



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO  
POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES  
FACULTAD DE CIENCIAS

LA TRANSICIÓN VÍTREA Y SU APLICACIÓN A SISTEMAS  
BIOLÓGICOS

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIA E INGENIERÍA DE  
MATERIALES

PRESENTA:

SOLEDAD RUIZ MATUS

TUTOR PRINCIPAL:

DRA. PATRICIA GOLDSTEIN MENACHE  
FACULTAD DE CIENCIAS UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

DR. LUIS FELIPE DEL CASTILLO DÁVILA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES UNAM

DRA. KARINA MARTINEZ MAYORGA  
INSTITUTO DE QUÍMICA UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, JUNIO DE 2018  
Cd. Mx.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.



# AGRADECIMIENTOS

A Víctor por su apoyo incondicional, por su alegría y optimismo, por compartir sus experiencias y consejos, parte fundamental de mi formación, por hacerme creer de nuevo en este camino maravilloso de la lectura y la investigación.

A mi familia: a mi padre por su apoyo infinito que junto a Ceci me animan a continuar, a mis hermanos por su cariño y compañía. A mi madre por brindarme alegría a pesar de la distancia. A mi abuela por sus consejos y sus sabias palabras.

A mi tutora Dra. Patricia Goldstein por su apoyo infinito en mi carrera profesional, por darme la increíble oportunidad de aprender y trabajar con ella. Al Dr. Luis Felipe y la Dra. Karina por sus valiosas atenciones y contribuciones para el desarrollo de este trabajo.

A la UNAM por darme la oportunidad de continuar mi formación profesional. Al Dr. Marcos Ley Koo, nuestra luz en la oscuridad. A los miembros del jurado por sus importantes observaciones y por el tiempo dedicado. A todos los que han contribuido a la realización de un proyecto más en mi vida.

A todos ustedes, ¡muchas gracias!

*Soledad Ruíz Matus*



---

---

# ÍNDICE GENERAL

---

Índice general . . . . .	V
Introducción . . . . .	1
Objetivos . . . . .	3
Capítulo 1. Transiciones de fase termodinámicas . . . . .	5
1.1. Diagrama de fases de una sustancia pura . . . . .	5
1.2. Clasificación de las transiciones de fase. . . . .	7
1.3. Diagramas de fase para sistemas binarios. Mezcla de dos componentes . . . . .	9
Capítulo 2. La transición Vítreo. La dependencia de la viscosidad con la temperatura . . . . .	13
2.1. Vidrios y la transición vítrea . . . . .	13
2.2. Antecedentes históricos y teóricos sobre la transición vítrea . . . . .	15
Capítulo 3. Metaestabilidad y las mezclas sobreenfriadas . . . . .	21
3.1. Metaestabilidad de composición: sobresaturación . . . . .	22
3.2. Diagrama de estado para el sistema agua - sacarosa . . . . .	25
Capítulo 4. La transición vítrea en soluciones acuosas de sacarosa y trehalosa. La viscosidad . . . . .	29
4.1. Azúcares. . . . .	29

---

4.2. Viscosidad en una mezcla binaria: agua + disacárido . . . . .	32
4.2.1. Dependencia de la viscosidad con la temperatura . . . . .	32
4.2.2. Dependencia de la viscosidad con la concentración . . . . .	32
<b>Capítulo 5. Resultados: viscosidad de las mezclas agua + azúcares y su dependencia con la temperatura a concentración fija . . . . .</b>	<b>35</b>
5.1. Viscosidad en función de la temperatura a concentración constante. . . . .	35
<b>Capítulo 6. Conclusiones . . . . .</b>	<b>43</b>
<b>Capítulo 7. Perspectivas . . . . .</b>	<b>45</b>
<b>Bibliografía . . . . .</b>	<b>53</b>

---

# INTRODUCCIÓN

---

Los primeros registros escritos de la fabricación del vidrio son algunas famosas tablillas de arcilla, datadas aproximadamente en el año 650 aC, pero no se entienden completamente porque no se tiene un diccionario para explicar los términos técnicos. Pasaron muchos siglos antes de que las descripciones escritas de la fabricación de vidrio tuvieran alguna información útil además de las recetas para ser seguidas de memoria. El desarrollo más temprano en la fabricación del vidrio del que se tiene una descripción razonablemente documentada parece ser la invención del vidrio de plomo por Ravenscroft alrededor de 1673-1676.<sup>82</sup> El fenómeno de la transición vítrea se descubrió y comenzó a discutirse en publicaciones alrededor de la década de 1930.<sup>20</sup>

El vidrio que vemos todos los días en una ventana, es el ejemplo más conocido de un sólido amorfo diseñado. La mayoría de los plásticos así como el silicio usado en muchas células fotovoltaicas es amorfo, y es posible que la mayoría del agua en el Universo se encuentre en estado vítreo.<sup>42</sup>

El enfoque que se le ha dado a la teoría de la transición vítrea en la ciencia de polímeros ha demostrado ser útil para comprender las relaciones estructura-función de los alimentos, asegurando así un mejor procesamiento de los alimentos, mantener las propiedades del producto, la calidad, la seguridad y la estabilidad.<sup>69</sup> La fabricación de productos deshidratados y congelados implican un sobreenfriamiento de un líquido para retrasar la nucleación y la cristalización. Comprender la viscosidad que acompaña al sobreenfriamiento y la formación del vidrio es un gran desafío.

Cuando se habla de mezclas de sustancias, la complejidad de las teorías sobre la transición vítrea y la viscosidad se hace evidente. Por ejemplo, en una mezcla binaria de agua y azúcar a bajas temperaturas y/o altas concentraciones de soluto, donde las viscosidades se aproximan a los

---

valores similares a una transición vítrea, tienen un interés académico y práctico. Académicamente, son un desafío debido a la gran variedad de comportamientos que exhiben dependiendo de la naturaleza y concentración de los componentes. Prácticamente, su importancia está ganando cada vez más reconocimiento debido a que parecen jugar un papel crucial en los procesos de conservación biológica, tanto natural como comercial.<sup>36</sup> Azúcares como, por ejemplo, sacarosa, maltosa, glucosa y trehalosa, han demostrado ser buenos agentes protectores en la deshidratación y congelación. La viscosidad juega un papel importante en la preservación de las células impidiendo la cristalización durante el enfriamiento y permitiendo de este modo la vitrificación. También puede inhibir la pérdida de agua al reducir las tasas de difusión a la superficie libre.

En capítulo uno de este trabajo se realiza una descripción de las transiciones de fase termodinámicas y su clasificación así como los diagramas de fase, tanto para una sustancia pura como para una mezcla binaria. En el capítulo dos, se presenta la fenomenología asociada con la transición vítrea, antecedentes teóricos e históricos que muestran su importancia en distintas áreas de la ciencia. Se hace un especial énfasis en el estudio de la viscosidad de un líquido sobreenfriado y las distintas ecuaciones que se han desarrollado para explicar su comportamiento.

En el capítulo tres se profundiza en la formación de un vidrio en una mezcla binaria mediante una solución sobresaturada de sacarosa y la similitud que llega a tener con un líquido sobreenfriado, así se presenta un diagrama de estado de agua y azúcar que surge de la unión de un diagrama de fase eutéctico y la curva de la temperatura de transición vítrea. A continuación, en el capítulo cuatro se hace una revisión de la naturaleza de las moléculas de sacarosa y trehalosa, su temperatura de transición vítrea y las teorías asociadas al comportamiento de la viscosidad en soluciones acuosas en función de la concentración y la temperatura.

Los resultados de este trabajo se presentan en el capítulo cinco, como un análisis de la viscosidad como función de la temperatura y la concentración de mediciones experimentales reportadas en bibliografía, para lo cual se hace uso de la teoría asociada al diagrama de estado presentado en el capítulo tres y las teorías sobre viscosidad presentadas en el capítulo dos y cuatro. En el capítulo seis y siete se presentan las conclusiones de este trabajo de tesis y las perspectivas que surgen de la investigación realizada.

---

# OBJETIVOS

---

- A partir de los diagramas de fase y la clasificación de las transiciones de fase termodinámicos ubicar a la transición vítrea. Posteriormente para una mezcla binaria identificar en un diagrama eutéctico los estados de la solución.
- Describir la fenomenología alrededor de la transición vítrea: la temperatura de transición vítrea así como las teorías sobre la viscosidad en un líquido sobreenfriado.
- Discutir los orígenes de la metaestabilidad física y química en sistemas acuosos con referencia particular a soluciones sobresaturadas, es decir, aquellas en las que la separación de fase eutéctica no tiene lugar normalmente para establecer la existencia y utilidad de un diagrama de estado de una mezcla binaria.
- Comprobar la validez de las ecuaciones de la viscosidad para una sustancia frágil en una solución sobresaturada. Utilizando mediciones experimentales reportadas en literatura de la viscosidad para una mezcla binaria tanto de sacarosa y agua como de trehalosa y agua en función de la concentración y la temperatura.



# TRANSICIONES DE FASE

## TERMODINÁMICAS

---

En diferentes representaciones los diagramas de fase de una sustancia pura o de una mezcla proporcionan información acerca de las posibles regiones de coexistencia y las condiciones bajo las cuáles se realiza las diferentes transiciones de fase termodinámicas. A continuación se resumen las principales características de dichas transiciones en sistemas puros y sistemas de dos componentes.

### 1.1 Diagrama de fases de una sustancia pura

Una sustancia pura, dependiendo de los valores de su presión, temperatura y volumen, puede presentarse en cualesquiera tres fases de agregación: sólido, líquido o gas. El diagrama termodinámico en el que resulta más fácil estudiar las transiciones de fase es el diagrama  $PV$ .

Aunque desde 1823 Michael Faraday licuó el cloro y el bióxido de carbono, no fue hasta 1869 que Thomas Andrews obtuvo el primer diagrama de fases  $pV$  para éste último. Rudolf Clausius y Paul Emil Clapeyron encontraron la conocida ecuación de Clausius-Clapeyron para describir la termodinámica de las transiciones de fase, en particular la condición sobre las pendientes de las curvas de coexistencia en el diagrama  $pT$ , que puede obtenerse fácilmente a partir del  $pV$ . En este diagrama se ven claramente las regiones correspondientes a cada una de las fases. Cabe hacer notar que el término **fase** fue introducido por J. W. Gibbs en 1875.

. Un diagrama  $P - V$  traza el cambio en la presión  $P$  con respecto al volumen  $V$  para

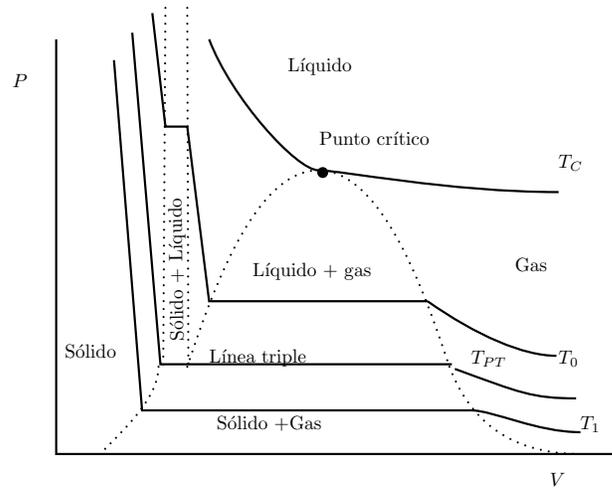
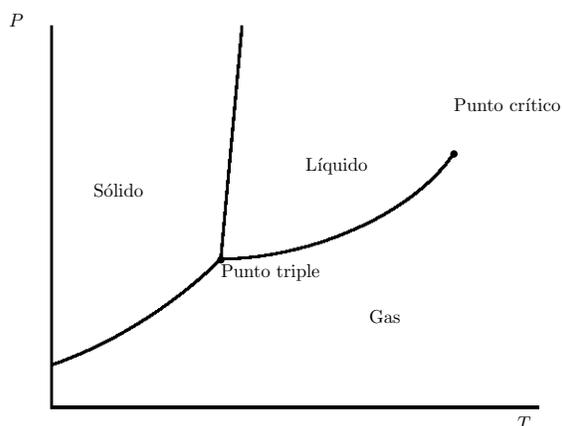


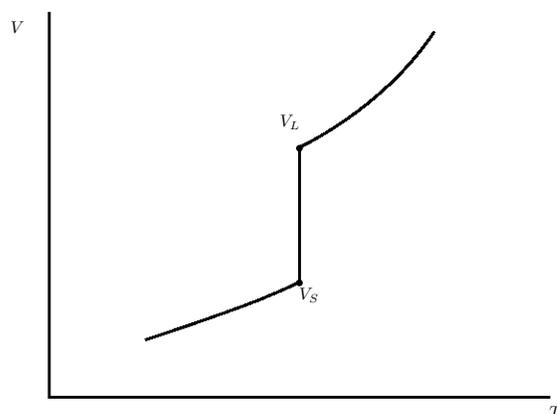
Figura 1.1: Diagrama de fases  $P - V$  mostrando las regiones de coexistencia de una y dos fases, un punto crítico y una línea triple.<sup>25</sup>

algun proceso o procesos. La utilidad de un diagrama de fases permite estudiar fácilmente las condiciones termodinámicas bajo las cuales ocurre la transición y las condiciones de los estados del sistema. Para introducir la fenomenología de las transiciones de fase se genera un diagrama  $P - V$  para todas las isotermas como se muestra en la figura 1.1. La construcción de este diagrama comienza tomando una isoterma y disminuir el volumen de la sustancia, según figura 1.1 se muestran cuatro isotermas, la primera  $T_1$  para cuando  $T_1 < T_{PT} < T_C$  donde  $T_{PT}$  es la temperatura del punto triple y  $T_C$  la temperatura crítica, en esta isoterma surge una región de coexistencia sólido - gas. La segunda isoterma para  $T_{PT}$  donde se muestra una línea de coexistencia de los estados gas - líquido - sólido, más arriba está la isoterma  $T_0$  misma que muestra la coexistencia líquido - gas para cuando  $T_0 > T_{PT}$  pero menor que  $T_C$ . Para isotermas mayores a  $T_C$  no ocurren transiciones de fase.

A partir de este diagrama  $P - V$  es posible construir el diagrama de presión - temperatura  $P - T$  (ver figura 1.2a). En la figura 1.2b se representa el diagrama  $V - T$  donde se muestra la discontinuidad del volumen al convertirse el líquido en sólido a la temperatura de fusión  $T_m$ .



(a) Un diagrama de fases  $P - T$  representa las regiones de fase única, las curvas de coexistencia de dos fases en equilibrio y un punto triple. Se muestran las tres curvas de coexistencia sólido-líquido, líquido-gas y gas-sólido.<sup>25</sup>



(b) Diagrama de fases  $T - V$  muestra en  $T_m$  la discontinuidad en el volumen al pasar el líquido a un estado sólido.

Figura 1.2: Diagrama de fases de una sustancia pura.

## 1.2 Clasificación de las transiciones de fase

Los sistemas pueden experimentar, además de la anteriormente descrita, diferentes tipos de transiciones de fase, tales como la paramagnética-ferromagnética y la conductor-súper-conductor. La primera clasificación de las transiciones de fase fue propuesta por Paul Ehrenfest en 1933. Paul Ehrenfest clasificó las transiciones de fase en función del comportamiento de la energía libre en función de otras variables termodinámicas.<sup>40</sup> Bajo este esquema, las transiciones de fase fueron etiquetadas por la derivada más baja de la energía libre que es discontinua en la transición. Así, se puede caracterizar a las transiciones de fase de primer orden a partir de la existencia de cambios de entropía, volumen (figura 1.2b) y discontinuidad de las derivadas de primer orden de la función de Gibbs. Así las variaciones de  $G$ ,  $S$ ,  $V$ , y  $C_P$  se presentan en la figura 1.3. De acuerdo a Ehrenfest, las transiciones de fase de primer orden muestran una discontinuidad en la primera derivada de la energía libre  $G$  con respecto a  $T$  a  $P$  constante.

Siguiendo la clasificación de Ehrenfest, las transiciones de fase de segundo orden son continuas en la primera derivada, pero exhiben discontinuidad en una segunda derivada de la energía libre.

