estructura fortalecida que retrasa el inicio de la evaporación del agua, el primer cambio en la capacidad calorífica, puede indicar un aumento en la distancia intermolecular debida a la evaporación y después la disminución de la capacidad calorífica puede indicar la adopción de una configuración más estable por parte del biopolímero en la parte final de la evaporación. Para el criogel con tres ciclos se observa un cambio en la capacidad calorífica que comprende una cantidad grande de esta, lo anterior puede corresponder a una compactación de la carboximetilcelulosa durante la evaporación como resultado de una estructura que cuenta con enlaces fuertes en la red del criogel, dicho cambio comprende la región en la señal no reversible, lo cual puede sugerir que se trate de una compresión o de una reorganización que no se lleva a cabo de la misma forma que en los otros criogeles, debido a una diferencia en la estructura.

Las diferencias en los cambios de capacidad calorífica resultan influenciados, por los ciclos de congelación y descongelación aplicados a los criogeles; ya que estos modificarán la movilidad del biopolímero, así como el tipo y número de enlaces, tamaño y forma de los poros y la manera en la que el agua se distribuye dentro de la red de los criogeles; por lo tanto determinan la forma en la que el agua migre durante la evaporación. El gel sin ciclos cuenta con una estructura que es capaz de retener agua, sin embargo, se modifica al aplicar el primer ciclo de congelación y descongelación, debido a que los cristales de hielo rompen la estructura inicial y crean nuevas zonas donde se crean uniones y los cristales pueden llevar a la modificación de los poros.

Al aplicar un segundo ciclo de congelación y descongelación, la crioconcentración del biopolímero en las zonas sin congelar lleva a que las uniones se refuercen debido al aumento de las interacciones de la cmc en las cuales se establecen enlaces del tipo hidroxilo. Al aplicar el tercer ciclo de congelación y descongelación el biopolímero aun es capaz de establecer interacciones que permiten reforzar la estructura y al mismo tiempo existen modificaciones en la forma y en el tamaño de los poros, los cuales debido al tipo de congelación utilizado, son

muchos y de tamaño pequeño, dichos poros también experimenta cambios debido a que los cristales pueden aumentar su tamaño, y con la crioconcentración sus paredes se vuelven más resistentes.

Losinsky *et al.* (2008) menciona que la repetición de los ciclos conduce a un aumento en la porosidad después del segundo ciclo, y los ciclos subsecuentes hacen la morfología del criogel más heterogénea. A su vez, menciona que en la congelación de geles reticulados de una sola fase, el crecimiento de cristales de solvente congelado en la red de polímero de un gel, puede conducir a la ruptura de partes débiles de la cadena y cambiar la estructura del gel.

Recordando que el mecanismo de formación de los criogeles da como resultado, la formación de una estructura que cambia con cada ciclo de congelación y descongelación, los resultados pueden indicar que las diferencias realmente significativas se dan hasta la aplicación de un número de ciclos tal que, permita la generación de una estructura diferente a la inicial. Un ejemplo de lo anterior es el caso de criogeles de polivinil- alcohol (PVA), Losinsky *et al.* (2008) mencionan que la rigidez y la estabilidad térmica de los criogeles aumentan en proporción directa con la rigidez del gel. En dichos criogeles, estos aumentan con brusquedad a partir del segundo ciclo, este aumento parece decaer durante los subsecuentes tratamientos, debido a las posibilidades agotadas del sistema para formar nuevos enlaces dentro de la red de polímero formada.

Los eventos que se registran en las señales de flujo de calor total, reversible y no reversible muestran que los criogeles se comportan de diferente forma dependiendo de cómo está compuesta la estructura, los ciclos de congelación - descongelación influyen en cómo es que la molécula de biopolímero responde a la evaporación del solvente. Ya sea un reacomodo reversible o una compactación no reversible, estos comportamientos demuestran que los criogeles formados mediante la congelación y descongelación son estructuras capaces de soportar un evento térmico ya sea un calentamiento o un enfriamiento, debido a la presencia de uniones que permiten que estos se mantengan sin cambios significativos. Esto puede apoyar la idea de que cuentan con una estructura firme capaz de interferir en

el crecimiento del cristal durante la congelación en un medio acuoso. La diferencia de comportamiento puede dar diferencias en la forma en como los criogeles desarrollen la acción como crioprotector.

