



**VARIACIONES DEL CONTENIDO DE HUMEDAD POR EFECTO DE CONGELADO A TEMPERATURAS DE CRIOGENIA**

**VARIATIONS IN WATER CONTENT DUE TO FREEZING AT CRYOGENIC TEMPERATURES**

L.L. Méndez- Lagunas<sup>1\*</sup>, J. Rodríguez-Ramírez<sup>1</sup> y M. Y. García-Cortes<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CIIDIR IPN U. Oaxaca, Hornos 1003 Sta. Cruz Xoxocotlan, Oax. Mexico, C.P.71230.

<sup>2</sup>Universidad Tecnológica de la Mixteca, Carr. a Acatlima Km. 2.5 Huajuapán de León, Oax., México C.P. 69000

Recibido 27 de Noviembre 2007; Aceptado 7 de Agosto 2008

**Resumen**

Las variaciones de contenido de humedad por efecto del congelamiento a temperaturas de criogenia fueron evaluadas en el transcurso de una cinética de secado de ajo. Las condiciones de secado fueron temperaturas constantes de 40°C, 50°C y 60°C con un flujo de aire de 1.8 m/s. Las muestras frescas, secas y en el transcurso de secado fueron congeladas con nitrógeno líquido antes de la determinación de contenido de humedad. Como referencia, muestras no congeladas fueron monitoreadas al mismo tiempo.

Durante las cinéticas de secado, las muestras sometidas a congelamiento por criogenia varían entre 0 y 70% en su contenido de humedad en relación a las no tratadas con criogenia. Estos valores contrastan con los encontrados en muestras completamente secas o totalmente frescas que fue de 0.55 y 1.17 % respectivamente.

Los resultados sugieren que los diversos fenómenos que ocurren durante el congelamiento a temperaturas de criogenia, dependen principalmente del contenido de humedad del material antes de someterse a este proceso.

Estas variaciones son muy importantes si se realizan correcciones de la humedad base seca de determinaciones fisicoquímicas en el transcurso de procesos de conservación (ej. secado) pero afectan poco cuando estas correcciones se efectúan en determinaciones sobre muestras frescas o totalmente secas.

*Palabras clave:* determinaciones fisicoquímicas, criogenia, contenido de humedad.

**Abstract**

Variations in water content owing to freezing at cryogenic temperatures were evaluated in the kinetic drying process of garlic. The drying conditions were constant temperatures of 40°C, 50°C and 60°C with an airflow of 1.8m/s. Samples of garlic that were fresh, dry, and in the process of drying were frozen in liquid nitrogen before determining their water content. As a reference, samples that were not frozen were monitored at the same time.

During the kinetic drying, the samples subjected to cryogenic freezing varied from 0 to 70% in water content compared to those not cryogenically treated. These resultants contrast with those found in wholly dried or wholly fresh samples, which showed a difference of 0.55 and 1.17% respectively.

The results suggest that the diverse phenomena which occur during freezing at cryogenic temperatures depend principally on the water content of the material before it is subjected to this process.

These variations are highly important if correcting this difference in the dry base water content of physical chemical tests in the process of preservation (e.g. drying), but have little effect when these changes are made in tests with fresh or wholly dried samples.

*Keywords:* food analysis, cryogenic, water content.

**1. Introducción**

La criogenia es la producción de bajas temperaturas y actualmente ha sido tomada para englobar la ciencia y tecnología de bajas temperaturas. En principio, la criogenia cubre el rango de temperaturas debajo de la del ambiente, pero la más aceptable definición cubre el rango de temperaturas debajo de 120° K (-153° C). Recientemente esta técnica ha tenido una amplia aplicación en la biocriopreservación y la homogenización por

criogenia entre otras (Rabin et al. 1996). La biocriopreservación es una técnica de conservación de tejido vegetal o animal ampliamente utilizada para preservar las células en su estado fisiológico y evitar su degradación. Este método, que consiste en congelar los materiales, es utilizado principalmente para conservar muestras colectadas y reducir las variaciones en la composición de tejido que no pueden ser analizadas inmediatamente en laboratorio (Kellner y Scurlock, 1971).