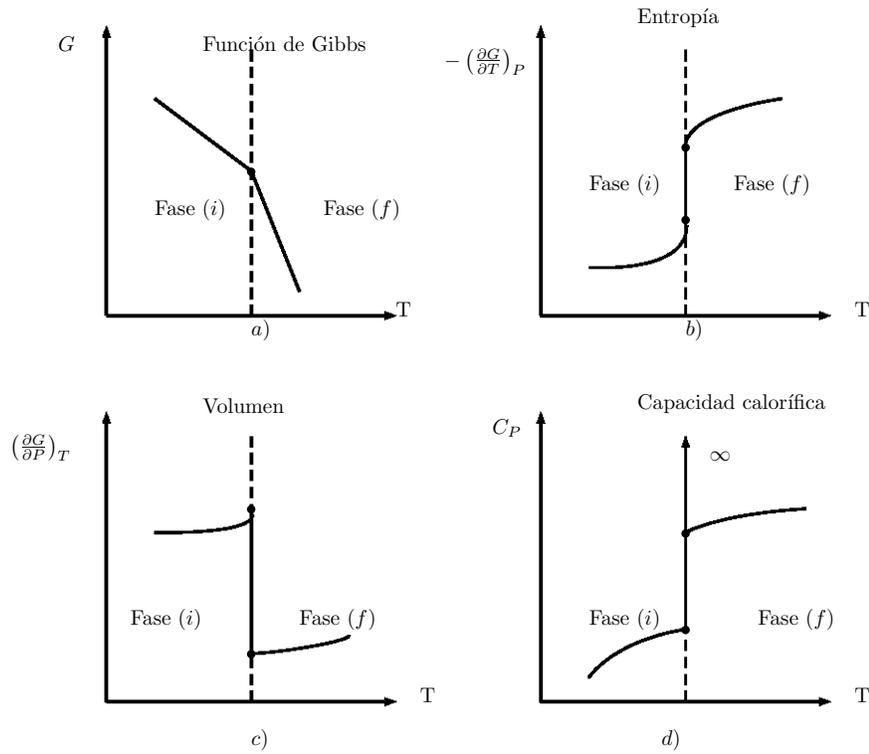


Figura 1.3: Características de un cambio de fase de primer orden. a) Función de Gibbs; b) entropía; c) volumen; d) capacidad calorífica.

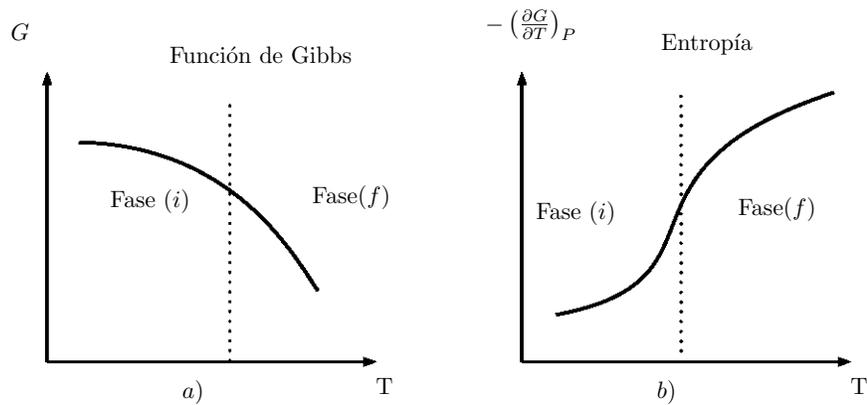


Figura 1.4: Características de un cambio de fase de segundo orden: a) función de Gibbs; b) entropía.

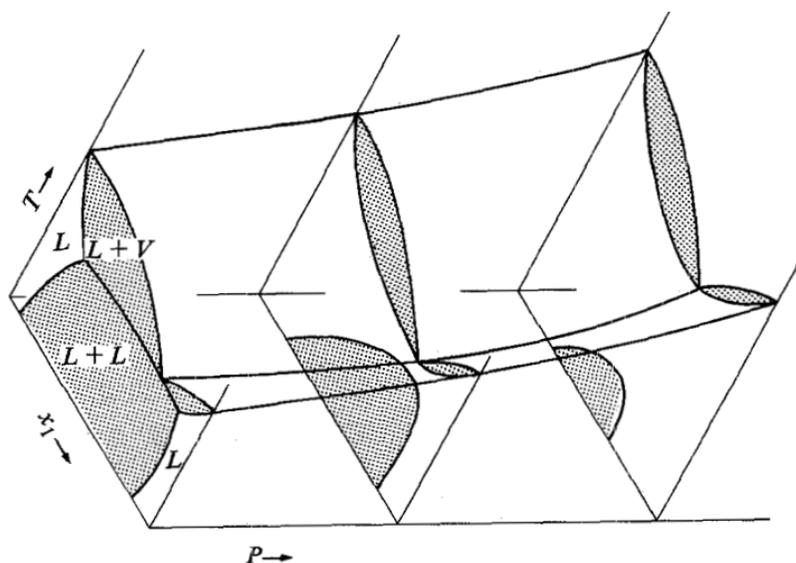


Figura 1.5: Diagrama de composición-temperatura-presión de una mezcla binaria que muestra secciones isobáricas. Las regiones sombreadas son regiones de coexistencia.<sup>45</sup>

Así, las transiciones de fase de segundo orden, se caracterizan por que  $C_P$ ,  $\kappa$ , y  $\beta$  experimentan variaciones finitas. En la figura 1.4 se presentan las variaciones de  $G$  y  $S$  con la temperatura para un cambio de fase de segundo orden. El cambio de fase de orden superior lambda se caracteriza por que  $T$ ,  $P$ , y  $G$  permanecen constantes,  $S$  y  $V$  (así como  $U$ ,  $H$  y  $F$ ) permanecen constantes  $C_P$ ,  $\kappa$  y  $\beta$  son finitos.

### 1.3 Diagramas de fase para sistemas binarios. Mezcla de dos componentes

Los efectos de  $T$  y  $P$  además de la composición de mezclas binarias se representan en diagramas espaciales tales como la figura 1.5. Esencialmente, la misma información se representa de una manera más conveniente por las secciones isobáricas (o en algunos casos secciones isotérmicas). Las regiones bifásicas se muestran sombreadas.

El comportamiento de los sistemas binarios suele ser más complejo que el de la mayoría de las sustancias puras. Por lo general, es más conveniente usar diagramas planares, lo que significa un diagrama  $T - x$  o  $P - x$  (donde  $x$  es la concentración del soluto) aunque se hace

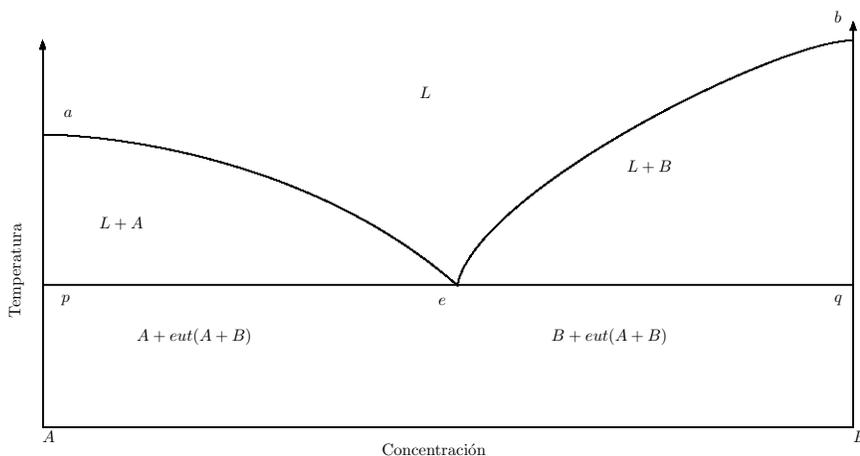


Figura 1.6: Sistema eutéctico simple

un uso limitado de diagramas  $P - T$  con una composición constante. Por conveniencia, los diagramas generalmente se limitan a mostrar las relaciones entre un número limitado de fases, como vapor-líquido, líquido-líquido, líquido-sólido, etc.<sup>79</sup>

El diagrama de fases sólido - líquido se construye a partir de los datos de la curva de enfriamiento trazando  $T_m$  (temperatura de fusión) como una función de la concentración, y la curva de solubilidad, tanto el líquido como el soluto pueden cristalizar a partir de la solución y donde no se forman compuestos, el diagrama de fases toma la forma de un sistema eutéctico simple (componentes A y B) como el que se muestra en la figura 1.6. En un diagrama de estado eutéctico simple (figura 1.6), el área que se encuentra sobre  $aeb$  es la zona de la fase líquida (L) o solución, las zonas  $aep$  y  $beq$  son bifásicas,  $L + A$  y  $L + B$ , respectivamente; el área  $ApqB$  es exclusivamente la zona del estado bifásico sólido  $A + B$ , con la particularidad de que a la izquierda del punto  $e$  la estructura de la aleación presenta cristales primarios de A y mezcla autéctica ( $A + B$ ), y a la derecha del punto  $e$  presenta cristales primarios de B y mezcla autéctica ( $A + B$ ) la cual es una mezcla dispersiva de dos fases A y B.

Sobre de la línea  $aeb$  todas la aleaciones se encuentran en estado líquido homogéneo, más abajo, en estado bifásico: líquido y cristales primarios ( $AoB$ ). La transición a través de la curva del líquido corresponde al principio del proceso de cristalización, al surgimiento de los primeros cristales de la fase sólida. La línea  $peq$  es la curva del sólido del diagrama. Durante el paso

del punto representativo a través de la curva del sólido desaparecen las últimas huellas de la fase líquida, y más abajo de ésta la aleación se encuentra en estado sólido. El punto  $e$  que corresponde al estado de fundido saturado tanto en relación a los cristales de  $A$ , como los de  $B$ , lleva la denominación de punto eutéctico. La composición correspondiente al punto  $e$  se denomina eutéctica.

Como se mostrará más adelante, el punto eutéctico, en el caso de sacarosa y agua, es solo una intersección extrapolada de la curva de solubilidad de la sacarosa y la curva de fusión del hielo y no tiene una existencia experimental real. La investigación del comportamiento térmico del sistema sacarosa-agua revela la existencia de una concentración de sacarosa por encima de la cual no se puede formar hielo.<sup>65</sup> Esta solución máxima concentrada en congelación se encontró a 67 – 72% de sólidos solubles. Recientemente se determinó que era 81.2% de sacarosa y se demostró mediante un nuevo enfoque experimental que se produce a una temperatura ( $T$ ) de  $-40^{\circ}C$ .<sup>1,69</sup>



# LA TRANSICIÓN VÍTREA. LA DEPENDENCIA DE LA VISCOSIDAD CON LA TEMPERATURA

---

## 2.1 Vidrios y la transición vítrea

En el caso de las transiciones de fase presentadas en el capítulo anterior, al enfriar un líquido por debajo de la temperatura de fusión, el volumen disminuye y se transforma en una fase cristalina. En el caso que este enfriamiento ocurra rápidamente, el líquido continúa enfriándose como tal, constituyendo lo que se conoce como líquido sobreenfriado, aumentando su viscosidad hacia valores de  $10^{13}$  Poise, hasta que las moléculas quedan atrapadas a una cierta temperatura llamada temperatura de transición vítrea  $T_g$  y forman un sólido amorfo ver figura 2.1. El sólido amorfo (no cristalino) que da como resultado en un proceso de enfriamiento sin cristalización perceptible es un **vidrio**. Esto ocurre en un intervalo de temperaturas llamado región de transición vítrea. Ya que la temperatura de transición vítrea  $T_g$  depende de la tasa de enfriamiento.<sup>12,37</sup>

Los vidrios han sido desde tiempos milenarios han sido formados con compuestos de diversa índole. Desde la década de los años veinte del siglo pasado se estudió el comportamiento de la viscosidad con la temperatura por Vogel, Fulcher, Tamman y Hess. En 1988 Angell<sup>5</sup> realizó una clasificación de los líquidos sobreenfriados, dependiendo del comportamiento de su viscosidad, en líquidos frágiles y líquidos fuertes.

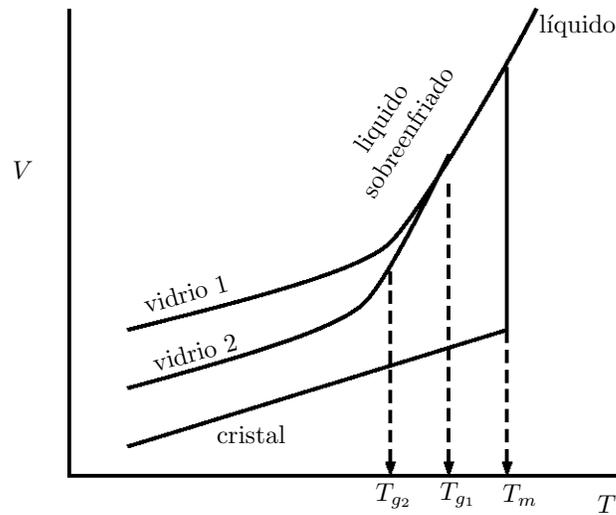


Figura 2.1: Representación esquemática del volumen específico como la función de la temperatura para un líquido sobreenfriado. El valor de la temperatura  $T_g$  depende de la velocidad de enfriamiento.<sup>22</sup>

La tecnología de la generación de vidrios se remonta a varias culturas de la antigüedad. La física de los líquidos sobreenfriados comprende, además de la física de materiales, su aplicación a campos tan diversos como la ciencia de alimentos, la industria farmacéutica y la preservación de sistemas biológicos.

### La termodinámica de la transición vítrea

El comportamiento de la entalpía y la entropía durante una transición vítrea es muy similar a la mostrada para el volumen como función de la temperatura, ya que se observan cambios discretos en  $\Delta H$  y  $\Delta S$  en  $T_m$ . Sin embargo, para el vidrio ocurre un cambio continuo con un cambio de pendiente en  $T_g$ . A diferencia de esto, para la capacidad calorífica ocurre un cambio abrupto en  $T_g$  como ya se vio previamente. Así como le ocurre un cambio abrupto a  $C_P$  ocurre lo mismo con  $\alpha$  el coeficiente de expansión térmica y  $\beta$  la compresibilidad, debido a los cambios de pendiente en  $T_g$  de  $\Delta H$ ,  $V$  y  $S$  respectivamente.<sup>76</sup>

## 2.2 Antecedentes históricos y teóricos sobre la transición vítrea

El estudio formal de la fenomenología de los líquidos sobreenfriados y de la transición vítrea se inició independientemente por Vogel, Fulcher y Tammann, entre 1920 y 1925. Debido a que al estudiar la dependencia de su viscosidad con la temperatura provocó la inquietud acerca de la posible violación del Principio de Nernst, en 1948, Kauzmann, midiendo el comportamiento de los calores específicos de estos sistemas, presenta un primer intento de presentar un modelo físico estadístico de los mismos. Esto lo llevó a definir la ahora conocida como temperatura de Kauzmann o temperatura isentrópica,  $T_K$ , para la cuál la entropía configuracional del sistema se anula. De acuerdo a di Marzio, la existencia de dicha temperatura "salvó el día termodinámico?", y lleva al destino final del líquido sobreenfriado a cristalizar.

A pesar de reconocer que la transición vítrea no es una transición de fase a la Ehrenfest, sino más bien una transición cinética, en 1958 Gibbs y di Marzio presentaron la primera propuesta formal de un modelo físico estadístico donde suponen que dicha transición es una transición de segundo orden. En 1965. Adam y Gibbs, basándose en los resultados de Kauzmann y de di Marzio, proponen que a partir de dichos modelos se pueden relacionar un coeficiente de transporte, la viscosidad, o equivalentemente, el tiempo de relajación, del líquido sobreenfriado, con una propiedad calorimétrica del mismo, la entropía configuracional, a través del conocimiento del valor de la energía correspondiente a la barrera de potencial para realizar lo que definen como un cambio configuracional.

El modelo de Adan Gibbs se sigue utilizando, y se siguen realizando esfuerzos para mejorarlo. Actualmente las aplicaciones de este tema a sistemas considerados dentro del ámbito de la física de la materia condensada blanda alcanzan a la llamada animación suspendida, es decir, a la conservación de alimentos, la elaboración y conservación de medicamentos tanto por la industria farmacéutica como por las ciencias médicas, los fenómenos biológicos mediante los cuales se puede explicar la conservación desde células hasta tejidos vivos.

La importancia tecnológica de la transición vítrea en productos alimenticios es enorme. El enfoque de la transición vítrea en la ciencia de polímeros ha demostrado ser útil para comprender

las relaciones estructura-función de los materiales alimenticios, y puede gobernar el procesamiento de los alimentos, las propiedades del producto, la calidad, la seguridad y la estabilidad.<sup>7</sup> La transición vítrea de los materiales alimenticios han ganado importancia en los últimos años, particularmente en el área de productos secos y congelados. Las aplicaciones del concepto se han explorado actualmente en biomateriales como los almidones y sus hidrolizados y proteínas. Los procesos como la cocción, el secado por aire y por congelación, la extrusión y la fabricación de helados también operan a través de la transición vítrea.

Un aspecto importante de la transición vítrea es el referente a los procesos de relajación que ocurren a medida que se disminuye la temperatura en el líquido sobreenfriado. Los cambios configuracionales que causan la relajación del líquido se ven disminuidos a medida que nos acercamos a la temperatura de transición vítrea  $T_g$ .