3.2 OBJETIVO PARTICULAR 2

El objetivo particular 2 contempló el análisis de la aplicación de los criogeles de cmc como crioprotectores en la carne de cerdo, mediante las pérdidas por goteo.

3.2.1 PÉRDIDA POR GOTEO EN DESCONGELACIÓN POR EXUDADO

Considerando que las pérdidas por goteo vienen dadas por la cantidad de líquido exudado de la carne sin la aplicación de una fuerza externa, a continuación se muestran los valores de exudado de la carne sin criogel, y con criogel de 1, 2 y 3 ciclos; calculados a partir de la diferencia de pesos entre las muestras antes y después de la congelación.

Tabla 6. Exudado en descongelación de carne sin criogel y con criogel con diferentes ciclos.

Número de ciclos	Exudado (g)	Desviación estándar	C.V.
Sin gel	0.03616	0.00075	0.02089
Gel sin ciclos	0.03185	0.00024	0.00765
1 ciclo	0.03032	0.00201	0.06634
2 ciclos	0.02860	0.00090	0.03177
3 ciclos	0.01840	0.00155	0.08435

Como se observa en el Tabla 6, existen diferencias entre la muestra control sin criogel y las muestras con criogel. Como se mencionó anteriormente las diferencias vienen dadas por la forma en que los criogeles establecen una interacción con el agua presente entre las fibras de los músculos. De manera general se puede observar que la cantidad de exudado en la carne de cerdo sin criogel fue mayor que en las muestras con gel sin ciclos y los criogeles con ciclos.

3.2.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS PÉRDIDAS POR GOTEO

Se realizó un análisis de varianza simple ANOVA, a los resultados de cantidad de exudado, con nivel de significancia del 5% ($\alpha = 0.05$), donde la prueba de hipótesis es:

$H_0 = \mu \text{ sin criogel} = \mu \text{ gel sin ciclos} = \mu \text{ criogel con un ciclo} = \mu \text{ criogel con dos ciclos} = \mu \text{ criogel con tres ciclos.}$

$H_1 = \text{al menos una media es diferente.}$

Considerando el valor de F de las tablas de distribución F, con grados de libertad del error de 10 y grados de libertad de tratamientos de 4 se obtiene un valor de tablas de F de 3.478, al ser un valor menor a la F calculada, se rechaza la hipótesis nula H_0 de que todas las medias son iguales y se considera que las medias son distintas.

Como se observa en la Figura 17, existen diferencias entre las muestras que tienen criogel y la que no tiene, siendo esta la muestra que tuvo la mayor cantidad de exudado.