\* Autora para la correspondencia. E-mail: lmendezla@ipn.mx.  
Tel. (951)51-70400 ext 82726

La congelación a temperaturas de criogenia (CTC) es la técnica preferida para la conservación de la actividad de enzimas y principios activos en tejidos vegetales y animales que serán posteriormente analizadas. Tal es el caso de las proteasas (Adam y Wall, 2001), oxigenasas, kinasas (Crafts-Brandner y col., 1990, Sharkey y col., 1986) carboxilasas (Usada y Shimogawara, 1994), y otros metabolitos cuya actividad disminuye rápidamente a la temperatura ambiente o que se pierden durante el proceso de reducción de tamaño (Murthy y Bhattacharya, 2008).

La técnica denominada homogenización por criogenia consiste en congelar las muestras a una temperatura inferior al del hielo seco ( $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) antes de ser preparadas para un análisis (cortado, molido, pulverizado, impactado, etc.). Esta técnica es utilizada para evitar la degradación producida durante reducción de tamaño que es ocasionada por la elevación de la temperatura durante la homogenización mecánica. El material, congelado a muy bajas temperaturas, es sólido y frágil permitiendo que el fraccionamiento en partículas pequeñas y mezclado sea más efectivo. La criogenia también es usada en la preparación previa al análisis de alimentos secos o con una muy alta viscosidad que a la temperatura ambiente no se muelen bien, facilitando su fraccionado y homogenización.

Las sustancias más populares usadas en criogenia son el nitrógeno líquido ( $\text{N}_2$ ) con una temperatura de  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  y el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) cuya temperatura es de  $-79\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ciertas ventajas del nitrógeno líquido lo hacen el producto preferido para congelar muestras de tejidos.

En numerosas determinaciones fisicoquímicas deben de realizarse correcciones por el contenido de humedad base seca (Xb.s.) del material al momento de la determinación. Estos valores pueden ser afectados por los fenómenos físicos que se producen durante y después de la criogenia tal como la sublimación, condensación, evaporación, adsorción y/o absorción de humedad que pueden causar una variación en el peso y en el contenido de humedad (X) de los materiales.

La reducción de tamaño de partícula, es una operación donde el congelamiento a temperatura de criogenia, es usado para facilitar el proceso y evitar la pérdida de principios activos. En este caso el área superficial aumenta significativamente produciéndose el fenómeno de absorción-desorción. Otros procesos tal como el pesado y reposo, reforzaran el fenómeno de absorción o desorción de humedad en el material.

Las variaciones de X producidas por el CTC en los materiales pueden llegar a tener un impacto importante. Algunos estudios de alimentos congelados y almacenados han mostrado la importancia de la pérdida de peso sobre la calidad y el costo (Campañone y col., 2001). Otro estudio relacionado con los fenómenos que ocurren a los

alimentos congelados es la liofilización (Campañone y col., 2002). Estos resultados no pueden ser transferidos directamente al proceso de congelación porque la liofilización ocurre a muy bajas presiones, mientras que el congelado ocurre a presión atmosférica, bajo el cual los mecanismos de sublimación y difusión de vapor dentro del producto son diferentes.

Varios autores han reportado la pérdida de peso durante el congelado de materiales (Campañone y col., 2001, 2002 y 2005), mientras que Goral (2008) reportó el incremento de peso durante el descongelado. En el caso de la conservación por congelación, la aplicación principal ha sido en alimentos frescos tal como carnes y verduras con muy altos contenidos de humedad utilizando diversos métodos de congelamiento para alcanzar temperaturas de hasta  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , mientras que para descongelado Goral (2008) utilizó tres métodos hasta alcanzar la temperatura ambiente. Campañone y col. (2005) presentaron un modelo matemático que predice las cinéticas de pérdida de peso.