El comportamiento temporal de una función de respuesta  $F(t)$  (por ejemplo, la tensión como resultado de un esfuerzo, o el esfuerzo como resultado de una deformación dada) puede ser descrita por la relación Kohlrausch- Williams- Watts (KWW)

$$F(t) = \text{Exp} \left[ \left( -\frac{\mathcal{T}}{t} \right)^\beta \right] \quad (2.1)$$

para  $\beta < 1$ , donde  $\mathcal{T}$  es un tiempo de relajación característico directamente proporcional a la viscosidad  $\eta$  del líquido, cuya relación con la temperatura normalmente no satisface la relación de Arrhenius

$$\text{Log} \left( -\frac{\eta(T)}{\eta_\infty} \right) = -\frac{E_A}{T} \quad (2.2)$$

donde  $E_A$  es la energía de activación.

La desaceleración de los tiempos de relajación de la ecuación KWW contrasta con el comportamiento de los líquidos arriba de la temperatura de fusión  $T_m$ , donde los tiempos están dados por una ecuación exponencial simple.

Desde un punto de vista físico, la viscosidad es una medida de la fricción interna, que resulta del movimiento relativo de diferentes capas de un líquido. Si la velocidad del líquido cambia,

por ejemplo, en la dirección  $x$ , entonces la fuerza  $F$  que actúa entre las capas viene dada por la expresión

$$F = \eta A \frac{dv}{dx} \quad (2.3)$$

El factor de proporcionalidad  $\eta$  en la ecuación 2.3 se denota como la viscosidad (cortante) del líquido, y  $A$  es el área superficial de las capas. La ecuación 2.3 fue propuesta por Newton. Los líquidos, que pueden describirse mediante dicha ecuación con un valor de  $\eta$ , que depende de la temperatura y de las propiedades específicas del líquido únicamente, se denominan líquidos newtonianos. La viscosidad  $\eta$  es uno de los coeficientes de transporte, de forma similar al coeficiente de difusión  $D$  y el coeficiente de conducción de calor.

En 1988, Angell realiza una gráfica acerca del comportamiento de la viscosidad con la temperatura para diferentes líquidos formadores de vidrio y define la llamada fragilidad dinámica.<sup>4</sup> La fragilidad se define en términos de la desviación de la dependencia del tiempo de relajación con la temperatura del comportamiento de Arrhenius. Esta desviación determina la pendiente del diagrama de Arrhenius cerca de  $T_g$ . Los líquidos formadores de vidrio se comportan distinto de acuerdo a su peso molecular. A su vez los de peso molecular bajo se clasifican de acuerdo al comportamiento de su viscosidad  $\eta$  como función de  $T$  en vidrios fuertes (moléculas unidas con enlace covalente, donde la viscosidad  $\eta(T)$  es de tipo Arrhenius) o frágiles (moléculas unidas con enlaces no covalentes o dispersivos como glucosa donde  $\eta(T)$  no es de tipo Arrhenius), en la figura 2.2 se muestra esta clasificación.

Se define al factor de corrimiento logarítmico ( $LSF$ ) como

$$LSF = \log(a_T) = \frac{\eta(T)}{\eta(T_s)} = \log \frac{\mathcal{T}(T)}{\mathcal{T}(T_s)} \quad (2.4)$$

donde  $T_s$  es una temperatura de referencia.

La primera relación fenomenológica que expresa la dependencia de la temperatura de la viscosidad de los líquidos frágiles por debajo de  $T_m$  es la ecuación empírica propuesta por Vogel, Fulcher y Tammann (VFT)

$$\log(a_T) = A - \frac{B}{T - T_0} \quad (2.5)$$

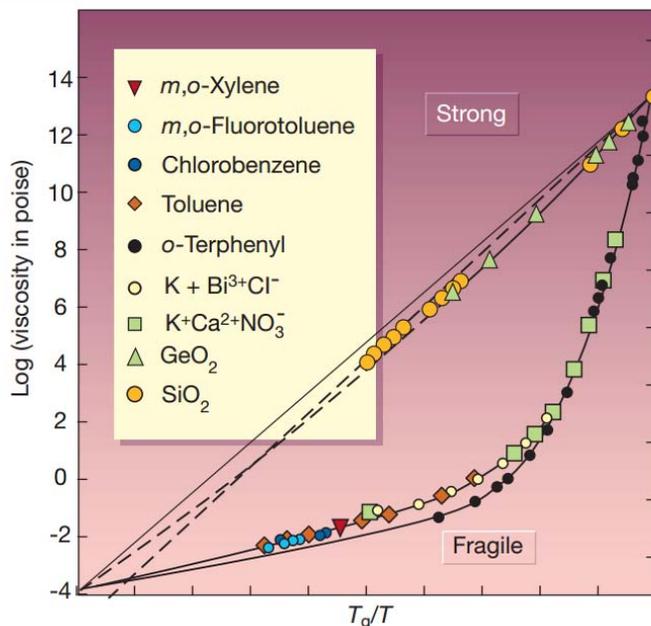


Figura 2.2: La presentación de Arrhenius a escala  $T_g$  para la clasificación de vidrios fuertes y frágiles propuesto por Angell.<sup>4</sup>

esta ecuación implica que  $T_0$  es la temperatura a la cuál la viscosidad tiende a infinito.

La ecuación de Vogel-Fulcher-Tammann fue propuesta independientemente por los tres hombres que dieron su nombre a esta dependencia. Vogel lo desarrolló basándose en investigaciones del curso de la temperatura de la viscosidad de engrasantes;<sup>78</sup> Fulcher<sup>31</sup> mediante un análisis del curso  $\eta(T)$  de vidrios de silicato; y Tammann (con Hesse<sup>73</sup>) basado en experimentos con sustancias orgánicas formadoras de vidrio.

Otra de las formas empíricas para describir la viscosidad de vidrios frágiles fue expresada por Williams-Landel-Ferry (WLF).<sup>67,80</sup> que ajustan datos experimentales de los tiempos de relajación para los polímeros y otras sustancias como la glucosa, considerados formadores frágiles con una relación que es matemáticamente equivalente a VFT. Esta expresión es de la forma

$$\log(a_T) = \frac{-C_1(T - T_s)}{C_2 + (T - T_s)} \quad (2.6)$$

las constantes  $C_1$  y  $C_2$  dependen de la elección del estado de referencia. Esta ecuación es válida para varias azúcares, tales como la fructuosa, la glucosa y la sacarosa y en particular, para

---

la Trehalosa. A partir de la viscosidad de una masa fundida, que puede medirse de una manera relativamente simple, puede determinarse la dependencia de la temperatura de otros coeficientes de transporte de líquidos formadores de vidrio conectados con la viscosidad.

La forma para el calor específico propuesto por Di Marzio y Dowell<sup>2</sup> basado en el modelo de Gibbs-Di Marzio<sup>33</sup> para la transición vítrea de sustancias poliméricas se usa para encontrar una expresión para el factor de desplazamiento logarítmico que a través de una comparación con la relación empírica de Williams -Landel-Ferry permite encontrar un valor para la temperatura isoentrópica para el que la entropía configuracional del sistema se desvanece. Así, P Goldstein<sup>34</sup> obtiene una relación semiempírica que ajusta los resultados experimentales mediante una ecuación lineal de la forma

$$LSF = m \left( \frac{T_g}{T} \right)^2 + b(T_g) \quad (2.7)$$

com  $m$  la pendiente de una recta y  $b$  la ordenada al origen, ambas constantes dependen de la naturaleza de la sustancia.<sup>3,35</sup> La forma de la ecuación 2.7 ya ha sido considerado por varios autores, incluyendo H. Bässler<sup>8</sup> como una forma universal para describir líquidos sobreenfriados para altas viscosidades.



# METAESTABILIDAD Y LAS MEZCLAS

## SOBREENFRIADAS

---

La formación de un vidrio ocurre en materiales de todo tipo: materiales covalentes, iónicos, metálicos y unidos por puentes de hidrógeno. Los vidrios se han fabricado a partir de sustancias puras, compuestos químicos simples, moléculas orgánicas complejas, mezclas de sal y aleaciones.<sup>62</sup> Lo cuál da la impresión de que el factor clave en la preparación es la rapidez de enfriamiento de la sustancia para evitar la formación de cristales. Sin embargo existen otros factores que influyen en la formación del vidrio, especialmente los aspectos estructurales de los materiales formadores de vidrio.<sup>21</sup>

Los líquidos orgánicos que forman vidrios tienen puntos de fusión relativamente bajos y la mayoría tienen moléculas asimétricas lo que dificulta el rearrreglo molecular para formar un cristal así como un incremento rápido de la viscosidad al disminuir la temperatura y por tanto una mayor tendencia hacia la vitrificación. Así, una consideración de varios aspectos de los enlaces es sumamente importante para comprender las tendencias de formación de un vidrio. Después de todo, la naturaleza de la unión determina no solo la estructura, sino también las temperaturas de fusión y las propiedades reológicas de las masas fundidas, todas ellas determinantes en la formación de un vidrio.

### Soluciones

Una solución es una mezcla homogénea de dos o más sustancias y puede existir en diferentes fases. Una solución consiste en un soluto y un solvente siendo el soluto la sustancia que se disuelve

en el solvente. Para soluciones con componentes en la misma fase, las sustancias presentes en concentraciones más bajas son solutos, mientras que la sustancia presente en mayor abundancia es el solvente. Se dice que una solución está saturada cuando contiene la máxima cantidad de soluto que puede ser disuelto en el solvente a una temperatura específica. Todos los estados de saturación se representan en una curva de solubilidad. Si contiene menor cantidad de soluto es una solución no saturada. Cuando la solución contiene más soluto del que se puede disolver se dice que se encuentra sobresaturada.

La conformación molecular de las sustancias que se tratan determinan la solubilidad, por ejemplo la sacarosa permite la formación de enlaces de hidrógeno con moléculas de agua lo que permite la fácil disolución de sacarosa en agua. La solubilidad de la sacarosa está influenciada por la temperatura y por la cantidad y el tipo de otras moléculas disueltas (impurezas),<sup>11</sup> por ejemplo la sacarosa muestra valores mucho más altos de solubilidad en dimetilsulfóxido un componente químico frecuentemente utilizado en la criopreservación de tejidos o células.<sup>29</sup>

### 3.1 Metaestabilidad de composición: sobresaturación

El diagrama de fases de una solución se representa típicamente como la figura 3.1 se puede identificar la curva de solidificación que indica la temperatura dada una concentración a la que el agua congela. Por otro lado, la curva de solubilidad muestra para cada concentración, la temperatura a la cuál se satura la solución. Teóricamente ambas curvas se intersectan en el punto eutéctico. Por debajo de la temperatura eutéctica coexisten el soluto cristalino y el hielo. Sobre estas curvas existen soluciones no saturadas.

#### Enfriamiento lento

Si una solución de agua y sal ( $NaCl$ ), se enfría lentamente se produce la nucleación formándose hielo, siguiendo la curva de solidificación (ver figura 3.2). La figura 3.2 no es la representación convencional de un diagrama de fases de coexistencia sólido- líquido, sino que ilustra el proceso de concentración de la fase sólida por congelamiento. A la temperatura eutéctica de  $-21^{\circ}C$ , donde

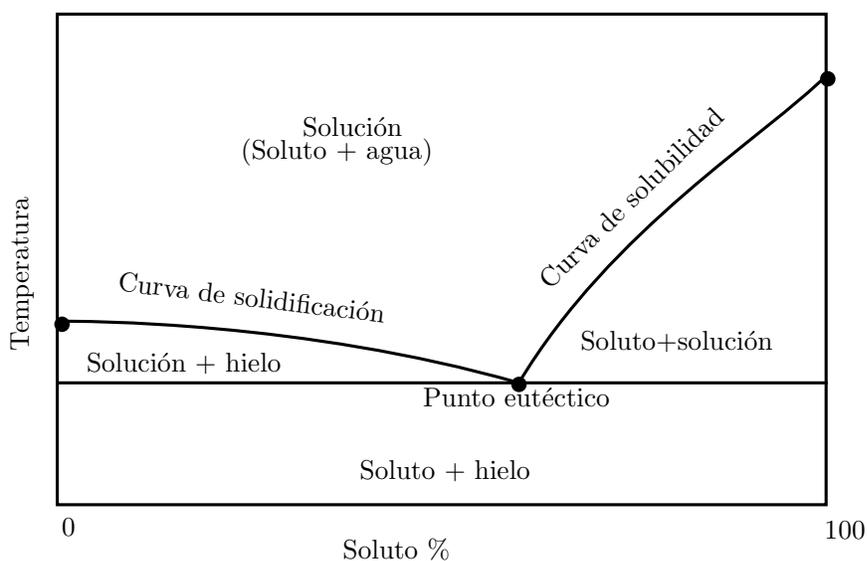


Figura 3.1: Diagrama de fases para un sistema binario.

la concentración de la solución ha alcanzado  $4M$ , la termodinámica de equilibrio predice que  $NaCl \cdot 2H_2O$  precipitará y todo se convertirá en sólido. Sin embargo, al igual que la cristalización de hielo, la precipitación de sal también requiere del crecimiento y la duración adecuada de los núcleos viables.

### Nucleación y crecimiento lento de cristales

Ahora considere el caso en que la nucleación y crecimiento de cristales son lentos en comparación con la velocidad de enfriamiento aplicada, la solución quedará sobresaturada durante un período de tiempo indefinido. Esto se ilustra en la figura 3.3, para una solución acuosa de sal, donde la concentración se dibuja como una función del tiempo, a una tasa de enfriamiento constante. Como la nucleación es un proceso estocástico, el grado de sobreenfriamiento y sobresaturación que se muestra, solo puede servir como ejemplo de lo que podría ocurrir. En este caso particular, la nucleación del hielo se produjo después de mantener la solución a  $-15^{\circ}C$  durante 10 minutos. Después, la concentración de sal aumentó con el enfriamiento, pero la sal no precipitó en el punto eutéctico (a una concentración de  $4M$  (ver figura 3.4)). En cambio, la precipitación de sal tuvo lugar a  $-26^{\circ}C$ , cuando la concentración había alcanzado  $6M$ . En otras palabras, el sistema sobresaturado recuperó el equilibrio después de 10 minutos,

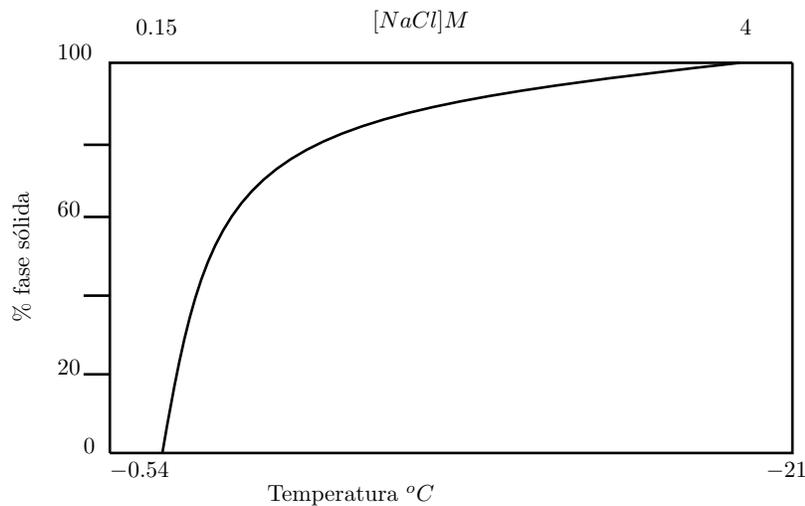


Figura 3.2: Efecto del enfriamiento sobre la proporción de hielo formado en una solución salina isotónica (0.15 M) después de sembrar con un cristal de hielo para evitar el sobreenfriamiento. Después de enfriar a  $-10^{\circ}\text{C}$ , la concentración de sal de la fase líquida residual ha aumentado a 3 M.

donde su estado final consiste entonces en la mezcla de equilibrio de hielo y cristales de  $\text{NaCl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

El ejemplo anterior ilustra la introducción de una dimensión temporal (cinética) en lo que generalmente se considera como un equilibrio termodinámico. La sobresaturación toma la forma de un paso transitorio desde el equilibrio. La persistencia de tal paso puede ser desde milisegundos hasta siglos, o incluso escalas de tiempo geológicas.

Así se establece una distinción entre los procesos físicos y / o químicos que pueden tener lugar en un sistema termodinámico y los que realmente tienen lugar dentro del sistema en un periodo de tiempo medible (cinética).<sup>26</sup> El grado de sobreenfriamiento y congelamiento a temperaturas bajo cero puede ser controlado a través de las variables: temperatura, concentración y la razón de enfriamiento que involucra al tiempo. Bajo condiciones naturales ambientales, los organismos controlan la concentración. Un análisis de un diagrama de estado de temperatura - concentración puede ayudar a explicar muchos de los estados metaestables que pueden existir.