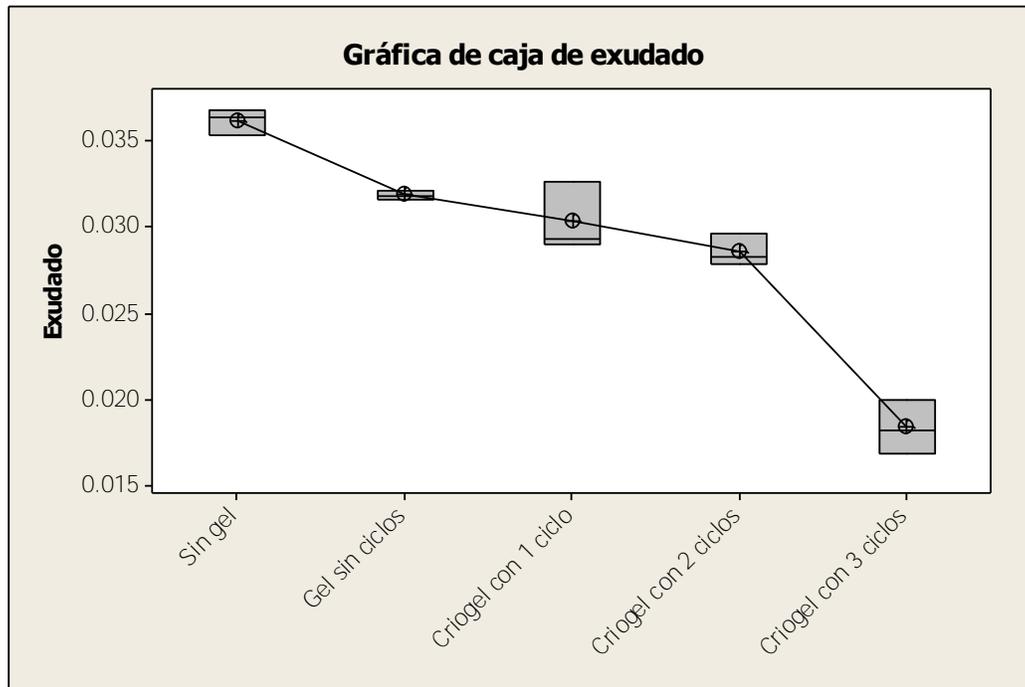


Figura 17. Exudado de muestras de carne de cerdo en descongelación.

Durante la congelación hay un cambio en el volumen que se expande aproximadamente 9% cuando se transforma en hielo. Las áreas con cristales de hielo se expanden y otras se contraen provocando daño mecánico. Cuando se producen cristales extracelulares, la deshidratación y contracción de las células causa la ruptura o el plegado de las membranas celulares (Nicoletti, 2012). El hecho de que la muestra control tenga el mayor porcentaje de exudación indica que los cristales de hielo formados, durante la congelación lenta, dañaron la estructura del músculo, afectando a la capacidad de retención de agua de las proteínas.

Las muestras con gel sin ciclos, con 1 y 2 dos ciclos (Figura 17), no muestran una diferencia significativa entre sí, sin embargo, tienen una menor cantidad de exudado con respecto a la muestra control. Se debe tomar en cuenta que lo anterior puede indicar una similitud en la funcionalidad que desarrollan como crioprotector, ya que en los flujos de calor, el gel sin ciclos y los criogeles con 1 y 2 ciclos muestran comportamientos similares que están ligados a la estructura que se obtuvo con la aplicación de los ciclos de congelación y descongelación que influyen en la forma

en cómo van a interactuar los criogeles con el agua que se encuentra entre las fibras musculares. Los criogeles son capaces de retener agua, debido a la presencia de una estructura que cuenta con numerosas zonas de unión en la red de polímero, esta puede ser la razón por la cual también son capaces de interactuar y retener el agua libre que se encuentra entre las fibras y disminuir las pérdidas por goteo. También se puede ver que la cantidad de exudado de la muestra con criogel de 3 ciclos, es distinta a todas las muestras, siendo la que menor cantidad de exudado presenta. Al tener la mayor cantidad de ciclos de congelación y descongelación, este criogel tiene una estructura capaz de retener mayor cantidad de agua, de esta forma podrá establecer una interacción mayor con el agua libre presente en la carne.

Las muestras con criogel muestran una disminución en los porcentajes de exudado, con respecto a la muestra control, esto puede explicarse por la capacidad de los biopolímeros para interactuar con el agua que se encuentra entre las fibras musculares, modificando por lo tanto, el proceso de formación del hielo durante la congelación.

Para comprobar que existen diferencias entre las medias de las muestras de carne de cerdo con criogel se realizó una prueba de comparación de medias.

Se realizó la prueba de Tukey, considerando un nivel de significancia de 5%, con cinco tratamientos y tres repeticiones de cada uno, se obtiene el valor de q de la tabla de la distribución de Tukey, $q = 4.65$. Con el valor anterior se obtiene el valor de la Diferencia Mínima Significativa Honesta $DMSH = 0.0033958$.

La prueba de Tukey considera el cálculo de la diferencia entre cada par de medias, la cual se compara con el valor de la Diferencia Mínima Significativa Honesta (DMSH), si la excede entonces la diferencia es significativa, de otra forma se considera que las medias son iguales.