Este trabajo analiza el congelamiento desde un enfoque diferente a los anteriores. Las diferencias principales son, temperaturas inferiores a las utilizadas en conservación por congelación (<de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), el X del material varía en un intervalo en función del tiempo (>2 hasta un 60% b.s.), se consideran los fenómenos que ocurren durante el descongelado (ganancia de peso) y finalmente la temperatura de congelación en el interior del material se alcanza instantáneamente.

El propósito es evaluar el impacto de la CTC sobre el X de los materiales sometidos a secado, proceso durante el cual el contenido de humedad se reduce de manera continua. Estas variaciones en el X afectaran los verdaderos valores de parámetros de propiedades determinadas después del proceso de congelación.

En el caso particular de una cinética de secado, donde diversas propiedades (ej.; contenido de ácido pirúvico), son determinadas y corregidas por su contenido de humedad, las fluctuaciones pueden afectar de manera significativa los resultados.

## 2. Metodología

### 2.1. Preparación del material.

En este trabajo se seleccionó ajo blanco (*allium sativum*) cultivado en Zacatecas Mex., como material de prueba. Se prepararon rodajas de ajo fresco, previamente pelado, de  $2 \pm 0.2$  mm de espesor con un cortador manual ajustable.

### 2.2. Determinación del contenido de humedad.

Las muestras fueron colocadas en una estufa de vacío VWR Scientific (Modelo 1410, West Chester, PA, USA) por 48 hr a una temperatura de  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  y en un ambiente mantenido libre de humedad

con ayuda de pentóxido de sodio (Sigma) . Los pesos fueron determinados en una balanza analítica Sartorius (Modelo BP211P, Goettingen, Alemania). El contenido de humedad base seca fue determinado con la ecuación:

$$X_{bs} = \frac{P_h - P_s}{P_s}$$

donde  $X_{b.s.}$  es el contenido de humedad base seca, g agua/g sólido seco.

$P_h$  es el peso del material húmedo, g.

$P_s$  es el peso del material seco, g.

### 2.3. Cálculo de variación absoluta.

La ecuación siguiente se utilizó para calcular el % de variación absoluta entre el material congelado y no congelado.

$$\% \text{ var abs} = \left| \frac{X_{nc} - X_c}{X_{nc}} \right| 100$$

donde:

$X_{nc}$  es el contenido de humedad del material no congelado, g agua/g sólido.

$X_c$  es el contenido de humedad del material congelado, g agua/g sólido.

### 2.4. Pruebas preliminares

Se midió la diferencia de peso producidas por el congelamiento y el descongelamiento en muestras frescas ( $X_{b.s.} = 1.945 \pm 0.4$  g agua/g s.s.) y secas ( $X_{b.s.} < 10\%$ ) y se determinó el contenido de humedad.

### 2.5. Cinéticas de peso por efecto de congelación por criogenia durante el secado.

Las rodajas fueron colocadas en una sola capa uniformemente distribuida en charolas y secadas a 40°C, 50°C, y 60°C con un flujo de aire de 1.8 m/s. en un secador de túnel calentado con resistencias eléctricas, con un ventilador de velocidad controlable y un sistema de adquisición de datos (Rodríguez y col., 2001), detalles del secador son mostrados en la Fig. 1. El X en transcurso del secado, antes y después de congeladas, fue monitoreado. Para determinar la humedad, se tomaron muestras cada 30 minutos durante las dos primeras horas de secado, y después cada hora, hasta finalizar el secado. Tres muestras de aproximadamente un gramo son retiradas del secador para cada tiempo predeterminado, son pesadas inmediatamente y el contenido de humedad es determinada. Otro lote de tres muestras de un gramo aproximadamente son retiradas del secador cada tiempo predeterminado, sumergidas en nitrógeno líquido por 80 segundos, pesadas y la humedad determinada.

