

**Propuesta de una metodología que integre las tecnologías ultrasonido y
crioconcentración para la obtención de un concentrado de proteína a partir del
lactosuero ácido**

**Nicole Loraine Barbosa Pérez
Daniela Paola Vargas Aldana**

**Universidad El Bosque
Facultad de Ingeniería
Programa de Bioingeniería
Bogotá D.C
2023**

Propuesta de una metodología que integre las tecnologías ultrasonido y crioconcentración para la obtención de un concentrado de proteína a partir del lactosuero ácido

Nicole Loraine Barbosa Pérez
Daniela Paola Vargas Aldana

Trabajo de grado presentado como requisito para optar por el título de:
Bioingeniero

Nidia Casas Forero
Tutora

Yudtanduly Acuña Monsalve
Cotutora

Universidad el Bosque
Facultad de Ingeniería
Programa de Bioingeniería
Bogotá D.C
2023

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	11
INTRODUCCIÓN	13
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
ÁRBOL PROBLEMA	17
JUSTIFICACIÓN	18
2. OBJETIVOS.....	20
2.1 Objetivo General	20
2.2 Objetivos Específicos	20
3. MARCO DE REFERENCIA	21
3.1 MARCO CONCEPTUAL	21
3.1.1. Lactosuero.	21
3.1.2. Composición del lactosuero	21
3.1.1.2 Proteínas del lactosuero.	22
3.1.3 Impacto ambiental del lactosuero.....	23
3.1.4 Ultrasonido en la industria de alimentos.	24
3.1.4.1 Cavitación	25
3.1.5 Técnicas de concentración	25
3.1.5.1 Crioconcentración	27
3.1.5.2 Crioconcentración en bloque.....	28
3.1.6 Congelación en alimentos	29
3.1.6.1 Curva de congelación	29
3.1.7 Sensado de temperatura.....	30
4.2 MARCO GEOGRAFICO DEL MUNICIPIO DE ZIPAQUIRA	33
4.2.2 Economía.....	33
4.2.3 Caracterización de la Industria lechera en Zipaquirá	34
4.3 MARCO NORMATIVO	35
4.4 ESTADO DEL ARTE	36
5. LEVANTAMIENTO DE REQUERIMIENTOS	39
5.1.1 Requerimientos Funcionales:	39
5.1.2 Requerimientos de Calidad:	40

5.1.3 Requerimientos de Restricción.....	40
6. METODOLOGÍA.....	41
6.2 FASE 2: Implementación de una interfaz gráfica para el seguimiento de la temperatura en la curva de congelación.	45
6.3 FASE 3. Definición de las condiciones óptimas de la combinación de ultrasonido (US) y centrifugación, aplicadas en un solo ciclo de crioconcentración.	52
6.4 FASE 4. Proceso de crioconcentración bajo 3 ciclos.	57
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	62
7.1 FASE 1: Caracterización del lactosuero	62
7.2 FASE 2: Implementación de una interfaz gráfica para el seguimiento de la temperatura en la curva de congelación.	65
7.3 FASE 3. Definición de las condiciones óptimas de la combinación de ultrasonido y centrifugación aplicado en un solo ciclo de crioconcentración.	80
8. CONCLUSIONES.....	111

Índice de Figuras

Figura1-1. Diagrama de Árbol Problema.

Figura 4-2. Comportamiento de las burbujas en la cavitación (Mason, 2020)

Figura 4-3. Curva típica de congelación de una solución.

Figura 4-4. Vista geográfica del Municipio de Zipaquirá en Google Maps (“Nuestro municipio,” 2017).

Figura 4-5. Regiones lácteas en Colombia, Sector:Zipaquira

Figura 6-6. Filtración de la muestra con papel Whatman.

Figura 6-7. Diagrama “Casa de calidad” Método (QFD).

Figura 6-8. Implementación y funcionamiento del sistema de monitoreo.

Figura 6-9. Metodología de aplicación del proceso de crioconcentración.

Figura 6-10. Diseño experimental del proceso de crioconcentración con pretratamiento de ultrasonido (US) y para la obtención del concentrado de lactosuero.

Figura 6-11. Diseño de metodología para la aplicación del proceso de crioconcentración bajo 3 ciclos.

Figura 7-12. Matriz QFD para el levantamiento de requerimientos del sistema de monitoreo.

Figura 7-13. Vista interna de la ubicación y soporte de los tubos Falcon en la estructura.

Figura 7-14 A y B. Visualización superior e inferior del modelo final para la impresión 3D de la estructura.

Figura 7-15 A y B. Diseño final de la estructura para el sistema de monitoreo

Figura 7-16. Esquemático del circuito de monitoreo de temperatura.

Figura 7-17. Esquema del algoritmo para Arduino para lectura del sensor de temperatura DS18B20.

Figura 7-18. Diagrama de flujo del algoritmo general para la obtención de datos generados por el arreglo de sensores del componente electrónico.

Figura 7-19. Curva de congelación de la solución de azúcar.

Figura 7-20. Porcentaje de concentrado en función de la velocidad de centrifugación.

Figura 7-21. A. Porcentaje de concentrado para la determinación de las condiciones de aplicación de US.

B. Porcentaje de eficiencia para la determinación de las condiciones de aplicación de US.

Figura 7-22. Diseño experimental para la definición de condiciones de aplicación del tratamiento ultrasonido y crioconcentración en combinación.

Figura 7-23. A. Resultados de eficiencia para la aplicación de US del programa ANOVA y **B.** Resultados de porcentaje de concentrado para la aplicación de US del programa ANOVA.

Figura 7-24. A. Resultados de eficiencia para la aplicación de velocidad de centrifugación del programa ANOVA y **B.** Resultados de porcentaje de concentrado para la aplicación de velocidad de centrifugación del programa ANOVA.

Figura 7-25. A. Resultados de eficiencia para la aplicación de tiempo de centrifugación del programa ANOVA y B. Resultados de porcentaje de concentrado para la aplicación de tiempo de centrifugación del programa ANOVA.

Figura 7-26. Resultados de densidad bajo las diferentes condiciones de proceso.

Figura 7-27. Resultados de color bajo una velocidad de 6000 rpm US-B por 20 min en comparación de la muestra sin tratar.

Figura 7-28. Interfaz gráfica de la curva de congelamiento del lactosuero sin US en MATLAB.

Figura 7-29. Interfaz gráfica de la curva de congelamiento del lactosuero en MATLAB bajo tratamiento de baja potencia por 30 minutos.

Figura 7-30. Interfaz gráfica de la curva de congelamiento del lactosuero en MATLAB bajo la aplicación de alta potencia por 10 minutos.

Figura 7-31. A. Resultados de porcentaje de eficiencia para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración. **B.** Resultados de índice de concentración de hielo para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas

Figura 7-32 A. Resultados de porcentaje de eficiencia para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración.

B. Resultados de porcentaje concentrado para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas.

Figura 7-33. Resultados de porcentaje de rendimiento para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración.

Figura 7-34. Resultados de pH para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración.

Figura 7-35. Resultados de pH para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración.

Figura 7-36. Resultados de grados Brix para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración.

Figura 7-37. Resultados de densidad para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración.

Figura 7-38 A. Resultados de porcentaje de humedad para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración.

B. Resultados de porcentaje de solidos para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas

Figura 7-39 A. Resultados de porcentaje de proteína para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración.

B. Resultados de porcentaje de grasa para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración.

Letras iguales indican que no existen diferencias significativas

Figura 7-40. Resultados de capacidad emulsificante para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración.

Figura 7-41. Resultados de estabilidad emulsificante para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración.

Figura 7-42 A. Curva de congelación del concentrado 1, **B.** Curva de congelación del concentrado 2 y **C.** Curva de congelación del concentrado 3.

Índice de Tablas

Tabla 4-1. Composición de los diferentes tipos de lactosuero.

Tabla 4-2-. Comparación de resultados de las diferentes tecnologías para la concentración de alimentos líquidos.

Tabla 4-3. Comparación de resultados de las diferentes tecnologías para la concentración de alimentos líquidos.

Tabla 6-1. Criterio de calificación de la matriz Pugh para la selección de elementos.

Tabla 7-1. Resultados de caracterización.

Tabla 7-2. Comparación entre diferentes clases de sensores de temperatura.

Tabla 7-3. Comparación entre sensores

Tabla 7-4. Comparación entre microcontroladores.

Tabla 7-5. Matriz de decisión para material de construcción.

Tabla 7-6. Matriz de decisión para elección del método de construcción.

Tabla 7-7. Resultados de punto de congelación (C1, C2 y C3).

Listado de Anexos

Anexo 1. Planos de la estructura diseñada en Fusion 360

Anexo 2. Simulación en Proteus del circuito de monitoreo de temperatura.

Anexo 3. Resultado de análisis ANOVA para Eficiencia (Definición de condiciones centrifugación). Velocidad: Porcentaje de Concentrado

Anexo 4. Resultado de análisis ANOVA para Eficiencia (Definición de condiciones centrifugación). Velocidad: Eficiencia

Anexo 5. Resultado de análisis ANOVA para Eficiencia (Definición de condiciones centrifugación). Temperatura: Porcentaje de Concentrado

Anexo 6. Resultado de análisis ANOVA para Eficiencia (Definicion de condiciones centrifugación). Temperatura: Eficiencia

Anexo 7. Resultado de análisis ANOVA para Eficiencia (Definicion de condiciones centrifugación). Tiempo: Porcentaje de Concentrado

Anexo 8. Resultado de análisis ANOVA para Eficiencia (Definición de condiciones centrifugación). Tiempo: Eficiencia

Anexo 9. Resultado de análisis ANOVA para valor de eficiencia (Diseño experimental).

Anexo 10. Resultado de análisis ANOVA para el porcentaje de concentrado (Diseño experimental).

Anexo 11. Registro fotográfico de los concentrados obtenidos, luego de la aplicación del diseño experimental.

RESUMEN

El lactosuero ácido, inicialmente considerado como un subproducto desaprovechado en la producción de queso, ha experimentado una revalorización gracias a los avances tecnológicos en la industria alimentaria. En este contexto, este trabajo de grado tuvo como objetivo proponer una metodología para la obtención de un concentrado de proteína a partir de lactosuero ácido integrando las tecnologías de ultrasonido y crioconcentración y se monitoreó el comportamiento de la temperatura en el proceso de congelación.

El trabajo se estructuró en cuatro fases. En la primera fase se caracterizó el lactosuero sin tratamiento, asegurando el cumplimiento de los parámetros nutricionales definidos por el Ministerio de Salud. La segunda fase involucró la implementación de una interfaz gráfica para monitorear la temperatura durante la congelación, revelando que los concentrados alcanzaron temperaturas de -6°C , -9°C y -13°C , con una duración mínima de 720 minutos para cada etapa.

En la tercera fase, se determinaron las condiciones de proceso para la aplicación de ultrasonido (US-B 30 min) y crioconcentración (centrifugación a 6000 rpm x 10 min), logrando obtener un crioconcentrado de proteína de alta calidad con valores de proteína y eficiencia del 71% y 92%, respectivamente. Se evidenció que la combinación de ultrasonido mejoró la eficiencia al homogeneizar la formación de hielo, por su parte, la crioconcentración aumentó la concentración al eliminar los cristales de hielo.

En la cuarta fase, se aplicó el proceso de crioconcentración con el pretratamiento ultrasónico en tres ciclos, utilizando las condiciones establecidas en la fase 3. Las pruebas funcionales revelaron que el concentrado de proteína resultante luego de 3 ciclos, exhibió valores de EAI ($0.98 \text{ m}^2/\text{g}$), ESI (4.79 min) y FC (1.97%). Estos resultados sugieren aplicaciones potenciales en la industria alimentaria debido a la capacidad de formar emulsiones estables en entornos ácidos, sugiriendo aplicaciones en la industria alimentaria como conservantes, aderezos y bebidas. En conclusión, este trabajo demuestra que la crioconcentración asistida por ultrasonido es una técnica eficaz y novedosa para preparar soluciones proteicas concentradas de alto valor nutricional y biológico.

Palabras clave: Ultrasonido, crioconcentración, lactosuero, propiedades fisicoquímicas y funcionales.

ABSTRACT

Acid whey, initially regarded as an underutilized byproduct in cheese production, has undergone a revaluation owing to technological advancements in the food industry. In this context, this degree project aimed to propose a methodology for obtaining a protein concentrate from acid whey by integrating ultrasound and cryoconcentration technologies while monitoring temperature behavior during the freezing process.

The thesis project was structured into four phases. The first phase involved characterizing untreated whey, ensuring compliance with nutritional parameters defined by the Ministry of Health. The second phase implemented a graphical interface to monitor temperature during freezing, revealing that concentrates reached temperatures of -6°C, -9°C, and -13°C, with a minimum duration of 720 minutes for each stage.

In the third phase, process conditions for ultrasound application (US-B 30 min) and cryoconcentration (centrifugation at 6000 rpm x 10 min) were determined, resulting in a high-quality protein cryoconcentrate with protein and efficiency values of 71% and 92%, respectively. The combination of ultrasound improved efficiency by homogenizing ice formation, while cryoconcentration increased concentration by eliminating ice crystals.

In the fourth phase, cryoconcentration with ultrasound pretreatment was applied in three cycles using conditions established in phase 3. Functional tests revealed that the protein concentrate after 3 cycles exhibited EAI (0.98 m²/g), ESI (4.79 min), and FC (1.97%) values. These results suggest potential applications in the food industry due to the ability to form stable emulsions in acidic environments, hinting at uses in the food industry such as preservatives, dressings, and beverages. In conclusion, this work demonstrates that ultrasound-assisted cryoconcentration is an effective and innovative technique for preparing concentrated protein solutions with high nutritional and biological value.

Keywords: Ultrasound, cryoconcentration, whey, physicochemical and functional properties.

INTRODUCCIÓN

La valorización del lactosuero, un subproducto significativo en la industria láctea, representa un tema de gran relevancia debido a su potencial nutricional y la necesidad imperante de encontrar tecnologías respetuosas con el medio ambiente para su aprovechamiento. Este subproducto, resultado de la producción de queso, constituye hasta el 90% de la leche utilizada en el proceso. Su riqueza en nutrientes, que incluye proteínas, lactosa, ácido láctico y minerales, lo posiciona como una fuente valiosa para la elaboración de alimentos y productos de alto valor agregado. A pesar de estas virtudes, el lactosuero enfrenta desafíos en su recuperación y reutilización, como la desnaturalización de proteínas y la retención de componentes sensibles al calor (Addai, et al., 2020).

Además, la relevancia de abordar la valorización del lactosuero se intensifica en el contexto actual de la búsqueda de prácticas que preserven el valor nutricional de componentes bioactivos, en particular, las proteínas del lactosuero, donde la crioconzentración emerge como una técnica destacada. La importancia de la crioconzentración radica en su ejecución a bajas temperaturas, minimizando el riesgo de desnaturalización de proteínas y la pérdida de nutrientes sensibles al calor. Esta metodología, al congelar y luego descongelar parcialmente la solución alimentaria, genera cristales de hielo que actúan como barrera física, facilitando la separación del agua y los solutos, incluyendo la valiosa concentración de proteínas. Este proceso no solo mejora la calidad nutricional, sino que también conserva la estructura y actividad de las proteínas, preservando así los nutrientes esenciales (Addai, et al., 2020).

Este enfoque propone una alternativa innovadora para aprovechar la proteína del suero en la elaboración y mejora de productos alimenticios. Actualmente, no existen reportes en la literatura sobre el uso conjunto de ultrasonido y crioconzentración para obtener concentrados de calidad a partir de lactosuero ácido. El propósito de este trabajo es desarrollar una metodología que integre estas tecnologías, con el objetivo de mejorar la eficiencia en la obtención de un concentrado de proteína a partir del lactosuero. Este enfoque aporta significativamente, especialmente en términos de calidad alimentaria, destacando la capacidad emulsificante y la estabilidad de las espumas.

La estructura del trabajo sigue una secuencia lógica, comenzando con una introducción que destaca la importancia de valorizar el lactosuero y justifica la necesidad de soluciones nutricionales. La revisión de la literatura analiza los componentes del lactosuero y las tecnologías existentes, señalando limitaciones y oportunidades en la investigación actual. La metodología detallada explica los procedimientos para obtener el concentrado de proteína mediante ultrasonido y crioconzentración. Adicionalmente, se detalla la implementación de un sistema de monitoreo de temperatura para recopilar datos durante el proceso de congelación y

analizar el impacto del ultrasonido en la crioconcentración. La sección de resultados proporciona un análisis crítico de la información recopilada, evaluando el impacto de las tecnologías en la calidad del concentrado. El análisis de resultados contextualiza los hallazgos dentro del marco teórico y explora las implicaciones prácticas y teóricas. Finalmente, a manera de conclusión se sintetizan los hallazgos clave y sugiere direcciones para futuras investigaciones.

El alcance de este trabajo se centra en la valorización del lactosuero ácido mediante la combinación de las tecnologías de ultrasonido y crioconcentración para obtener un concentrado de proteína de alta calidad; se realiza considerando lactosuero proveniente de pequeños productores lácteos del municipio de Zipaquirá, y se limita a la evaluación de parámetros nutricionales, calidad proteica y propiedades funcionales del concentrado obtenido. Además, se contempla la aplicación de la metodología en condiciones de laboratorio, reconociendo que la implementación a escala industrial puede requerir ajustes específicos.

Es importante destacar que el presente trabajo no aborda exhaustivamente todos los posibles subproductos del lactosuero ni considera la variabilidad completa de las condiciones de producción láctea. Además, aunque se evaluarán propiedades funcionales del concentrado, el estudio no abarcará aspectos sensoriales ni pruebas de mercado. La metodología propuesta y los resultados obtenidos se presentan como una contribución inicial y exploratoria en el campo de la valorización del lactosuero, dejando espacio para investigaciones futuras que puedan ampliar y validar aún más estos hallazgos.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dentro de la industria láctea, el lactosuero se destaca como el subproducto de mayor generación de residuos en la producción de queso. Según Golfo Moatsou y Ekaterini Moschopoulou (2021), para producir 1 kg de queso, se necesitan alrededor de 10 litros de leche, lo que resulta en 9 kg de lactosuero, representando alrededor del 85-90% del volumen de leche empleado en el proceso. Esta cantidad de residuos es considerable, y cobra mayor relevancia considerando las proyecciones de la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) que estiman un aumento del 0,9% en la producción mundial de leche para el año 2023, alcanzando los 944 millones de toneladas (Galketi & Dekermendjian, 2023).

En el contexto colombiano, el país se posiciona en el cuarto lugar en términos de producción de leche entre los 19 países de América Latina y el Caribe, según datos de Reyes (2023). En el año 2021, Colombia alcanzó una producción total de aproximadamente 7.821 millones de litros, como señala León (2022). Además, se prevé un crecimiento significativo en el mercado de la leche en Colombia, con una tasa proyectada del 3,32% entre 2023 y 2028. Esto se traducirá en un valor de mercado estimado en 2.190 millones de dólares para el año 2028, según las previsiones de Statista Market Forecast.

Como resultado del proceso de fabricación de queso, se generan dos variedades de lactosuero: uno dulce y otro ácido. El lactosuero dulce tiene aplicaciones en la producción de alimentos destinados a la nutrición infantil, galletas con lactosuero en polvo, bebidas energéticas y proteicas, así como bebidas fermentadas prebióticas. Además, se emplea en la panificación, en la elaboración de productos farmacéuticos y en la industria de confitería, entre otros usos (UNAD, 2021).

Por otro lado, el lactosuero ácido plantea desafíos debido a su elevada acidez, lo que dificulta su incorporación en los procesos de producción (Rocha-Mendoza, et al., 2021). Este escenario genera dificultades para las pequeñas empresas productoras, que a menudo se ven obligadas a destinar una parte del subproducto al uso en la alimentación porcina, mientras que la otra parte se desecha en cuerpos de agua. Esto genera un impacto ambiental significativo debido al considerable volumen de producción y al alto contenido de material orgánico en el lactosuero, como señala Yadav et al. en 2015. Este procedimiento fomenta la propagación de bacterias, dado que la lactosa sirve como nutriente en el medio de cultivo, lo que degrada la calidad del agua al disminuir el oxígeno disuelto, el cual es consumido por los microorganismos. (Nafar Galeano & Ortiz Rodríguez, 2021).

En Colombia, el sector porcícola emplea el 53% del lactosuero producido como alimento para cerdos, según datos del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (2020). Esto significa que una parte sustancial de este subproducto no se emplea con ese fin. El restante 47% se libera

directamente en efluentes de agua. Las grandes industrias pueden gestionar este subproducto mediante procesos de aprovechamiento o tratamientos antes de verterlo en alcantarillados. Sin embargo, los pequeños productores de leche deben contratar a terceros para la recolección y disposición en plantas de tratamiento, lo que conlleva altos costos de transporte para los productores (Nafar & Ortiz, 2021).

La liberación de este subproducto en plantas de tratamiento genera un impacto ambiental significativo debido a los elevados valores de DQO, que alcanzan los 91.600 mg/L, y los valores de DBO, que llegan a los 90.083 mg/L (Zandona et al., 2021). La elevada necesidad de oxígeno en términos de demanda biológica (DBO) y demanda química (DQO) del suero residual lo convierte en un contaminante ambiental altamente significativo si no se gestiona de manera adecuada. (Buchanan et al., 2023). Estos niveles pueden tener efectos negativos en los procesos biológicos en las plantas de tratamiento de aguas residuales, provocando alteraciones fisicoquímicas en el agua, reduciendo el rendimiento de los cultivos alimentados con aguas tratadas y contribuyendo al fenómeno de lixiviado, lo que a su vez contribuye a la contaminación del medio ambiente (Valencia Denicia, & Ramírez Castillo, 2009).

Una de las tecnologías comúnmente usada para aprovechar el lactosuero ácido, es la evaporación en etapas combinada con membranas, logrando concentraciones de sólidos totales de 50% a 60% (Cochachin-Carrera, et al., 2023). Sin embargo, la exposición a temperaturas superiores a 70 °C puede desnaturalizar las proteínas, impactando la calidad del concentrado de proteína (Zhang, et al., 2021). Además, este enfoque enfrenta desventajas como la pérdida de compuestos volátiles, altos costos operativos, implicaciones ambientales y la necesidad de equipos especializados cuando se evapora a temperaturas más bajas, lo que puede dificultar la gestión de residuos y procesos posteriores, especialmente para pequeñas empresas.

Otra de las alternativas para el aprovechamiento del lactosuero ácido es la ultrafiltración, que genera concentrados líquidos de proteína de suero (LWPC) en un rango de 10% a 20% según lo indicado por Henriques et al. en 2017. Sin embargo, esta tecnología plantea desafíos significativos debido a los niveles elevados de lactosa (entre 3.60% y 3.95%), lo que incide en la calidad de la proteína. Además, requiere inversiones iniciales sustanciales en costos de mantenimiento periódicos, un estricto control de calidad y conlleva preocupaciones sobre la pérdida de lactosa, la posible desnaturalización de proteínas y un mayor consumo de energía, como señala Barba en 2021. Estas complicaciones limitan su aplicabilidad.

Por otro lado, la filtración por membrana utiliza temperaturas inferiores a 70 °C y puede alcanzar concentraciones de sólidos totales de aproximadamente 20-25%. Sin embargo, alcanzar niveles de concentración más elevados resulta complicado debido a la obstrucción de la membrana en

el proceso, lo que implica costos adicionales y reemplazos periódicos, como menciona Zapata en 2020.