Como se observa en la Tabla 7, las parejas de medias de las muestras; Gel sin ciclos- Criogel con un ciclo, Gel sin ciclos- Criogel con dos ciclos, Criogel con un ciclo- Criogel con dos ciclos; no presentan una diferencia significativa, según la prueba de Tukey. Si se considera el comportamiento que muestran, el gel sin ciclos

y los criogeles con uno y dos ciclos, en los flujos de calor, se puede ver que estas tres muestras tienen un comportamiento similar al igual que en el C_p reversible, por lo tanto, puede decirse que el efecto crioprotector puede ser similar debido a que poseen una estructura que manifestó una respuesta que fue similar en la evaporación, caracterizada por dos cambios importantes de capacidad calorífica.

Tabla 7. Prueba de Tukey para las medias de pérdidas por goteo.

TRATAMIENTO	$Y_1 - Y_2$	
Sin gel- Gel sin ciclos	0.00431	si hay diferencia
Sin gel- Criogel con un ciclo	0.00584	si hay diferencia
Sin gel- Criogel con dos ciclos	0.00756	si hay diferencia
Sin gel- Criogel con tres ciclos	0.01776	si hay diferencia
Gel sin ciclos- Criogel con un ciclo	0.00153	no hay diferencia
Gel sin ciclos- Criogel con dos ciclos	0.00325	no hay diferencia
Gel sin ciclos- Criogel con tres ciclos	0.01345	si hay diferencia
Criogel con un ciclo- Criogel con dos ciclos	0.00172	no hay diferencia
Criogel con un ciclo- Criogel con tres ciclos	0.01192	si hay diferencia
Criogel con dos ciclos- Criogel con tres ciclos	0.0102	si hay diferencia

En las parejas de medias donde se observa una diferencia, el impedimento mecánico al avance del hielo, puede ser una de las formas en la cual los criogeles de carboximetilcelulosa desarrollen su acción crioprotectora. La importancia del efecto mecánico puede variar acorde a la naturaleza y el número de zonas de unión en la red y esto se ha demostrado en medidas realizadas en sistemas gelificados. En consecuencia se observa que la velocidad de propagación del frente de hielo es menor en un gel que en una solución (Blond, 1988).

El hecho de que el criogel de cmc modifique la cantidad de exudado en la carne puede explicarse en la forma en la que puede interactuar con el agua que se encuentra fuera de las fibras. Regand y Goff (2003), estudiaron la forma en la cual los biopolímeros, es decir las proteínas y los estabilizantes; actúan en la recristalización del hielo en soluciones. Mencionan que la capacidad de retención de agua de los estabilizantes y las proteínas y en algunos casos el impedimento estérico (causado por la influencia de un grupo funcional, este se produce cuando el volumen ocupado por una molécula impide que otra parte de la misma reaccione); inducido por la red de gel del estabilizante probablemente cause una reducción en la movilidad del agua del sistema, promoviendo los mecanismos de recristalización del hielo del tipo fusión- recrecimiento, en lugar de fusión- difusión- crecimiento. Este mecanismo resulta en la preservación del tamaño del cristal y una distribución del tamaño de cristal pequeño.

Considerando lo anterior, la acción crioprotectora de los criogeles de cmc, puede ser, no solo, resultado del impedimento mecánico; también la capacidad que tienen los biopolímeros de interactuar con el solvente mediante grupos hidroxilo y carboxilo, presentes en su estructura puede contribuir a la modificación de la formación de hielo. La estructura del estabilizador puede afectar la velocidad a la cual el agua puede difundir de la superficie de un cristal en crecimiento durante la fluctuación de la temperatura o la velocidad a la cual los solutos y las macromoléculas pueden difundir fuera de la superficie del cristal en crecimiento (Nicoletti, 2012).

La cmc posee interacciones hidrofóbicas, por lo que se puede inferir que los biopolímeros interactúan en más de una forma con el agua y la manera en que reducen el punto inicial de congelación, es comparable con las proteínas (Navarro, 2008).