Durante el descongelado, las muestras son dejadas en reposo durante 15 min para permitir un descongelado uniforme.

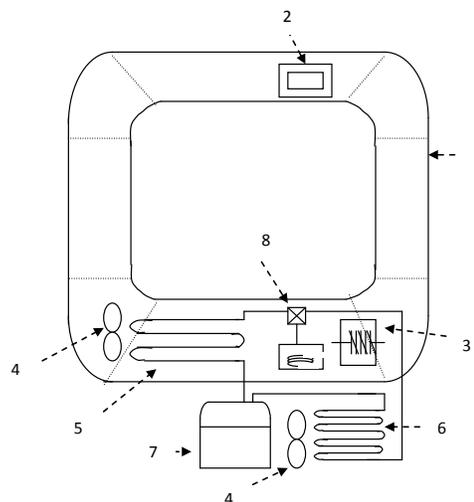


Fig. 1. Secador de túnel (1) conducto del aire caliente, (2) porta muestras, (3) resistencias eléctricas, (4) ventilador, (5) evaporador, (6) condensador, (7) compresor, (8) válvula de expansión.

### 2.6. Diseño experimental y análisis estadístico

Un diseño factorial completo con tres replicas fue utilizado para analizar los datos de las curvas de secado y en las determinaciones de contenido de humedad. Los datos fueron analizados con el método de medidas repetidas de Anova y las comparaciones se realizaron con el método de contrastes ortogonales. El software NCSS (Hintse, 2001) fue usado para los cálculos.

## 3. Resultados y Discusión

### 3.1. Efecto de la congelación a temperaturas de criogenia en muestras frescas y completamente secas.

El aumento o reducción de peso en muestras frescas y secas producido por el congelamiento y por el descongelamiento son mostradas en la Tabla 1. Las muestras con alto X inicial (frescas) pierden peso cuando son congeladas, seguidas por un incremento del peso una vez descongeladas a la temperatura ambiente, sin alcanzar su peso original. Contrariamente, las muestras con muy poco X inicial (secas), muestran un incremento de peso cuando son congeladas, seguidas de una reducción de peso una vez que son descongeladas, sin alcanzar su peso original.

En el caso de las muestras frescas, el comportamiento se explica por la sublimación del hielo en la superficie formando una capa porosa deshidratada, cuyo espesor incrementa con el tiempo. Las fuerzas impulsoras son la diferencia entre la presión de vapor de agua sobre la superficie del alimento y la presión de vapor del aire de los alrededores (Campañone y col., 2005) y la diferencia

de temperaturas entre la superficie del alimento y el aire circundante (Campañone y col., 2002). El aumento de peso es producido por un fenómeno de adsorción de la humedad ambiente y la fuerza impulsora es la diferencia de la humedad en la superficie (que se encuentra parcialmente deshidratado por efecto de la sublimación) y la humedad del aire.

Tabla 1. Ganancia o pérdida de peso de muestras congeladas y descongeladas en relación a la muestra no congelada.

Muestra	Estado	Contenido de humedad (g agua/g s.s)	Aumento o reducción de peso (%)
Fresca	Antes de congelado	1.9833±0.0024	
	congelado	1.9515±0.0058	-
	descongelado	1.8453±0.0082	1.1715±0.17
			1.0705±0.46
60°C	Antes de congelado	0.06800 ±0.001	
	congelado	0.06850±0.0021	0.5243±0.14
	descongelado	0.06605±0.0006	0.0996±0.05
50°C	Antes de congelado	0.07080±0.0052	
	congelado	0.07419±0.0082	0.5816±0.13
	descongelado	0.06687±0.0020	0.0688±0.06
40°C	Antes de congelado	0.07497±0.0006	
	congelado	0.07822±0.0035	0.5686±0.20
	descongelado	0.07414±0.0006	0.1934±0.11

Un fenómeno de sublimación regresiva (deposición) o condensación se pueden presentar en el caso de las muestras secas. La humedad del aire se deposita en forma de escarcha o gotas de agua en la superficie y una vez que la muestra se descongela, la humedad en la superficie es evaporada. La humedad en la superficie busca el equilibrio como en el caso de las muestras frescas y depende del tiempo en que se encuentre en contacto con las condiciones ambientales que le rodean.