Las causas y consecuencias de las deficiencias presentadas por las tecnologías actuales para el aprovechamiento del lactosuero se mencionan a continuación:

ÁRBOL PROBLEMA

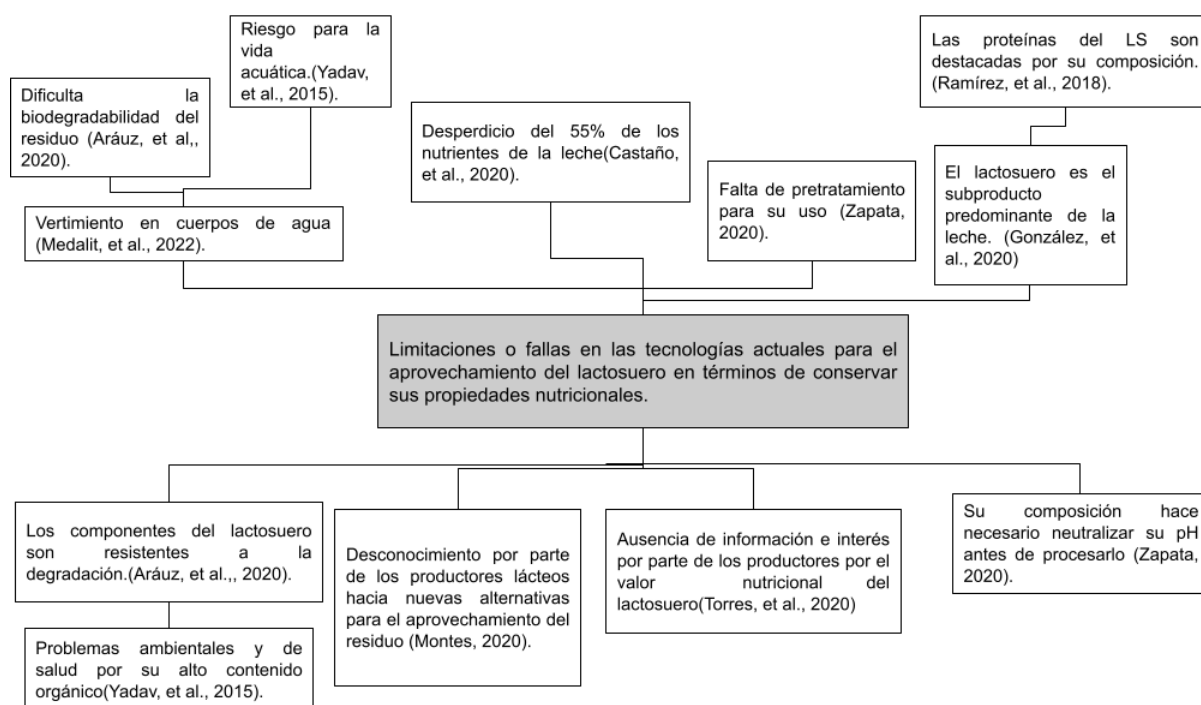


Figura1-1. Diagrama de Árbol Problema.

JUSTIFICACIÓN

El lactosuero, con sus altos niveles de demanda biológica de oxígeno (DBO) y demanda química de oxígeno (DQO), se convierte en un contaminante residual ambiental de gran relevancia si no se trata de manera apropiada. Se ha observado que entre el 50 y el 55% de los nutrientes de la leche permanecen en el suero, como informa León-López et al., en 2022. La concentración de componentes, como la proteína, ofrece la posibilidad de desarrollar nuevos productos y de abordar preocupaciones ambientales relacionadas con los desechos de la industria láctea, tal como señala Maeve Henchion et al. en 2017.

A nivel mundial, se generan aproximadamente 30 mil millones de litros de lactosuero al año, con cerca de 791.447 litros diarios en Colombia. La liberación de este volumen en fuentes hídricas provoca una contaminación equiparable a la producida por 431.670 habitantes en el país, según Hernández en 2019. A pesar del potencial desperdicio de lactosuero en Colombia, este subproducto contiene valiosos nutrientes, entre ellos aminoácidos esenciales con un alto valor biológico, como la leucina, triptófano, lisina y azufre (Gunnars, 2018). Sus principales componentes proteicos incluyen la β -lactoglobulina (β -LG), la α -lactoalbúmina y la lactoferrina (LF), como menciona Gunnars en 2018. Estos aminoácidos son esenciales para el crecimiento y la reparación muscular, lo que convierte al lactosuero en un recurso que podría ser aprovechado en la industria alimentaria para combatir la desnutrición, un problema de salud pública que afecta a todas las edades.

Según una evaluación de seguridad alimentaria realizada por el Programa Mundial de Alimentos en 2022, el 30% de la población colombiana experimenta inseguridad alimentaria, lo que significa que 15,5 millones de personas carecen de acceso suficiente a alimentos y enfrentan dificultades para satisfacer sus necesidades básicas de alimentación (World Food Program, 2023). En este contexto, el lactosuero representa una oportunidad para enriquecer los alimentos y reducir el desperdicio, lo que podría contribuir a combatir la desnutrición (Zandona et al., 2021). Esta relación entre el desperdicio de lactosuero y la inseguridad alimentaria sugiere una vía de investigación y desarrollo de soluciones que aborden ambos problemas en el país.

En busca de alternativas para la concentración de proteínas en el lactosuero, este trabajo de grado ha revisado la combinación de las tecnologías de ultrasonido y crioconcentración, resaltando las ventajas que ofrecen individualmente y su sinergia potencial en la concentración de proteínas en el lactosuero. En este sentido, el ultrasonido ha demostrado ser efectivo al promover la formación de cristales de hielo más pequeños y uniformemente distribuidos en matrices sólidas y líquidas, acelerando la congelación y mejorando la calidad del concentrado de proteína (Chavan et al., 2022). Además, esta tecnología es no invasiva, lo que significa que no se requieran productos químicos ni aditivos, y generalmente se considera segura, con pautas

de seguridad establecidas para minimizar los riesgos de efectos adversos, lo que la convierte en una herramienta valiosa en el procesamiento de alimentos (Chavan et al., 2022)

Por su parte, la crioconcentración, que implica la concentración de alimentos líquidos a bajas temperaturas ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$), ha demostrado ser una técnica altamente prometedora en la obtención de concentrados de proteínas del suero (Prestes et al., 2022; Quintero, 2020). Esta técnica no compromete el valor nutricional, evita la desnaturalización no deseada de fracciones proteicas y permite conservar sus propiedades funcionales y organolépticas (Buyanova, et al., 2021). Además, posibilita la recuperación de compuestos biológicamente activos sensibles al calor, como vitaminas solubles en agua y aromáticos (Barba, 2021).

La combinación de estas dos tecnologías, ultrasonido y crioconcentración, ofrece un enfoque innovador para la concentración de proteínas en el lactosuero ácido: El pretratamiento de ultrasonido puede promover la formación de hielo más homogénea en el proceso de crioconcentración, mejorando así la eficiencia del proceso. Del mismo modo, la crioconcentración favorece la eliminación de cristales de hielo de la solución congelada y de esta manera, aumentar su concentración (Cochachin-Carrera, et al., 2023).

La exploración de las tecnologías de ultrasonido y crioconcentración en la concentración de proteínas en el lactosuero, representa un campo novedoso que ha suscitado un gran interés en la bioingeniería, cuya aplicación conjunta en este contexto, no ha sido previamente evaluada. La bioingeniería, gracias a su enfoque multidisciplinario, desempeña un papel fundamental en este trabajo al abordar cuestiones que afectan a las condiciones de vida del entorno y al diseñar soluciones basadas en la seguridad alimentaria.

La contribución de un bioingeniero en el desarrollo de esta metodología implica el diseño y selección de las mejores condiciones del proceso, ajustando parámetros como la intensidad del ultrasonido, temperaturas de congelación y descongelación, la duración del proceso, basándose en experimentación y modelado. Además, el ingeniero se encarga de evaluar la calidad y seguridad del producto final, por medio de las pruebas de valor nutricional. También implementa sistemas de monitoreo en tiempo y maneja datos mediante técnicas estadísticas. Esto se hace desde una perspectiva interdisciplinaria, integrando conocimientos de biología, sensórica, programación, química y tecnología de alimentos. Además, asegura que la metodología cumple con los estándares de seguridad alimentaria y ambiental.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Proponer una metodología para la obtención de un concentrado de proteína a partir de lactosuero ácido que integre las tecnologías de ultrasonido y criocentración monitoreando el comportamiento de la temperatura en el proceso de congelación.

2.2 Objetivos Específicos

- Establecer las características fisicoquímicas como pH, conductividad, color, turbidez, y parámetros nutricionales tales como grasa y proteína en las muestras de lactosuero sin tratamiento, provenientes de pequeños productores lácteos.
- Implementar una interfaz gráfica que permita hacer seguimiento a la temperatura en la curva de congelación para evaluar el efecto del pretratamiento de ultrasonido.
- Determinar las condiciones de proceso para la aplicación de las tecnologías de ultrasonido y criocentración para obtener un criocentrado de proteína a partir de lactosuero ácido.
- Evaluar el contenido de proteína, capacidad emulsificante y estabilidad de espumas del criocentrado de proteínas proveniente de la aplicación de las tecnologías de ultrasonido y criocentración en tres ciclos de proceso.

3. MARCO DE REFERENCIA

3.1 MARCO CONCEPTUAL

3.1.1. Lactosuero.

El lactosuero (LS) es conocido como “La sustancia líquida obtenida por separación del coágulo de leche en la elaboración del queso”, se caracteriza por ser un líquido color verde luego de ser extraído después de la precipitación de la caseína. De esta manera, el LS se divide en dos categorías principales según su origen: el lactosuero dulce, obtenido a través de la precipitación de proteínas mediante la hidrólisis específica de la k-caseína o la coagulación enzimática, conserva un pH similar al de la leche original y presenta escasas modificaciones en su contenido mineral. Por otro lado, el lactosuero ácido surge a partir de la coagulación mediante procesos ácidos o lácticos de la caseína, lo que provoca un descenso en el pH hasta aproximadamente 4.5, debido a la formación de ácido láctico, y un contenido mineral significativamente alto, conservando más del 80% de los minerales presentes en la leche original. (más del 80% de los minerales presentes en la leche original) (Ramirez, et al., 2018).

3.1.2. Composición del lactosuero

La composición del LS es altamente variable y está influenciada por diversos factores, como el tipo de queso, que puede variar desde 4 a 11,3 L/kg de queso en quesos frescos y madurados respectivamente. El tratamiento térmico de la cuajada, el método de coagulación (ácido o enzimático) y el tipo de cuajo empleado (microbiano, quimosina o mezclas de quimosina/pepsina) también desempeñan un papel, pudiendo introducir amargor residual al LS debido a la inactivación parcial de enzimas proteolíticas (Ramirez, et al., 2018). El lactosuero presenta una composición que incluye un 4.9% de lactosa, un 0.9% de proteína cruda, un 0.6% de cenizas, un 0.3% de grasa, un 0.2% de ácido láctico y un 93% de agua. La fracción proteica se compone de β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina, inmunoglobulinas, proteasa peptona, enzimas nativas, urea, creatina, ácidos nucleicos y amoníaco. (Ramirez, et al., 2018).

En la tabla 4-1 se muestra la composición nutricional del lactosuero dulce y ácido, en donde se observa que, para un contenido similar de proteína, el lactosuero ácido presenta se compone de un mayor porcentaje de minerales y un menor contenido de grasa y lactosa a comparación del lactosuero dulce.

Tabla 4-1. Composición de los diferentes tipos de lactosuero.

Constituyente	Suero dulce	Suero ácido
Sólidos totales	6,3	6,5
Agua	93,7	93,5
Grasa	0,4	0,04-0,27
Proteína	0,8	0,6-0,8
Lactosa	-	4,4-4,6
Calcio	0,043	0,12
Sodio	0,06	0,05
Potasio	0,18	0,16
Cloro	0,10	0,11
Ácido láctico	0,07	0,4

Fuente: Garavito & Mendez (2021)

Las propiedades funcionales de una proteína determinan la formulación y calidad de los alimentos. Por lo tanto, su aplicabilidad en la industria alimentaria depende su funcionalidad, que es definida a través de propiedades como la hidratación y superficie, esta última es fundamental para el proceso de emulsificación, espumado y formado de películas lipoproteicas. (Pezo, 2019).

El comportamiento interfacial de las proteínas tiene una aplicación crucial en la industria alimentaria, donde se utilizan como surfactantes en sistemas emulsionados o espumados. Esto se logra gracias a la capacidad de las proteínas para posicionarse en la interfaz, orientando sus regiones no polares hacia la fase no polar y las regiones polares hacia la fase polar. Las propiedades superficiales de las proteínas son indicativas de su habilidad para difundir, absorberse, desplegarse y adaptarse en una superficie o interfaz, y están influenciadas por una variedad de factores (Pezo, 2019). En la industria de alimentos las proteínas son utilizadas debido al comportamiento de sus propiedades de superficie, en donde la emulsión se forma cuando dos líquidos que no se mezclan bien se dispersan o suspenden juntos, y esto involucra fuerzas que pueden ser de repulsión o atracción entre ellos. Por otro lado, la espuma, que consta de dos fases diferentes, abarca la capacidad espumante, que se refiere a la eficiencia con la que el gas es atrapado en la espuma, y la estabilidad de la espuma, que determina la duración promedio de vida de la espuma. (Pezo, 2019).

3.1.1.2 Proteínas del lactosuero.

El contenido de proteínas en el lactosuero está influenciado en mayormente por el tipo de coágulo y su procesamiento. La presencia de partículas de cuajada en el suero puede aumentar significativamente su contenido proteico. A pesar de que en la leche el 80% de las proteínas son

caseínas, estas se agrupan en la cuajada durante la elaboración del queso, mientras que las proteínas séricas permanecen disueltas en la fase líquida (Palatnik, 2019).

Las proteínas séricas, como la β -Lg, α -La, inmunoglobulinas, seroalbúmina (BSA), proteosas-peptonas y otras, presentan una estructura altamente organizada, lo que las hace susceptibles a la desnaturalización. Estas proteínas constituyen una parte significativa del lactosuero, con aproximadamente un 55-65% de β -lactoglobulina (β -Lg), un 15-25% de α -lactoalbúmina (α -La), un 10-15% de inmunoglobulinas, un 5-6% de albúmina sérica bovina (BSA), un 10-20% de proteosas-peptonas, y trazas de caseína soluble y proteínas menores. Debido a esta variabilidad en su composición, estas proteínas encuentran una amplia gama de aplicaciones. Por ejemplo, la β -Lg se utiliza como agente emulsificante, espumante y gelificante, mientras que la α -La se emplea en aplicaciones farmacéuticas y se añade a fórmulas infantiles y productos alimenticios como sustituto de la albúmina de huevo. La BSA (66 kDa) se utiliza como espumante y gelificante en productos alimenticios para consumo humano, y la lactoferrina (86 kDa) encuentra aplicaciones en fórmulas infantiles, productos cosméticos para la protección de la piel y como agente antibacteriano en la conservación de la carne. Estas proteínas presentan un alto potencial en diversas industrias debido a sus propiedades funcionales y nutricionales (Ramirez, et al., 2018).

3.1.3 Impacto ambiental del lactosuero.

El lactosuero se destaca como un subproducto sumamente nutritivo, ya que aproximadamente "1.000 litros de lactosuero contienen más de 9 kilogramos de proteínas de alto valor biológico, 5 kg de lactosa y 3 kg de grasa de leche". (Golfo Moatsou & Ekaterini Moschopoulou, 2021). Sin embargo, Dado el considerable volumen de producción, muchas empresas dentro de la industria lechera optan por desechar una cantidad significativa de este subproducto mediante su vertido en los efluentes, lo que a menudo resulta en la contaminación del suelo y el entorno ambiental. La demanda química de oxígeno (DQO) del suero de queso puede oscilar entre 50 y 80 g/L, mientras que la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) varía entre 40 y 60 g/L. lo anterior a causa de que los valores de demanda bioquímica (DBO) y demanda química de oxígeno (DQO), son aproximados entre 27 a 60 g/L y 50 a 102 g/L (Zandona et al., 2021), lo cual causa que la presencia de este subproducto interrumpa el proceso biológico de las plantas de tratamiento de aguas residuales. Además, el vertimiento de este subproducto puede afectar las características fisicoquímicas del suelo y provocar que se retrase o haya ausencia de cultivos en un terreno en específico (Yadav et al., 2015).

3.1.4 Ultrasonido en la industria de alimentos.

La calidad de un alimento líquido congelado depende de la morfología de los cristales de hielo porque al suceder cambios en esta, puede verse afectada directamente la microestructura de la matriz alimentaria. Actualmente se usan tecnologías emergentes como el ultrasonido para cambiar esta morfología de los cristales de hielo (Jimenez, 2019). El ultrasonido se caracteriza como una forma de energía que se propaga en forma de ondas sonoras a una frecuencia de aproximadamente 20,000 vibraciones por segundo. (Jimenez, 2019), se puede aplicar dentro de la industria alimentos de tres formas: Aplicado directamente al producto, acoplándose a un dispositivo y sumergiéndose en un baño ultrasónico. En su aplicación es importante tener en cuenta la cantidad de energía del campo generador de sonido.

En el procesamiento de alimentos, la tecnología de ultrasonido resalta una desventaja la cual consiste en que para su uso en grandes cantidades de producción no es totalmente eficiente y para que lo sea es necesaria la combinación con tratamientos no térmicos, de aplicación de presión o el uso de los dos (OCLA, 2021). En contraste con esto, una de las ventajas principales del uso de esta tecnología en alimentos es que, según revisiones bibliográficas, se indica que es óptima para mejorar cualidades como lo son la emulsificación, viscosidad, desairado en líquidos, inactivación de enzimas y vida útil (OCLA, 2021).

En la industria de alimentos se utilizan normalmente bajas energías de ultrasonido en el rango de intensidades menores a 1 W/cm² y frecuencias mayores a los 100KHz y si es deseado considerarse usar altas energías, el rango a utilizar es mayor 1W/cm² y frecuencias entre 18 y 100 KHz. En el caso de la tecnología con baja energía, es usada para procesos como extracción, cristalización, emulsificación, filtración, secado y congelado se ha reportado el uso de ultrasonido como “tecnología asistente” (Robles & Ochoa, 2018) El principio del ultrasonido es la cavitación y el efecto de este en los alimentos es limitado y depende de diferentes variables, lo cual hace que se deba usar en combinación con otras técnicas. El ultrasonido es utilizado en el procesamiento de alimentos, ya que se obtienen mejor calidad, reduce tiempos de proceso, permite a su vez reducir carga microbiana, además de que se considera amigable con el medio ambiente (Robles & Ochoa, 2018).

En una investigación, Silva et al. propusieron un protocolo para el procesamiento de jugo de caqui entero, el cual fue sometido a congelación y se investigaron los aspectos fisicoquímicos y la capacidad antioxidante. La muestra tratada con ultrasonidos (60% de amplitud durante 20 minutos) obtuvo una reducción satisfactoria de los coliformes totales, así como una preferencia global en la evaluación sensorial (da Silva et al., 2021). Estos resultados sugieren que, durante este período las paredes celulares se rompieron gradualmente, lo que aceleró la liberación de proteínas, sin embargo, con adición de tiempo no se observó un aumento proteico notable. En

comparación con el método de extracción convencional (CEM), este método no sólo proporcionó una mayor concentración de proteínas y el rendimiento, sino que también requirió tiempos de extracción mucho más cortos. Además, el contenido proteico obtenido demostró una mejor solubilidad, propiedades emulsionantes, propiedades espumantes y capacidad de retención de aceite en comparación con el CEM (Bing, Haji & Abulimiti, 2019).

3.1.4.1 Cavitación

La cavitación es la interacción entre las ondas del ultrasonido, el líquido y el gas disuelto. El proceso de cavitación se caracteriza por que ocurre en secciones del líquido que están expuestas a presiones muy altas. Sucede de forma tal que, cuando las burbujas alcanzan un tamaño crítico, colapsan y vuelven al tamaño inicial que tenían. Este colapso de la implosión produce una liberación de energía (Dadan et al., 2021). Esta liberación de energía tiene como resultado una elevación de temperatura de congelación de equilibrio en el líquido, lo cual aumenta el sobre enfriamiento, definiendo la fuerza impulsora de la nucleación del hielo.

Sin embargo, se considera que “las principales consecuencias de la irradiación por ultrasonidos en un determinado líquido son la cavitación y la agitación, las que aportan en la mejora de la transferencia de calor y la velocidad de congelación” (Dadan et al., 2021). A continuación, se podrá observar la figura 4-2, en la cual se explica gráficamente el comportamiento de las burbujas en la cavitación.

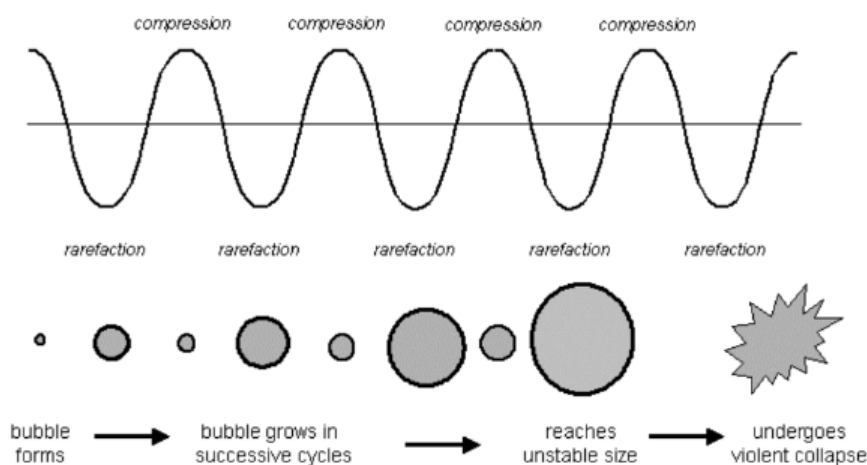


Figura 4-2. Comportamiento de las burbujas en la cavitación (Mason, T. J. (2020)

3.1.5 Técnicas de concentración

Para la conservación de alimentos, en la actualidad se usan diferentes métodos, uno de ellos es el proceso de concentración aplicado en alimentos líquidos, esta técnica consiste en eliminar el

mayor porcentaje de agua del alimento por medio de diferentes tecnologías para extender su vida útil, facilitar los procesos de almacenamiento y transporte, y así mismo reducir el desarrollo de microorganismos, lo cual ayudaría a la conservación de alimentos y a garantizar la calidad de estos mismos (Ouaffak, 2020). Las tecnologías que usualmente se utilizan para la concentración de alimentos líquidos son evidenciadas en la tabla 4-2 mostrada a continuación:

Tabla 4-2-. Comparación de resultados de las diferentes tecnologías para la concentración de alimentos líquidos.

Tecnología de concentración	Descripción
Evaporación	Es una técnica de concentración de líquidos ampliamente utilizada en el ámbito de los alimentos, ya que consiste en utilizar la ebullición para eliminar el agua presente en ellos. Esta técnica permite obtener un nivel de concentración de sólidos totales superior al 50%. Sin embargo, presenta la desventaja que, por el uso de altas temperaturas, la calidad del concentrado es baja en comparación con otras técnicas, ya que se pierden valores nutricionales y organolépticos como vitaminas, proteínas, compuestos volátiles y aromáticos, entre otros.
Tecnología de membranas	La tecnología de membranas es una técnica que se puede realizar de dos diferentes formas para la concentración de alimentos; ultrafiltración y ósmosis inversa. El uso de las técnicas de la tecnología de membranas da como resultado una buena calidad de concentrado de alimento. No obstante, es una tecnología en la cual se obtiene un bajo nivel de concentración, alcanzando niveles cercanos al 30%. Por ejemplo, en la técnica de ósmosis inversa, no se realiza una separación completa, debido a que deja pasar a través de la membrana moléculas como aminoácidos libres o vitaminas, además de que las membranas utilizadas en esta tecnología tienden a obstruirse con facilidad, por lo que se requieren de tratamientos adicionales de limpieza para poder ser utilizadas nuevamente, incrementando los costos de uso.
Crioconcentración	Es una de las técnicas emergentes más utilizadas para la concentración de alimentos, debido a que emplea las bajas temperaturas durante su proceso. Esta se basa en el principio de eliminación del agua del alimento líquido mediante el proceso de congelación y posterior separación de los cristales de hielo a través del uso de la gravedad o fuerzas externas como vacío y centrifugación, y esta manera se logra obtener un producto con niveles de concentración cercanos al 50%, conservando la calidad nutricional y sensorial del producto.

Fuente: Ouaffak (2020).

En la tabla 4-3 mostrada a continuación, podemos observar el resultado de la comparación de las diferentes tecnologías de concentración en donde se reflejan las ventajas y desventajas del uso de cada una de estas. De esta manera es posible evidenciar que, en el proceso de evaporación, se tiene un consumo mayor de energía, se alcanza un nivel de concentración mayor a 50°Brix, el mayor en la comparación con las otras tecnologías, pero su calidad de producto es baja, lo cual es una ventaja significativa. Para la ósmosis inversa se observa que tiene el nivel más bajo de concentración, no hay gasto de energía lo cual es una ventaja y la calidad es media, su desventaja claramente se basa en el nivel de concentración del producto. Por su parte en el proceso de crioconcentración, el consumo de energía se encuentra ubicado en un valor

intermedio en comparación con la evaporación y osmosis inversa. La concentración que alcanza la crioconcentración puede ser igual a 50°Brix nivel que se considera medio-alto para este tipo de procesos y respecto a la calidad del producto, se considera que es de buena calidad gracias al uso de bajas temperaturas (Rubio Moreno, 2018).

Tabla 4-3. Comparación de resultados de las diferentes tecnologías para la concentración de alimentos líquidos.