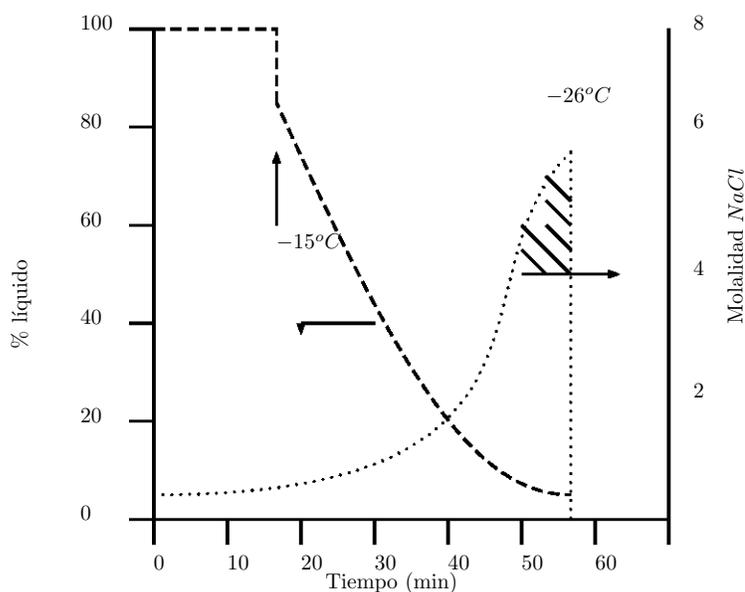


Figura 3.3: Simulación del curso típico de concentración de congelación de una solución salina durante el enfriamiento, en función del tiempo. Nótese el sobreenfriamiento inicial antes de la formación de núcleos previo a  $-15^{\circ}\text{C}$ . El área sombreada representa el intervalo de sobresaturación.

### Nucleación lenta del soluto: la sacarosa

Considere ahora un caso en el que la nucleación del soluto es extremadamente lenta como lo es el caso de los azúcares por ejemplo la sacarosa, de modo que la sobresaturación puede persistir durante períodos prolongados.

A medida que la temperatura disminuye, una solución no saturada se enfriará por debajo de la temperatura de fusión de equilibrio antes de que comience la congelación. Durante la congelación, la solución permanece en equilibrio con la fase sólida (hielo) formada y los solutos permanecen en una fase líquida residual concentrada. Así, al aumentar la porción de hielo formada la solución remanente se concentrará cada vez más.

## 3.2 Diagrama de estado para el sistema agua - sacarosa

En una mezcla de agua y sacarosa, a medida que avanza el enfriamiento de la solución diluida, la concentración eutéctica teórica se alcanzará en aproximadamente  $-14^{\circ}\text{C}$ , pero la sacarosa

no precipita espontáneamente a esta temperatura, es decir, el soluto no cristaliza a partir de la solución, en tal caso el diagrama de fase no muestra un punto eutéctico, si no que la curva liquidus continuará de una forma monótonica característica de una solución sobresaturada (ver figura 3.4). Se debe enfatizar que tal comportamiento es indicativo de una metaestabilidad termodinámica. La existencia de la región sobresaturada la cual no precipita en el punto eutéctico, es por que la estructura cristalina de la sacarosa tiene la forma de una red tridimensional compleja, unida a hidrógeno y la nucleación del azúcar en tiempo real, a una temperatura inferior a cero es lo menos probable. En cambio, la solución continúa congelando y se vuelve progresivamente más sobresaturada, termodinámicamente inestable, pero cinéticamente muy estable.

En este caso, la solución se vuelve sobresaturada y su viscosidad aumenta a valores muy altos, del orden de  $10^8$  Pa s y superiores, su dependencia de la temperatura se vuelve mucho mayor hasta que, finalmente, la viscosidad aumenta en varios órdenes de magnitud durante un intervalo de temperatura estrecho, durante el cual el estado físico de la solución homogénea cambia de un líquido, a través de un jarabe altamente viscoso a un sólido amorfo es decir, a un vídrio. Esta transición se caracteriza por una temperatura de transición vítrea,  $T_g$ , que típicamente ocurre a una concentración de sacarosa en la mezcla acuosa del 80 %. La viscosidad a  $T_g$  es entonces del orden de  $10^{14}$  Pas.

Las soluciones de agua y azúcares presentan un diagrama de fases diferente al presentado en la figura 3.1, se requiere entonces la presentación del llamado *diagrama de estado* (ver figura 3.4). Un diagrama de estado representa un mapeo de las diferentes fases en la que se encuentran las soluciones binarias del tipo agua y azúcares. A partir del mismo, se pueden entender las diferentes fases que se tienen al considerar tanto la temperatura como la concentración. Al presentarse la posibilidad de metaestabilidad y tener estados sobreenfriados que llevan a una transición vítrea, se unen ambas transiciones, la termodinámica y la cinética en un mismo diagrama.

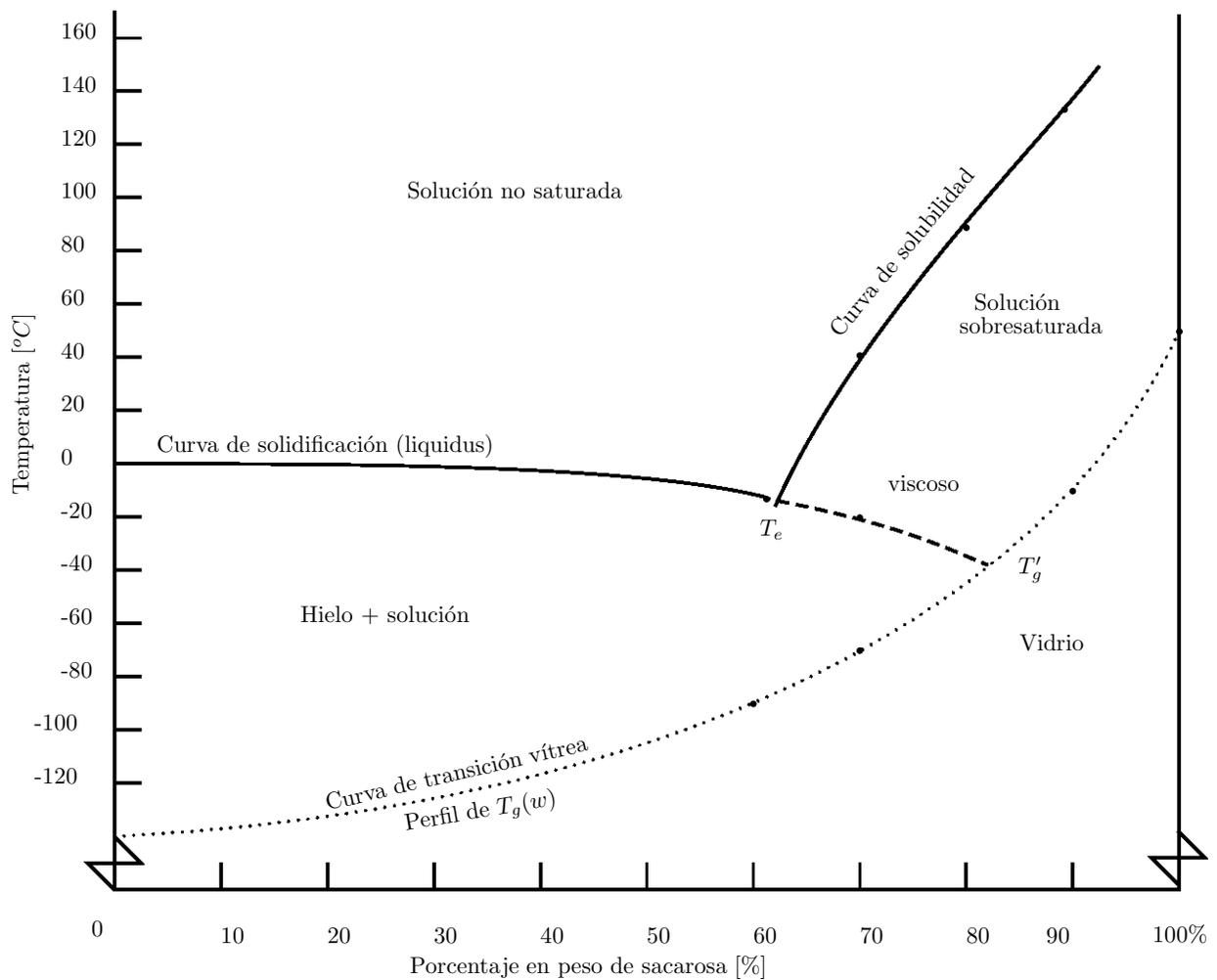


Figura 3.4: Diagrama de estado sólido- líquido de un sistema agua - azúcar, mostrando la línea de transición vítrea, la curva de solubilidad (solidus), entre el punto de fusión y la temperatura eutéctica  $T_e$ , y la región de metaestabilidad (sobresaturada) mas allá de  $T_e$ .

De acuerdo a la figura 3.4, en la parte superior se muestra un diagrama de fases simplificado de sacarosa-agua, que muestra las curvas de solubilidad de la sacarosa y la curva líquidus que teóricamente se cruzan en el punto eutéctico en  $T_e$  además de la extensión de la curva líquidus que se manifiesta por el retardo a la precipitación del sólido. En la parte inferior en línea punteada se anexa la curva de transición vítrea  $T_g$  como función de la temperatura y concentración de soluto, que completa la extensión de un diagrama de fases simple. El diagrama de estado es útil para ilustrar el régimen que gobierna a una cierta concentración a la cual un sistema pasa de un control termodinámico a uno cinético a una concentración a partir de la cual el agua

de la mezcla no se puede cristalizar más. Para un mezcla  $T'_g$  es identificado como el punto de intersección de la curva de transición vítrea y la extrapolación de la curva de solidificación a una cierta concentración  $C_g$  y a una temperatura. En este punto el material formado será un vidrio.

### **Sobresaturación y sobreenfriamiento**

La descripción anterior habla de una fenomenología similar entre la sobresaturación y el sobreenfriado de una mezcla, ya que son dos sistemas metaestables que tienen como límite la transición vítrea, una temperatura a la cual el tiempo se puede hacer extremadamente largo para observar algún movimiento o fenómeno. Desde un punto de vista termodinámico, un sistema metaestable tiene una energía libre que es mayor que el valor de equilibrio en las mismas condiciones de presión, temperatura y composición. Los estados termodinámicamente metaestables pueden tener una vida útil muy larga, pero en condiciones apropiadas el sistema puede transformarse en su estado de equilibrio. Ya que el hielo es la fase estable del agua, para intervalos de temperatura menores a cero, un sistema que no está congelado, ya sea líquido o sólido es metaestable: sobreenfriado y sobresaturado.<sup>26</sup> *Entonces, un sistema sobresaturado no más que un líquido sobreenfriado descrito previamente con una viscosidad muy alta donde al llegar a  $T'_g$ , se convierte en un sólido amorfo.*

En muchos sistemas complejos, la cristalización del hielo a temperaturas bajo cero no es seguida por la cristalización de los otros solutos presentes, de modo que los puntos eutécticos que deberían aparecer en el diagrama de fases no pueden identificarse. En tales casos, la solución se sobresatura y la curva liquidus no tiene un punto de terminación real. En la práctica, sin embargo, la curva de transición vítrea proporciona el límite para el cambio físico en una escala de tiempo medible. Las propiedades físicas de una solución acuosa concentrada a temperaturas bajo cero son fundamentales para entender la intolerancia al congelamiento y los fenómenos de resistencia al congelamiento.<sup>27,64</sup> Dichos fenómenos se explican en el siguiente capítulo.

# LA TRANSICIÓN VÍTREA EN SOLUCIONES ACUOSAS DE SACAROSA Y TREHALOSA. LA VISCOSIDAD

---

## 4.1 Azúcares

Los monosacáridos o azúcares simples son los glúcidos (biomoléculas compuestas por carbono, hidrógeno y oxígeno) más sencillos, cuyas principales funciones en los seres vivos son el brindar energía. Los monosacáridos no se descomponen en otros compuestos más simples e incluyen a la **glucosa** o dextrosa, **fructosa** y **galactosa**.<sup>23</sup>

Los disacáridos son también un tipo de glúcidos formados por la unión de dos azúcares monosacáridos iguales o distintos. Los disacáridos más comunes son la sacarosa, lactosa, trehalosa, maltosa, isomaltosa y celobiosa. Las mezclas acuosas de sacarosa y trehalosa son de particular importancia por los distintos usos y aplicaciones como la criopreservación de células y tejidos.

Las cadenas más largas de azúcares se llaman polisacáridos, biomoléculas formadas por la unión de una gran cantidad de monosacáridos. Se encuentran entre los glúcidos, y cumplen funciones diversas, sobre todo de reservas energéticas y estructurales.

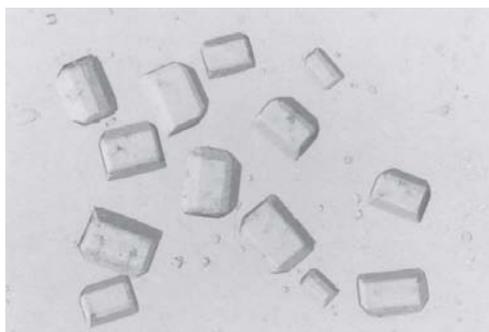


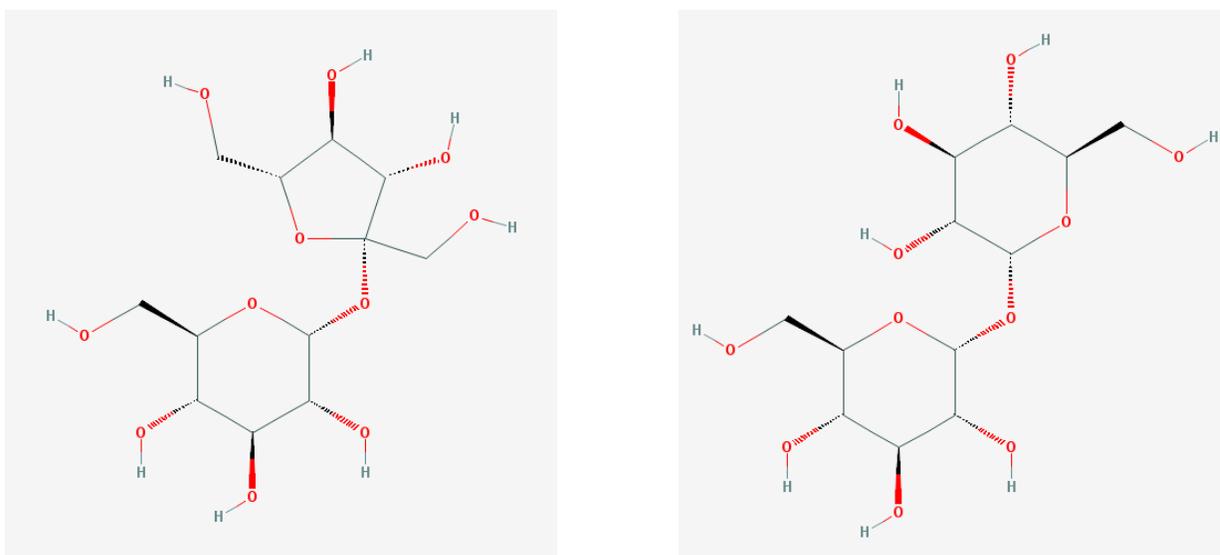
Figura 4.1: Cristales de sacarosa<sup>52</sup>

### Sacarosa y trehalosa

La molécula de sacarosa tiene ocho grupos hidroxilo que pueden estar implicados en la formación de enlaces de hidrógeno (ver figura 4.2a). En soluciones acuosas suficientemente diluidas, todos los grupos hidroxilo forman enlaces de hidrógeno con moléculas de agua. Si la concentración aumenta, la gran flexibilidad del enlace que une las dos moléculas de glucosa y fructosa promueve la formación de una estructura que presenta, al principio, sólo un enlace intramolecular y luego dos enlaces intermoleculares.<sup>51</sup> Si aumenta la concentración de sacarosa en la solución, se producen fenómenos de agregación entre las moléculas de sacarosa que promueven paso a paso la formación de agregados que crearán el núcleo tridimensional estable. Para la formación de cristales, los diversos grupos hidroxilo de la molécula de sacarosa están disponibles para enlaces de hidrógeno (ver figura 4.1).