### 3.2. Cinéticas de secado y el efecto de la congelación a temperaturas de criogenia sobre el contenido de humedad.

En las figs. 2, 3 y 4 se comparan las curvas de Xb.s. en función del tiempo de secado de muestras sometidas a temperaturas de secado de 40°C, 50°C y 60°C. Las curvas muestran el comportamiento de la humedad de muestras procesadas con y sin congelamiento. La Xb.s. inicial de las muestras frescas es de 1.945 ±0.4 g agua/g s.s.

El proceso de secado involucra un decremento continuo de X en el material y la velocidad con que ese decremento se presenta es

dependiente de las condiciones de secado. A una temperatura de secado de 40°C la velocidad de pérdida de humedad es menor que para las otras temperaturas de secado (50°C y 60°C).

En el caso de las muestras sometidas a temperaturas de secado de 40°C, se observa que desde el inicio del secado hasta un Xb.s. de 0.82 g agua/g s.s, no hay un efecto importante del CTC sobre el X del material. En esta primera parte del secado, el material esta húmedo manteniendo un equilibrio entre la pérdida de peso por la sublimación y su posterior recuperación por adsorción. A medida que el material pierde humedad se comporta como un material seco y el fenómeno de sublimación regresiva o condensación inicia en aproximadamente 200 minutos alternándose con el fenómeno de sublimación.

Para los otros dos caso (50°C y 60°C) la velocidad de secado es mayor. El equilibrio entre la pérdida de peso por sublimación y el aumento de peso por adsorción no se alcanzará al inicio del secado y las curvas se cruzarán cuando la X del material es muy baja (0.2 g agua/g s.s.) predominado el efecto de sublimación regresiva o condensación para el secado a 50°C. El equilibrio en el peso producidos por estos fenómenos, es alcanzando a un Xb.s. de aproximadamente 0.15 g agua/g s.s. (≈100 min) para el secado a 60°C.

Si bien el aumento o reducción de peso en muestras frescas y completamente secas por efecto de la criogenia muestran valores relativamente bajos de entre 0.55 y 1.17 % (Tabla 1), en el transcurso de la cinética de secado la variación de X entre el material congelado y no congelado (% de variación absoluta) es de entre 0 y 70% (Fig. 5).

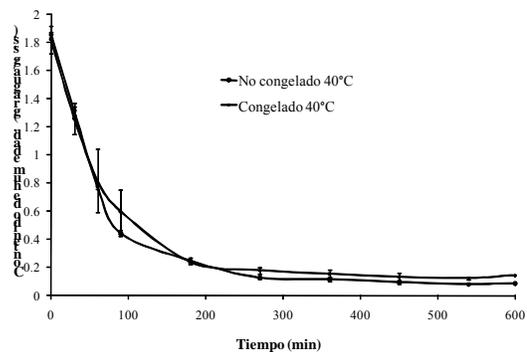


Fig. 2. Contenido de humedad de muestras congeladas y no congeladas. Muestras colectadas durante el secado a 40°C.

Con propósitos de comparación se reviso el trabajo de Goral (2008) el cual muestra que durante la congelación a -20°C y descongelación de materiales vegetales frescos, las pérdidas de peso son pequeñas, mientras que Campañone y col. (2002) encontró una pérdida de peso de entre 0.01 y 7.36% en carne de cerdo durante la congelación a temperaturas de entre -20 y -29°C.

Los resultados de este trabajo sugieren que los fenómenos que pueden producirse durante el congelamiento y descongelamiento dependen del contenido de humedad de los materiales antes de someterse a estos procesos y de las propiedades del material.