Método	Principio	Consumo teórico-energía (kJ/g agua)	Máxima concentración (°Brix)	Calidad	Costo
Evaporación	Fase de separación Gas-Líquido	2,6	>50	Bajo	Bajo
Osmosis Inversa	Separación por membrana	≈ 0	≈ 30	Medio	Medio
Crioconcentración	Fase de separación Sólido-Líquido	0,33	≈ 50	Alto	Alto

Fuente: Ouaffak (2020).

3.1.5.1 Crioconcentración

La crioconcentración es una técnica que permite concentrar alimentos líquidos, como jugos de frutas, leche, café, extractos, y lactosuero (Ouaffak, 2020). La crioconcentración tiene diferentes técnicas, pueden ser directas o indirectas, las cuales tienen en común tres fases principales: Nucleación, crecimiento y separación de cristales de hielo formados. Debido a esto, la nucleación es la etapa en el proceso de congelación que corresponde al comienzo de la formación de pequeños cristales durante el proceso de congelación. Para que se dé la formación de hielos, inicialmente es necesario que se dé la formación de núcleos que actúen como centros de cristalización y para que esto suceda la solución a congelar ha de llegar a un cierto grado de subenfriamiento.

Existen dos tipos de nucleación, la primaria y secundaria; la primera puede ser homogénea y consiste en la formación de núcleos espontáneos libres de partículas o también puede ser heterogénea que es la formación de núcleos alrededor de partículas suspendidas. Para la crioconcentración en alimentos se usa la nucleación en su mayoría heterogénea debido a la diversidad de componentes que se pueden encontrar en estos mismos y en esta técnica tiene lugar en la etapa de subenfriamiento (Ouaffak, 2020).

La técnica de crioconcentración se clasifica según el contacto del refrigerante y el producto a concentrar. En las técnicas de sistemas directos el refrigerante actúa como medio de transferencia de calor, es una técnica que se usa en poca proporción en el sector alimenticio, ya que produce una pérdida de componentes volátiles o puede también disminuir el sabor del alimento líquido a concentrar. A diferencia de que, en la industria alimentaria las técnicas de sistemas indirectos son las más utilizadas, debido a que en el sistema indirecto es necesaria una superficie de intercambio de calor, lo cual permite evitar mezclas o contaminación entre el refrigerante y el alimento líquido que se está trabajando (Ouaffak, 2020). Dentro de los sistemas indirectos, hay tres tipos de técnicas de acuerdo con la forma en que se da el proceso de cristalización: en suspensión, en película o en bloque.

3.1.5.2 Crioconcentración en bloque

La técnica de crioconcentración en bloque se basa en implementar un método de congelación-descongelación en donde inicialmente se produce la congelación unidireccional completa de un fluido alimentario, para luego producir una descongelación parcial que permite realizar la separación de la fracción concentrada y la fracción del hielo por medio de la gravedad. En esta técnica el bloque de hielo actúa como una carcasa sólida en la cual circula la fracción concentrada y la cantidad de soluto atrapado en el cristal de hielo se reduce, produciendo la separación de estas dos fracciones. La crioconcentración en bloque tiene diferentes ventajas como lo es, que consiste en una congelación en bloque de un solo paso, lo cual económicamente es beneficioso (Ouaffak, 2020).

En la concentración por congelación del lactosuero utilizando un sistema de bloques, Aider et al., (2007) informaron que la eficiencia de la concentración de la materia seca varía entre el 93 y el 32 % para el primer y el último nivel, respectivamente. La disminución observada en la eficiencia del proceso es el resultado del aumento de la retención de sólidos en el hielo. Por su parte, Cochachin et al. (2023) describe la crioconcentración en bloques asistida por centrifugación como una técnica innovadora y efectiva para la concentración de proteínas. Según los hallazgos de este estudio, se observa que el suero sometido a crioconcentración presentó niveles significativamente elevados de sólidos disueltos totales, y esta concentración se incrementó de manera proporcional al número de ciclos de concentración aplicados. Además, se destaca que la fracción concentrada contenía cantidades superiores de lactosa y proteína en comparación con la fracción de hielo.

El procedimiento crioconcentración en bloque centrífuga (CBCC) en tres ciclos se llevó a cabo según el método descrito por Casas-Forero et al. (2021), en el que durante 12 h llevaron a un congelador estático varias muestras de zumo de arándanos a una de dos temperaturas $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ o $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ y posteriormente las transfirieron a una centrífuga operada a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos a

4000 rpm para forzar la separación de la fracción concentrada (Cs) de la fracción de hielo (Cf) (Casas-Forero, Orellana-Palma, & Petzold, 2021).

Los resultados con respecto a la retención confirmaron la influencia beneficiosa de la crioconcentración centrífuga y dieron paso a considerarla una tecnología efectiva en la retención de compuestos bioactivos valiosos. Lo cual se pudo dar por dos diferentes opciones a considerar: La influencia de las temperaturas utilizada en la crioconcentración sobre los resultados de alta concentración obtenida y la migración de solutos de la fracción de hielo a la fracción concentrada en el proceso de centrifugación (Casas-Forero, Orellana-Palma, & Petzold, 2021). Por otra parte, los valores de concentración alcanzados a 10 min y 5 °C son similares a los reportados por Ramos para la crioconcentración del jugo de yacón a una velocidad de rotación de la centrífuga de 4500 rpm y 2 min en el primer ciclo de crioconcentración.

3.1.6 Congelación en alimentos

Durante el proceso de congelación en los alimentos se reduce la temperatura del producto por debajo de su punto de congelación, lo cual permite su preservación ya que las bajas temperaturas reducen la actividad bioquímica, enzimática y microbiana del alimento. Por lo general un alimento, se somete a temperaturas de congelación por debajo de los -10 °C a un alimento con el propósito de mantener su calidad y extender su tiempo de conservación. Durante este procedimiento, el agua contenida en el alimento se transforma en cristales de hielo, lo cual disminuye la actividad de los microorganismos y enzimas, además de reducir las reacciones oxidativas que podrían llevar a su deterioro (Jimenez, 2019).

La calidad de los productos congelados se ve afectada por la velocidad de congelación, cuanto más rápida sea la velocidad de congelación, mejor será la calidad de los productos congelados. La tasa de congelación está estrechamente relacionada con el crecimiento y la formación de cristales de hielo (Freezing Basics, 2021). El ochenta por ciento de los cristales de hielo se forman en la zona de máxima generación de cristales de hielo, por lo que cuanto más corto sea el tiempo de paso por la zona de máxima generación de cristales de hielo, menor será la influencia de los cristales de hielo en la calidad de la congelación (Dadan, et al., 2021). En este sentido, Dadan et al. (2021), indica que la aplicación de procesos con ultrasonido promueve la formación de cristales más homogéneos por efecto del proceso de cavitación y que a su vez esto mejora la transferencia de calor por convección, acelerando el proceso de congelación y mejorando la calidad final del producto después del proceso de descongelación (Dadan, et al., 2021).

3.1.6.1 Curva de congelación

El proceso de congelación en alimentos al contener solutos disueltos además de agua se comporta como la de una solución (Estacio, Mayumi, Oregon & Mardin, 2018). En la figura 4-3 mostrada a continuación, se puede observar la curva de congelación típica de una solución, la cual se diferencia evidentemente de la curva de congelación de alimentos debido a que en estos últimos la velocidad de congelación es mayor.

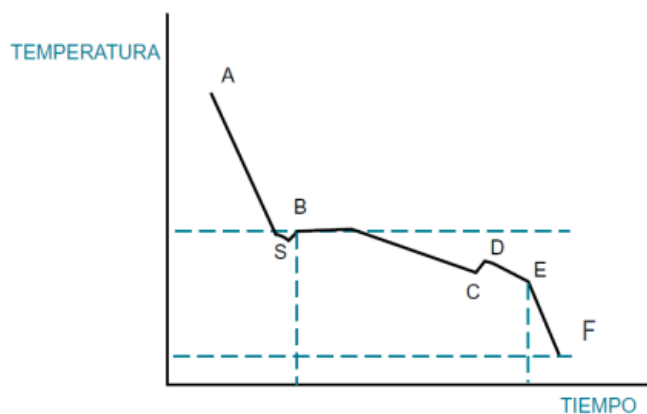


Figura 4-3. Curva típica de congelación de una solución.

Las secciones de esta curva son explicadas a continuación (Estacio, Mayumi, Oregon & Mardin, 2018):

A-S: El alimento se enfría por debajo de su punto de congelación. Pero el punto S, corresponde a una temperatura inferior al punto de congelación, el agua permanece en estado líquido.

S-B: La temperatura aumenta rápidamente hasta alcanzar el punto de congelación.

B-C: En esta fase se forma la mayor parte del hielo, es decir que el calor se elimina a la misma velocidad que en las fases anteriores, eliminando el calor latente con la formación de hielo, permaneciendo la temperatura prácticamente constante. El incremento de la concentración de solutos en la fracción de agua no congelada provoca el descenso del punto de congelación, por lo que la temperatura disminuye ligeramente.

C-D: En esta fase uno de los solutos alcanza la sobresaturación y se cristaliza. Aumenta la temperatura debido a la liberación del calor latente.

D-E: Acá continúa la cristalización del agua y los solutos.

E-F: La temperatura de la solución desciende.

3.1.7 Propiedades Funcionales

3.1.7.1 Formación Espumas

La formación de espuma es un proceso complejo que implica la creación de un sistema de dos fases que consta de células de aire separadas por una fina capa líquida continua llamada fase laminar. En alimentos, la espuma puede definirse como un sistema de dos fases que consta de burbujas de aire aisladas por una fina capa líquida continua, también llamada fase laminar. La distribución del tamaño de las burbujas de aire en la espuma desempeña un papel crucial en la apariencia y las propiedades de textura de los productos espumosos. Las espumas que exhiben una distribución uniforme de pequeñas burbujas de aire confieren cuerpo, suavidad y ligereza a los alimentos elaborados con este proceso. Estas propiedades son esenciales para la calidad sensorial de los productos espumosos (Borilova, et al., 2019).

Las proteínas juegan un papel fundamental en la formación y estabilidad de las espumas alimentarias. Contribuyen significativamente a la distribución uniforme de las finas células de aire en la estructura de los alimentos espumosos. El cuerpo y la suavidad característicos de estos productos están estrechamente vinculados a la formación controlada de burbujas de aire, lo que facilita la volatilización de sabores y aromas, mejorando así la palatabilidad de los alimentos. La eficiencia de adsorción de proteínas en la interfaz aire-agua y su capacidad para reducir la tensión superficial son factores determinantes en la formación de espuma. Estas propiedades influyen en la estabilidad y durabilidad de la espuma, asegurando una estructura cohesiva y resistente (Zhang et al., 2022).

Para comprender y controlar la formación de espuma, Fatemi, M., & Hashemi Shahraki, B. (2018), investigaron una teoría termodinámica que utiliza el volumen y la vida útil de la espuma como criterios fundamentales. Esta teoría aborda aspectos clave como la energía interfacial, la cinética de adsorción de proteínas y la dinámica de la tensión superficial, proporcionando un marco conceptual sólido para analizar y optimizar los procesos espumosos en la industria de alimentos.

3.1.7.2 Actividad Emulsificante

La actividad emulsionante de las proteínas, particularmente la identificación y diseño racional de péptidos con actividad superficial, ha sido objeto de investigaciones recientes. Los péptidos, constituidos por secuencias específicas de aminoácidos, ofrecen la posibilidad de ser adaptados para adquirir propiedades específicas, convirtiéndolos en agentes emulsionantes prometedores. La aplicación efectiva de estos péptidos como emulsionantes se ha visto limitada por la falta de comprensión sobre el comportamiento de estos compuestos, las relaciones estructura-rendimiento y la implementación de diversas estrategias de diseño. Para abordar este desafío, se ha explorado la hidrolización de proteínas como un proceso para descomponerlas en péptidos, buscando así descubrir nuevas moléculas con actividad emulsionante (Ricardo, Pradilla, Cruz, & Óscar Álvarez, 2021).

En su reciente artículo McClements et al., (2022) analizaron los principios fisicoquímicos de la funcionalidad de los emulsionantes y luego presentó una serie de pruebas analíticas que pueden usarse para cuantificar la capacidad de las proteínas para formar y estabilizar emulsiones. Estas pruebas incluyen métodos para caracterizar la efectividad de las proteínas para promover la formación y estabilidad de las pequeñas gotitas generadas durante la homogeneización, así como su capacidad para estabilizar las gotitas contra la agregación en diferentes condiciones de pH, composición iónica, temperatura y cizallamiento (McClements, Lu, & Großmann, 2022).

3.1.7.3 Estabilidad Emulsión

La estabilidad de las emulsiones en la industria de alimentos, es un aspecto crítico que influye directamente en la calidad y vida útil de los productos. La estabilidad de la emulsión se refiere a la capacidad de las emulsiones para resistir cambios en sus propiedades fisicoquímicas a lo largo del tiempo. Estas propiedades son determinadas por la interacción entre los emulsionantes, generalmente proteínas y/o lípidos, y las fases acuosa y oleosa. La selección adecuada de emulsionantes y su concentración precisa son esenciales para formar una capa interfacial eficiente que evite la coalescencia de las gotas dispersas y la separación de fases (Hu, et al., 2017).

Los autores Mohammed, Okoye, & Salisu (2016) investigaron el efecto de la viscosidad de la fase dispersa (aceite) sobre la estabilidad de la emulsión, demostrando que la viscosidad de la fase dispersa influye en la estabilidad de la emulsión. Las emulsiones con mayor viscosidad de fase dispersa tienden a exhibir una mejor estabilidad. Por otra parte, investigaciones más recientes mencionaron que las pruebas de estabilidad son una parte integral del trabajo de desarrollo de emulsiones y se han utilizado varios métodos para evaluar la estabilidad de la emulsión, como experimentos de congelación y descongelación (Glassco, 2019).

3.1.8 Sensado de temperatura

Existen diferentes maneras de medir la temperatura con variedad de tipos de sensores, es por esto que la ingeniería ha permitido innovar sensores que permitan controlar los cambios de temperatura de procesos industriales y de todo tipo. Los sensores de temperatura que pueden ser utilizados en la electrónica junto con microcontroladores y otros sistemas electrónicos digitales para conseguir determinados resultados, pueden ser: Termocuplas en un rango de (-200 a 2800°C), sistemas de dilatación (-195 a 760), termoresistencias (-250 a 850), termistores (-195 a 450) y pirómetros de radiación de (-40 a 4000) (Bauzá, et al., n.d). Para poder obtener resultados gráficamente, las temperaturas deben ser monitoreadas con una precisión de al menos 0,6 °C para ejecutar un programa de adquisición de datos por medio del sensor (Gabas, Telis-Romero & Telis, 2003).

- Región plana situada al oriente, rica en pastos aprovechados para la ganadería.
- Región montañosa situada al occidente, (rica en minerales) entre la que se destacan entre otras las siguientes alturas característicamente culturales.

De acuerdo a lo encontrado en su división, es un municipio que se caracteriza por la amplia llegada de productos agropecuarios de toda la región, además de que en este municipio está ubicada la empresa Frigorífico de Zipaquirá, empresa que se destaca por su calidad en servicio y aporte a la economía para la región. El sector comercial representa el 50% de las actividades desarrolladas en el municipio, es también un municipio con amplia población con industria láctea y agropecuaria (“Nuestro municipio,” 2017).

Caracterización de la Industria lechera en Zipaquirá

El sector lácteo en Zipaquirá se caracteriza en gran medida por la presencia de medianas industrias productoras de leche y sus derivados. Entre estas destacadas empresas se encuentran Colandes, Lácteos El Recreo, El Pomar, Planta de Lácteos Algarra (perteneciente al Grupo Gloria), Cosmolac y La Gran Vía. Sin embargo, uno de los actores destacados en este sector es Lácteos Zipalac, una cooperativa multiactiva de productores de leche. Zipalac es parte de un grupo de organizaciones cuyo enfoque principal radica en el procesamiento y transformación de la leche. Además, se distingue por su interés en la búsqueda de formas innovadoras de aprovechar el lactosuero residual de su proceso, lo que demuestra su compromiso con la eficiencia y la sostenibilidad en la industria láctea local, por esta razón fue el lugar seleccionado para la recolección de la muestra. En la figura 4-5, se puede ver el mapa de Colombia en el cual se encuentra sombreado la región de Cundinamarca, principal agente producción láctea en el país, en la cual pertenece el municipio de Zipaquirá (Axioma Estudio SAS, 2020).



Figura 4-5. Regiones lácteas en Colombia, Sector:Zipaquirá.

4.3 MARCO NORMATIVO

De acuerdo con la resolución 02310 de 1986 del Ministerio de Salud, por la cual se reglamenta parcialmente, lo referente a procesamiento, composición, transporte y comercialización de los derivados lácteos en el artículo VIII, donde se especifican las características fisicoquímicas que debe tener el lactosuero en donde en su forma en polvo, debe tener un porcentaje mínimo de sólidos totales de aproximadamente 95.0 y de proteínas de aproximadamente 07. De acuerdo con el artículo 54 de este mismo artículo, se prohíbe la venta o destinación de este lactosuero para consumo humano directo, sólo podrá usarse como ingrediente o materia prima de un proceso, luego de ser higienizado adecuadamente (Ministerio de Salud, 1986).

Asimismo, la resolución 2997 de 2007 del Ministerio de la Protección Social establece el reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que debe cumplir el lactosuero en polvo, como materia prima de alimentos para consumo humano, con el fin de proteger la salud y la seguridad humana y prevenir las prácticas que puedan inducir a diferentes tipos de errores (Díaz Urueña, 2019). Sin embargo, la resolución 1031 de 2010 modifica el artículo 6 de la resolución 2997 de 2007, la cual fue nombrada anteriormente, modificó el artículo 6 de dicha resolución cambiándolo por el artículo 1 de la resolución 715 de 2009, en cuanto a que los requisitos fisicoquímicos de la lactosa y de las cenizas del lactosuero en polvo, con el fin de armonizar la reglamentación nacional con la internacional y garantizar de esta manera la calidad de los productos para proteger la salud humana (Ministerio de la Protección Social, 2010; ISO, 2014).

Para obtener el porcentaje proteico de lactosuero tomado como muestra, se usó como referencia lo citado en la norma ISO 8968-1 del 2014, la cual en la Parte 1, especifica el método de Kjeldahl para el contenido de nitrógeno y el cálculo de proteína cruda de la leche y los productos lácteos, donde además define que este método puede ser usado en leche entera, queso duro y procesado, leche en polvo y productos lácteos en donde está incluido el lactosuero y el concentrado de proteína de suero. Según esta norma, los métodos no son aplicables a muestras que contienen caseinato de amonio (ISO, 2014). En cuanto al nivel de concentración de proteínas que la metodología deberá permitir alcanzar deberá ser de al menos 3 veces del valor inicial de proteínas presente en el lactosuero, según lo mencionado en la norma ISO 6731 del 2010 en donde especifica el método de referencia para la determinación del contenido total de sólidos de la leche, la nata y la leche evaporada (ISO, 2010).

4.4 ESTADO DEL ARTE

Se han reportado varios estudios para el proceso de concentración del lactosuero empleando el proceso de crioconcentración para obtener un producto que conserve la calidad de los componentes de este subproducto. Debido a que las condiciones de proceso pueden influir en la calidad de la proteína, la aplicación de ultrasonido se ha asociado con la propiedad de inducir procesos de nucleación, factor importante en los procesos de crioconcentración, ya que lograr unas condiciones adecuadas de formación del hielo, favorece una mayor producción de crioconcentrado (Kiani et al., 2011).

En este sentido, Kiani et al. (2011) realizaron un estudio sobre la nucleación asistida por ultrasonido de algunos modelos de alimentos líquidos y sólidos durante la congelación, en el cual estudiaron el uso de ondas de ultrasonido para inducir la nucleación dinámica en muestras de agua desionizada, solución de sacarosa y gel de agar, y se discutió el mecanismo de nucleación asistida por ultrasonido. Los resultados del estudio arrojaron que la evaluación del efecto de diferentes duraciones de la aplicación de ultrasonido en geles de agar indicó que 1s no fue lo suficientemente largo para inducir la nucleación, 3s fue óptimo, 5 y 10s produjeron calor e inhibieron la nucleación y 15s no mostraron diferencias significativas. La irradiación con ultrasonido durante 3s indujo la nucleación en muestras de gel de agar a diferentes temperaturas, lo que indicó que el ultrasonido pudo inducir la nucleación en las muestras de fluido de manera más eficiente que en las muestras sólidas, sin embargo, el uso de ultrasonidos es un medio efectivo para controlar el proceso de cristalización como una aplicación prometedora en la congelación de alimentos (Kiani et al., 2011).

En relación con el proceso de crioconcentración de lactosuero, se han reportado varios estudios, entre ellos tenemos, el realizado por Aider et al. (2007), evaluaron en el 2007 el proceso de crioconcentración del lactosuero y el impacto en su composición y propiedades fisicoquímicas de la solución concentrada y la fracción de hielo. En este estudio, el proceso de congelación se realizó a -10 ± 1 , -20 ± 2 y -40 ± 2 °C y el procedimiento de descongelación a 18 ± 2 °C en cinco ciclos (etapas), los resultados indicaron que la lactosa estaba más concentrada en la fase del hielo mientras que las proteínas se concentraban en la fase del concentrado. De esta manera, fue posible concentrar el lactosuero hasta un 35% de materia seca después de cuatro niveles y las proteínas totales se concentraron hasta el 20% de la materia seca total. La eficiencia de concentración del proceso disminuyó al aumentar la etapa de crioconcentración, sin embargo, el reciclaje de hielo puede mejorar la eficiencia del proceso, también se hizo un modelo matemático que evidenció que la etapa 3 es la óptima de crioconcentración (Aider, Halleux & Akbache, 2017).

Adicionalmente, en la actualidad se estudia el efecto de la crioconcentración en bloques asistida por centrifugación sobre las propiedades fisicoquímicas y la digestibilidad *in vitro* de las proteínas concentradas del suero de leche; en este sentido, Cohachin-Carrera et al (2023) indica que el proceso de crioconcentración no afectó significativamente la proteína del suero, evaluada en términos de grado de hidrólisis. Pero, se resalta el efecto positivo que tiene el proceso de crioconcentración en mejorar el proceso de digestibilidad gastrointestinal de la proteína del suero. Por lo que, en este estudio, se subraya que esta técnica permite la preparación de soluciones proteicas concentradas que poseen un alto valor nutricional y biológico, lo que sugiere su utilidad en aplicaciones alimentarias y nutricionales.

Sin embargo, los análisis de digestibilidad *in vitro* indicaron que la proteína obtenida mediante crioconcentración exhibió una mejor digestibilidad gastrointestinal en comparación con la obtenida por evaporación. Esto se reflejó en valores del 68,2% y 55,4%, respectivamente, destacando la superioridad de la proteína crioconcentrada en términos de su capacidad de digestión en el sistema gastrointestinal. De esta manera, este estudio subraya la eficacia y novedad de la técnica de crioconcentración en bloques asistida por centrifugación. Esta técnica permite la preparación de soluciones proteicas concentradas que poseen un alto valor nutricional y biológico, lo que sugiere su utilidad en aplicaciones alimentarias y nutricionales (Cohachin-Carrera, et al., 2023).

Por otra parte, una investigación realizada por Silva et al. (2021), tuvo como objetivo proponer un protocolo para el procesamiento de jugo de caqui integral y evaluar los efectos del tratamiento con ultrasonido en relación con los aspectos microbiológicos, sensoriales y antioxidantes. El jugo de caqui se sometió a concentración de congelación y se investigaron los compuestos fenólicos totales (CPT), fisicoquímicos y la capacidad antioxidante. La muestra tratada con ultrasonido (60% de amplitud durante 20 min) obtuvo una reducción satisfactoria de coliformes totales, así como la mayor cantidad de TPC y flavonoides totales en comparación con el control. El tratamiento con ultrasonidos redujo las cargas microbiológicas (coliformes totales y termo tolerantes), reduciendo así el tiempo de pasteurización suave cuando se aplicaron tratamientos combinados, lo que podría representar un ahorro muy significativo en términos de procesos industriales ya que esta técnica reduce el tiempo de procesamiento y también requiere un bajo consumo energético (da Silva et al., 2021).

Además, el uso de ultrasonidos dio como resultado una bebida homogénea con una aceptación positiva en términos de evaluación sensorial. Esta técnica también parece ahorrar energía en comparación con los procesos de evaporación tradicionales, reduciendo los costos operativos, así lo demostraron Pazmiño, et al., el 2017 cuando evaluaron la energía necesaria para la concentración por congelación de una solución estándar de sacarosa; aplicaron tres métodos diferentes (película descendente, descongelación fraccionada y congelación en bloque). En

comparación con los procesos de evaporación tradicionales, la concentración por congelación ahorra hasta un 30% de energía. Así mismo, Dadrasnia y col. destacaron en el 2021 que la baja energía y temperaturas requeridas para la concentración de congelación resultan en bajos costos de energía para el paso de procesamiento. Además, se pueden utilizar materiales de bajo costo y el líquido no necesitará un pretratamiento para ser concentrado, por lo que también hay un bajo impacto ecológico (da Silva et al., 2021).