Las proteínas anticongelantes son producidas por plantas y animales; algunos glucopéptidos y péptidos se adsorben en el hielo impidiendo la formación, debido a la inhibición de la propagación normal de las capas de hielo a través de la superficie cristalina (Orrego, 2008). Por lo que, estas proteínas deprimen el punto inicial de

congelación de forma no coligativa. Estas poseen estructura en forma de α - hélice con pesos moleculares variados y contienen una parte hidrofílica que interactúa con el hielo y una parte hidrofóbica que impide que las moléculas de agua continúen agregándose a la superficie del hielo. Esto afecta las fuerzas interfaciales entre el hielo y el líquido alterando la condición de equilibrio (Frommer & Lancet, 1971).

4. CONCLUSIONES.

a) Para corroborar el proceso de formación de los criogel de carboximetilcelulosa se determinaron los puntos iniciales de congelación. El cambio con cada ciclo de congelación y descongelación, se debe a la formación de una estructura por parte del biopolímero que constituye una barrera para el avance del hielo. Esta estructura se origina debido a la crioconcentración, la cual permite que las cadenas de biopolímero interactúen y formen zonas de unión del criogel; por lo tanto se puede decir que el número de ciclos influye en la estructura de los criogel.

b) Para calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC) los criogel presentaron un comportamiento diferente frente a la evaporación, el cual depende de cómo se encuentra conformada su estructura. Las señales de flujo de calor indican que los criogel experimentan un reacomodo o una compactación, por lo que se puede decir que los criogel pueden soportar un calentamiento o un enfriamiento ya que cuentan con una estructura, que a su vez tiene uniones que permiten que esta se mantenga sin cambios significativos. Lo anterior puede confirmar la idea de que son capaces de modificar el crecimiento del cristal durante la congelación.

c) Las pérdidas por goteo en descongelación, confirmaron que existe mayor pérdida en muestras de carne de cerdo sin criogel. Las diferencias entre las muestras con criogel pueden ser debido a la manera en la que los criogel interactúan con el agua presente entre las fibras del músculo.

d) Las diferencias entre la muestra de carne sin criogel y con criogel, puede ser debido al impedimento mecánico que ejerce el criogel al proceso de formación del hielo; sin embargo, también se debe considerar la capacidad del biopolímero de interactuar con el solvente por medio de su estructura, ya que cuenta con grupos hidroxilo y carboxilo que pueden contribuir a la acción crioprotectora de los criogel de carboximetilcelulosa. El mecanismo mediante el cual interactúa con el agua puede ser similar al que utilizan las proteínas anticongelantes.

e) Al realizar el análisis estadístico, no se encontraron diferencias significativas entre el gel sin ciclos, y los criogeles con uno y dos ciclos. Considerando el comportamiento similar entre estas muestras, que se observó en el Cp reversible; puede decirse que el efecto crioprotector pudo ser similar debido a que poseen una estructura que respondió de forma parecida durante la evaporación.

5. BIBLIOGRAFÍA

Agoulon A., (2012), Impacto de los parámetros de congelación en las características de los alimentos, Carburos Metálicos Grupo Air Products, E.U.

Añón M.C. & Calvelo A., (1980), Freezing rate effects on the drip loss of frozen beef, *Meat Science*, **4**, 1- 14.

Belitz H.D., Grosch W. & Schieberle P., (2009), Meat, en *Food Chemistry*, (pp. 563-616), Berlín: Springer.

Bellich B., Borgogna M., Cok M. & Cesáo A., (2011), Water evaporation form gel beads, *Journal of the Thermal Analysis and Calorimetry*, **103** (1), 81 - 88.

Bhaskar G., Ford J.L. & Hollingsbee D.A., (1998), Thermal analysis of the water uptake by hydrocolloids, *Thermochimica Acta*, **322**, 153 - 165.

Biliaderis C.G., (1981), Differential scanning calorimetry in food research – a review, *Food Chemistry*, **10**, 4, 239 – 265.

Blond G., (1988), Velocity of linear crystallization of ice in macromolecular systems, *Cryobiology*, **25**, (1), 61- 66.