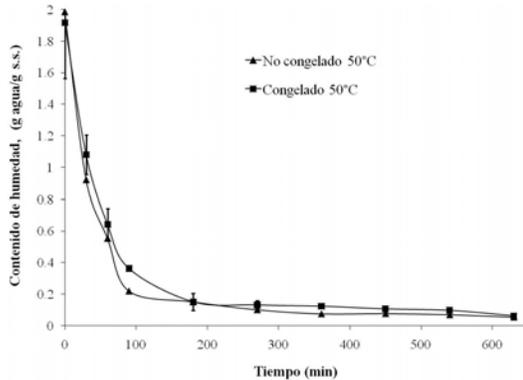


Fig. 3. Contenido de humedad de muestras congeladas y no congeladas. Muestras colectadas durante el secado a 50°C.

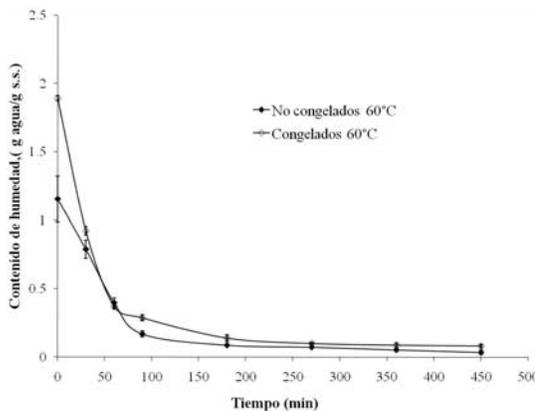


Fig. 4. Contenido de humedad de muestras congeladas y no congelada. Muestras colectadas durante el secado a 60°C.

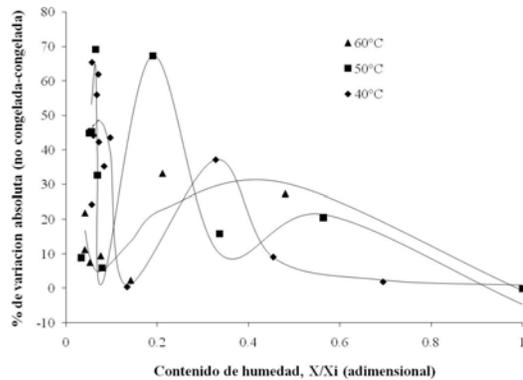


Fig. 5. Porcentaje de variación absoluta del contenido de humedad de muestras congeladas con respecto a las no congeladas. Las líneas continuas indican la tendencia de las variaciones absolutas para cada temperatura.

Para ilustrar cómo afectan las variaciones de X en los resultados de un parámetro medido en el transcurso de secado y corregido por Xb.s. se determinó el ácido pirúvico en el transcurso de una cinética de secado (Tabla 2) y se hizo la corrección de estos valores con los Xb.s. de muestras sin congelar y congeladas usando temperaturas de criogenia. Se observan diferencias significativas de hasta un 96.8% entre los valores de ácido pirúvico corregidos con y sin usar CTC.

Tabla 2. Contenido de ácido pirúvico ( $\mu\text{g/g s.s.}$ ) corrigiendo el contenido de humedad con y sin considerar las variaciones de peso por congelado durante una cinética de secado.

Tiempo	Sin congelar	Congelado	% de diferencia
0	100.04	106.83	-6.78
30	68.60	66.33	3.31
60	31.29	34.86	-11.37
120	9.69	19.08	-96.80
240	7.69	9.2	-19.6
360	3.58	7.21	-101.31
480	2.94	4.99	-69.52

### 3.3. Comparación estadística de cinéticas de secado

Para descartar que el error experimental sea el origen de las variaciones encontradas, las curvas de contenido de humedad contra tiempo, fueron comparadas estadísticamente. Para todas las condiciones de secado se encontró que hay una diferencia significativa ( $\alpha=0.05$ ) entre las muestras procesadas con y sin congelamiento, por lo que se puede afirmar que la diferencia entre las curvas se debe al tratamiento de congelamiento aplicado y que las variaciones del contenido de humedad son potencialmente importantes si este parámetro es usado para corregir los valores de determinaciones fisicoquímicas efectuadas en muestras sometidas a congelado a temperaturas de criogenia.