En 1832 Wiggers descubrió la trehalosa (ver figura 4.2b) en hongo de centeno y en 1859, Marcelino Berthelot la aisló del trehalamanna, una sustancia producida por los gorgojos, y la llamó trehalosa. Puede ser sintetizada por bacterias, hongos, plantas y animales invertebrados. Está implicada en la anhidrobiosis: la capacidad de las plantas y animales para soportar periodos prolongados de tiempo sin agua, ya que tiene altas capacidades de retención de agua y se usa en alimentos y cosméticos. La rehidratación permite entonces reanudar la actividad celular normal sin el daño letal principal que normalmente seguiría un ciclo de deshidratación / rehidratación.

La sacarosa y trehalosa son quizás los disacáridos más ampliamente utilizados para la estabilización de materiales biológicos (por ejemplo, proteínas, células, y membranas). Como se



(a) Estructura 1D de sacarosa.

(b) Estructura 1D de trehalosa.

Figura 4.2: Estructura en una dimensión de los disacáridos formados por glucosa y fructosa.

muestra en las figuras 4.2a, 4.2b, tienen la misma fórmula molecular, pero diferentes estructuras. La diferencia más notable entre las dos estructuras es la presencia de un anillo de fructosa rígido en la sacarosa, a diferencia de los dos anillos de glucosa simétricamente unidos en la trehalosa. Numerosos estudios han demostrado los beneficios logrados por la adición de estos disacáridos a los sistemas biológicos durante la congelación y la liofilización. Comprender las interacciones específicas que ocurren entre los azúcares, el agua y los sistemas biológicos ayudaría a explicar por qué los disacáridos son protectores efectivos.<sup>23</sup> Las comparaciones de su eficacia relativa a menudo han encontrado que la trehalosa es el protector más eficaz.<sup>66</sup>

### Temperatura de transición vítrea en una mezcla binaria

La temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) de una sustancia simple se ha descrito previamente, sin embargo al tratarse de una mezcla de dos componentes que presentan una transición vítrea, Gordon y Taylor (1952) desarrollaron una ecuación para predecir la temperatura de transición vítrea conociendo  $T_g$  de cada una de las sustancias implicadas y las fracciones que se encuentran en la solución

$$T_g = \frac{x_1 T_{g1} + k x_2 T_{g2}}{x_1 + k x_2} \quad (4.1)$$

donde  $x_1$  y  $x_2$  son las fracciones en peso de las sustancias implicadas y  $T_{g1}$  y  $T_{g2}$  son las temperaturas de transición vítrea de los compuestos.  $k$  es un factor que depende de la naturaleza química de cada compuesto presente.<sup>7,68</sup> El valor de  $k = 4.7$  obtenido por Roos (1993)<sup>63</sup> para soluciones de sacarosa (65 – 80 %) permitió el establecimiento de un diagrama de estado para la sacarosa amorfa con resultados experimentales que coinciden con los calculados.

## 4.2 Viscosidad en una mezcla binaria: agua + disacárido

Como se vió en el capítulo 3, las mezclas de agua y azúcar presentan una transición vítrea. La sacarosa es uno de los azúcares más estudiados, y la viscosidad de sus soluciones acuosas ha sido medida por varios autores durante más de 100 años. El famoso trabajo de Einstein sobre el movimiento browniano, publicado en 1906, usaba sacarosa en agua para ejemplificar la validez de la ecuación bien conocida que relaciona la viscosidad de la solución con la fracción de volumen del soluto. La mayoría de los estudios reportados en estas soluciones se refieren al comportamiento de la viscosidad con la temperatura a concentraciones fijas. Sin embargo, el problema de estudiar a la viscosidad como función de la concentración es poco estudiado.<sup>48</sup>

### 4.2.1 Dependencia de la viscosidad con la temperatura

La mezcla binaria de agua con azúcares son formadores sobreenfriados frágiles por lo que la dependencia de la viscosidad de la mezcla con la temperatura a concentración fija satisface la relación de William-Landel-Ferry.

Se han propuesto distintas ecuaciones que ajusten a la viscosidad bajo estas condiciones, como un ajuste polinomial de orden cúbico propuesto por lo que M. P. Longinotti,<sup>48</sup> o un ajuste con una variación de la ecuación WLF por Kerr y Reid.<sup>44</sup>

### 4.2.2 Dependencia de la viscosidad con la concentración

La viscosidad de las soluciones acuosas depende de los parámetros termodinámicos como concentración de soluto, temperatura y presión. En la figura 4.4 se muestran una serie de puntos

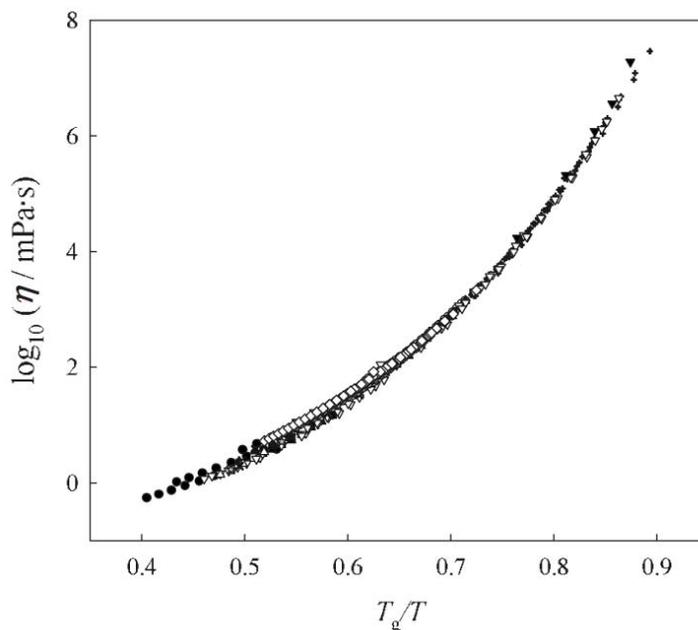


Figura 4.3: Viscosidad de las soluciones acuosas de sacarosa.

correspondientes a distintos experimentos que muestran la dependencia de la viscosidad con la concentración a una temperatura fija.<sup>57</sup> Esta dependencia es poco estudiada, si bien ya desde hace varias décadas se consideró que desde un punto de vista microscópico, el tamaño y la forma de las moléculas de soluto determinan la hidrodinámica en un disolvente dado, como señaló Einstein. La ecuación de Einstein está restringida a soluciones diluidas y, por esta razón, otros autores extendieron su ecuación para tomar en cuenta las interacciones moleculares que aparecen cuando la concentración aumenta.<sup>43</sup> Por ejemplo, Vand en 1948<sup>77</sup> describe una expresión para la dependencia de la viscosidad con la concentración de una solución de la siguiente forma

$$\ln \frac{\eta}{\eta_w} = \frac{\nu}{q_0 + q_1\nu + q_2\nu^2} \quad (4.2)$$

donde  $\nu$  es la concentración de soluto y  $\eta_w$  es la viscosidad del agua,  $q_0$  se relaciona con la forma de las moléculas, y  $q_1$  y  $q_2$  están relacionadas con las interacciones hidrodinámica e intermolecular. Hay otras expresiones como la de Génotelle<sup>32</sup> que hacen una buena aproximación al comportamiento de la viscosidad comparados con los experimentos.

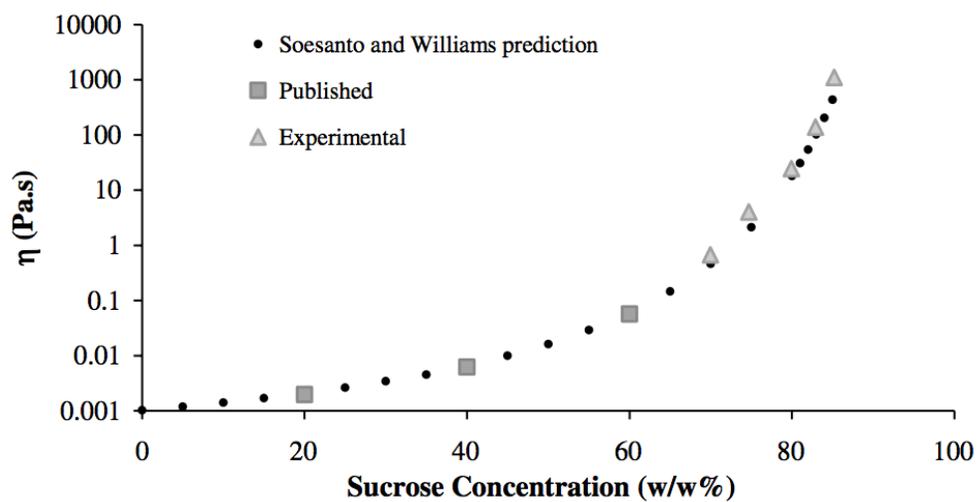


Figura 4.4: Viscosidad de soluciones de sacarosa a distintas concentraciones a temperatura constante  $T = 20^{\circ}C$ .

# RESULTADOS: VISCOSIDAD DE LAS MEZCLAS AGUA + AZÚCARES Y SU DEPENDENCIA CON LA TEMPERATURA A CONCENTRACIÓN FIJA

---

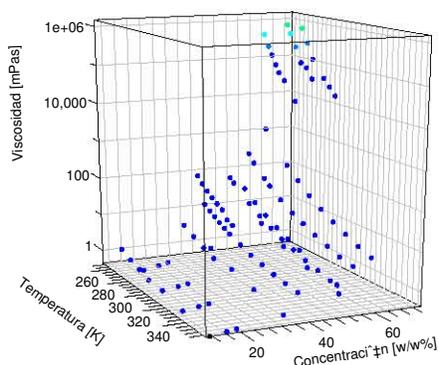
## 5.1 Viscosidad en función de la temperatura a concentración constante

En una mezcla de agua y sacarosa, la viscosidad depende de la temperatura y la concentración a la que se encuentre la mezcla, esta dependencia se observa en la figura 5.1 donde se incluye un conjunto de datos de la viscosidad para dos mezclas de azúcares reportados experimentalmente por distintos autores.<sup>1</sup> El incremento de la viscosidad al aumentar la concentración de azúcar es muy fuerte así como al disminuir la temperatura.

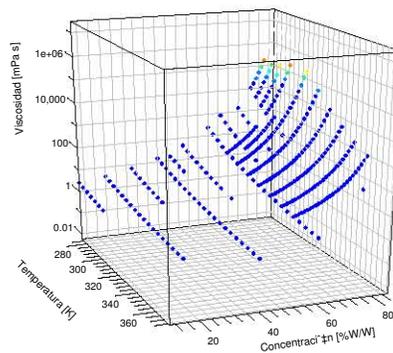
En el capítulo 3 se hace un análisis del diagrama de estado de una mezcla de agua y sacarosa. Dicho diagrama hace referencia al surgimiento de un vidrio a una temperatura  $T_g$  y a una concentración  $C_g$  como consecuencia de una sobresaturación y una disminución de temperatura, donde las viscosidades cercanas a estos valores son grandes. Tomando esta consideración los datos mostrados en la figura 5.1 se pueden proyectar en un diagrama de estado como se muestra en la figura 5.2 .

---

<sup>1</sup>9, 10, 13, 41, 44, 49, 52, 54–57, 60, 61, 72 .



(a) Dependencia de la viscosidad de la trehalosa con la temperatura y la concentraci#n.



(b) Dependencia de la viscosidad de la mezcla binaria de agua y sacarosa con la temperatura y la concentraci#n.

Figura 5.1: Dependencia de la viscosidad de la mezcla binaria de agua y az#caros con la temperatura y la concentraci#n.

De acuerdo con la informaci#n presentada en el cap#tulo 3, el diagrama de estado muestra la separaci#n de una mezcla no saturada y sobresaturada, mediante la curva de solubilidad que corresponde a los estados saturados de la soluci#n. En la figura 5.2, los valores de inter#s de la viscosidad a distintas temperaturas y concentraciones se ubican por debajo de la l#nea verde corresponden a los estados saturados del sistema. Ya que como se sabe de la teor#a son los estados donde la viscosidad sigue un comportamiento de un l#quido sobreenfriado.

Siguiendo esta idea, se descartan todos los valores de la viscosidad fuera del estado sobresaturado y se procede al an#lisis de la viscosidad como funci#n de la temperatura a una concentraci#n fija  $\eta(T)_{w/w\%}$  misma que puede ser expresada mediante la ecuaci#n 2.7 presentada en el cap#tulo 2. La figura 5.3 muestra los datos de la viscosidad en los estados sobresaturados delimitados por la l#nea de saturaci#n (guia de colores: sat). Bajo esta consideraci#n, la soluci#n a una concentraci#n de sacarosa menor a 65 % no son consideradas. N#tese que las isopletras de concentraci#n entre el 65 % y 80 % contienen estados dentro y fuera de la sobresaturaci#n por lo cu#l son consideradas en el an#lisis posterior.

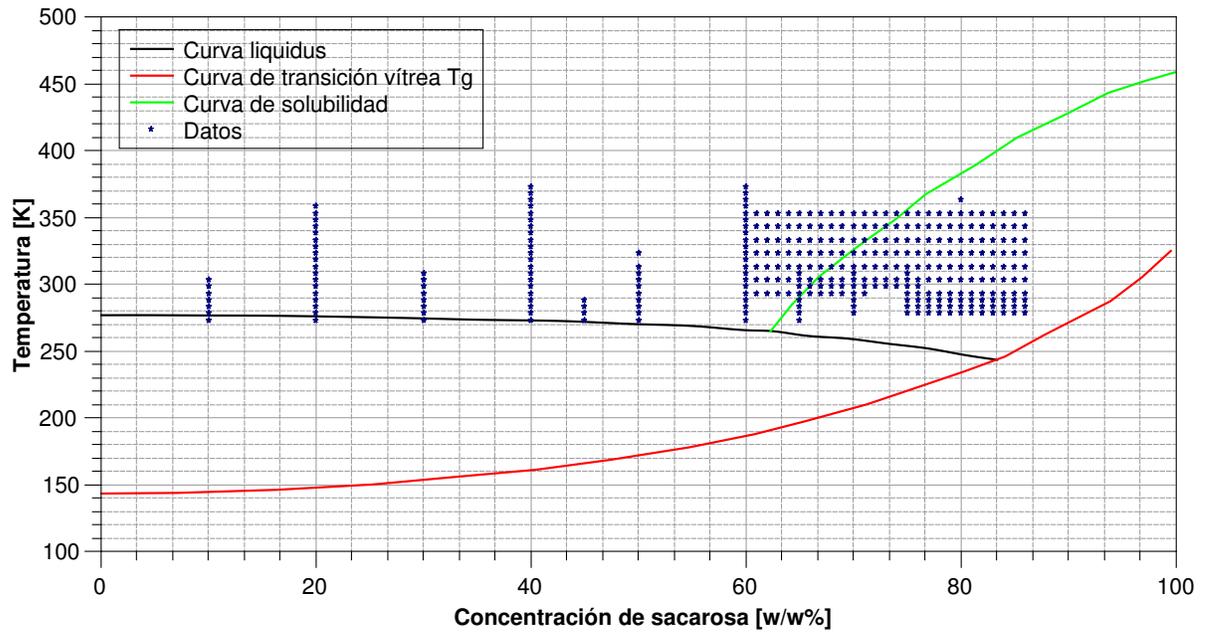


Figura 5.2: Datos de la viscosidad y su ubicación en el diagrama de estado de sacarosa.

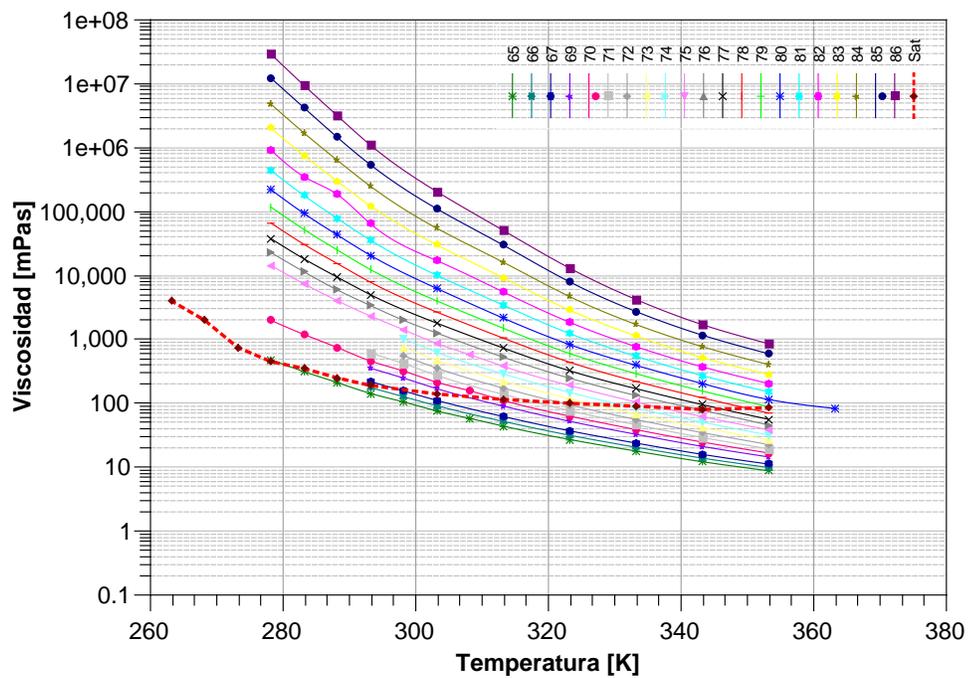


Figura 5.3: LSF de la mezcla agua y sacarosa a distintas concentraciones.