5. LEVANTAMIENTO DE REQUERIMIENTOS

El levantamiento de requerimientos se llevó a cabo considerando la necesidad y las expectativas del usuario en relación a la calidad deseada del crioconcentrado rico en proteína, además de tener en cuenta las restricciones técnicas, financieras u otras limitaciones que pudieran afectar la viabilidad de la propuesta. A continuación, se detallan estos requerimientos:

5.1.1 Requerimientos Funcionales:

- Durante el proceso de congelación del lactosuero se debe mantener constante la temperatura de la cámara de congelación a -20°C (Casas-Forero et al., 2021).
- El proceso de congelación del lactosuero debe realizarse como mínimo por 12 horas, a fin de garantizar que la muestra esté completamente congelada (Casas-Forero, et al., 2021).
- El tiempo del proceso de centrifugación en la etapa de separación de la fracción de hielo no debe ser superior a 20 minutos, a fin de evitar la descongelación anticipada de la muestra y no lograrse la separación de las dos fracciones (da Silva et al., 2021; Casas-Forero et al., 2021).
- La velocidad de centrifugación empleada durante la etapa de separación de la fracción de hielo estuvo entre los 4.000 y 10.000 rpm, según estudios de procesamiento de alimentos y parámetros de centrífuga Hermle (Bing, et al., 2019; Casas-Forero, et al., 2021).
- El sistema de monitoreo debe tener la capacidad de mostrar los datos al usuario mediante una interfaz gráfica con características tales como nomenclatura de las variables y periodo de muestreo.
- El sistema de monitoreo debe poder medir un valor de temperatura en grados Celsius y enviarlo a un sistema remoto para un monitoreo constante de la temperatura para obtener tiempos de visualización cada minuto mientras la muestra permanece en las 12 horas mínimas de congelamiento (Casas-Forero, et al., 2021).
- Para medir la temperatura se debe emplear un dispositivo que permita medir temperaturas desde 20°C a -20°C como mínimo, con el fin de hacer el seguimiento de la congelación de las muestras las cuales se harán en este rango mencionado, sabiendo que se parte de una muestra a condiciones de ambiente (20°C) y la metodología se desarrolla a una temperatura de -20°C .
- El sistema de monitoreo debe tener una fuente de alimentación constante para su correcto funcionamiento, según las indicaciones del sensor que se vaya a usar.
- El sistema de monitoreo debe permitir la transmisión continua minuto a minuto de la información a medida que el sensor va realizando las respectivas mediciones y La curva

de enfriamiento del lactosuero mostrará una discontinuidad, o una disminución repentina de la pendiente, en el punto de congelación del líquido, de esta manera es posible obtener datos precisos que son fáciles de informar Magazine (2023).

5.1.2 Requerimientos de Calidad:

- Obtención de un crioconcentrado rico en proteínas con una capacidad emulsificante mayor al 70% y de estabilidad de espumas cercana al 30% (Bing et al., 2019; Pezo, 2019).
- La metodología debe permitir alcanzar un nivel de concentración de proteínas de al menos 3 veces del valor inicial de proteínas presente en el lactosuero (ISO, 2010).
- En la metodología se deben realizar al menos 3 ciclos de crioconcentración para probar en qué ciclo se llega a la calidad que se busca.
- Según la resolución 02310 de 1986 del Ministerio de Salud la muestra inicial de lactosuero debe tener un porcentaje mínimo de sólidos totales de 5.5% y de proteínas de 0.7% (Ministerio de Salud, 1986)
- El sistema de monitoreo debe tener la capacidad de mostrar los datos de temperatura con una precisión de al menos 0,6°C mediante una interfaz gráfica (Gabas, et al., 2003).

5.1.3 Requerimientos de Restricción

- En la aplicación del proceso de ultrasonido no se va a modificar las condiciones de potencia y frecuencia dado que el baño de ultrasonido de laboratorio no lo permite.
- Durante el proceso de centrifugación se mantendrá una temperatura de máximo 20°C, ya que temperaturas superiores favorecen una rápida descongelación de la muestra y por debajo de esa temperatura, no se logra un proceso de separación, afectando el rendimiento del proceso. (Casas-Forero, et al., 2021).
- El sistema de monitoreo de la temperatura hará el seguimiento de esta por medio de una la curva de congelación a través del tiempo, sin embargo, no controlará dicha variable.
- Teniendo en cuenta que para realizar la curva de congelación no es necesario considerar otras variables aparte de temperatura y tiempo, el sistema de monitoreo no medirá pH ni otras variables externas.
- El sistema de monitoreo arrojará datos con un margen de error dado por la tolerancia de error de los sensores (Gabas, et al., 2003).

6. METODOLOGÍA

El método para la recolección de la muestra de lactosuero proveniente de la Asociación ZIPALAC en Zipaquirá, se llevó a cabo de la siguiente manera:

1. Planificación: Antes de iniciar el proceso de recolección de lactosuero, fue imprescindible realizar una planificación detallada como se observa en el cálculo adjunto en Excel, considerando la cantidad mínima necesaria a emplear para garantizar las diferentes pruebas de proceso para la metodología.
2. Coordinación con la Asociación ZIPALAC: Se estableció comunicación con la Asociación ZIPALAC para coordinar la logística y obtener la autorización necesaria para llevar a cabo la recolección del lactosuero. Esto implicó confirmar la disponibilidad de la cantidad requerida (6L).
3. Preparación de Equipos y Materiales: Verificar y preparar los equipos necesarios para la recolección, como recipientes herméticos de 3L para cada lote, etiquetas de identificación, termómetro, y material de limpieza y desinfección para garantizar condiciones sanitarias favorables.
4. Recolección del Primer Lote: Se recolectó cuidadosamente 3L de lactosuero, evitando contaminación externa.
5. Almacenamiento Temporal del Primer Lote: Tras la recolección, se almacenó el primer lote a temperatura refrigerada de -4° para evitar cambios en las propiedades del lactosuero.
6. Intervalo de 1 Mes: Se definió el intervalo de máximo un mes para proceder con la recolección del segundo lote.
7. Recolección del Segundo Lote: Se repitieron los pasos 4 y 5 para recolectar 3L adicionales de lactosuero, aplicando los mismos estándares de calidad y cuidado.
8. Almacenamiento Final: Se unificaron los dos lotes recolectados en un recipiente final, asegurando la homogeneidad del producto. Se almacenó el total de 6L de lactosuero en el refrigerador hasta su procesamiento subsiguiente.

Para la alcanzar los objetivos específicos propuestos en este trabajo de grado se plantearon 4 fases, las cuales corresponden a:

Fase 1: Caracterización del lactosuero, Fase 2: Implementación de una interfaz gráfica para el seguimiento de la temperatura en la curva de congelación, Fase 3: Definición de las condiciones óptimas de la combinación de ultrasonido y crioconcentración aplicado en un solo ciclo y por último Fase 4: Proceso de crioconcentración en 3 ciclos bajo los mejores resultados de proceso definidos en la fase 3.

6.1 FASE 1: Caracterización del lactosuero.

Esta fase se dividió en 2 actividades: Revisión bibliográfica y caracterización del lactosuero.

1. Revisión bibliográfica:

Se realizó una revisión bibliográfica en las bases de datos de Science Direct, Scopus y Web of Science, con el fin de determinar los valores que deben tener el suero en relación a los parámetros fisicoquímicos y nutricionales, para lo cual se emplearon los siguientes criterios de búsqueda "Caracterización AND lactosuero", "Caracterización AND suero de leche", "physicochemical AND characterization AND whey", "nutritional AND whey". A partir de los resultados obtenidos se seleccionaron los artículos que incluyeron los parámetros de pH, acidez, densidad, conductividad, turbidez, porcentaje de proteína y grasa. A partir de esta revisión se seleccionaron 6 artículos asociados al tema, los cuales se compilaron en una tabla comparativa.

2. **Caracterización del lactosuero:** La caracterización se realizó con el fin de identificar la composición del lactosuero inicial y se realizó evaluando parámetros fisicoquímicos de pH, acidez, densidad, sólidos totales, conductividad y turbidez, y parámetros nutricionales como contenido de proteína y grasa. Para esta evaluación se empleó la siguiente metodología:

- Obtención de la muestra: La muestra de lactosuero fue recolectada de pequeños productores de lácteos de Cundinamarca específicamente del sector de Zipaquirá, correspondiente a la producción de queso fresco sin sal, y luego se trasladó a los laboratorios de la Universidad el Bosque Chía, donde se mantuvo refrigerada a una temperatura de 10°C hasta su uso (el cual no fue mayor a 2 días).
- Filtración: Con el fin de retirar las partículas suspendidas y parte del contenido de grasa que está presente en el lactosuero, se realizó la filtración de la muestra empleando papel filtro Whatman (tamaño de poro: 11 µm), como se muestra en la figura 6-6.



Figura 6-6. Filtración de la muestra con papel Whatman.

- Parámetros fisicoquímicos.

- pH: Para la determinación del pH del lactosuero se utilizó el pHmetro Hanna Instruments (A111).
- Acidez (%): Para determinar la acidez, se utilizó Hidróxido de Sodio (NaOH 0.1 N) y Fenolftaleína. Se pesó aproximadamente 5 g de muestra de lactosuero que fueron diluidos con 50 mL de agua destilada y se realizó el proceso de titulación con Hidróxido de Sodio hasta alcanzar un pH=8.3 (color violáceo) y se registró el volumen consumido de NaOH. El porcentaje de acidez se calculó teniendo en cuenta la ecuación (1).

$$\% \text{ Acidez} = \frac{N \times VD \times Meq}{M}$$

(1)

Donde:

N: Normalidad de NaOH (0.1 N)

VD: Volumen de NaOH consumido.

Meq: Miliequivalentes del ácido láctico (0.09)

M: Cantidad de lactosuero en gramos (5 g)

- Densidad (g/ml): Se determinó por la relación masa / volumen, para lo cual se pesó un volumen de 5 mL de lactosuero empleando una balanza analítica (Bas 31 Boeco). La densidad se calculó utilizando la ecuación (2).

$$Densidad = \frac{Masa\ (g)}{Volumen\ (ml)} \quad (2)$$

- Porcentaje de Sólidos Totales (%): Se pesó una cápsula de porcelana previamente secada a 105 °C por 12 horas y se registró su peso ($W_{capsula}$), luego se colocó aproximadamente 10 g de lactosuero en la capsula ($W_{muestra}$) y se llevó a secar en la estufa por 24 horas a 70°C. Posteriormente se pesó la capsula con la muestra seca (W_{final}). A partir de la ecuación (3) se calculó el porcentaje de sólidos totales.

$$\%ST = \frac{W_{final} - W_{capvacía}}{W_{muestra}} \times 100\% \quad (3)$$

- Conductividad ($\mu mho/cm$): Para la determinación de la conductividad del lactosuero se utilizó el equipo de nombre Waterproof tester (HI98129), siguiendo los siguientes pasos:

- Llenar un vaso precipitado limpio y seco con la muestra de lactosuero.
- Sumergir la sonda de conductividad en la muestra, asegurándose de que la parte de medición de la sonda esté completamente sumergida en la muestra y que no toque las paredes del vaso precipitado.
- Agitar ligeramente la sonda dentro de la muestra para eliminar las burbujas de aire atrapadas en la sonda.
- Tomar el registro de la medición mostrado en el display del equipo.

- Turbidez (NTU): Se llevó a cabo una dilución de 1:100 para la medición de este parámetro, con el propósito de asegurar resultados adecuados en el equipo Spectroquant Multy.

- Parámetros nutricionales.

Se determinó el porcentaje de proteína bajo el método Kjeldahl, AOAC 991.20.21st. Ed 2019 y de grasa bajo el método Gerber, AOAC 2000.18. 21st. Ed 2019. Estos análisis fueron realizados por el laboratorio externo Control S.A.S.

Todas las mediciones se realizaron por triplicado y los resultados obtenidos se reportan como promedio +/- desviación estándar.

6.2 FASE 2: Implementación de una interfaz gráfica para el seguimiento de la temperatura en la curva de congelación.

Esta fase tuvo como objetivo implementar un sistema de monitoreo con el fin de visualizar el comportamiento de la temperatura del lactosuero a lo largo del tiempo de congelación, de manera que, pudiera evaluarse el impacto de los tratamientos al suero previos al proceso de congelación en mención. Para llevar a cabo el desarrollo del sistema de monitoreo de temperatura, se empleó la metodología CDIO centrándose los 3 primeros elementos que la componen: Conceptualización, Diseño e Implementación.

Conceptualización:

1. Levantamiento de requerimientos según la relación producto-necesidad respecto al sistema de monitoreo.

El levantamiento de requerimientos para el sistema de monitoreo se realizó por medio del método de despliegue de la función de calidad (QFD). La figura 6-7 muestra el elemento principal de este método, conocido como “casa de la calidad”, que representa los resultados de un cálculo matemático que categoriza las características fundamentales a considerar en el diseño del prototipo, incluyendo aspectos electrónicos, de estructura y soporte (Bernal, 2012). Una vez que se identificaron las necesidades del usuario y se les asignó prioridad, se procedió a definir los parámetros necesarios para crear una matriz de relaciones que destacara los aspectos críticos relacionados con el "QUÉ" y el "CÓMO" para cumplir con los requerimientos de funcionalidad, calidad y restricción, que permitieran la implementación del sistema de monitoreo de temperatura en donde fuera posible observar la curva de congelación.

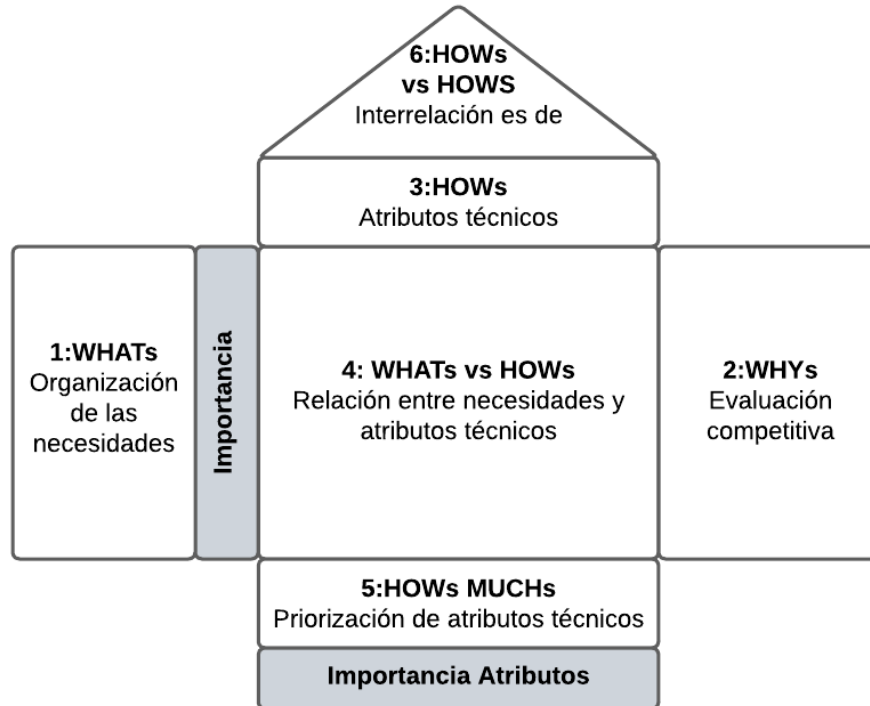


Figura 6-7. Diagrama “Casa de calidad” Método (QFD)

En el desarrollo de la matriz QFD, se consideraron aspectos clave como la facilidad de construcción del prototipo, el uso del software para llevar a cabo la programación y la capacidad del sistema para monitorear la temperatura. Para cada uno de los criterios, se realizó una evaluación considerando su relación e importancia para el usuario, asignándole ponderaciones de (1) en caso de una relación muy débil, (3) si están medianamente relacionadas y (9) si la importancia de la relación era alta.

2. Revisión bibliográfica para la selección de los componentes electrónicos (sensor de temperatura y microcontrolador) que permiten el monitoreo del sistema.

Para la selección de componentes electrónicos destinados a la medición de temperatura a lo largo del tiempo, se realizó una exhaustiva revisión bibliográfica en sitios web especializados en sistemas electrónicos diseñados específicamente para esta finalidad. Para llevar a cabo esta revisión, se utilizaron las siguientes frases clave de búsqueda: "Sensor de temperatura para líquidos", "Microcontrolador digital" y "Sensado de temperatura en el tiempo". Los criterios que se emplearon para la selección de los sitios web y artículos incluyeron la precisión y la calibración, ya que la precisión desempeña un papel fundamental en la obtención de datos confiables a lo largo del tiempo. Además, se consideró el rango de temperatura que los sensores

debían ser capaces de medir, asegurando que cubrieran el espectro necesario para el funcionamiento adecuado del sistema.

Además de estos aspectos, se tuvieron en cuenta la frecuencia de muestreo de datos, el tipo de conexión y la interfaz de comunicación. Los resultados de esta búsqueda en artículos y sitios web condujeron a la selección de componentes electrónicos, en la que se evaluaron factores cruciales como la sensibilidad, la linealidad, el tipo de salida, así como las ventajas y desventajas de su implementación, junto con su costo. Estos aspectos se evaluaron cuidadosamente para garantizar que los componentes elegidos fueran los más adecuados y cumplieran con los requisitos específicos del sistema de monitoreo, así como con los requisitos del proyecto de grado en su totalidad.

Este proceso de selección de componentes fue crucial para la construcción del sistema de monitoreo, ya que, dado que se requiere que dicho sistema sea digital e interactivo, es fundamental poder detectar y procesar la señal generada por los sensores. Esto implica la configuración adecuada de la conexión del sistema de adquisición de datos en el microcontrolador, así como la programación necesaria para su funcionamiento integral.

3. Selección de sus componentes de la estructura mediante matrices de decisión tipo Pugh.

La elección de los componentes de la estructura se realizó por medio de una búsqueda bibliográfica que permitió identificar las posibles opciones a utilizar para dar paso a la construcción de la estructura respecto a modo y material. La compilación y elección de estos resultados se realizó por medio de matrices utilizando el método Pugh el cual permite diferenciar los criterios de manera cuantitativa y de esta manera priorizar las características del producto que se pretende utilizar (“Matriz-De-Pugh,” 2019).

Para la ponderación de resultados en estas matrices se analizó la relación del criterio con el componente como se muestra en la tabla 6-1 en donde 1 (uno) corresponde a “malo”, 3 “aceptable” y 5 a “excelente”. En donde posteriormente, se debatieron los puntos fuertes y las limitaciones que presentan las posibles alternativas para la construcción de este sistema de monitoreo.

Tabla 6-1. Criterio de calificación de la matriz Pugh para la selección de elementos

Ponderación	1	3	5
Valoración	Malo	Aceptable	Excelente

Diseño:

1. Diseño de ingeniería para la estructura del sistema de monitoreo de temperatura.

Para realizar el diseño CAD de la estructura del sistema de monitoreo, se utilizaron los softwares Sketchup y Fusión 360 con sus planos correspondientes con el objetivo de permitir una visualización clara del montaje que se deseaba construir a escala de laboratorio para su implementación, lo anterior teniendo en cuenta las dimensiones y el peso tanto de los componentes electrónicos como de la estructura y los límites de espacio del equipo de congelación a emplear para el desarrollo de los ensayos de congelación.

2. Diseño de ingeniería de la etapa instrumental del sistema electrónico para el monitoreo de temperatura.

La etapa instrumental del sistema electrónico para el monitoreo de temperatura se desarrolló a partir de la identificación y definición de los requerimientos específicos del sistema de monitoreo de temperatura, incluyendo las características de medición necesarias, las condiciones ambientales de operación, los objetivos de rendimiento, la portabilidad, el tamaño reducido y la simplicidad del producto. Para lo cual se tuvo en cuenta la revisión bibliográfica previamente mencionada, en donde se exploraron las tecnologías y componentes electrónicos disponibles en el mercado que podrían ser adecuados para la medición de temperatura.

Basándose en los requerimientos definidos y los hallazgos de la revisión, se seleccionó el sensor de temperatura que cumplía con las necesidades del sistema y se diseñó el circuito electrónico que incluía los 3 sensores de temperatura, microcontroladores u otros componentes necesarios como la resistencia pull up para la adquisición y procesamiento de datos.

3. Diseño del código de programación de la interfaz gráfica en MATLAB.

Se procedió al diseño del código de programación de la interfaz gráfica en MATLAB como parte integral del desarrollo del sistema de monitoreo. La finalidad primordial de esta interfaz era la visualización de la curva de congelación de la muestra de lactosuero. Por lo tanto, resultaba esencial la capacidad de almacenar los datos capturados por los sensores en una memoria para su posterior procesamiento en MATLAB. Como parte de este proceso, se determinó el tipo de gráficos y representaciones visuales requeridos para mostrar la información

proveniente de los 3 sensores de temperatura. Por lo cual, se investigó acerca de las funciones de MATLAB adecuadas para leer los datos de la memoria y así crear el script, que permitiera graficar la información recolectada.

Durante esta etapa, se exploraron elementos como la inicialización de las variables y la configuración de parámetros como el puerto serie y las propiedades de la memoria. Se tuvieron en cuenta otros factores en el diseño del código como: la capacidad de visualizarse no necesariamente de forma inmediata y la facilidad de interpretación para el usuario. Para lograr esto, en la etapa de visualización se construyó una interfaz interactiva con el usuario mediante el lenguaje de programación MATLAB®. Esta interfaz permitió el ingreso de tres observaciones diferentes, lo que resultó en la recolección de 720 datos tomados por cada sensor del sistema. Luego, se procedió con la selección de los datos relevantes y, finalmente, se mostró la curva de congelación de la muestra de lactosuero.

Implementación:

1. Implementación del sistema de monitoreo de temperatura.

A partir de la simulación montada en formato ISIS, se procedió a diseñar la baquela a través del software Proteus 8 Professional, de tal manera que se lograra concluir la etapa de instrumentación del prototipo, con la baquela ya soldada. Para ello, se requirió tomar los componentes electrónicos del sistema de amplificación diseñado en ISIS, y se dispusieron de manera que ocuparan el menor espacio posible entre ellos, facilitando la creación de los caminos de corriente y evitando errores.

Los componentes electrónicos fueron adquiridos y se procedió con el montaje del sistema para posteriormente realizar su calibración, programación y pruebas. Estas pruebas tenían como objetivo asegurar la precisión, estabilidad y confiabilidad del sistema en la medición y visualización de las temperaturas, tanto de manera independiente como en conjunto. Las primeras pruebas se llevaron a cabo con Arduino Nano montado en una protoboard. Posteriormente, se realizaron pruebas adicionales en la Baquela para verificar el correcto funcionamiento del módulo en dicha configuración y su funcionamiento sin errores visibles. El sistema utilizado para dichas pruebas puede verse en la figura 6-8, junto con el resultado obtenido luego de realizar la implementación del sistema.



Figura 6-8. Implementación y funcionamiento del sistema de monitoreo.

2. Evaluación del funcionamiento del sistema de monitoreo.

Se diseñó un protocolo específico, con el fin de realizar una evaluación completa y detallada del sistema de monitoreo, asegurando la precisión y confiabilidad de las pruebas realizadas y permitiendo una evaluación rigurosa del funcionamiento del sistema de monitoreo de temperatura.

Para llevar a cabo la evaluación del funcionamiento del sistema, se realizaron pruebas preliminares en donde se adquirió y comparo la curva de congelación de una solución de agua y azúcar, que fue obtenida tanto de manera experimental con el sistema de monitoreo diseñado como de manera teórica a través de una revisión bibliográfica. Como resultado, el procedimiento para la evaluación del sistema se divide en las siguientes secciones:

Pruebas de Monitoreo:

- ✓ Llevar a cabo el llenado de los tubos Falcon con la solución correspondiente de agua y azúcar hasta alcanzar la marca de 45 ml señalada en el tubo.
- ✓ Colocar el sensor 1 a una distancia de 3 cm desde la parte superior del tubo falcón de 50ml, el sensor 2 a una distancia de 6cm y el sensor 3 a una distancia de 9cm, de forma tal que se pueda observar que el sensor no toca las paredes de dicho tubo.
- ✓ Dar inicio al sistema de monitoreo conectando la fuente de alimentación al tomacorriente, con el fin de que se adquiera y almacene las lecturas de temperatura de los sensores.

- ✓ Dejar el sistema de monitoreo tomando datos de temperaturas durante un periodo de mínimo 12 horas.
- ✓ Realizar la extracción de la microSD para realizar la lectura del archivo creado y almacenado en ella, verificando de esta manera que las lecturas de temperatura se almacenen correctamente en la memoria SD y que sean coherentes con el ambiente.