Borgogna M., Bellich B., Zorzín L., Lapasin R. & Cesáro A., (2010), Food microencapsulation of bioactive compounds: rheological and thermal characterisation of non- conventional gelling system, *Food Chemistry*, **122**, 416-423.

Chambers R., & Hale H.P., (1932), The formation of ice in protoplasm, *Proceedings of the Royal Society*, **B110**, 336- 352.

Dickinson E. (1998), Stability and rheological implications of electrostatic milk protein–polysaccharide interactions, *Trends in Food Science & Technology*, **9**, 347–354.

Downey G., (2003), Effects of cryoprotectant mixtures on physical properties of frozen and thawed pureed cooked potatoes: some introductory studies, *International Journal of food science and technology*, **38**, 857- 868.

Feddersen L. R. & Thorp N.S., (1993), Sodium carboxymethylcellulose, en Academic Press Inc., Industrial Gums: polysaccharides and their derivatives, (pp. 537- 578).

Fernández C., Álvarez M.D. & Canet W., (2008), Steady shear and yield stress data of fresh and frozen/thawed mashed potatoes: effect of biopolymers addition, *Food Hydrocolloids*, **22**, 1381- 1395.

Fresno M.J. & Jiménez M., (2005), Análisis térmico aplicado a la caracterización estructural de geles de carbopol Ultrez 10, 7° Congreso SEFIG, 92 – 95, Salamanca, España.

Frommer M.A.& Lancet D., (1971),Freezing and non freezing wáter in cellulose acetate membranes, *Journal of Applied Polymer Sciences*, **16**, 1295- 1303.

Gill P.S., Sauerbrunn S.R. & Reading M., (1993), Modulated differential scanning calorimetry, *Journal of Thermal Analysis*, **40**, 931- 939.

Hatakeyama T., Naoi S., Iijima M. & Hatakeyama H. (2005), Locust bean gum hydrogels formed by freezing and thawing, *Macromolecular Symposia*, **224**, 253 – 262.

Hoefler C.A., (1971), *Sodium carboxymethylcellulose: chemistry, functionality and applications*, food ingredients Group Hercules Incorporated, Wilmington, Delaware.

Iijima M., Hatakeyama T. & Hatakeyama H., (2012), DSC and TMA studies on freezing and thawing gelation of galactomannan polysaccharide, *Thermochimica Acta*, **532**, 83- 87.

James C., Purnell G. & James J.S., (2015), A review of novel and innovative food freezing technologies, *Food and Bioprocess Technology*, **8**, 1616- 1634.

Kumar A., Mishra R., Reinwald Y. & Bhat S., (2010), Cryogels: freezing unveiled by thawing, *Materials Today*, **13** (11), 42- 44.

Kumsah C.A., Pass G. & Phillips G.O., (1976), The interaction between sodium carboxymethylcellulose and water, *Journal of Solution Chemistry*, **5**, 799 – 806.

Lacey A.A., Price M.D. & Reading M., (2006), Theory and practice of modulated temperature differential scanning calorimetry, en Springer, *Modulated Temperature Differential Scanning Calorimetry: Theoretical and Practical Applications in Polymer Characterisation*, (pp. 1-81).

Lawrie R.R. & Ledward D., (2006), *Lawrie's Meat Science*, (séptima ed.), Woodhead Publishing.

Leygonie C., Britz J.T. & Hoffman L.C., (2012), Impact of freezing and thawing on the quality of meat: review, *Meat Science*, **91**, 93- 98.

Lozinsky V.I., Galaev I.Y., Plieva F.M., Savina I.N., Jungvid H. & Mattiasson B., (2003), Polymeric cryogels as promising materials of biotechnological interest, *Trends in Biotechnology*, **21** (10), 445- 451.

Lozinsky V.I., Damshkaln L.G., Kurochkin I.N. & Kurochkin I.I., (2008), Study of cryostructuring of polymer systems: physicochemical properties and morphology of poly (vinyl alcohol) cryogels formed by multiple freezing- thawing, *Colloid Journal*, **70** (2), 189- 198.

Luna M.J.F., (2011), Síntesis y caracterización de materiales nanoestructurados a base de una matriz polimérica de carboximetilcelulosa. Tesis de doctorado en Ingeniería de Materiales, Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica.