### Conclusión

En este trabajo se encontró que variaciones de entre 0 y 70 % pueden producirse en el contenido de humedad de muestras sometidas a congelado a temperaturas de criogenia en ajo. La variación depende del contenido de humedad de la muestra antes de ser congelada, de la humedad relativa del aire en que se encuentra la muestra después de congelada y del tiempo de exposición a esas condiciones ambientales.

El contenido de humedad de materiales congelados a temperaturas de criogenia para la conservación, reducción de tamaño y los tiempos de exposición a diversos ambientes varía significativamente por lo que debe de ser determinada después del proceso de congelado para evitar errores en las determinaciones físico químicas

que son corregidas por su contenido de humedad base seca.

### Agradecimientos

Se agradece a la COFAA-IPN por los apoyos otorgados a los autores y al financiamiento del proyecto SIP-20060155. Así mismo se dan las gracias a Frank M. León Martínez y a Juan D. Vela Santiago por la asistencia técnica en este trabajo.

### Referencias

- Adam N.R., Wall G.W. (2001). Multipurpose cryogenic surface apparatus: A liquid nitrogen-chilled sample tray. *Crop Science* 41,755-758.
- Campañone L.A., Roche L.A., Salvadori V.O., Mascheroni R.H. (2002) Monitoring of Weight Losses in Meat Products during Freezing and Frozen Storage, *Food Science and Technology International* 8(4), 229-238.
- Campañone L.A., Salvadori V.O., Mascheroni R.H. (2001) Weight loss during freezing and storage of unpackaged foods. *Journal of Food Engineering* 47, 69-79.
- Campañone L.A., Salvadori V.O., Mascheroni R.H. (2005). Food freezing with simultaneous surface dehydration: approximate prediction of weight loss during freezing and storage. *International Journal of Heat and Mass Transfer* 48(6), 1195-1204.
- Crafts-Brandner SB, Salvucci M.E. and Egli D.B. (1990). Changes in ribulosebiphosphate carboxylase/oxygenase and ribulose 5-phosphate kinase abundances and photosynthetic capacity during leaf senescence. *Photosynthesis Research* 23, 223-230.
- Goral D. (2008). The effect different techniques of freezing and defrosting on the quality of spice vegetables after a long-term freezer storage, *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities* 11(1), 1-15.
- Hintse J. (2001) *NCSS and PASS, Number Cruncher Statistical Systems*, Kaysville, Utah.
- Kellner K. y Scurlock R.G. (1971). Cryogenics and its applications. *Review of Physics in Technology* 2, 25-38.
- Murthy C.T., Bhattacharya S. (2008). Cryogenic grinding of black pepper. *Journal of Food Engineering* 85, 18-28.
- Rodríguez R. J. Méndez L.L., Martínez A.C , Fidel D.N. (2001). A closed loop tunnel for drying kinetics research *Proceeding of 2d. IADC*, Veracruz, Mex., 499-504.
- Sharkey T.D., Seemann J.R., Berry J.A. (1986). Regulation of ribulose-1,5 biphosphate carboxylase activity in response to changing partial pressure of O<sub>2</sub> and light in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiology* 81,788-791.
- Usada H., Shimogawara K. (1994). Induction of the inactivation and degradation of phosphoenolpyruvate carboxylase and ribulose 1,5-biphosphate carboxylase/ oxygenase in maize leaves by freezing and thawing. *Plant Cell Physiology* 35, 363-370.