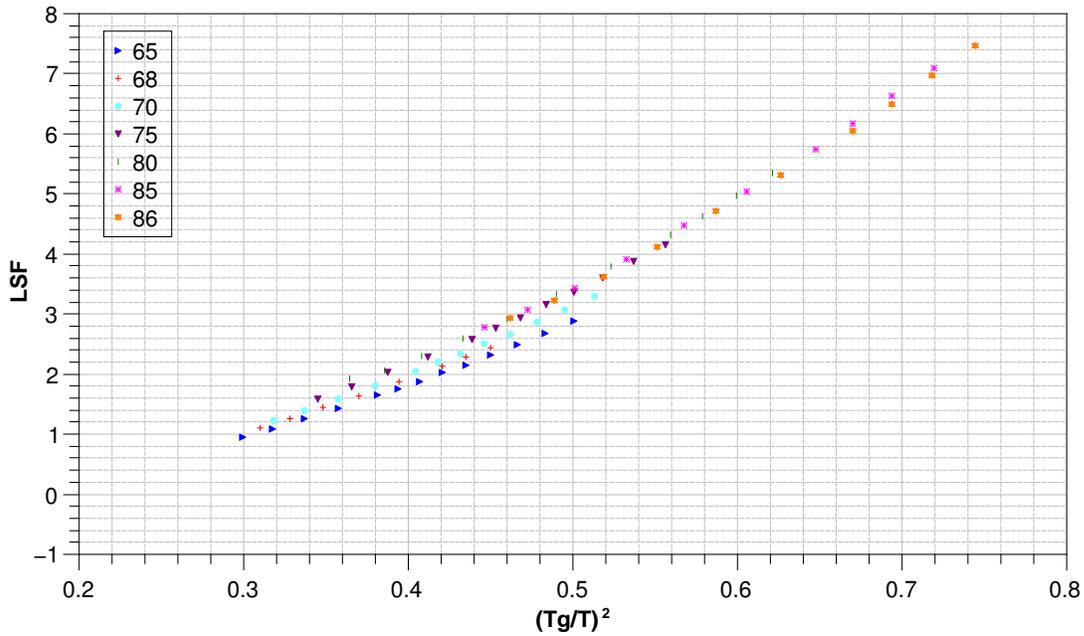


Figura 5.4: LSF de la mezcla agua y sacarosa a distintas concentraciones.

Una vez que se determina las isopletas de concentración que como se menciona en el capítulo 3, son estados sobreenfriados y/o sobresaturados, su viscosidad se puede comportar como un líquido frágil y por tanto ajustarse a una ecuación VFT o WLF, la cuál se puede parametrizar y expresar como un  $LSF^{\text{II}}$  de la forma

$$LSF = m \left( \frac{T_g}{T} \right)^2 + b(T_g) \quad (5.1)$$

con  $T_g$  la temperatura de transición vítrea de la sustancia.<sup>71</sup>

En la figura 5.4 se muestra LSF como función de  $(T_g/T)^2$ , para concentraciones de 65 – 86 % mismas que se encuentran en el régimen sobresaturado. Así, los datos se pueden ajustar a una ecuación lineal con una pendiente  $m$  y una intersección  $b$ , para cada una de las concentraciones para lo cual se obtiene la tabla 5.1.

Como se observa en la figura 5.4 y en la tabla 5.1 el ajuste lineal se cumple para todas las concentraciones, lo cuál indica que se trata de una dependencia que no es del tipo

<sup>71</sup>En la representación  $LSF$  sólo se necesita saber la temperatura de transición vítrea de la solución  $T_g$  a una concentración determinada.

% Sacarosa	<i>LSF</i>	
65	$y = 9.605x - 1.987$	$R^2 = 0.9969$
68	$y = 9.581x - 1.885$	$R^2 = 0.9990$
70	$y = 10.618x - 2.211$	$R^2 = 0.9968$
75	$y = 12.131x - 2.682$	$R^2 = 0.9947$
80	$y = 13.509x - 3.186$	$R^2 = 0.9936$
85	$y = 15.916x - 4.4887$	$R^2 = 0.9960$
86	$y = 16.181x - 4.715$	$R^2 = 0.9860$

Tabla 5.1: Ecuaciones de ajuste de la viscosidad: LSF para la solución de agua + sacarosa.

Arrhenius, si no una dependencia tipo VFT o WLF propia de un líquido frágil. Además, en las concentraciones mayores al 80% la tendencia de los datos es más homogénea a una recta común que los menores, ya que estos últimos no todos se encuentran en la región sobresaturada.

De la misma forma que para las mezclas de sacarosa y agua, se realizó un análisis de la mezcla binaria de agua y trehalosa, usando una ecuación *LSF*. Sin embargo, los datos reportados son menores en comparación con los de soluciones de sacarosa. Aún así, se analizó el comportamiento de la viscosidad de esta mezcla para distintas concentraciones y temperaturas, comenzando con una cantidad de porcentaje en peso de ( $W/W = 10\%$ ) hasta un porcentaje de 74.6% (ver figura 5.5).

La concentración de trehalosa no llega a ser tan alta comparada con la de sacarosa en la sección anterior, y se dificulta determinar la concentración que delimita el régimen sobreenfriado por concentración. Sin embargo, algunos valores de la viscosidad sí se encuentran en la región sobresaturada por lo que se realiza una selección de datos de la misma forma que para la sacarosa. Así, se presenta un ajuste de los datos de viscosidad para las soluciones de agua y trehalosa como un LSF, tomando la  $T_g$  de la mezcla a distintas concentraciones, misma que aumenta conforme aumenta el contenido de azúcar de esta manera se obtiene la figura 5.6 para concentraciones de 65% a 74.6% de trehalosa.

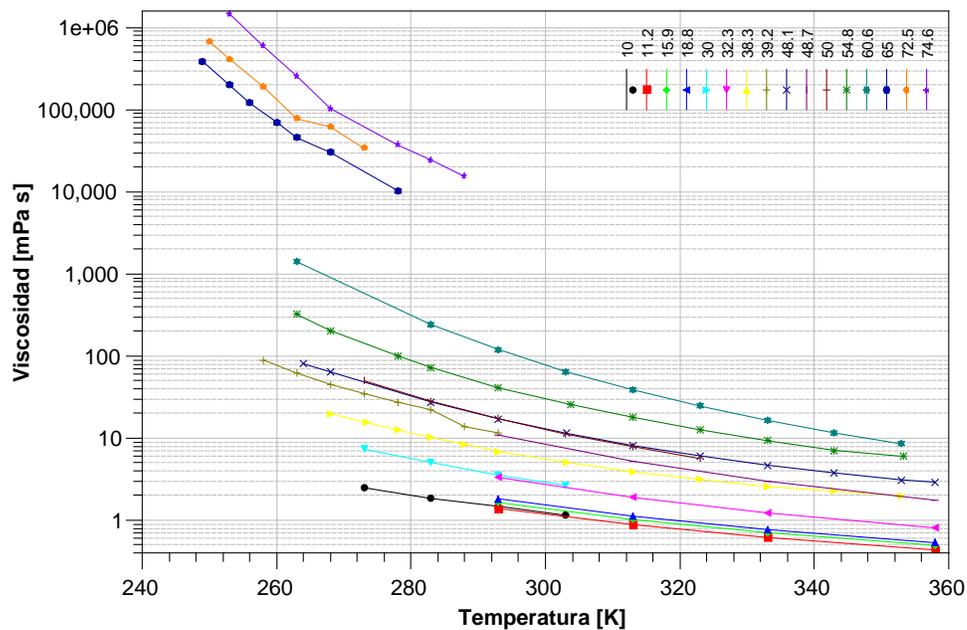


Figura 5.5: Dependencia de la viscosidad con la temperatura de la trehalosa a una concentración constante.

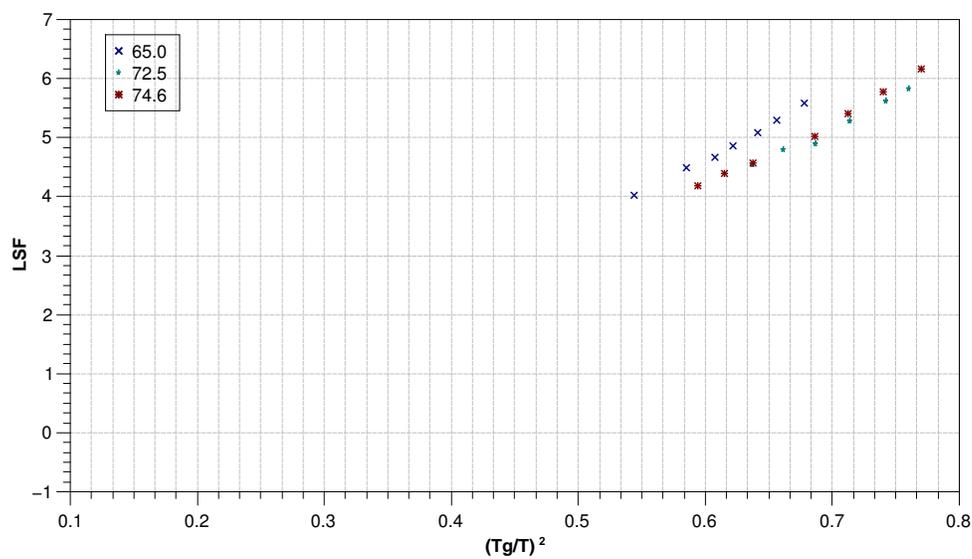


Figura 5.6: LSF de la mezcla agua y sacarosa a distintas concentraciones.

---

% Trehalosa	<i>LSF</i>	
65	$y = 11.618x - 2.338$	$R^2 = 0.9937$
72.5	$y = 10.623x - 2.2834$	$R^2 = 0.9835$
74.6	$y = 11.208x - 2.5407$	$R^2 = 0.9901$

---

Tabla 5.2: Ecuaciones de ajuste de la viscosidad: LSF para la solución de agua + trehalosa.

La tabla 5.2 muestra los ajustes lineales para la viscosidad de la mezcla acuosa de trehalosa. El ajuste lineal se cumple para todas las concentraciones, lo cuál indica que al igual que las mezclas de sacarosa se trata de una dependencia que no es del tipo Arrhenius, si no una dependencia tipo VFT o WLF.

Como se observa en las dos mezclas de azúcares, en la región sobresaturada se ajusta muy bien una ecuación del tipo VFT o WLF mediante una variable  $(T_g/T)^2$  que proviene de argumentos teóricos expresado como una ecuación lineal con pendiente  $m$  e intersección  $b$ , ya que se trata de un estado similar al de un líquido sobreenfriado pero ahora por concentración del soluto en la mezcla binaria. Por otro lado, en ambos casos se observa como ya se reporta en la bibliografía, el aumento de la temperatura de la  $T_g$  con el aumento de la concentración de soluto. Lo cuál se infiere por el comportamiento de la razón  $T_g/T$  usado en el reescalamiento, lo cuál tiene implicaciones muy relevantes en la criopreservación como se mencionará en el capítulo siguiente.



---

# CONCLUSIONES

---

Cuando se enfría súbitamente un líquido se puede formar un vidrio. Algunos son más fáciles de obtener que otros pero suponiendo que se trate de un buen líquido formador de vidrio, este pasará por un estado sobreenfriado aumentando su viscosidad hasta quedar suspendido en un estado metaestable vítreo. Sin embargo, cuando se tiene una mezcla binaria de agua y azúcar a una determinada temperatura y concentración también se formará un vidrio. Su explicación se describe de manera satisfactoria usando el concepto de metaestabilidad de un estado sobresaturado y haciendo uso de un diagrama de estado que conjunta los fenómenos termodinámicos y cinéticos de un sistema.

Como resultado del análisis y visualización de un diagrama de estado y de las viscosidades de una solución de agua y sacarosa como función de la temperatura a concentración constante, se concluye que las ecuaciones que describen a la viscosidad de un líquido sobreenfriado como función de la temperatura descritas por Voguel-Fulcher-Tamman y William-Landel-Ferry son útiles también para describir el comportamiento de una solución sobresaturada de agua y azúcar cerca de  $T_g$  y  $C_g$ . Esto se realizó mediante el ajuste de los datos experimentales a una ecuación lineal con pendiente  $m$  e intersección  $b$  con la variable  $(T_g/T)^2$  obtenida a través de formulaciones teóricas y empíricas. Lo cuál se sustenta bajo la consideración de un símil metaestable para un líquido sobreenfriado pero ahora por sobresaturación de azúcar.

El diagrama de estado delimita las regiones de temperatura y concentración donde puede ocurrir la cristalización y donde se puede esperar el estado vítreo impulsado por una sobresaturación. Los fenómenos gemelos de sobresaturación y vitrificación encuentran aplicaciones interesantes en la tecnología de procesos alimentarios y en la formulación de productos farmacéuticos estables.

También están implicados en el secado natural y la resistencia a la congelación exhibida por una amplia variedad de especies vivas. Los protectores como los azúcares promueven la formación de sistemas vítreos amorfos e influyen en la cinética de las reacciones responsables del deterioro durante el almacenamiento.

---

# PERSPECTIVAS

---

## Ciencia de alimentos: diagrama de estado

La estabilidad de un alimento a partir de una base teórica bien desarrollada y establecida es un desafío para los científicos e ingenieros de alimentos. Los conceptos de la actividad del agua y la transición vítrea son los dos fundamentos teóricos más exitosos desarrollados para determinar la estabilidad alimentaria. El diagrama de estado presentado en el capítulo 3, en la ciencia de alimentos se ha desarrollado detalladamente para explicar la extabilidad de un alimento a bajas temperaturas. El concepto de macro-micro región suele ser un enfoque científico para determinar la estabilidad de un alimento ver figura 7.1. Cada microrregión se estudia con fines de calidad específicos por separado teniendo en cuenta las diferentes características de un medio.<sup>58</sup>

La constante de velocidad de reacción en un alimento se puede representar en función de  $T/T_g$  es decir, relación de almacenamiento o temperatura de procesamiento y temperatura de transición vítrea. También para la difusividad se tienen resultados interesantes, por ejemplo Ludescher et al. (2010) midieron la movilidad molecular de oligosacáridos amorfos mediante el método de luminiscencia.<sup>81</sup> Esto motiva a seguir un análisis de otras propiedades relacionadas con este trabajo de tesis que puedan ser directamente aplicadas en la industria.

El diagrama de estado se aplica a distintos alimentos que son comunes en el mercado como cebolla, atún y fresas y algunos otros que están bajo investigación. En la figura 7.2a se muestra un diagrama de estado de piña y tomate. La construcción de estos diagramas de estado son un buen punto de partida para el análisis de la dinámica de los cambios de calidad, pero deben ser complementados por el conocimiento de las interacciones intermoleculares que pueden tener lugar.