Luego de realizar los anteriores pasos, se realizaron las siguientes pruebas:

a. Pruebas de Estabilidad.

- ✓ Verificar que los registros de datos en la tarjeta de memoria SD reflejen de manera precisa las variaciones de temperatura, siguiendo los fundamentos de la congelación de alimentos. Esta evaluación se llevó a cabo comparando las fluctuaciones de temperatura registradas en la curva de congelación generada por el sistema con la curva obtenida a través de la revisión bibliográfica. Es esencial que este comportamiento se asemeje a los principios de la congelación de alimentos.

b. Evaluación de la Interfaz y Almacenamiento de Datos:

- ✓ Comprobar la correcta visualización de los datos de temperatura a través de la interfaz gráfica generada, asegurando que la curva de congelación representada coincida con los registros almacenados en la memoria SD. Durante este proceso, es esencial confirmar que el punto de congelación inicial en la gráfica se corresponda con el punto donde comienza la variación de datos en la memoria SD. Asimismo, es importante que el tiempo de congelación registrado en la memoria SD sea idéntico al valor ubicado en el eje x de la gráfica.

c. Análisis de Resultados:

- ✓ Validar el proceso de almacenamiento de los datos en la memoria SD y a partir de ahí analizar los datos recopilados durante las pruebas, mediante la generación y comparación de la gráfica teórica y la generada luego la prueba realizada con el sistema de monitoreo.
- ✓ Identificar cualquier anomalía o incongruencia en las mediciones.
- ✓ Realizar ajustes y mejoras necesarias en el sistema, en caso de ser requerido.

Después de implementar el protocolo y llevar a cabo las pruebas en conjunto para cada sensor, se procedió a analizar los resultados. Este análisis permitió generar un reporte que destacara las variaciones observadas en las curvas de congelación del azúcar, con el propósito de determinar

si dichas variaciones eran consistentes con las predicciones teóricas, para establecer si estos datos eran acordes o no con la bibliografía, y a partir de esta información poder tomar decisiones en relación a si se requieren ajustes en el sistema.

6.3 FASE 3. Definición de las condiciones óptimas de la combinación de ultrasonido (US) y centrifugación, aplicadas en un solo ciclo de crioconcentración.

Para el desarrollo de la fase 3 se inició con una evaluación preliminar del funcionamiento de los equipos disponibles en la universidad para validar los requerimientos establecidos. A partir de la información obtenida, se procedió a establecer el diseño experimental en el cual se definieron las condiciones de aplicación de los tratamientos de ultrasonido (US) y del proceso de crioconcentración, tal como se describe a continuación.

A. Pruebas Preliminares:

La exploración de equipos consistió en identificar las variables que podrían ser modificadas en cada uno. En el baño ultrasonido de marca Branson (CPX1800H) se identificó que es posible variar el tiempo (1 - 99 min), la temperatura (19 - 69 °C) y potencia entre el nivel alto (4 Bar) y bajo (2 Bar). Así mismo, para la centrifuga de marca Hermle (Z 32HK) se encontró que es posible modificar la velocidad en un rango de (200 – 15000 rpm), además del tiempo en dos rangos de funcionamiento: a. Desde 10s hasta 59min 50s y b. Desde 1h hasta 99 h 59 min y también se puede variar la temperatura (40°C a -20°C).

- **Definición de condiciones de centrifugación:**

Para determinar las condiciones de centrifugación, se llevó a cabo el proceso de crioconcentración, el cual implica una etapa inicial de congelación de las muestras y, posteriormente, un proceso de centrifugación. Para ello, se colocaron las muestras de lactosuero en tubos falcon de 50 mL, llenándolos hasta un volumen de 45 mL. Estos tubos se colocaron en un congelador vertical a una temperatura de -20°C durante un mínimo de 12 horas para garantizar una congelación completa del producto. Al finalizar el tiempo de congelación, las muestras se sometieron al proceso de centrifugación para separar la fracción de hielo del concentrado, obteniendo así dos fracciones: la fracción concentrada y la fracción de hielo.

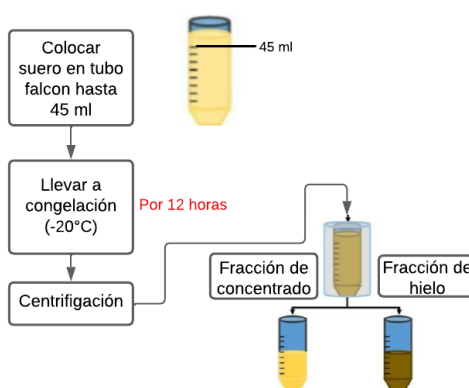


Figura 6-9. Metodología de aplicación del proceso de crioconcentración.

Las condiciones del proceso de centrifugación que se evaluaron fueron las siguientes combinaciones:

- Cv (Velocidad): Para evaluar la velocidad de centrifugación, se evaluaron 4 velocidades (3000, 4000, 5000 y 6000 rpm) con un tiempo fijo de 20 min a una temperatura de 18 °C.
- CT° (Temperatura): Para evaluar la temperatura, se evaluaron 3 temperaturas (15°C, 18°C y 20°C) manteniendo una velocidad fija de 6000 rpm por un tiempo de 20 minutos.
- Ct (Tiempo): Para definir el tiempo de centrifugación se evaluaron 3 tiempos (10, 15 y 20 minutos) con una velocidad fija de 6000 rpm a una temperatura de 18 °C.

Después del proceso de centrifugación, se midió para las fracciones de concentrado y hielo, su peso y el contenido de sólidos expresado como °Brix. A partir de estos resultados se determinó el porcentaje de concentrado y la eficiencia del proceso.

El porcentaje de concentrado (%PC) está definido como la relación entre el peso inicial y final de la fracción congelada sobre el peso inicial y se calcula como (4).

$$\%PC = \frac{W_i - W_f}{W_f \times W_i} \times 100 \quad (4)$$

Donde:

W_i : Peso inicial del concentrado

W_f : Peso final del concentrado

La eficiencia del proceso (%EF) se calcula de acuerdo con la ecuación (5) donde C_s y C_f son los solutos expresados en ° Brix de la solución concentrada y en la fracción de hielo, respectivamente (Panghal et al., 2018).

$$\%EF = \frac{(C_s - C_f)}{C_s} \times 100 \quad (5)$$

El efecto de las variables de velocidad, temperatura y tiempo de centrifugación sobre los parámetros de eficiencia y porcentaje de concentrado, fueron evaluados por medio de un análisis estadístico empleando la prueba de ANOVA y Tukey con el software *Statgraphics Centurion 19* para determinar si la diferencia las medias es estadísticamente significativa (Ollé, 2019). A partir del análisis de los resultados obtenidos de %PC y %EF, se definieron y seleccionaron las mejores condiciones de tratamiento para el proceso de centrifugación en términos de las variables de: Temperatura, velocidad y tiempo, la cuales se emplearán en la definición del diseño experimental.

- **Definición de condiciones de aplicación de ultrasonido:**

Para definir las condiciones de aplicación de US y a partir de las pruebas preliminares descritas en el inciso anterior, se evaluaron dos procesos: a) El primero fue la variación de la potencia, para lo cual se definieron 3 tratamientos: Sin US (S-US), alta potencia (US-A) y baja potencia (US-B), y b) el segundo se realizó la variación en el tiempo de aplicación del pretratamiento de US a 10 min (t1), 20 min (t2) y 30 min (t3).

La aplicación del pretratamiento consistió en llenar con agua destilada el baño de ultrasonido hasta el nivel de funcionamiento indicado y se fijó la temperatura en 20°C. Luego, se colocó en un vaso precipitado 250 mL lactosuero previamente filtrado y se procedió a aplicar el tratamiento de US. A su vez, se inició el proceso de criocentración el cual consistió en colocar el lactosuero previamente sonificado, en tubos falcon de 50 mL para llevarlo a congelación por 12 horas.

Posterior al proceso de centrifugación se realizó la separación de la fracción concentrada de la fracción de hielo, para determinar el peso obtenido y los grados Brix en cada una de estas fracciones, y así calcular los parámetros de %EF y %PC utilizando las ecuaciones (4) y (5). A partir del análisis de los resultados obtenidos, se seleccionaron las dos mejores condiciones que resultaron de la aplicación del pretratamiento de ultrasonido, las cuales fueron empleadas para establecer el diseño experimental.

B. Diseño experimental:

A partir de las condiciones del pretratamiento de ultrasonido y centrifugación escogidas, se definió el diseño experimental para la aplicación del pretratamiento ultrasonido y el tratamiento crioconcentración (Figura 6-10). El diseño experimental es un diseño factorial 3^3 , es decir tres factores con tres niveles de la siguiente manera: Factor 1: Aplicación de US (Sin US (S-US), alta potencia (US-A) y baja potencia (US-B)), Factor 2: Velocidad del proceso de centrifugación (V1, V2 y V3) y Factor 3: Tiempo de centrifugación (t1, t2 y t3). La variable de temperatura para la aplicación del proceso de centrifugación fue dejada fija en el diseño experimental según lo definido en los ensayos preliminares.

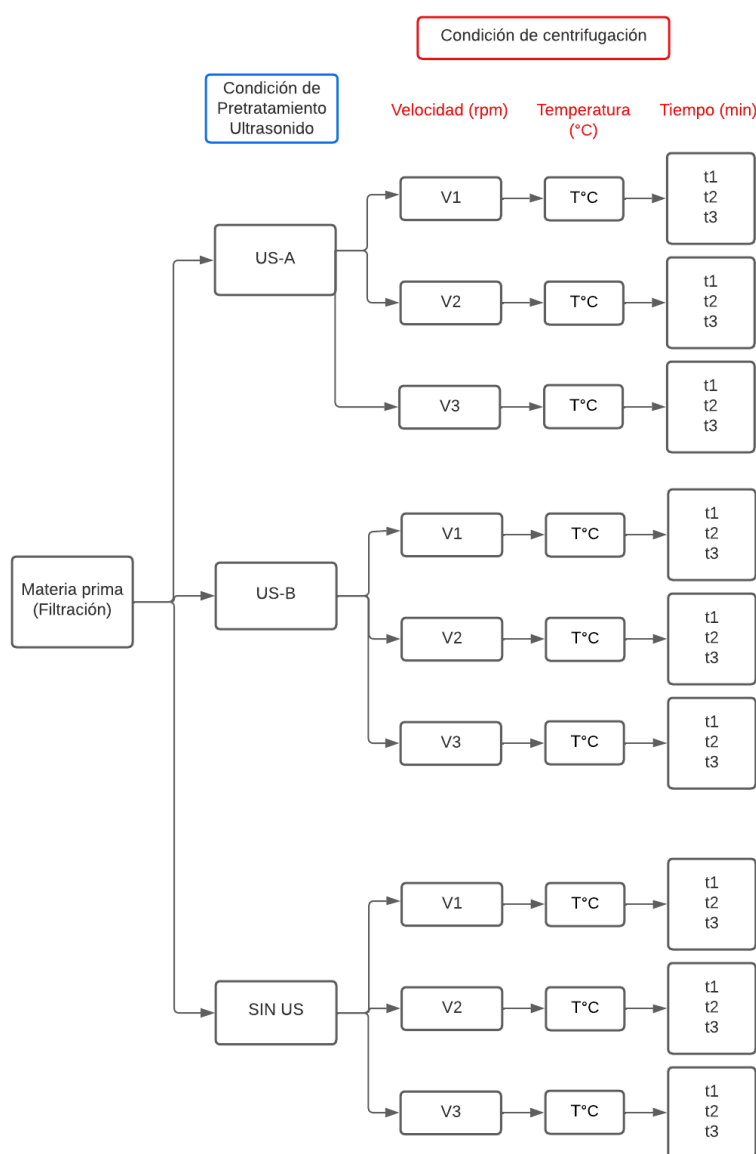


Figura 6-10. Diseño experimental del proceso de crioconcentración con pretratamiento de ultrasonido (US) y para la obtención del concentrado de lactosuero.

La evaluación del proceso de combinación entre el pretratamiento de ultrasonido y crioconcentración siguió la misma metodología que se utilizó en las pruebas preliminares, que incluyeron la aplicación de ultrasonido, el proceso de congelación y la centrifugación. Durante este procedimiento, se implementó el sistema de monitoreo de temperatura con el fin de realizar un seguimiento de la temperatura de las muestras de lactosuero, observando su comportamiento a través de la visualización las curvas resultantes al proceso de congelación.

Por tal motivo, el sistema permitió visualizar las curvas de congelación, para evidenciar el efecto de la aplicación de US en el proceso de congelación del lactosuero. Para esto se emplearon los 3 sensores del sistema, los cuales fueron ubicados en tres puntos diferentes dentro del tubo falcon de 50 mL permitiendo observar los cambios en los diferentes puntos de congelación de la muestra y el efecto de la aplicación de ultrasonido en el proceso de congelación del lactosuero. Mediante un análisis gráfico, se lograron identificar las condiciones de aplicación más adecuadas para la metodología en cuestión. Este enfoque facilitó una comprensión más profunda de los tratamientos implementados en el proceso de congelación.

Después de llevar a cabo el proceso de crioconcentración siguiendo las condiciones establecidas en el diseño experimental, se procedió a realizar mediciones de la calidad del concentrado obtenido y de la fracción de hielo. En la fracción concentrada se midió el peso obtenido de concentrado, grados Brix, porcentaje de sólidos totales (%ST), contenido de humedad (%H), densidad y se tomaron fotografías del concentrado obtenido, para evidenciar los cambios de color en las muestras. En cuanto a la fracción de hielo, se realizaron mediciones de peso obtenido y grados Brix. Para la determinación de los parámetros de %ST y densidad se empleó la metodología descrita en la fase 1 - caracterización de la muestra.

Con el fin de determinar el contenido de humedad se empleó la metodología propuesta por Montesdosca, (2020). La cual se describe a continuación:

- **Preparación y pesado de la muestra:** Usando capsulas de porcelana, se pesaron en una balanza analítica 10g de lactosuero. El peso inicial de la muestra se registró.
- **Secado:** El recipiente con lactosuero se colocó en un horno a una temperatura específica de 70 °C durante un período de tiempo de 12 horas.
- **Enfriamiento y pesado:** Después del período de secado, la capsula con lactosuero se retiró del horno y se colocó en un desecador por 30 minutos y se procedió a pesar la capsula empleando la misma balanza analítica.
- **Cálculos:** Con los pesos iniciales y finales de la muestra, se calculó el porcentaje de humedad empleando la ecuación (6).

$$\% H = \frac{(W_{capsulavacia} + W_{muestra}) - W_{finalcapsula}}{W_{muestra}} \times 100\% \quad (6)$$

Captura de imágenes de las muestras de concentrado:

Con el objetivo de analizar la variación en el nivel de oscurecimiento en el concentrado. Se dispusieron 10 gramos de muestra en una caja de Petri y se capturó una imagen fotográfica de la misma, situando la cámara (Con angular de 12 MP y 13 mm, con una apertura f/2.4) a una distancia de 15 centímetros sobre la muestra.

Todas las mediciones se realizaron por triplicado y los resultados obtenidos se reportan como promedio +/- desviación estándar, además de aplicarse un diseño factorial empleando el software Statgraphics Centurion 19.

6.4 FASE 4. Proceso de crioconcentración bajo 3 ciclos.

Partiendo de los resultados obtenidos en la fase 3 en relación a la mejor combinación entre ultrasonido y centrifugación, se procedió a aplicar estas condiciones de proceso en tres ciclos de crioconcentración. El ciclo 1 corresponde al proceso de concentración del lactosuero previamente filtrado, a continuación, se le aplica el pretratamiento de ultrasonido para pasarlo al proceso de congelación por 12 horas y luego a la centrifugación. Posteriormente para el segundo ciclo se utiliza como alimentación el concentrado obtenido del ciclo 1, al cual se le aplica nuevamente el pretratamiento de ultrasonido, se congela la muestra y se pasa por el proceso de centrifugación para obtener así el concentrado del ciclo 2. En el caso del ciclo 3 la fuente de alimentación fue el concentrado obtenido en el ciclo 2 al cual nuevamente fue aplicada la combinación de ultrasonido, congelación y centrifugación; de esta manera se obtuvieron 3 fracciones de concentrado diferentes como se muestra en la figura 6-11.

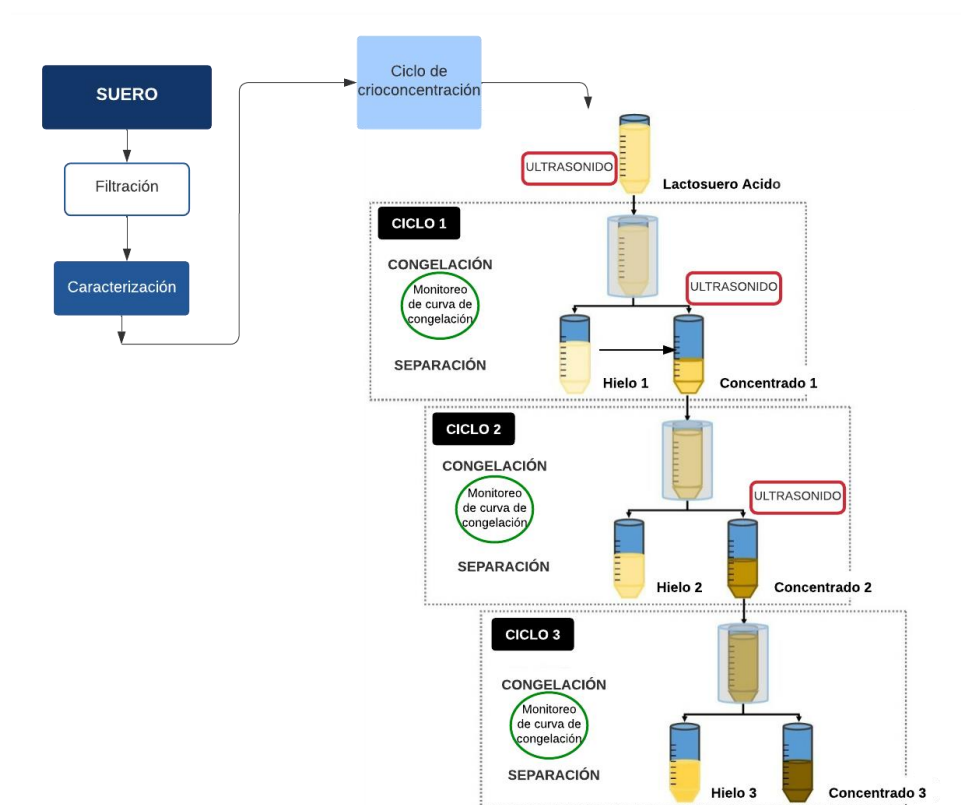


Figura 6-11. Diseño de metodología para la aplicación del proceso de crioconcentración bajo 3 ciclos.

Así mismo, se realizó un monitoreo continuo de la temperatura a lo largo del proceso de congelación de cada concentrado obtenido. El sistema generó una curva de congelación con el fin de analizar e identificar las condiciones de aplicación más adecuadas para la metodología en cuestión. Este enfoque facilitó una comprensión más profunda de los cambios generados en la congelación del lactosuero a medida que pasaban los ciclos y se usaba la combinación de las tecnologías de ultrasonido y crioconcentración.

Para las tres muestras de concentrado obtenidas (C1, C2 y C3) se determinó parámetros fisicoquímicos, tales como: pH, acidez, color, densidad, contenido de ST, porcentaje de humedad y contenido de grasa y proteína. Los parámetros fisicoquímicos (pH, acidez, densidad, ST, conductividad, turbidez) se evaluaron de acuerdo con la metodología descrita en la fase 3 y el contenido de proteína fue determinado en el laboratorio externo Confía Control S.A.S por el método Kjeldahl. A su vez, se llevaron a cabo pruebas de funcionalidad como estabilidad de espumas y capacidad emulsificante.

A partir de los resultados obtenidos en la medición de los parámetros mencionados anteriormente, se calculó para cada concentrado: Eficiencia, porcentaje de concentrado, rendimiento e índice de concentración. La eficiencia fue calculada por medio de la ecuación (6) y porcentaje de concentrado fue determinado mediante la ecuación (7).

Rendimiento

El rendimiento se evaluó por medio de la siguiente ecuación (9):

$$Y = \frac{ms}{m0} \quad (9)$$

Índice de concentración

Además, se realizó el cálculo del índice de concentración (IC), el cual se define usando la relación entre la concentración de la solución concentrada y la concentración de la solución inicial, usando la siguiente ecuación (10) (Ouaffak, 2020).

$$IC = \frac{Csf}{Csi} \quad (10)$$

Donde, Csf es la concentración de la solución final (° Brix) y Csi es la concentración de la solución inicial (° Brix).

Evaluación Emulsificante

Para el evaluar el proceso de emulsificación se realizaron dos pruebas: capacidad emulsificante (EAI) y estabilidad emulsificante (ESI), las cuales se describen a continuación.

- Se prepara el reactivo SDS a una concentración de 0,1%, para lo cual se pesó 0,1g en la balanza analítica que fueron llevados a un balón aforado de 100ml, donde se aforo con agua destilada hasta alcanzar dicho volumen.
- Para realizar la emulsion, se mezcló 7,5 ml de suero acuoso y 2,5 ml de aceite, los que fueron homogeneizados durante 5 minutos haciendo uso de un Vortex de referencia.

- Luego, se añadieron 100 microlitros de la emulsión a 10 ml de una solución previamente preparada de SDS al 0,1% (p/v). Esta mezcla se homogeneizó en un Vortex durante 5 segundos. Posteriormente, se tomaron dos muestras, siendo una de ellas sometida a un periodo de reposo de 10 minutos, mientras que la segunda se tomó inmediatamente después de generada la emulsión.
- Se tomo como blanco la solución de SDS al 0,1% (p/v) con el fin de utilizarlo como punto de referencia en la medición de absorbancia.
- Medición de la Absorbancia: Se determino la absorbancia de las emulsiones diluidas a 500 nm usando un espectrofotómetro (Genesys 5) contra el blanco (SDS al 0,1% (p/v).
- Cálculo de la Capacidad Emulsificante: La capacidad emulsificante se determinó por medio de la ecuación (8), mostrada a continuación.

$$EAI \left(\frac{m^2}{g} \right) = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times N}{c \times \Phi \times L \times 10,000} \quad (8)$$

Donde:

N: Factor de dilución.

C: Concentración de la proteína (g/m³).

Φ : : Fracción de volumen de aceite (v/v).

L: Camino óptico (1cm)

A_0 : Absorbancia de la emulsión diluida a 0 min.

Para definir la estabilidad emulsificante, se tuvieron en cuenta los valores de la absorbancia obtenidos en un tiempo de 0 y 10 minutos, y se empleó la ecuación 9, para su cálculo.

$$ESI \text{ (min)} = \frac{A_0}{A_0 - A_{10}} \times t \quad (9)$$

Donde:

A_0 : Absorbancia de la emulsión diluida a 0 min.

A_{10} : Absorbancia de la emulsión diluida a 10 min.

t: Tiempo (10min)

Evaluación Espumas

Para la evaluación de espumas del lactosuero (FC) se utilizó el método descrito por Quinteros, G. J. (2020). Se colocaron 5,5 mL de la muestra a evaluar en un tubo falcón de 50 mL. Luego se realizó un proceso de aireación empleando un Vortex (REF. 2011) a su mayor velocidad de durante 5 minutos a temperatura ambiente (19 °C), al terminar este proceso se mide el volumen de espuma generado y se toma el tiempo en el que la espuma permaneció estable. La capacidad de formación de espuma (FC) de la muestra se determinó mediante la ecuación de la capacidad de la espuma en %, que se define con la ecuación (7):

$$FC = \frac{V_{esp} \times 100\%}{V_0} \quad (7)$$

Donde V_{esp} es el volumen de la espuma generada en t_0 y V_0 el volumen de la muestra inicial antes ser agitada (5,5 ml).

A partir de los resultados obtenidos en la evaluación emulsificante y espumas se determinó la metodología final de aplicación de las tecnologías de ultrasonido y crioconcentraci3n en combinaci3n.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 FASE 1: Caracterización del lactosuero

Los valores de los parámetros fisicoquímicos y nutricionales del lactosuero determinados experimentalmente y reportados en la literatura se presentan en la Tabla 7-1.

Tabla 7-1. Resultados de caracterización.