Mac Donald G.A. & Lanier T.C., (1997), Cryoprotectants for improving frozen- food quality, en Springer, *Quality in Frozen Food*, (pp. 197- 232).

Machado K.M. & Vélez J.F., (2008), Estudio de propiedades físicas de alimentos mexicanos durante la congelación y el almacenamiento congelado, *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, **7**, (1), 41- 54.

Maddock R., (2009), Formulación de marinados para inyección de carne de bovino fresca, recuperado de [http:// www.cein.inaope.mx](http://www.cein.inaope.mx)

Moran T., (1929), Critical temperature of freezing in living muscle, *Proceedings of the Royal Society*, **B 105**, 177- 197.

Muhr A.H. & Blanshard J.M., (1986), Effect of polysaccharide stabilizers on the rate of growth of ice, *Journal of Food Technology*, **21**, 683- 710.

Navarro G.P.L. (2008), Determinación de las propiedades energéticas del hielo fluido mediante un análisis de los procesos de cristalización y fusión de soluciones de biopolímeros por calorimetría diferencial de barrido con modulación de la temperatura, México: Tesis de licenciatura. Ingeniería en Alimentos, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, U.N.A.M.

Nicoletti V.R. (Ed.), (2012), *Biopolymer Engineering in Food Processing*, E.U: CRC Press.

NOM-030-ZOO-1995 Especificaciones y procedimientos para la verificación de carne, canales, vísceras y despojos de importación en puntos de verificación zoosanitaria.

Orrego A.C.E., (2008), *Procesamiento de Alimentos*, Colombia: Universidad de Colombia.

Okay O. (Ed.), (2014), *Polymeric cryogels: macroporus gels with remarkable properties*, Suiza: Springer.

Payne S.R., Sanford D., Harris A. & Young O.A., (1994), The effects of antifreeze proteins on chilled and frozen meat, *Meat Science*, **37**, 429- 438.

Payne S.R. & Young O.A., (1995), Effect of pre- slaughter administration of antifreeze proteins on frozen meat quality, *Meat Science*, **41**, 147- 155.

Ribeiro M. & Grolier J. E., (1999), Temperature modulated DSC for th investigation of polymer materials: a biref account of recent studies, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, **57**, 253- 263.

Regand A. & Goff H.D., (2003), Structure and ice recrystallization in frozen stabilized ice cream model solutions. *Food Hydrocolloids*, **17**, 95 – 102.

SAGARPA, (2011), Manual de análisis de calidad en muestras de carne, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento animal, México.

Semenova G. M., (2007), Thermodynamic analysis of the impact of molecular interactions on the functionality of food biopolymers in solution and in colloidal systems, *Food Hydrocolloids*, **21**, 23- 45.

Singh R.P. & Heldman D.R., (1984), *Introduction to Food Engineering*, Academic Press, Nueva York.

Tanaka R., Hatakeyama T. & Hatakeyama H., (1998), Formation of locust bean gum hydrogel by freezing – thawing, *Polymer International*, **45**, 118 – 126.

Vyas S., Pradhan S.D., Pavaskar N.R. & Lachke A., (2004), Differential thermal and thermogravimetric analyses of bound water content in cellulosic substrates and its significance during cellulose hydrolysis by alkaline active fungal cellulases, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **118**, 177- 188.

Villetti M.A., Crespo J.S., Soldi M.S., Pires A.T.N., Borsali R. & Soldi V., (2002), Thermal degradation of natural polymers, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, **67**, 295- 303.

Wagner J.R. & Añón M.C., (1985), Effect of freezing rate on the denaturation of myofibrillar proteins, *International Journal of Food Science and Technology*, **20**, 735- 744.

Wunderlich B., (2005), *Thermal Analysis of Polymeric Materials*, Springer, Holanda.

Zhang H., Zhang F. & Wu J., (2013), Physically crosslinked hydrogels from polysaccharides prepared by freeze- thaw technique, *Reactive and Functional Polymers*, **73**, 923- 928.