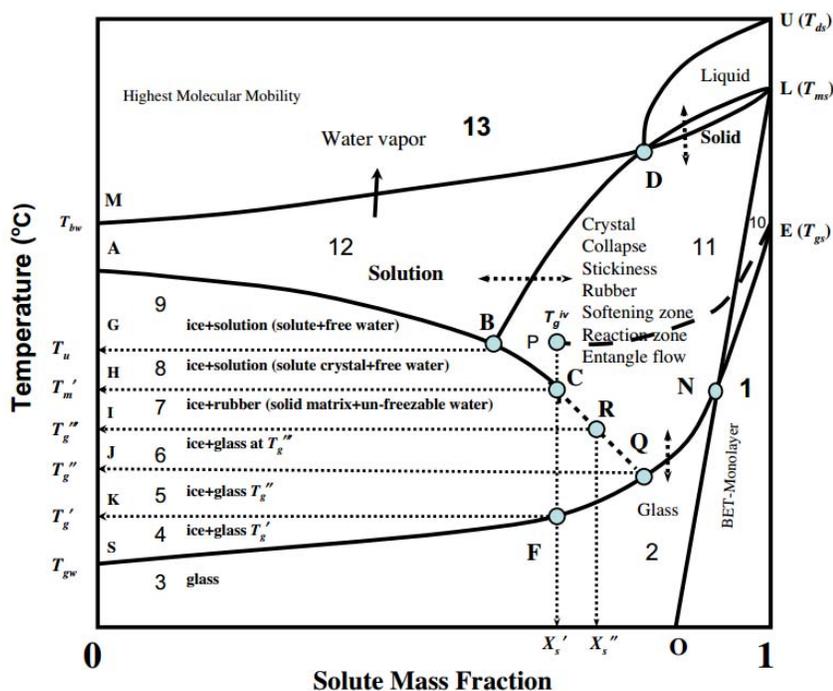


Figura 7.1: Diagrama de estado que muestra diferentes regiones y estados de un alimento.<sup>59</sup>

## Estabilidad

La estabilidad química y microbiológica y la seguridad de los productos lábiles se pueden lograr mediante el secado, el cuál se puede realizar eliminando agua como un sólido (por congelación) o como un vapor (por ebullición). Lo que recientemente se ha podido apreciar es que los protocolos de secado exitosos y la preparación de productos estables dependen de un conocimiento de los procesos que pueden ocurrir cuando una solución diluida se sobresatura y eventualmente se somete a una transición vítrea. En otras palabras, la solución, inicialmente termodinámicamente estable, termina cinéticamente estable, pero durante la transición tiene que pasar por una región de concentración intermedia donde se vuelve altamente vulnerable a cambios físicos y / o químicos, la mayoría de los cuales son irreversibles y destructivos. Esto se ilustra en la Figura 7.3.

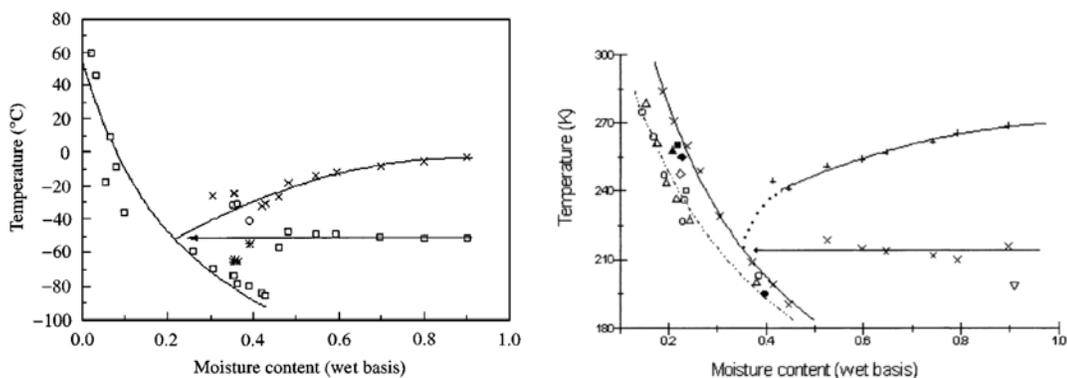
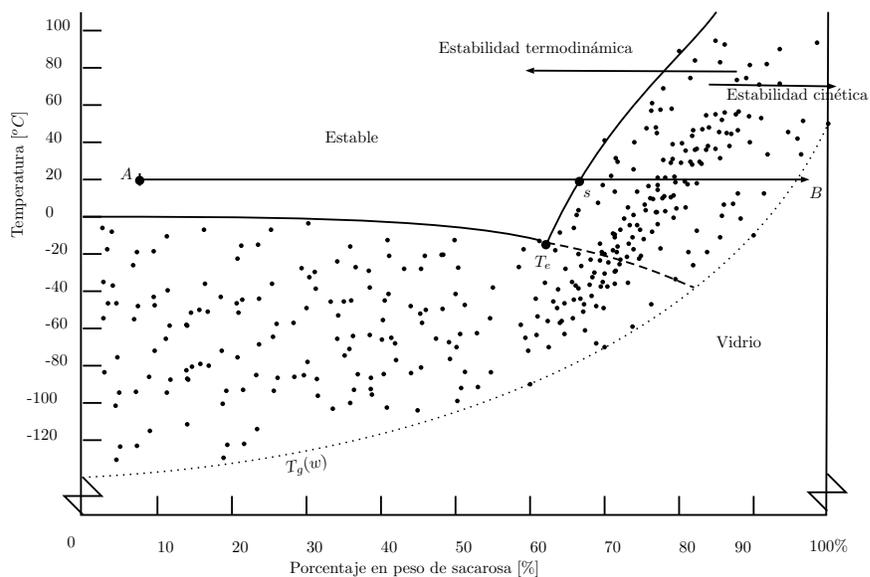
(a) Diagrama de estado de la piña.<sup>74</sup>(b) Diagrama de estado del tomate.<sup>75</sup>

Figura 7.3: Mapa de estabilidad de composición y temperatura, que muestra los dominios de estabilidad termodinámica (solución no saturada) y estabilidad cinética (solución sobresaturada por debajo de sus temperaturas vítreas). El área punteada indica vulnerabilidad física y química, con la densidad del punteado correspondiente al grado de inestabilidad.

## Congelación y sequía

El daño por congelación a biomoléculas aisladas o células intactas ocurre por la formación del hielo. El daño directo del cristal de hielo se invoca como la principal causa de lesión.<sup>30</sup> La anhidrobiosis (vida sin agua) se conoce desde hace milenios, pero los mecanismos subyacentes no se han entendido hasta las últimas décadas, y solo se ha logrado una comprensión parcial. Uno de los sitios principales de daño por deshidratación son las membranas, y existe evidencia de que este daño puede ser obviado por la producción de ciertos azúcares, particularmente trehalosa ya que estabiliza las membranas.<sup>15</sup>

El frío y la congelación son las amenazas más graves para muchas formas de vida en la tierra. Debe distinguirse claramente entre los dos efectos: el frío afecta principalmente a la cinética de los procesos de la vida, mientras que la congelación va acompañada de grandes cambios de concentración (secado). Las consecuencias de la congelación se asemejan a las producidas por la sequía. La diferencia entre frío y congelación se ilustra en la figura 7.4 que compara la estabilidad de almacenamiento de la enzima lactato deshidrogenasa en solución diluida a 25, 4 y  $-20^{\circ}\text{C}$  (sobreenfriada) con la estabilidad de la enzima que había sido congelada a la misma temperatura,  $-20^{\circ}\text{C}$ . En la solución sobreenfriada no se pudo detectar inactivación, incluso después del almacenamiento durante seis años, mientras que la enzima en solución congelada había perdido su actividad después de una semana. La lactato deshidrogenasa es una enzima catalizadora que se encuentra en muchos tejidos del cuerpo, pero su presencia es mayor en el corazón, hígado, riñones, músculos, glóbulos rojos, cerebro y pulmones.

## Crioconservación de espermatozoides humanos

Los procesos de vitrificación y desvitrificación son de vital importancia en la conservación de tejidos, células y materia viva, ya que la formación de cristales de agua (hielo) causan un daño irreversible en la muestra, por lo que la temperatura y el tiempo son parámetros muy importantes. Realizar un análisis profundo de la formación de los cristales que depende de la viscosidad, las sustancias presentes en el sistema así como de parámetros termodinámicos como la presión y la temperatura más la introducción de la cinética (el tiempo), permite la manipulación

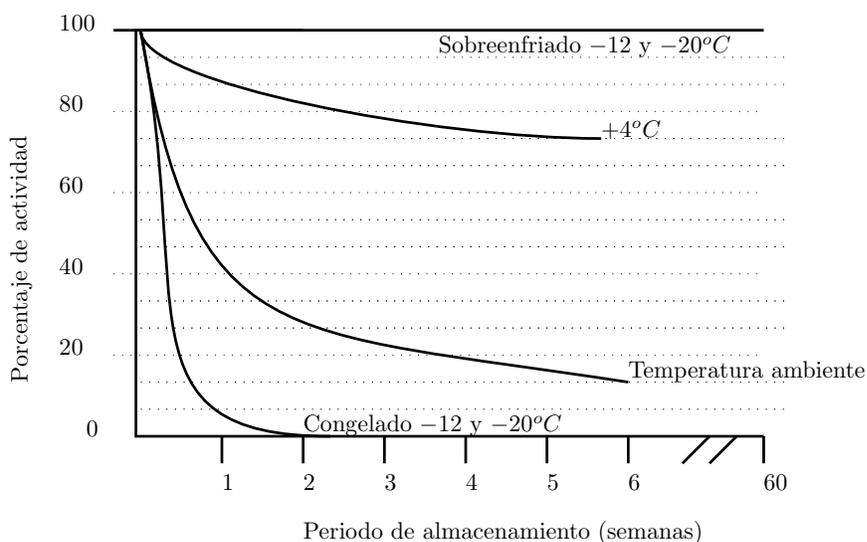


Figura 7.4: Estabilidad de almacenamiento, monitoreada por actividad enzimática, de lactato deshidrogenasa en solución diluida a diferentes temperaturas. Nótese la diferencia entre el almacenamiento en el estado congelado y en el estado sobreenfriado, a la misma temperatura.<sup>28</sup>

del sistema como prevenir la formación de cristales que dañen la muestra.

La criopreservación de espermatozoides humanos es una técnica comúnmente utilizada en la reproducción asistida, sin embargo, la congelación de bajas concentraciones de esperma mientras se mantiene una motilidad postdescongelación adecuada sigue siendo un desafío. En un esfuerzo por optimizar los rendimientos de motilidad postdescongelación, Liu et al.<sup>46</sup> congelaron espermatozoides humanos usando trehalosa como el único agente crioprotector. Se estimaron los conteos de esperma y la motilidad después del deshielo y se concluyó que la trehalosa y la sacarosa fueron los crioprotectores más efectivos, recuperando el 69.0% y el 68.9% de la motilidad espermática inicial, respectivamente. En la figura 7.5 se muestra un diagrama de la motilidad recuperada.

### Crioconservación de células madre

Aunque se han logrado mejoras significativas en los procedimientos de crioconservación celular, la mejora de los protocolos actuales de crioconservación que conducen a una tasa alta de mortalidad después del deshielo de las formaciones cristalinas que surgen durante la

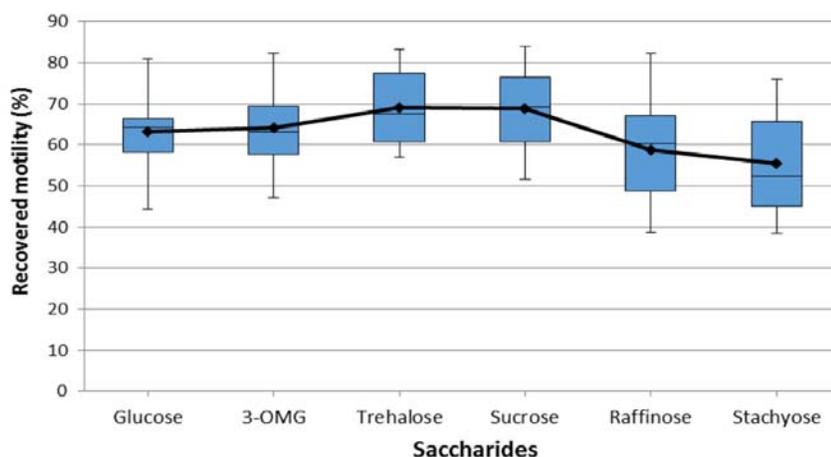


Figura 7.5: Motilidad recuperada (%) de espermatozoides humanos congelados en medios que contienen diferentes sacáridos. Las líneas superior e inferior de las barras son observaciones máximas y mínimas.<sup>46</sup>

congelación es un objetivo principal. Específicamente, el enfriamiento rápido forma cristales de hielo intracelulares, lo que da como resultado la destrucción celular y el enfriamiento lento forma cristales de hielo en el espacio extracelular, con la consecuente deshidratación celular. La selección de un crioprotector, así como una tasa de congelación adecuada, sirve para proteger a las células de estos efectos adversos. La trehalosa es un disacárido no tóxico que preserva la integridad estructural de las células durante la congelación y la descongelación.

Martinetti en su trabajo, evalúa el efecto de la crioconservación en células *CD34\** (células madre hematopoyéticas) tratadas con cuatro concentraciones diferentes de trehalosa, los hallazgos indicaron que la congelación con trehalosa 1M proporcionó mejor protección para *CD34\** en comparación con el procedimiento de congelación estándar que usa *Me<sub>2</sub>SO*. Además, la congelación con trehalosa en combinación con un antioxidante (catalasa) o con *Me<sub>2</sub>SO* mejora la viabilidad celular, así, las células *CD34\** se preservaron durante un período de duración corto (20 días) y largo (3 meses), con un medio que contiene diferentes combinaciones de catalasa, *Me<sub>2</sub>SO* y trehalosa. Los datos indicaron que, después de la descongelación, el número y la viabilidad de las células *CD34\** fue mayor en todas las muestras crioconservadas con solo 1M de trehalosa (ver figura 7.6). En conclusión, los datos indican que el uso de trehalosa permite obtener un mayor número de células madre hematopoyéticas después de la descongelación.<sup>50</sup>

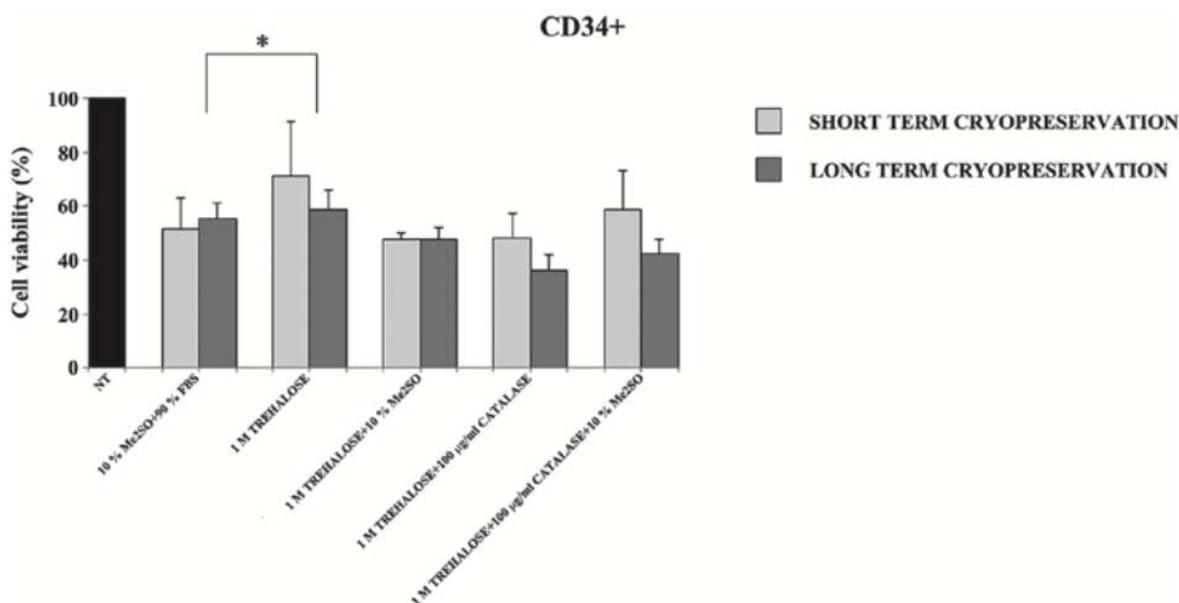


Figura 7.6: Porcentaje de viabilidad celular medida después de la descongelación de las células CD34 previamente congeladas con diferentes crioprotectores a corto (20 días) y largo (3 meses) periodo de crioconservación. CD34 se congelaron con: 10% de  $Me_2SO$  + 90% de FBS; 1M de trehalosa; 1M de trehalosa + 10% de  $Me_2SO$ , 1M de trehalosa + 100 $\mu g/ml$  de catalasa; 1M de trehalosa + 100 $\mu g/ml$  de catalasa + 10% de  $Me_2SO$ .<sup>50</sup>

Las motivaciones para estudiar materiales vítreos son numerosas como ya se ha mencionado. Están en todas partes a nuestro alrededor y, por lo tanto, obviamente atraen el interés más allá de la investigación académica. Al mismo tiempo, esta fenomenología presente en una transición vítrea proporciona a los físicos teóricos profundas cuestiones fundamentales, ya que las herramientas de la mecánica estadística a veces no son suficientes para explicar adecuadamente el estado vítreo. Además, implica la intervención de muchos campos de estudio como la química, bioquímica, ciencia de alimentos etc. que conjuntamente hacen de este un amplio y extraordinario escenario de investigación. Finalmente, se tiene la fortuna de estar constantemente renovado por nuevos desarrollos experimentales, para producir nuevos tipos de materiales amorfos, o para obtener información microscópica sobre la estructura y la dinámica del vidrio.