Referencia	Parámetros							
	pH	Acidez (% Ácido láctico)	Densidad (g/ml)	Sólidos totales (%)	Conductivida d (μ mho/cm)	Turbidez (NTU)	Proteína (%)	Grasa (%)
Resultados Experimentales	4.34	0.55	0.98	4.79	1.97	0.54	0.9	0.40
(Skryplone & Jasińska, 2015)	4.34	0.23	1.02	6.74	-	-	-	-
(Chen et al., 2016)	4.45	-	-	3.42	8.27	-	0.42	0.09
(Menchik et al., 2019)	4.40	0.43	-	6.0	-	-	-	0.01
(Rocha- Mendoza et al., 2020)	4.37	0.61	-	5.57	-	-	0.84	-
(Muvdi-Nova et al., 2021)	-	-	-	5.54	-	5.31	1.02	<1.70
(Nielsen et al., 2021)	4.37	-	-	4.27	9.12	-	0.29	-
(Pineda et al., 2021)	-	-	1.03	-	-	-	2.60	2.90

El valor de pH de lactosuero obtenido experimentalmente fue de 4.34, el cual se encuentra dentro del rango reportado en la literatura obtenida (4.34 - 4.6) y corresponde al lactosuero clasificado como ácido ($\text{pH} < 4.6$) (Hernández et al., 2012). Lo que se relaciona con el porcentaje de acidez titulable obtenido, el cual se encuentra en un valor de 0.55%, este valor fue cercano al reportado por Rocha-Mendoza (0.61%) y un 12% por encima de los valores reportados por Skryplonek & Jasińska (2015) y Menchik et al. (2019). El obtener en la caracterización inicial del lactosuero un pH bajo y una mayor acidez permite confirmar la presencia de ácidos orgánicos que contribuyen directamente con la acidez del alimento, lo que es beneficioso para prevenir el crecimiento de bacterias que afecten en la vida útil de la materia prima a procesar

(lactosuero), generando mayor interés en la concentración de sus componentes. Adicional, esta variación en la acidez podría asociarse con el proceso empleado, tipo de almacenamiento y manipulación que se le da al lactosuero, ya que estos factores influyen directamente en la calidad del suero obtenido (Montesdeoca & Chávez, 2020), otro factor es la cantidad de minerales adicionados en el proceso de coagulación de la leche para la elaboración del queso fresco (Sbodio & Revelli, 2012).

La densidad determinada para la muestra de lactosuero fue de 0.98, cuyo valor es un 4.6% menor a lo reportado por Skryplonek & Jasinska (2015), esto puede deberse a la variación en la cantidad de sólidos totales (%ST) presentes en la muestra analizada, la cual evidencia una disminución del 7% en relación a este mismo autor, lo que refleja una composición compleja de la estructura de la muestra de lactosuero en relación a la firmeza de la red proteica del queso de donde se obtuvo, asociada a un aumento en el contenido de humedad que puede ocasionar un debilitamiento de la estructura, dado que las proteínas pueden encontrarse más alejadas entre sí (Arce-Méndez et al., 2016).

En lo que respecta al factor de turbidez, se observó que existe una diferencia estadística inferior de casi 90% con el valor reportado por Muvdi-Nova, et al. (2021) este resultado puede deberse a que la intensidad de luz que pasó a través de la muestra fue mayor, lo cual está directamente relacionado con una menor presencia de sólidos suspendidos o sedimentos visibles (4.79%). Esta claridad indicaría un beneficio en cuando al proceso de crioconcentración ya que, al tener una menor cantidad de partículas en suspensión, es probable que disminuya la formación de cristales no deseados durante el proceso de concentración y que se afecte la calidad del concentrado final Muvdi-Nova, et al. (2021).

En relación al valor de conductividad, se observa que este porcentaje es significativamente superior en comparación con los resultados reportados por Chen et al. (2016) y Nielsen et al. (2021). Este valor representa que el lactosuero caracterizado tiene una cantidad moderada de iones disueltos. Sin embargo, un valor de 1.97, no es un valor que represente un efecto significativo en las propiedades del lactosuero al pasar por un proceso de crioconcentración. (Hernández et al., 2012).

El contenido proteico del lactosuero analizado se ha cuantificado en un 0.9%, un valor que se encuentra en conformidad con los estándares establecidos por el Ministerio de Salud (>0.7%). Este resultado concuerda con investigaciones previas realizadas por Rocha-Mendoza, et al. (2020) y Muvdi-Nova et al. (2021), quienes reportaron valores de 0.84% y 1.02%, respectivamente. Este resultado permite tener una visual de que hay una cantidad moderada de componentes proteicos presentes en la muestra caracterizada, este valor fue importante para determinar el punto de partida en términos de proteína para su concentración permitio definir que, al ser un valor moderado de proteína, puede contribuir positivamente a las propiedades

funcionales del alimento, como lo son la capacidad de emulsificación, estabilidad de espumación y formación de geles ().

El porcentaje de grasa encontrado fue de 0.4% y se encuentra dentro del rango reportado por los autores en la tabla 7-1 (0.01% - 2.0%). A diferencia del porcentaje de proteína, esta variación entre los datos es estadísticamente significativa e indica que el contenido de grasa no es homogéneo entre las muestras lo que posiblemente se deba, a una diferencia estructural en la matriz de caseína en la que se atrapan los glóbulos grasos del queso de donde fue obtenido el lactosuero para la evaluación, y cuya red es afectada por los contenidos relativos de agua, proteína y grasa ligados a la caseína que rellenan los intersticios de la misma (Gunasekaran y Mehmet, 2003).

En segundo lugar, estas diferencias en relación a los parámetros de proteína y grasa pueden estar también asociadas con la procedencia de la leche empleada para la fabricación del queso, así como con el método de obtención del lactosuero (descremado total o parcial de la leche), la raza, ordeño y alimentación del ganado, la zona de producción, las condiciones ambientales, el manejo y la sanidad, entre otras (Montesdeoca & Chávez, 2020). Sin embargo, se ha observado que el lactosuero utilizado como base para este trabajo de grado exhibe características fisicoquímicas que contienen niveles de componentes beneficiosos para su proceso de concentración. Aquellos componentes que se encuentran en niveles moderados no parecen tener un efecto significativo que comprometa la calidad del producto final a concentrar. Estos hallazgos sugieren que el lactosuero posee propiedades favorables para su concentración, sin que los componentes en niveles moderados representen un impacto negativo significativo en la calidad del producto resultante.

A partir de la caracterización del lactosuero se obtuvo información acerca de las propiedades y composición de este subproducto. Este análisis es de gran utilidad en diversos aspectos. En primer lugar, es posible emplearlo para evaluar la calidad del lactosuero, asegurando que cumple con los estándares y especificaciones requeridos para su utilización en aplicaciones específicas. Además, al comprender a fondo su composición y características, es posible mejorar los procesos de producción y la recuperación de componentes valiosos, como proteínas, lactosa y minerales. La caracterización del lactosuero también desempeña un papel crucial en el desarrollo de nuevos productos tanto alimentarios como no alimentarios, ampliando la variedad de productos derivados del suero. Asimismo, contribuye a la sostenibilidad al identificar oportunidades para reducir residuos y mejorar la eficiencia en la producción de lácteos. Por último, en ciertos casos, esta caracterización es esencial para cumplir con las regulaciones y estándares de seguridad alimentaria y ambiental pertinentes.

7.2 FASE 2: Implementación de una interfaz gráfica para el seguimiento de la temperatura en la curva de congelación.

La implementación del sistema de monitoreo se llevó a cabo por medio de la metodología CDIO como se muestra a continuación:

Conceptualización:

1. Levantamiento de requerimientos según la relación producto-necesidad respecto al sistema de monitoreo.

Para dar cumplimiento a la solución de las necesidades del cliente se realizó un levantamiento de requerimientos que permitieran la implementación del sistema de monitoreo cuya función sea hacer el seguimiento de la temperatura durante el proceso de congelación, como se describió en la metodología, dichos requerimientos hacen parte del QUÉ de la matriz QFD, los cuales se mencionan a continuación:

- Duración de batería del sistema mínimo 12 horas.
- Fuente de alimentación del sistema 1-5VDC.
- Sensado de bajas temperaturas (-20°C).
- Resolución de sensado de mínimo 1°C.
- Capacidad para almacenar por lo menos 1 dato/min.
- El prototipo debe poder sostener 3 sensores a diferentes puntos de la muestra de congelación (alto (4 cm del inicio del tubo), medio (5,7 cm del inicio del tubo), bajo (9,0 cm del inicio del tubo)).
- El sistema debe ser capaz de graficar la curva de congelación.
- Visualización gráfica clara en dos ejes en el que evidencia a la temperatura a través del tiempo.
- Comunicación con el ordenador para la visualización de la curva.
- La estructura del prototipo debe ser rígida.
- La estructura del prototipo debe ser portable (tener un peso menor a 1kg).
- La estructura del prototipo debe poder sostener 3 tubos con muestra de 45mL verticalmente con su respectivo sensor.
- La estructura del prototipo debe caber en la nevera (17 cm de altura x 9 cm de ancho x 17 cm de largo).
- El método de construcción de la estructura debe ser preciso (Impresión 3D).
- La estructura debe soportar temperaturas de -20°C.

Una vez recopilados los requerimientos del producto-necesidad, se dio lugar a la construcción de la matriz QFD la cual se observa en la figura 7-12, en donde las filas indican las necesidades más importantes para el funcionamiento del sistema y la construcción de la estructura (QUÉ), mientras que las columnas exponen los atributos técnicos de diseño y construcción (CÓMO). Al grado de relación entre estos atributos se le asignó un peso relativo de 1, 3 o 9 para cada ítem dado por el método QFD en el levantamiento de requerimientos, de esta manera fue posible realizar la sumatoria de las calificaciones y el cálculo de la ponderación relativa para cada uno.

	Capacidad batería (mAh)	Voltaje de alimentación (3-5 VDC)	Rango de temperatura de sensado (-20°C a 20°C)	Resolución de sensado (0.1° C- 2°C)	Memoria interna del sistema (GB)	Tiempo de respuesta del sensor (0.1 s a 15s)	Toma de 1 dato/min	Visualización de dos ejes x,y (T° vs tiempo)	El rango de rigidez del material de la estructura debe estar entre 2300-4000 Pa.	Que el microcontrolador tenga compatibilidad con el pc	La estructura tenga un peso menor a 1 kg	Estética de la estructura con cableado (0-1)	Que los materiales tengan un valor entre 100.000-200.000 COP	Que la estructura pueda soportar T° de -20°C a 20°C	Importancia para el usuario Ponderación absoluta	Ponderación relativa (%)	Orden de importancia
Que tenga batería duración mínimo 12 hrs	9	9	0	0	3	0	0	0	0	0	1	1	1	0	5	9,1	4
Que tenga fuente de alimentación de 1-5VDC	9	9	3	3	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	5	9,1	3
Que el sensor mida bajas temperaturas (-20°C)	0	3	9	3	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	5	9,1	1
Que tenga una resolución de sensado de mínimo 1°C	3	3	3	9	9	9	9	1	0	0	0	0	0	0	5	9,1	2
Que tenga la capacidad para almacenar al menos 1 dato/min	9	3	9	9	9	9	9	0	0	0	0	0	0	0	5	9,1	7
Que tenga 3 sensores a diferentes puntos de la muestra	9	9	3	3	9	9	3	3	0	0	0	3	1	1	5	9,1	5
Que el pueda visualizarse la curva de congelación	0	0	9	9	3	9	9	1	0	1	1	0	0	0	4	7,3	6
Que tenga visualización gráfica clara en dos ejes (T° vs t)	0	0	3	1	3	1	3	9	0	1	0	0	0	0	4	7,3	9
Que tenga comunicación con el ordenador	0	1	0	1	3	1	1	9	0	9	0	1	1	3	5	9,1	13
Que tenga una estructura rígida	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	9	0	3	3	4	7,3	11
Que la estructura tenga un peso menor a 1kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	1	9	3	5,5	10
Que la estructura pueda sostener 3 tubo con muestra de 45 mL	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1	9	9	1	9	5	9,1	12
Que la estructura tenga medidas de 17x9x17 cm (h°a°l)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	5	9,1	15
El método de construcción debe ser preciso	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	3	9	9	3	3	5,5	14
Que la estructura pueda soportar temperaturas de -20°C	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	9	5	9,1	8
Ponderación relativa (%)	8,7	8,2	10,1	8,0	8,9	8,9	8,0	6,0	4,0	2,9	7,5	5,5	4,7	8,7	->	100	
Orden de importancia	4	6	1	7	2	3	8	10	13	14	9	11	12	5			

Figura 7-12. Matriz QFD para el levantamiento de requerimientos del sistema de monitoreo.

De acuerdo con la matriz QFD, las necesidades con mayor puntuación son evidenciadas en las columnas resaltadas en amarillo y estas corresponden a:

- El sistema debería tener un rango de temperatura de sensado de -20°C a 20°C.
- El sistema contara con la capacidad de almacenar todos los datos en una memoria.
- El tiempo de respuesta del sensor debería ser de 0,1 s a 15 s con el fin de transmitir la información sobre el congelamiento en el menor tiempo posible y, por ende, que fuera más precisa su captura de datos.

- La capacidad de batería o fuente de alimentación debería permitir que el sistema funcionara al menos por 12 horas.
- La estructura del sistema debería poder soportar el rango de temperatura de funcionamiento del mismo (-20°C a 20°C).

A partir de este resultado, las necesidades anteriormente listadas son aquellas que se tuvieron en cuenta con mayor prioridad para el desarrollo del sistema de monitoreo.

2. Revisión bibliográfica para la selección de los componentes electrónicos (sensor de temperatura y microcontrolador) que permiten el monitoreo del sistema.

En la tabla 7-2 se presenta el compilado de la revisión bibliográfica de las características de los tres sensores de temperatura más comunes teniendo en cuenta el principio de variación resistiva. La elección del sensor se realizó en primer lugar por su clase, teniendo en cuenta que su rango de operación pudiera comprender temperaturas de -20°C a 20°C, debido a que este se encontrará sumergido en la muestra de lactosuero ubicado en un congelador que alcanza esta temperatura mínima de congelación (-20°C). El sensor digital destaca en la selección dado que presenta una excelente linealidad según bibliografía, en las variaciones de temperatura usadas en aplicaciones industriales lo que favorece también a criterios como la precisión del mismo. La Termocupla, que representa un bajo costo en el mercado para el alto rango de temperatura de funcionamiento que ofrece, al igual que el termistor, solo que este último presenta una mejor sensibilidad comparado a las otras dos clases de sensores de temperatura (Hycal, 2020).

Tabla 7-2. Comparación entre diferentes clases de sensores de temperatura.

Criterios	Componente: Clase sensor de temperatura		
	Sensor Digital	Termocupla	Termistor
Rango	-55 a +125°C	-270 a 1800°C	-100 a 450°C
Sensibilidad	Excelente	Bajo	Excelente
Linealidad	Excelente	Moderada	Pobre
Tipo de salida	Resistencia	Voltaje	Resistencia
Costo	Moderado	Bajo	Bajo
Ventajas	Buena linealidad Buena precisión	Alta resolución Alto rango de temperatura	Buena sensibilidad Durable
Desventajas	Requiere fuente de alimentación Frágil	Requiere fuente de alimentación Se requiere alta calibración	Salida no-lineal Respuesta de tiempo lenta
Aplicación	Uso industrial	Uso industrial	Medición de temperatura ambiente

Fuente: Premier Farnell Ltd (n,d)

Tomando como referencia los datos correspondientes a cada tipo de sensor que se encuentran en la Tabla 7-2, se pudo analizar que las clases de sensores comparadas cumplen con el rango de temperatura necesario para el funcionamiento del sistema. Por consiguiente, el criterio para la elección de la clase de sensor a utilizar fue la linealidad debido a que esta característica permite deducir que tan exactas son sus mediciones. Teniendo en cuenta la importancia de este criterio, se optó por la clase de sensor digital destacando su comportamiento en términos de linealidad (Premier Farnell Ltd, n.d). Además, es importante resaltar la excelente estabilidad que ofrece el sensor digital debido a su principio de funcionamiento, que se basa en la variación de la resistencia de un conductor en función de la temperatura. Esto garantiza mediciones más precisas y estables a lo largo del tiempo. En contraste, la termocupla y el termistor tienden a ser menos estables cuando se exponen a temperaturas medias o altas, lo que requiere su retirada periódica para verificar su precisión bajo condiciones controladas (Pérez, 2004).

Por otro lado, se comparó el sensor digital DS18B20 con el sensor PT100 y de esta manera confirmar el tipo de salida más conveniente (ver Tabla 7-3). La comparación revela que el sensor DS18B20 es más adecuado para medir temperaturas en ambientes húmedos o líquidos. Su resolución es un 37,5% mayor, lo que significa una medida más confiable en comparación con el PT100. Además, el DS18B20 ofrece tiempos de respuesta más rápidos y tiene un costo menor. Mientras que el PT100 podría ser preferido en entornos industriales que requieren alta precisión, el DS18B20 resulta más práctico en aplicaciones con una interfaz digital sencilla. (Martinazzo & Orlando, 2016). Por esta razón, el sensor DS18B20 fue el seleccionado para la implementación del sistema de monitoreo.

Tabla 7-3. Comparación entre los tipos de sensores.

Criterios	Componente: Tipo Sensor de temperatura	
	PT100	DS18B20
Rango	-50 a 200°C	-55 a 125°C
Precisión	0.1°C	0.5°C para -10°C a 85°C 1°C para -30°C a 100°C
Resolución	0.1°C	0.0625°C
Tiempo de respuesta	17 seg	750 mseg
Voltaje de alimentación	12V DC	3 V a 5.5V
Diámetro de la sonda	5 mm	4 mm
Longitud del cable	100 cm	90 cm
Soporta humedad	90%	100%
Costo	\$ 26.180 COP	\$ 10.617 COP

Características	Tubo de acero inoxidable, de alambre de plomo que permite el aislamiento.	Tubos de acero inoxidable, el cable está revestido en PVC. Útil para cuando necesite medir en condiciones de humedad.
-----------------	---	---

Fuente: (Martinazzo, C. A., & Orlando, T., 2016).

Por otra parte, la revisión bibliográfica que permitió seleccionar del microcontrolador se observa en la tabla 7-4, donde se optó por escoger a Arduino como fabricante puesto que es una plataforma de hardware libre que permite un entorno de fácil desarrollo electrónico (Jecrespom, 2017). Para escoger el modelo del microcontrolador apropiado, se tuvo en cuenta características como la cantidad de pines analógicos y digitales (normales y de tipo PWM o modulación por ancho de pulso para simular una salida analógica) que se necesitaban usar, así como la cantidad de memoria flash que se requería según el tamaño de código que se genera para el sketch, debido a que esto influye en el almacenamiento que pueda ser proporcionado por el modelo del microcontrolador.

Para proceder a la selección, se presenta la tabla comparativa No. 7-4 de los principales modelos de Arduino en donde se incluyen cuantitativamente criterios como el modelo del procesador, la memoria RAM y la frecuencia del microcontrolador, puesto que estos son los encargados de cargar los datos para su inmediato procesamiento, es decir, de suministrar la velocidad de procesamiento del microcontrolador. En cuanto a la conexión y el voltaje, fue imprescindible tener en cuenta la cantidad de tensión que la placa puede manejar al conectarse a una fuente de alimentación y así evitar destruir la placa con sobretensiones no soportadas.

Tabla 7-4. Comparación entre microcontroladores.

Criterios	Componente: Microcontrolador		
	Arduino Nano	Arduino Mega 2560	Arduino Uno
Especificación	AVR ATmega168 328 bits	AVR ATmega2560 8 bits	AVR ATmega328 8 bits
Frecuencia	16 MHz	16 MHz	16 MHz
Memoria RAM	2 KiB	8 KiB	8 KiB
Memoria EEPROM	1 KiB	4 KiB	1 KiB
Memoria FLASH	32 KiB	128 o 256 KiB	32 KiB
Pines digitales Entradas / Salidas	14 / 14	54 / 54	14 / 14
Pines digitales Tensión / Corriente	5V / 40 mA	5V / 40 mA	5V / 40 mA
Pines analógicos Entradas / Salidas	8 / 0	16 / 0	6 / 0

Tensión / Resolución pines analógicos	5V / 10 bits (1024 valores)	5V / 10 bits (1024 valores)	5V / 10 bits (1024 valores)
Pines PWM	6	15	6
Conexión USB	Sí	Sí	Sí
Corriente en el pin de 5V	500 mA	500 - 800 mA	500 - 800 mA
Corriente en el pin de 3V	50 mA	50 mA	50 mA
Voltaje de alimentación USB	5V	5V	5V
Costo (COP)	\$39.500	\$120.904	\$52.241

De la tabla anterior, es posible evidenciar que las 3 especificaciones de Arduino mostradas cumplen con los criterios definidos en la misma, por tanto, teniendo en cuenta que la memoria de todos los modelos es apta para cumplir el objetivo del presente proyecto, el criterio determinante en la decisión de las placas fue el costo, seleccionando el Arduino Nano como la opción más oportuna para tener en cuenta en el desarrollo del sistema

3. Selección de los materiales para la construcción de la estructura mediante matrices de decisión tipo Pugh.

La construcción de la estructura para el sistema de monitoreo se realizó por medio de matrices de decisión tipo Pugh como se observa en la tabla 7-5. Información que fue reportada por (Anon et al., 2023), en este documento es posible ver las opciones de solución en términos del material de construcción, las cuales son ABS, PA6 y PET en donde los tres materiales cumplen y presentan características técnicas que permiten obtener un resultado adecuado, como son la resistencia a bajas temperaturas (-30°C a - 10°C), propiedad aislante, peso y la estabilidad que se identifica al realizar la impresión 3D en dicho material.

Adicionalmente, se tuvo en cuenta que los materiales fueran de fácil limpieza, ya que, al estar en contacto con las muestras de lactosuero, era necesario cuidar su inocuidad la mayor parte del tiempo. En relación al peso, el material que permite tener una estructura más liviana es el PET, con respecto al precio el material más costoso es el ABS y PA6 incrementando el valor de construcción del producto. Finalmente, en términos de dificultades de impresión y resistencia, el material PET se considera duro, duradero y con facilidad de impresión, características que no son visibles en los demás materiales (Anon et al., 2023).

Tabla 7-5. Matriz de decisión para material de construcción.

Criterios	Componente: Material de construcción		
	ABS	PA6	PET
Resistente a bajas temperaturas (-30°C a -10°C)	5	5	5
Material debe tener propiedad aislante	5	5	5
El costo del material debe estar entre (\$0 - \$100.000)	3	5	3
Facilidad de limpieza	5	5	5
Peso menor a 1 Kg	3	3	5
Resultado de impresión estable	3	1	5
Total	24	24	28

De acuerdo a la ponderación dada a cada uno de los criterios para los tres materiales se puede observar que el material PET fue el que tuvo la mayor calificación con un valor de 28, lo anterior debido a que este material se caracteriza por su resistencia al impacto, flexibilidad o abrasión, además de que se considera ideal para imprimir piezas que requieren resistencia a lo largo del tiempo por esta razón fue elegido para la construcción de la estructura del sistema (Análisis del Tereftalato de polietileno (Plástico PET), n.d.).

La elección del método de construcción se realizó por medio del levantamiento de requerimientos anteriormente mencionado de tal manera que cumpliera con la función de soporte de la estructura de manera correcta. Para esto, se tuvo en cuenta criterios como la capacidad de soportar una carga mínima de 250 gramos, el cual es el peso aproximado de la estructura con los tubos y sensores incluidos.

La solución que mejor lo cumple es el corte láser al ser un método efectivo en el que la potencia del láser se concentra en un punto cuyo diámetro suele ser menor de medio milímetro atravesando el material completamente sin deformaciones, a diferencia de las otras dos soluciones como impresión 3D o corte manual en donde se requiere un tipo de fuerza que pueden alterar la construcción de la estructura. Sin embargo, este método es difícil de encontrar, por lo que la opción más viable en este criterio fue la impresión en 3D al ser un método novedoso que emplea materiales considerados como muy livianos y proporciona una buena apariencia estética al producto. Por tanto, esta fue la solución más adecuada con una ponderación total de 18, siendo seleccionada como método de construcción

Tabla 7-6. Matriz de decisión para elección del método de construcción.

Criterios	Componente: Método de construcción		
	Impresión 3D	Corte Manual	Corte Laser
Debe soportar una carga mínima de 250 gramos.	3	3	5
Debe ser de fácil adquisición	5	3	1
Proporcionar buena apariencia para el equipo	5	1	5
Su precio no debe ser mayor a 100.000.	3	5	3
Total	18	12	14

Diseño:

1. Diseño de ingeniería para la estructura del sistema de monitoreo de temperatura.

En la figura 7-13 se observan los resultados del bosquejo inicial realizado para la estructura de soporte del sistema de monitoreo que fue obtenido por medio del software Sketchup, en donde se indica cómo están ubicados los sensores en cada nivel de la muestra en los tubos Falcon. Luego, se modeló el diseño previamente realizado en Fusión 360 con el fin de extraer los planos técnicos de la estructura de soporte para el sistema de monitoreo, los cuales se pueden observar en el Anexo 1. En seguida, se realizó la impresión de la pieza, en donde se le agregó una columna de soporte para evitar posibles daños de deformación por el peso de cableado y sensores.