---

---

# BIBLIOGRAFÍA

---

- [1] ABLETT, S., IZZARD, M. J., AND LILLFORD, P. J. Differential scanning calorimetric study of frozen sucrose and glycerol solutions. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions* 88, 6 (1992), 789–794.
- [2] ADAM, G., AND GIBBS, J. H. On the temperature dependence of cooperative relaxation properties in glass-forming liquids. *The journal of chemical physics* 43, 1 (1965), 139–146.
- [3] ANDRACA, A., GOLDSTEIN, P., AND DEL CASTILLO, L. Tracer diffusion in glassforming liquids. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications* 387, 18 (2008), 4531–4540.
- [4] ANGELL, C. Liquid fragility and the glass transition in water and aqueous solutions. *Chemical reviews* 102, 8 (2002), 2627–2650.
- [5] ANGELL, C., BRESSEL, R., GREEN, J., KANNO, H., OGUNI, M., AND SARE, E. Liquid fragility and the glass transition in water and aqueous solutions. *Journal of Food Engineering* 22, 1-4 (1994), 115–142.
- [6] ANGELL, C. A. Perspective on the glass transition. *Journal of Physics and Chemistry of Solids* 49, 8 (1988), 863–871.
- [7] BALASUBRAMANIAN, S., DEVI, A., SINGH, K., BOSCO, S. D., AND MOHITE, A. M. Application of glass transition in food processing. *Critical reviews in food science and nutrition* 56, 6 (2016), 919–936.
- [8] BÄSSLER, H. Viscous flow in supercooled liquids analyzed in terms of transport theory for random media with energetic disorder. *Physical review letters* 58, 8 (1987), 767.

- [9] BRANCA, C., MAGAZÙ, S., MAISANO, G., MIGLIARDO, F., MIGLIARDO, P., AND ROMEO, G.  $\alpha$ ,  $\alpha$ -trehalose/water solutions. 5. hydration and viscosity in dilute and semidilute disaccharide solutions. *The Journal of Physical Chemistry B* 105, 41 (2001), 10140–10145.
- [10] BRANCA, C., MAGAZU, S., MAISANO, G., MIGLIARDO, P., VILLARI, V., AND SOKOLOV, A. The fragile character and structure-breaker role of  $\alpha$ -trehalose: viscosity and raman scattering findings. *Journal of Physics: Condensed Matter* 11, 19 (1999), 3823.
- [11] BUBNIK, Z., AND KADLEC, P. Sucrose solubility. In *Sucrose*. Springer, 1995, pp. 101–125.
- [12] CHAMPION, D., LE MESTE, M., AND SIMATOS, D. Towards an improved understanding of glass transition and relaxations in foods: molecular mobility in the glass transition range. *Trends in Food Science & Technology* 11, 2 (2000), 41–55.
- [13] CHENLO, F., MOREIRA, R., PEREIRA, G., AND AMPUDIA, A. Viscosities of aqueous solutions of sucrose and sodium chloride of interest in osmotic dehydration processes. *Journal of food Engineering* 54, 4 (2002), 347–352.
- [14] CORTI, H. R., FRANK, G. A., AND MARCONI, M. C. Diffusion- viscosity decoupling in supercooled aqueous trehalose solutions. *The Journal of Physical Chemistry B* 112, 41 (2008), 12899–12906.
- [15] CROWE, J. H. Anhydrobiosis: an unsolved problem with applications in human welfare. In *Membrane Hydration*. Springer, 2015, pp. 263–280.
- [16] CROWE, J. H., CARPENTER, J. F., AND CROWE, L. M. The role of vitrification in anhydrobiosis. *Annual review of physiology* 60, 1 (1998), 73–103.
- [17] CROWE, J. H., CROWE, L. M., OLIVER, A. E., TSVETKOVA, N., WOLKERS, W., AND TABLIN, F. The trehalose myth revisited: introduction to a symposium on stabilization of cells in the dry state. *Cryobiology* 43, 2 (2001), 89–105.
- [18] CROWE, J. H., TABLIN, F., WOLKERS, W. F., GOUSSET, K., TSVETKOVA, N. M., AND RICKER, J. Stabilization of membranes in human platelets freeze-dried with trehalose. *Chemistry and physics of lipids* 122, 1 (2003), 41–52.

- 
- [19] CROWE, L. M. Lessons from nature: the role of sugars in anhydrobiosis. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 131, 3 (2002), 505–513.
- [20] DONTH, E. *The glass transition: relaxation dynamics in liquids and disordered materials*, vol. 48. Springer Science & Business Media, 2013.
- [21] DOREMUS, R. H. *Glass science*. Wiley, 1973.
- [22] EDIGER, M. D., ANGELL, C. A., AND NAGEL, S. R. Supercooled liquids and glasses. *The journal of physical chemistry* 100, 31 (1996), 13200–13212.
- [23] EKDAWI-SEVER, N., DE PABLO, J. J., FEICK, E., AND VON MEERWALL, E. Diffusion of sucrose and  $\alpha$ ,  $\alpha$ -trehalose in aqueous solutions. *The Journal of Physical Chemistry A* 107, 6 (2003), 936–943.
- [24] ELIAS, M., AND ELIAS, A. Trehalose+ water fragile system: properties and glass transition. *Journal of Molecular Liquids* 83, 1-3 (1999), 303–310.
- [25] ENGEL, T., REID, P., HEHRE, W., RODRÍGUEZ, A. R., ROMÁN, J. Z., AND PASCUAL, A. B. *Química física*. No. 541.3076 E5QU5. Pearson Addison Wesley, 2006.
- [26] FRANKS, F. *Water: a matrix of life*. Royal Society of Chemistry, 2007.
- [27] FRANKS, F., AND AUFFRET, T. *Freeze-drying of pharmaceuticals and biopharmaceuticals*. royal Society of Chemistry, 2008.
- [28] FRANKS, F., HATLEY, R., AND FRIEDMAN, H. The thermodynamics of protein stability: cold destabilization as a general phenomenon. *Biophysical chemistry* 31, 3 (1988), 307–315.
- [29] FRANKS, F., MATHIAS, S., AND HATLEY, R. Water, temperature and life. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 326, 1237 (1990), 517–533.
- [30] FRANKS, F., WAKABAYASHI, T., AND MATHIAS, S. F. Nucleation kinetics of ice in undercooled yeast cells: long-term stability against freezing. *Microbiology* 133, 10 (1987), 2807–2815.
- [31] FULCHER, G. S. Analysis of recent measurements of the viscosity of glasses. *Journal of the American Ceramic Society* 8, 6 (1925), 339–355.

- [32] GÉNOTELLE, J. Expression de la viscosité des solutions sucrées. *Industries Alimentaires et Agricoles* 95 (1978), 747–755.
- [33] GIBBS, J. H., AND DIMARZIO, E. A. Nature of the glass transition and the glassy state. *The Journal of Chemical Physics* 28, 3 (1958), 373–383.
- [34] GOLDSTEIN, P., DEL CASTILLO, L., AND GARCIA-COLIN, L. Determination of the isoen-tropic temperature in the glass transition. *Macromolecules* 26, 4 (1993), 655–658.
- [35] GOLDSTEIN, P., GARCIA-COLIN, L., AND DEL CASTILLO, L. On the stokes–einstein relation in glass forming liquids. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications* 275, 3 (2000), 325–335.
- [36] GREEN, J. L., AND ANGELL, C. A. Phase relations and vitrification in saccharide-water solutions and the trehalose anomaly. *The Journal of Physical Chemistry* 93, 8 (1989), 2880–2882.
- [37] GUTZOW, I., AND DOBREVA, A. Structure, thermodynamic properties and cooling rate of glasses. *Journal of non-crystalline solids* 129, 1 (1991), 266–275.
- [38] HARTEL, R. W., ERGUN, R., AND VOGEL, S. Phase/state transitions of confectionery sweeteners: Thermodynamic and kinetic aspects. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 10, 1 (2011), 17–32.
- [39] HARTEL, R. W., JOACHIM, H., AND HOFBERGER, R. Hard candy. In *Confectionery Science and Technology*. Springer, 2018, pp. 211–244.
- [40] JAEGER, G. The ehrenfest classification of phase transitions: introduction and evolution. *Archive for history of exact sciences* 53, 1 (1998), 51–81.
- [41] JAMES, C., MULCAHY, D., AND STEEL, B. Viscometer calibration standards: Viscosities of water between 0 and 60 degrees c and of selected aqueous sucrose solutions at 25 degrees c from measurements with a flared capillary viscometer. *Journal of Physics D: Applied Physics* 17, 2 (1984), 225.
- [42] JENNISKENS, P., AND BLAKE, D. F. Structural transitions in amorphous water ice and astrophysical implications. *Science* 265, 5173 (1994), 753–756.

- 
- [43] JONES, G., AND DOLE, M. The viscosity of aqueous solutions of strong electrolytes with special reference to barium chloride. *Journal of the American Chemical Society* 51, 10 (1929), 2950–2964.
- [44] KERR, W. L., AND REID, D. S. Temperature dependence of the viscosity of sugar and maltodextrin solutions in coexistence with ice. *LWT-Food Science and Technology* 27, 3 (1994), 225–231.
- [45] KRESTOVNIKOV, A. N., AND VIGDOROVICH, V. N. Termodinámica química.
- [46] LIU, J., TANRIKUT, C., WRIGHT, D. L., LEE, G. Y., TONER, M., BIGGERS, J. D., AND TOTH, T. L. Cryopreservation of human spermatozoa with minimal non-permeable cryoprotectant. *Cryobiology* 73, 2 (2016), 162–167.
- [47] LODATO, P., DE HUERGO, M. S., AND BUERA, M. Viability and thermal stability of a strain of *saccharomyces cerevisiae* freeze-dried in different sugar and polymer matrices. *Applied microbiology and biotechnology* 52, 2 (1999), 215–220.
- [48] LONGINOTTI, M. P., AND CORTI, H. R. Viscosity of concentrated sucrose and trehalose aqueous solutions including the supercooled regime. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 37, 3 (2008), 1503–1515.
- [49] MAGAZÙ, S., MAISANO, G., MIGLIARDO, P., MIDDENDORF, H., AND VILLARI, V. Hydration and transport properties of aqueous solutions of  $\alpha$ - $\alpha$ -trehalose. *The Journal of chemical physics* 109, 3 (1998), 1170–1174.
- [50] MARTINETTI, D., COLAROSSO, C., BUCCHERI, S., DENTI, G., MEMEO, L., AND VICARI, L. Effect of trehalose on cryopreservation of pure peripheral blood stem cells. *Biomedical reports* 6, 3 (2017), 314–318.
- [51] MATHLOUTHI, M. X-ray diffraction study of the molecular association in aqueous solutions of d-fructose, d-glucose, and sucrose. *Carbohydrate Research* 91, 2 (1981), 113–123.
- [52] MATHLOUTHI, M., AND REISER, P. *Sucrose: properties and applications*. Springer Science & Business Media, 1995.

- [53] MAZZOBRE, M., SANTAGAPITA, P., GUTIÉRREZ, N., AND DE BUERA, M. Consequences of matrix structural changes on functional stability of enzymes as affected by electrolytes. In *Food engineering: Integrated approaches*. Springer, 2008, pp. 73–87.
- [54] MILLER, D. P., CONRAD, P. B., FUCITO, S., CORTI, H. R., AND DE PABLO, J. J. Electrical conductivity of supercooled aqueous mixtures of trehalose with sodium chloride. *The Journal of Physical Chemistry B* 104, 44 (2000), 10419–10425.
- [55] MILLER, D. P., DE PABLO, J. J., AND CORTI, H. Thermophysical properties of trehalose and its concentrated aqueous solutions. *Pharmaceutical Research* 14, 5 (1997), 578–590.
- [56] MILLER, D. P., DE PABLO, J. J., AND CORTI, H. R. Viscosity and glass transition temperature of aqueous mixtures of trehalose with borax and sodium chloride. *The Journal of Physical Chemistry B* 103, 46 (1999), 10243–10249.
- [57] QUINTAS, M., BRANDAO, T., SILVA, C., AND CUNHA, R. Rheology of supersaturated sucrose solutions. *Journal of food engineering* 77, 4 (2006), 844–852.
- [58] RAHMAN, M. S. Food stability determination by macro–micro region concept in the state diagram and by defining a critical temperature. *Journal of Food Engineering* 99, 4 (2010), 402–416.
- [59] RAHMAN, M. S. Applications of macro–micro region concept in the state diagram and critical temperature concepts in determining the food stability. *Food chemistry* 132, 4 (2012), 1679–1685.
- [60] RAMPP, M., BUTTERSACK, C., AND LÜDEMANN, H.-D. c, t-dependence of the viscosity and the self-diffusion coefficients in some aqueous carbohydrate solutions. *Carbohydrate Research* 328, 4 (2000), 561–572.
- [61] RAMPP, M., BUTTERSACK, C., AND LÜDEMANN, H.-D. Self-diffusion of sucrose in molasses. *Industrial & engineering chemistry research* 39, 11 (2000), 4400–4407.
- [62] RAO, K. *Structural chemistry of glasses*. Elsevier, 2002.
- [63] ROOS, Y. Melting and glass transitions of low molecular weight carbohydrates. *Carbohydrate research* 238 (1993), 39–48.

- 
- [64] ROOS, Y., AND KAREL, M. Amorphous state and delayed ice formation in sucrose solutions. *International journal of food science & technology* 26, 6 (1991), 553–566.
- [65] ROOS, Y., AND KAREL, M. Phase transitions of mixtures of amorphous polysaccharides and sugars. *Biotechnology Progress* 7, 1 (1991), 49–53.
- [66] SABLANI, S., KASAPIS, S., AND RAHMAN, M. Evaluating water activity and glass transition concepts for food stability. *Journal of Food Engineering* 78, 1 (2007), 266–271.
- [67] SCHNEIDER, K., SCHÖNHALS, A., AND DONTH, E. Über die grÖÙe der kooperativen umlagerungsbereiche am thermischen glasübergang amorpher polymere. *Acta Polymerica* 32, 8 (1981), 471–475.
- [68] SEO, J.-A., KIM, S., KWON, H.-J., YANG, Y., KIM, H. K., AND HWANG, Y.-H. The glass transition temperatures of sugar mixtures. *Carbohydrate research* 341, 15 (2006), 2516–2520.
- [69] SLADE, L., AND LEVINE, H. Water and the glass transition? dependence of the glass transition on composition and chemical structure: special implications for flour functionality in cookie baking. In *Water in Foods*. Elsevier, 1994, pp. 143–188.
- [70] SOESANTO, T., AND WILLIAMS, M. C. Volumetric interpretation of viscosity for concentrated and dilute sugar solutions. *The Journal of Physical Chemistry* 85, 22 (1981), 3338–3341.
- [71] SUN, W. Q., LEOPOLD, A. C., CROWE, L. M., AND CROWE, J. H. Stability of dry liposomes in sugar glasses. *Biophysical Journal* 70, 4 (1996), 1769–1776.
- [72] SWINDELLS, J. F. *Viscosities of sucrose solutions at various temperatures: tables of recalculated values*, vol. 440. For sale by the Supt. of Docs., USGPO, 1958.
- [73] TAMMANN, G., AND HESSE, W. Die abhÄngigkeit der viscositÄt von der temperatur bei unterkühlten flüssigkeiten. *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie* 156, 1 (1926), 245–257.
- [74] TELIS, V., AND SOBRAL, P. Glass transitions and state diagram for freeze-dried pineapple. *LWT-Food Science and Technology* 34, 4 (2001), 199–205.
- [75] TELIS, V., AND SOBRAL, P. Glass transitions for freeze-dried and air-dried tomato. *Food Research International* 35, 5 (2002), 435–443.

- [76] UHLMANN, D. A kinetic treatment of glass formation. *Journal of Non-Crystalline Solids* 7, 4 (1972), 337–348.
- [77] VAND, V. Viscosity of solutions and suspensions. i. theory. *The Journal of Physical Chemistry* 52, 2 (1948), 277–299.
- [78] VOGEL, H. The law of the relation between the viscosity of liquids and the temperature. *Phys. Z* 22 (1921), 645–646.
- [79] WALAS, S. M. *Phase equilibria in chemical engineering*. Butterworth-Heinemann, 2013.
- [80] WILLIAMS, M. L., LANDEL, R. F., AND FERRY, J. D. The temperature dependence of relaxation mechanisms in amorphous polymers and other glass-forming liquids. *Journal of the American Chemical Society* 77, 14 (1955), 3701–3707.
- [81] YOU, Y., AND LUDESCHER, R. D. The effect of molecular size on molecular mobility in amorphous oligosaccharides. *Food biophysics* 5, 2 (2010), 82–93.
- [82] ZARZYCKI, J. *Special methods of obtaining glasses and amorphous materials*. Wiley Online Library, 1991.