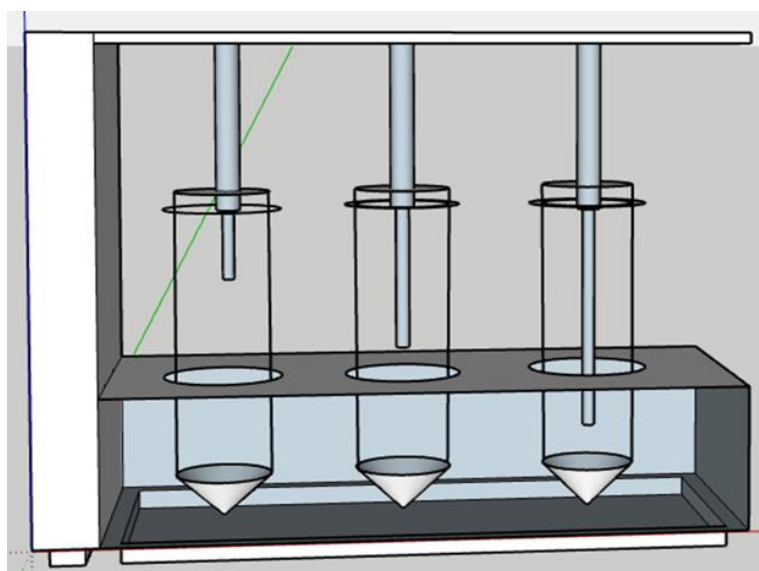


Figura 7-13. Vista interna de la ubicación y soporte de los tubos Falcon en la estructura.

Es posible observar en las figuras 7-14 (A y B) dos diferentes vistas del modelo final realizado para la impresión en 3D en las instalaciones de la Universidad el Bosque, a cuyo modelo se le diseñaron 3 orificios que permitieran sostener a los sensores en los tubos falcon de los cuales se va a realizar el monitoreo de temperatura. Adicional, como se puede observar en la figura 7-14, en la vista superior de la estructura se diseñaron 3 orificios de entrada del cable de forma tal que ingrese por el lado más ancho y se sujete cuando se encuentra en el lado más angosto, por lo que el diseño se basó en una gradilla de soporte de laboratorio como se muestra a continuación.

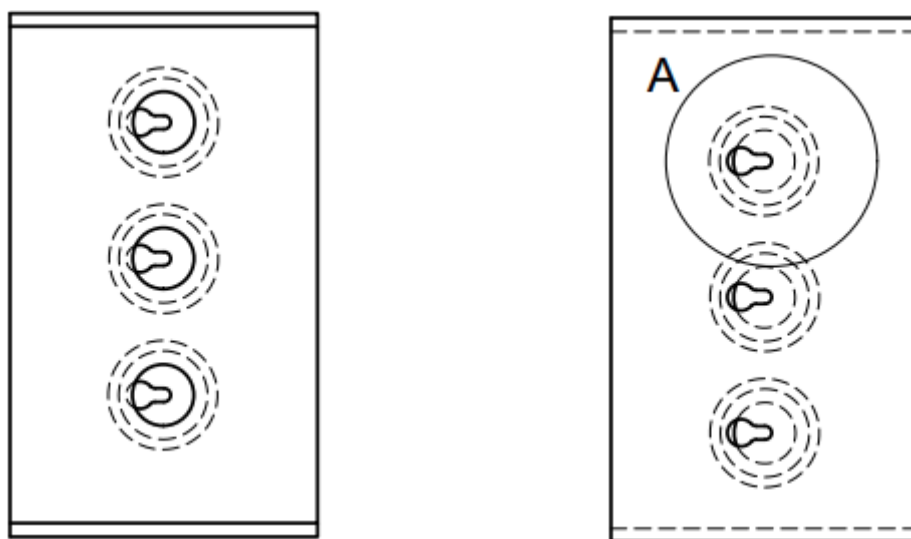


Figura 7-14 A y B. Visualización superior e inferior del modelo final para la impresión 3D de la estructura.

Finalmente, es posible observar en las figuras 7-15 (A y B) el funcionamiento de la estructura luego de ser impresa en 3D, dando soporte a el sistema de monitoreo en 3 muestras de lactosuero, cumpliendo así con el objetivo de su diseño.



Figura 7-15 A y B. Diseño final de la estructura para el sistema de monitoreo.

2. Diseño de ingeniería del sistema electrónico para el monitoreo de temperatura en etapa instrumental

En la fase de instrumentación del sistema de monitoreo, se diseñó un esquemático del circuito, que se presenta en la Figura 7-16. Además, se llevó a cabo una simulación detallada que se encuentra disponible en el Anexo 2. Esta simulación tenía como objetivo verificar el correcto funcionamiento de los componentes electrónicos. El proceso incluyó las siguientes etapas:

1. Se conectó la resistencia de $4,7\text{ K}\Omega$ para realizar el acondicionamiento de los tres sensores de temperatura. Esta resistencia fue enlazada en conexión pull-up al pin digital 2 del Arduino Nano y conectada en su otro extremo al pin de alimentación de 5V del Arduino.
2. Para el sistema de almacenamiento de información, se contó con un módulo microSD el cual permite extraer la información recolectada por el Arduino Nano en una microSD de capacidad según desee el usuario. Para este caso, los datos se exportaron en un archivo de tipo .txt de capacidad 16 GBytes, con la información recolectada durante la fase de funcionamiento del prototipo.
3. El módulo microSD, fue conectado desde sus respectivos pines (CS10CS, DI, DO y CLK), a los pines digitales del Arduino Nano (10, 11, 12 y 13), esto con el fin de poder almacenar los datos del sistema de monitoreo en la microSD para el posterior procesamiento de estos.
4. Adicional, con el fin de tener la data respecto a la hora y fecha del momento de la recolección de datos en el sensado, se implementó en el circuito un reloj de referencia RTC DS3231 desde sus pines (SDA/RCT, SCL y VBAT) a los pines analógicos 4, 5 y el pin de 5V del Arduino.

5. La etapa de diseño del sistema electrónico para el monitoreo de temperatura finalizó con el montaje completo en baquela y se procedió a realizar la lectura de datos con ayuda del software de Arduino y las respectivas librerías.

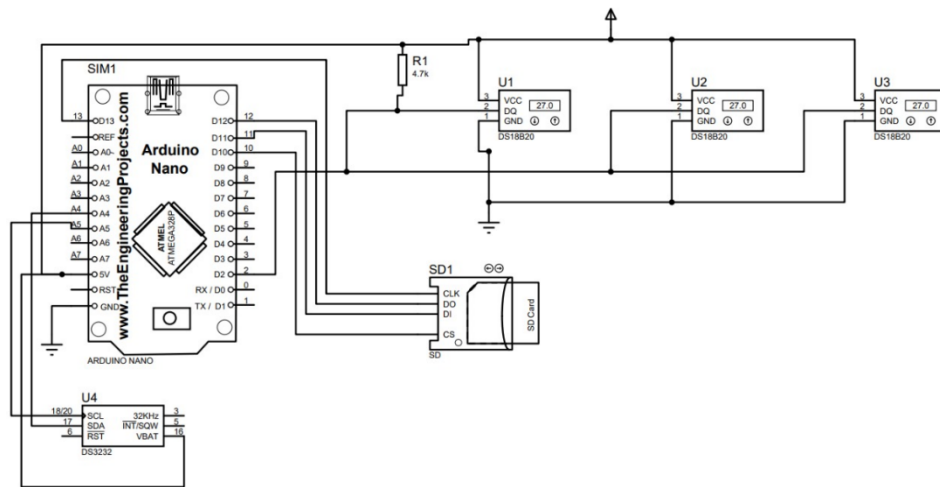


Figura 7-16. Esquemático del circuito de monitoreo de temperatura.

En la programación para el uso de este software, se inicializó y declaró cada variable que comprendía los tres sensores, además de la memoria y el reloj que en conjunto conforman el funcionamiento del sistema de monitoreo, permitiendo visualizar las diferentes temperaturas detectadas de la muestra de lactosuero a través del tiempo.

3. Diseño del código de programación de la interfaz gráfica en MATLAB®.

El algoritmo diseñado para la obtención de los datos adquiridos por medio del microcontrolador Arduino Nano se describe en la figura 7-17, en donde se identifican e inician las variables correspondientes a la librería Dallas Temperature y One Wire. Según la necesidad identificada de monitorear el cambio en temperatura en el tiempo, el sistema se programó para registrar los datos en intervalos de 1 minuto y enviarlos por el puerto serial COM3 del Arduino, con el fin de almacenar el resultado de la medición de cada uno de los sensores durante el periodo de experimentación.

Posteriormente, se cargan estos datos a la memoria microSD conectada por medio de un módulo para que sea posible almacenar los datos en un archivo de tipo .txt y poder visualizar la curva de congelación adquirida por medio de cada sensor en MATLAB.

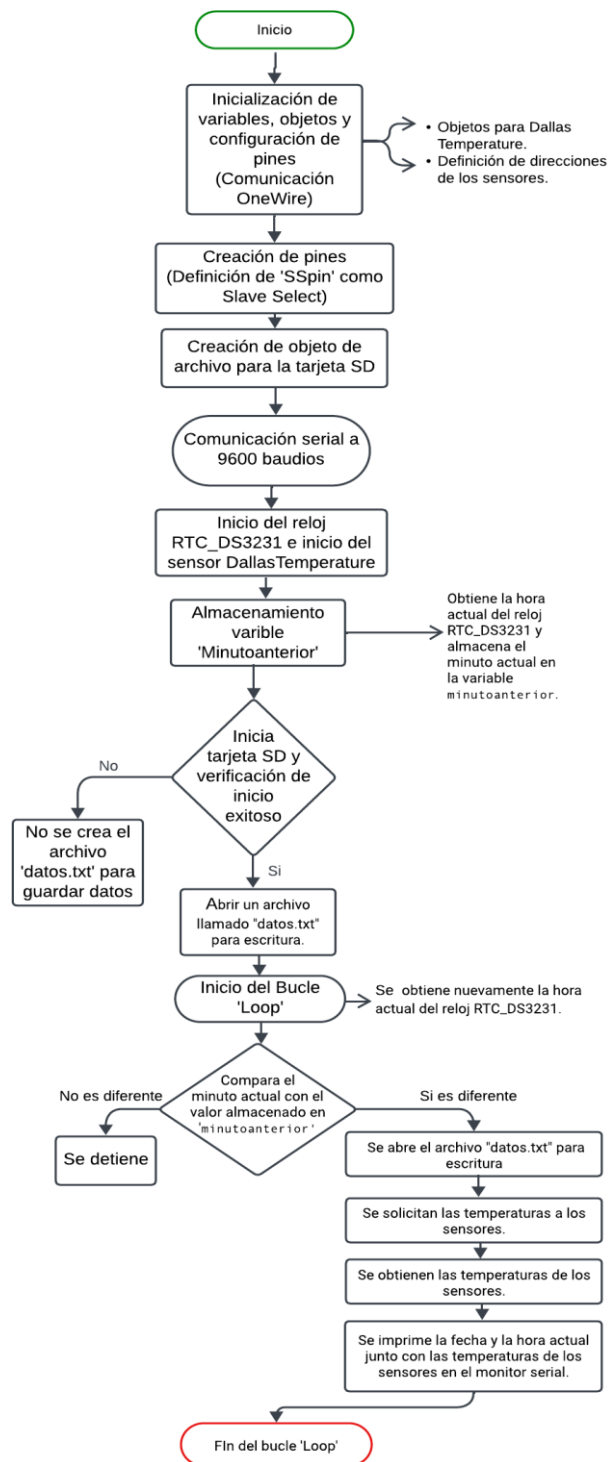


Figura 7-17. Esquema del algoritmo para Arduino para lectura del sensor de temperatura DS18B20.

El diseño del algoritmo de programación mostrado en la figura 7-18 para el software MATLAB, permitió procesar la información almacenada en el archivo .txt de la microSD del sistema, de manera que la información contenida se convirtió a datos de tipo columna vector para poder ser leída por el algoritmo y se definieron las variables de los ejes X y Y en tiempo y temperatura 1, 2 y 3, para finalmente poder ser visualizadas en una misma gráfica de congelamiento.

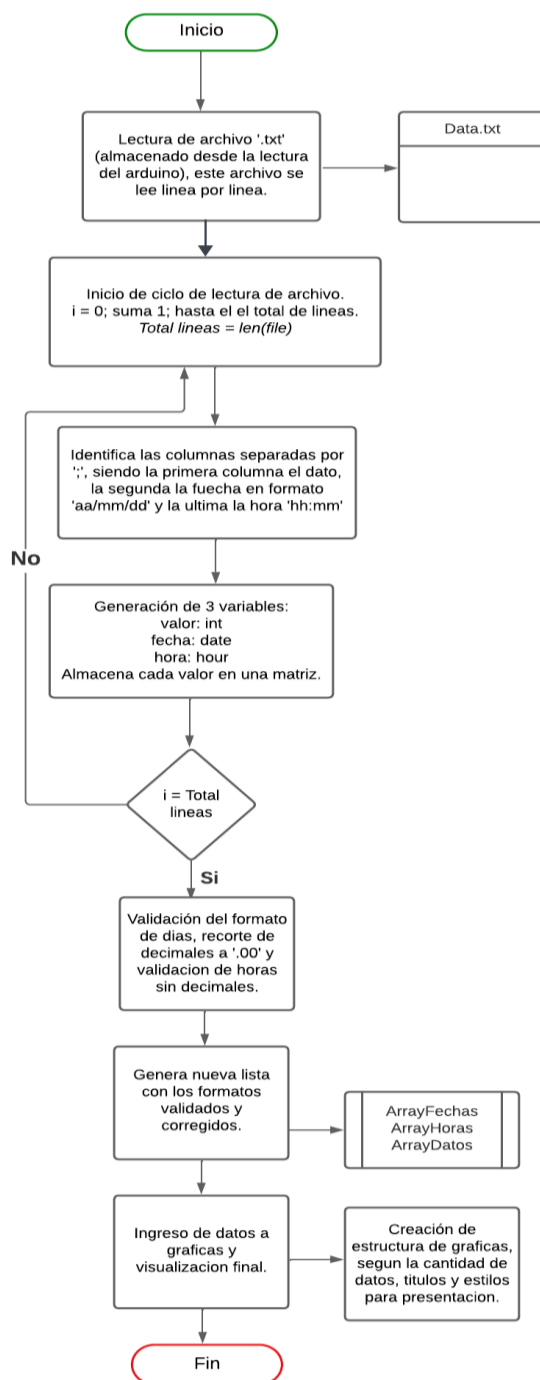


Figura 7-18. Diagrama de flujo del algoritmo general para la obtención de datos generados por el arreglo de sensores del componente electrónico.

Implementación

1. Implementación del sistema de monitoreo de temperatura.

La implementación del sistema de monitoreo se realizó por medio del diseño de una baqueta mediante el formato ARES del software Proteus 8 Professional, con la finalidad de dejarla planteada para que el usuario que quiera evaluar el funcionamiento íntegro de las etapas de instrumentación y visualización, pueda llevarla a impresión y acoplarle los componentes electrónicos mediante soldadura; logrando finalizar la construcción de la etapa de instrumentación al 100 % (circuito electrónico diseñado en ARES, impreso y soldado). Para ello, se requirió tomar los componentes electrónicos del sistema diseñado, ubicarlos de manera que ocupen menor espacio entre ellos y que facilite la creación de los caminos de corriente. Finalmente, el archivo es guardado por medio del software, dejando este a la disposición del usuario, para que lo construya al momento de poner en práctica el protocolo de evaluación del sistema de monitoreo de temperatura.

A partir de la adquisición de los componentes electrónicos, se realizó el montaje del sistema para proceder a su programación y pruebas que garantizan la correcta medición de los sensores, tanto de manera independiente como de manera conjunta. Con respecto al sensor de temperatura digital DS18B20 se usó una resistencia pull-up de $4,7k\Omega$ entre el pin de alimentación y el de lectura según el datasheet de este, debido a la electrónica que controla el bus de comunicación. Al finalizar la implementación, el sistema fue llevado a una etapa de verificación en dos pasos:

- Haciendo uso de una protoboard, donde el objetivo fue verificar el diseño en proteus con el montaje y la correcta toma de datos.
- Al obtener resultados correctos en protoboard, se realizó el montaje en baqueta que fue llevado a la etapa de evaluación del comportamiento del sistema de monitoreo.

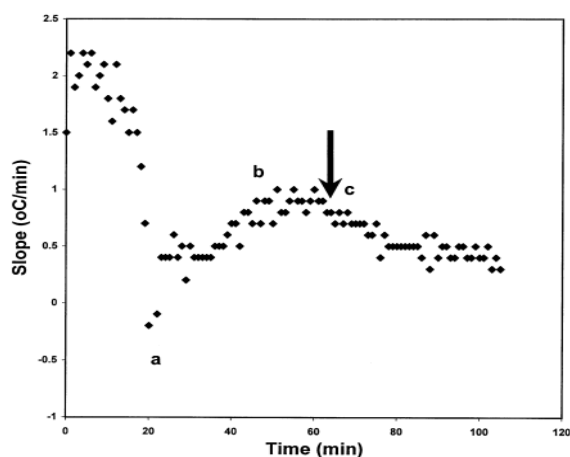
2. Evaluación del comportamiento del sistema de monitoreo.

La etapa de instrumentación fue evaluada a partir del funcionamiento del sistema de monitoreo y de la programación. Se consideró la construcción de un protocolo de evaluación del funcionamiento del prototipo para el sistema de monitoreo, en donde se identificó la necesidad de establecer parámetros que son necesarios para una correcta evaluación, como lo son: Pruebas de validación, estado de los componentes del equipo y recomendaciones, además de tener en cuenta: Variables de medida del equipo, intervalos de medida y de trabajo, número de muestras a medir y número de repeticiones.

Pruebas de validación: Las pruebas propuestas para la evaluación del sistema surgen de la agrupación de los requerimientos en ingeniería y funciones para cada etapa del sistema. En este caso, la metodología obtenida para llevar a cabo el cumplimiento del objetivo de esta etapa fue la verificación y comparación de resultados en práctica con los obtenidos en bibliografía.

El ejemplo bibliográfico fue tomado de Rahman et. al., (2002) y es posible observarlo en la figura 7-19A, el cual se basa en la generación de la curva de congelación de una solución de sacarosa. Para la comparación de las curvas de congelación se realizó la preparación de una muestra de azúcar con una concentración cercana al 4%, que fue llevada posteriormente a congelación, con el fin de observar el punto de congelamiento de la misma y verificar con la teoría la validación del sistema teniendo en cuenta el cambio de temperatura en el tiempo. En la figura 7-19B mostrada a continuación es posible visualizar la imagen de la puesta en operación del sistema para la visualización de la curva de congelación de la azúcar obtenida en el laboratorio vs la curva de congelación del azúcar de la teoría. Donde se observan los aspectos relevantes de los que se compone una curva de congelación, tales como el tiempo de congelación, en donde la curva teórica muestra un tiempo de congelación de 2 horas, el cual es superado por media hora en la curva práctica, adicional es posible identificar que el punto de congelación de la curva teórica es menor al generado en la práctica, lo que puede deberse a la estructura cristalina de la solución de agua y azúcar. Sin embargo, la temperatura a la cual se congela la solución por completo es similar, siendo teóricamente cercano al -0.5°C y prácticamente cercano al -1°C , lo que permite intuir que el resultado de la validación del sistema fue acorde de acuerdo a la visualización del comportamiento de la curva de congelación de un alimento. Estas variaciones indican la precisión en la medición de los sensores respecto a los cambios en temperatura y los puntos de cambio de fase que se evidencian en las figuras mostradas a continuación:

A.



B.

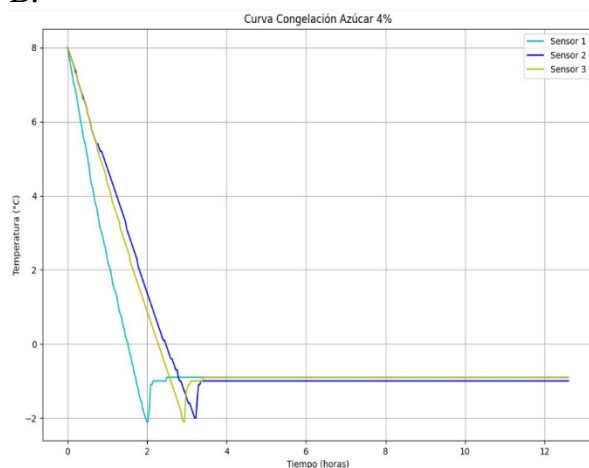


Figura 7-19 A. Curva teórica de congelación de la solución de azúcar, tomada de (Rahman et. al., 2002). **B.** Curva de congelación de azúcar generada a partir del sistema de monitoreo desarrollado.

7.3 FASE 3. Definición de las condiciones óptimas de la combinación de ultrasonido y centrifugación aplicado en un solo ciclo de crioconcentración.

A. Ensayos preliminares

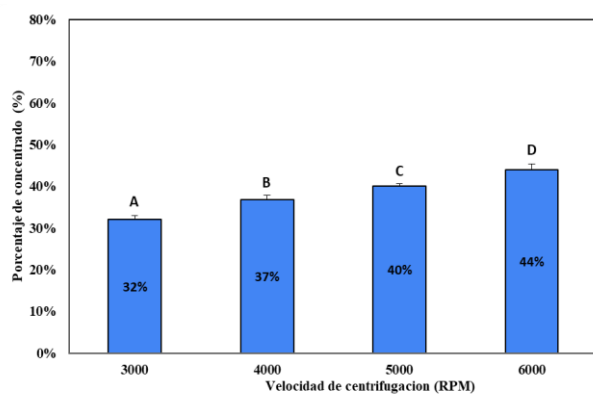
- **Definición de condiciones de centrifugación.**

Para la definición de las condiciones de centrifugación se evaluaron diferentes combinaciones de velocidad, temperatura y tiempo (C_v , CT° y C_t).

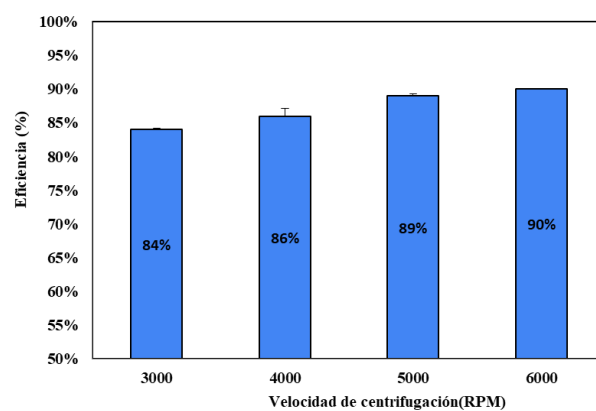
En la figura 7-20 A y B se muestra el comportamiento del porcentaje de concentrado y la eficiencia en función de la velocidad de centrifugación, respectivamente. En las figuras se puede evidenciar una relación directamente proporcional entre los parámetros, es decir que, al incrementar de la velocidad, el porcentaje de concentrado y la eficiencia incrementan significativamente. Sin embargo, el análisis estadístico (Anexo 3), permite concluir que las variaciones generadas en la velocidad de centrifugación no tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje de concentrado, ya que se obtuvo un valor de ($p > 0.05$), este comportamiento es caso contrario con la eficiencia ($p < 0.05$), valor que sugiere que hay diferencias significativas entre al menos dos de los grupos de velocidades en términos de su efecto en la eficiencia (Anexo 4). Sin embargo, aunque el ANOVA generado no detectó diferencias significativas en el porcentaje de concentrado, el aumento en la eficiencia a medida que aumenta la velocidad de centrifugación sugiere que estas velocidades más altas podrían ser más efectivas para aumentar la eficiencia del proceso, lo que está representado con el cambio de letras entre A y D, pertenecientes al análisis tukey realizado (Quintero, 2020).

El comportamiento presentado por efecto de la velocidad, puede asociarse con lo mencionado por Muñoz et al. (2019), el cual indica que el aumento en las velocidades de centrifugación pueden generar un aumento en la tasa de transferencia de masa en la interfaz, lo que permite que el sólido permanezca alejado de la interfaz hielo-solución y exista una menor posibilidad de retención de %ST en la fracción de hielo a mayor velocidad de giro, y por tanto se logra un mayor nivel de solutos en la fracción concentrada. Por tal razón, a partir de las conclusiones generadas el análisis estadístico, se definió que para el diseño experimental se evaluarán las velocidades de 4000, 5000 y 6000 rpm ya que estas, permitirían obtener una mayor eficiencia del proceso en términos de aumento de %ST en el concentrado.

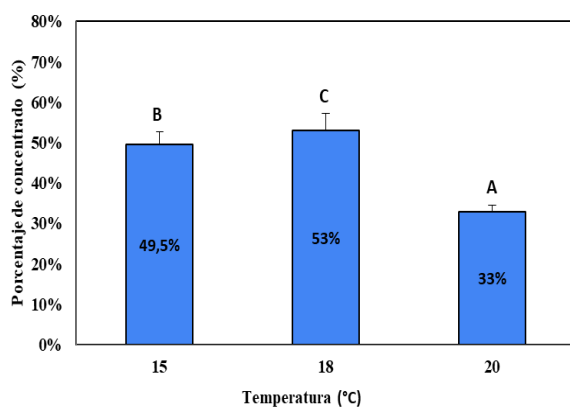
A.



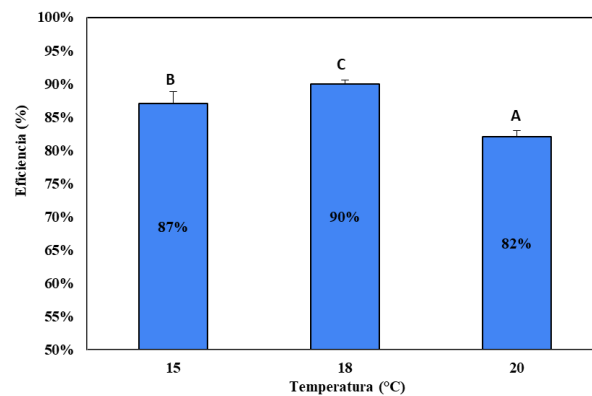
B.



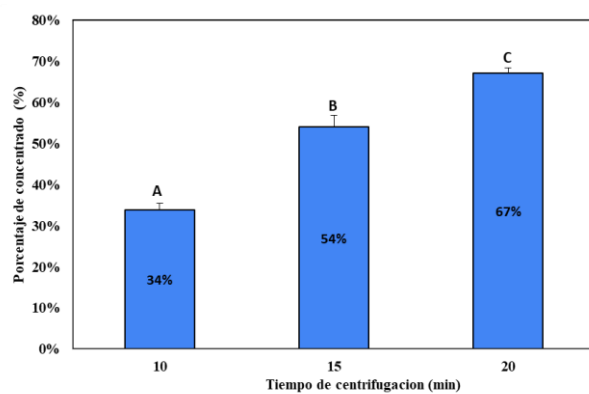
C.



D.



E.



F.

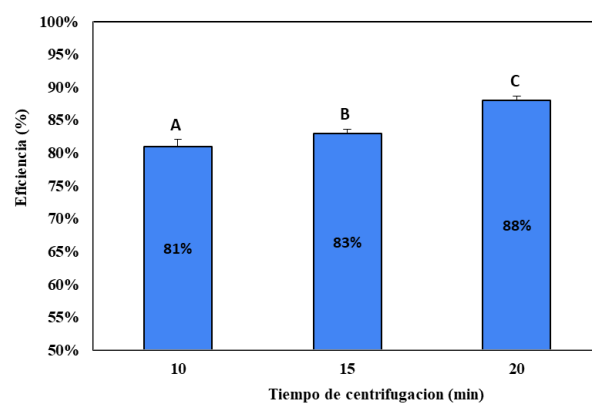


Figura 7-20. Porcentaje de concentrado en función de la velocidad de centrifugación (A).

Eficiencia en función de la velocidad de centrifugación (B). Porcentaje de concentrado en función de la temperatura (C). Eficiencia en función de la temperatura de centrifugación (D). Porcentaje de concentrado en función del tiempo de centrifugación (E). Eficiencia en función del tiempo de centrifugación (F).

En la figura 7-20 C y D se muestra el comportamiento del porcentaje de concentrado y la eficiencia en función de la temperatura de centrifugación, respectivamente. Las figuras muestran que la temperatura de 18°C permitió un incremento notable en el porcentaje de sólidos totales de la fracción concentrada, alcanzando niveles de 53% para el porcentaje de concentrado (PC) y 90% para la eficiencia (EF) (Anexo 5 y 6). Este resultado se respalda con el análisis estadístico ANOVA, el cual reveló diferencias significativas en el porcentaje de concentrado entre las diferentes temperaturas ($p < 0.05$). El análisis de Tukey, clasificando las temperaturas de menor a mayor rendimiento con las letras de la A a la D, asignó la letra D a la temperatura de 18°C. Esto confirma que la temperatura de 18°C sobresale como la opción que ofrece los mayores niveles de concentración y eficiencia, fortaleciendo aún más su relevancia en el proceso.

El comportamiento presentado puede asociarse con que a temperaturas inferiores a 20°C hay un incremento de la velocidad media del crecimiento de hielo y, por tanto, un aumento de la cantidad de hielo obtenido durante la crioconcentración para un mismo tiempo (20 min). Durante una congelación lenta, la interacción de las proteínas con la superficie del hielo en formulaciones de proteínas en suero desencadena una respuesta crioprotectora. Esta respuesta se traduce en un aumento en la viscosidad de la solución, lo que, a su vez, limita la movilidad de las moléculas de agua y ralentiza el crecimiento de los cristales de hielo. Este efecto reduce la exposición de las proteínas a la superficie del hielo y, como resultado, minimiza la desnaturalización de las proteínas durante la congelación, preservando su estructura nativa. Este proceso beneficia la conservación del estado vítreo de la matriz congelada, controla el crecimiento de cristales de hielo y previene el daño mecánico a las proteínas. En resumen, como lo menciona la estructura crioprotectora en formulaciones de proteínas en suero desempeña un papel fundamental en la preservación de la integridad de las proteínas durante la congelación lenta (Singh, et al., 2009).

En la figura 7-20 E y F se observa una progresión ascendente en el porcentaje de concentrado de menor a mayor tiempo, lo que es confirmado por los resultados del ANOVA realizado, ya que el resultado de $p < 0.05$ indica que hay diferencias significativas entre los tiempos de centrifugación en términos de su efecto en la concentración del producto (Anexos 7 y 8). Al utilizar las letras de la A a la D para representar el cambio significativo de menor a mayor, y basándonos en el resultado del ANOVA para el porcentaje de concentrado, es posible establecer una relación de mejora en el tiempo de centrifugación de menor a mayor concentración, este

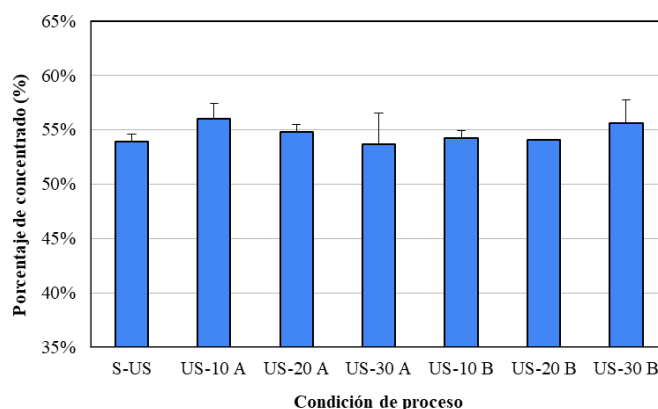
resultado puede ser ocasionado debido a que cuando se aumenta el tiempo de tratamiento aumenta también la velocidad de crecimiento del hielo, es decir, surge una resistencia a la transferencia de calor y esta tiene efecto en la disminución de concentración de %ST en la fracción de hielo (Chen et. al., 1998).

Por esta razón buscando obtener el mejor resultado de PC y EF, se definió evaluar la variación de la velocidad en los tiempos de 10, 15 y 20 min para determinar la condición que obtenga la mayor cantidad de concentrado en el diseño experimental.

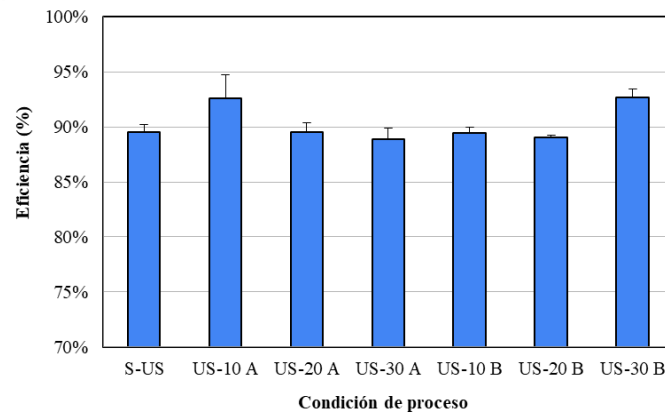
- **Determinación condiciones de tratamiento para la aplicación de ultrasonido.**

En la figura 7-21 A y B, se muestran los resultados del %PC y %EF para los tratamientos de US-A y US-B en 3 tiempos (10, 20 y 30 min) en comparación con las muestras de lactosuero sin aplicación de US (S-US).

En la figura 7-21 A se observa que el porcentaje de concentrado no presenta una variación estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre sus condiciones de aplicación. En caso contrario, se presenta una diferencia significativa para el porcentaje de eficiencia (Figura 7-20 B) a obtener ($p > 0.05$), principalmente en el tratamiento de US-A 10 minutos y US-B 30 minutos, donde se obtuvieron unos valores (92.60 % y 92.68%). Esta conclusión, sugiere que el pretratamiento en las condiciones US-A 10 minutos y US-B 30 minutos, son aquellas que influyen mayormente en la cantidad de ST obtenidos en la solución concentrada y permiten tener un mayor valor de porcentaje de concentrado y eficiencia.



A.



B.

Figura 7-21. A. Porcentaje de concentrado para la determinación de las condiciones de aplicación de US.

B. Porcentaje de eficiencia para la determinación de las condiciones de aplicación de US.

B. Diseño experimental

De acuerdo con los resultados obtenidos de las pruebas preliminares, a continuación, se presenta el diseño experimental a emplear en la evaluación de las condiciones óptimas de la combinación de ultrasonido y centrifugación aplicado en un solo ciclo de crioconcentración (Figura 7-21).

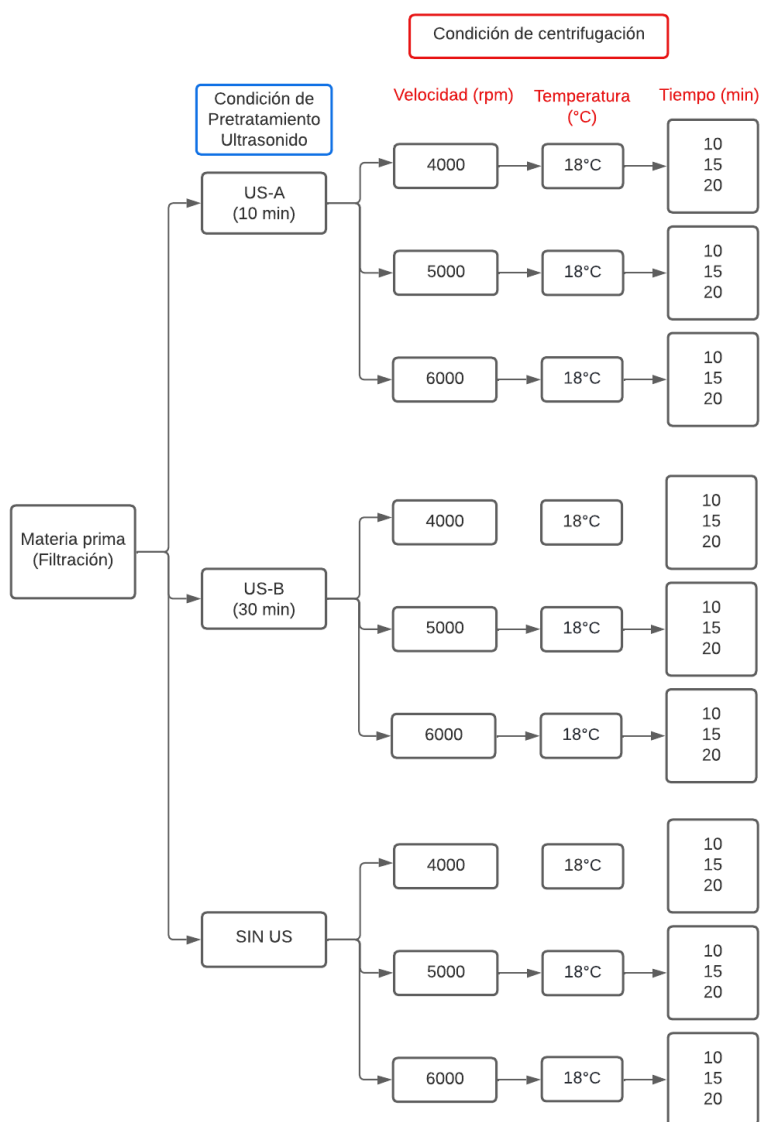


Figura 7-22. Diseño experimental para la definición de condiciones de aplicación del tratamiento ultrasonido y crioconcentración en combinación.

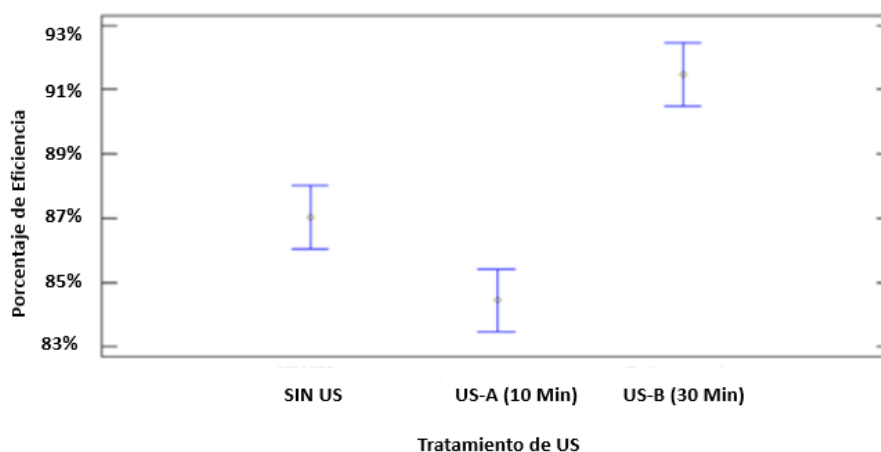
En la Figura 7-23A, se observa una variación significativa en la eficiencia entre los distintos tratamientos de ultrasonido aplicados al proceso de crioconcentración ($p = 0.0000$ según ANOVA). Los resultados específicos muestran que el tratamiento de ultrasonido a baja potencia durante 30 minutos alcanzó un porcentaje de eficiencia del 91%, mientras que el tratamiento sin ultrasonido registró un 87% y el tratamiento de alta potencia por 10 minutos presentó un 82%. La prueba de Tukey, una vez realizada tras el ANOVA, revela que el tratamiento de ultrasonido a baja potencia por 30 minutos se destaca significativamente ($p < 0.05$) en comparación con los

otros tratamientos. Esto indica que este enfoque de baja potencia durante un período más prolongado tiene una influencia notable y positiva en la eficiencia del proceso de crioconcentración en comparación con la ausencia de ultrasonido o tratamientos de mayor potencia y menor duración. Este hallazgo está vinculado a la congelación asistida por ultrasonido (UAF), donde se genera una baja presión local sostenida durante un período prolongado, en este caso 30 minutos, lo que da lugar a un colapso beneficioso de burbujas en el proceso de cavitación. Este fenómeno contribuye significativamente a la nucleación del hielo y al crecimiento de cristales, tal como se detalla en el estudio de Ma et al. (2021).

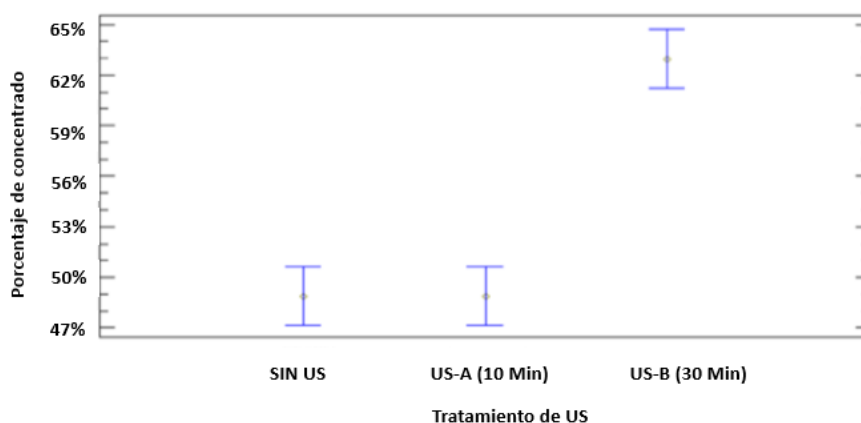
Por tanto, según los análisis estadísticos realizados, el ultrasonido a baja potencia por 30 minutos se muestra como el tratamiento más efectivo y beneficioso para mejorar la eficiencia en el proceso de crioconcentración, ofreciendo un rendimiento significativamente superior en términos de eficiencia en comparación con los otros tratamientos evaluados.

En relación con el porcentaje de concentrado (PC), los resultados destacan claramente el impacto del tratamiento de ultrasonido en baja potencia por 30 minutos (US-B) (Figura 7-23B). Este tratamiento revela el mayor porcentaje de concentrado, alcanzando un 64%, lo que representa aproximadamente un 12% más alto en comparación con la ausencia de ultrasonido (sin US) y el tratamiento de ultrasonido en alta potencia (US-A).

La importancia de estos hallazgos se respalda aún más por el resultado estadístico de $p = 0.000$, que señala una diferencia significativa entre la aplicación de ultrasonido en baja y alta potencia. Estos resultados subrayan de manera concluyente que la condición óptima para aplicar el tratamiento de ultrasonido antes del proceso de crioconcentración del lactosuero es mediante ultrasonido a baja potencia durante 30 minutos (US-B). Esta duración y nivel de potencia específicos parecen desempeñar un papel crucial en la mejora del porcentaje de concentrado, destacando la efectividad y relevancia de este enfoque en el proceso de crioconcentración.



A.



B.

Figura 7-23. A. Resultados de eficiencia para la aplicación de US del programa ANOVA y **B.** Resultados de porcentaje de concentrado para la aplicación de US del programa ANOVA.

En relación al efecto de la velocidad de centrifugación en los parámetros de %EF y % PC, se puede observar en las figuras 7-24 A y B, una relación directamente proporcional entre el aumento de la velocidad de centrifugación con un incremento del %EF y %PC, lo que puede inferir que la velocidad V3 (6000 rpm) es la condición que permite obtener una mayor cantidad de concentrado y con un mayor nivel de concentración asociado con los °Brix.

El análisis estadístico para los parámetros de porcentaje de eficiencia (%EF) y porcentaje de concentrado (%PC) se basó en los datos recopilados en los Anexos 9 y 10, respectivamente. Los resultados revelaron una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) debido al tratamiento de ultrasonido (US) en ambos parámetros, con un valor de $p = 0.0000$ específicamente para la variable de velocidad de centrifugación. Posteriormente, al realizar un análisis de Tukey, se identificó que la velocidad de centrifugación que ejerció una mayor influencia en la combinación de los tratamientos de ultrasonido y crioconcentración fue 6000 rpm, en comparación con las velocidades de 3000, 4000 y 5000 rpm. Esta distinción resulta notable, especialmente entre las velocidades de 4000 rpm y 6000 rpm, donde a pesar de una diferencia de solo 2000 rpm, se observó un crecimiento porcentual del 9%.

De esta manera, fue posible evidenciar que el aumento progresivo en la velocidad de centrifugación influye directamente en la eficacia del proceso debido a que este movimiento de agitación causa un proceso de convección y mejora la transferencia de masa del soluto desde la fracción de hielo a la fracción concentrada (Prestés, et al., 2022) y, por tanto, a menor velocidad de centrifugación hay un incremento en la velocidad de la interfaz hielo/concentrado, lo que conlleva a un mayor atrapamiento de solutos en la fracción de hielo haciendo menos eficiente el proceso.

En conclusión, se optó por seleccionar la velocidad de centrifugación de 6000 rpm (V3) como la más idónea para llevar a cabo el proceso de separación de fracciones durante la crioconcentración del lactosuero. Este enfoque se respalda por su capacidad para potenciar la eficiencia y la concentración, como indican los resultados obtenidos.

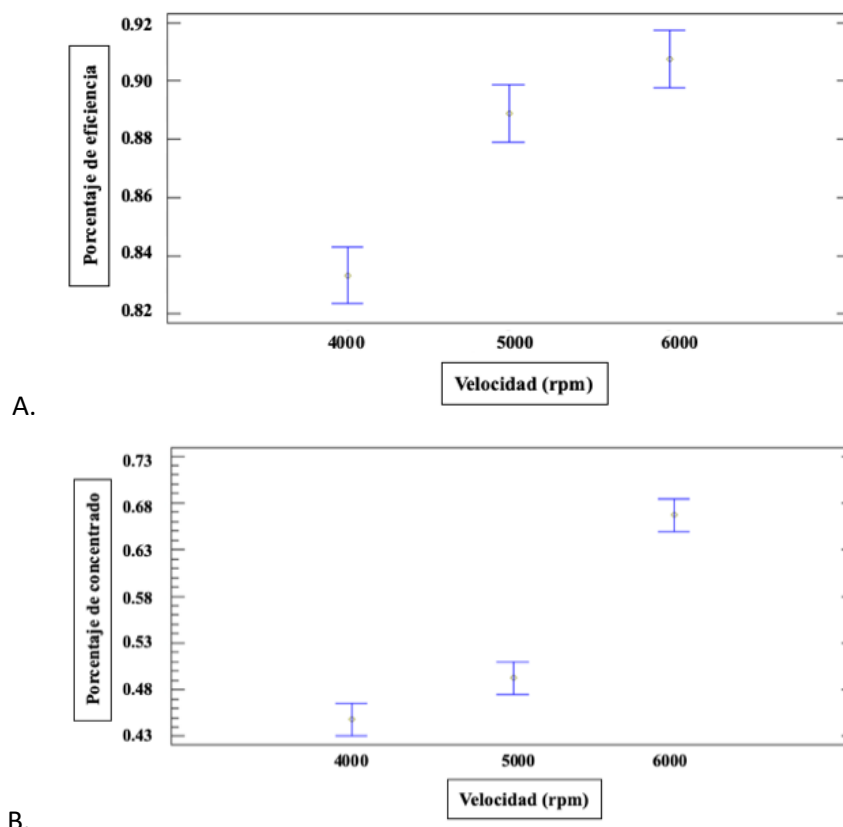


Figura 7-24. **A.** Resultados de eficiencia para la aplicación de velocidad de centrifugación del programa ANOVA y **B.** Resultados de porcentaje de concentrado para la aplicación de velocidad de centrifugación del programa ANOVA.

El análisis de la figura 7-25 A y B revela el comportamiento del porcentaje de eficiencia (%EF) y el porcentaje de concentrado (%PC) en relación con el tiempo de centrifugación. Se observa una tendencia clara: A medida que aumenta el tiempo, se incrementan los valores tanto de %EF como de %PC, siendo este último parámetro notablemente más afectado por el incremento del tiempo. Específicamente, con un tiempo de centrifugación de 20 minutos, se logra una eficiencia del 90%, demostrando el impacto positivo del aumento del tiempo en estas variables de respuesta. En cuanto al %PC, a los 20 minutos, se alcanza un valor del 71%. Este patrón se atribuye a la relación directa entre el tiempo prolongado de centrifugación y una mayor separación en la interfaz hielo/concentrado, lo que puede resultar en una retención superior de sólidos totales en la fracción concentrada (Santana et al., 2020).

Este comportamiento se vincula con los resultados del análisis estadístico que permitió la selección de la mejor condición de aplicación en términos de tiempo de centrifugación. Donde se observa una diferencia estadísticamente significativa entre los tiempos de 10, 15 y 20 minutos, respaldada por el análisis de Tukey aplicado a los resultados del ANOVA ($p = 0.0004$ para %EF y $p = 0.0000$ para %PC), donde es posible analizar que el valor que tiene mayor impacto es el generado por la centrifugación por 20 minutos. Estos resultados permitieron identificar que un tiempo de 20 minutos es significativamente superior en comparación con los efectos generados por los tiempos de 10 y 15 minutos. Esta diferencia estadística enfatiza la influencia positiva y decisiva que tiene un tiempo de centrifugación prolongado, especialmente el de 20 minutos, en la mejora tanto de la eficiencia como del porcentaje de concentrado en el proceso de crioconcentración del lactosuero.

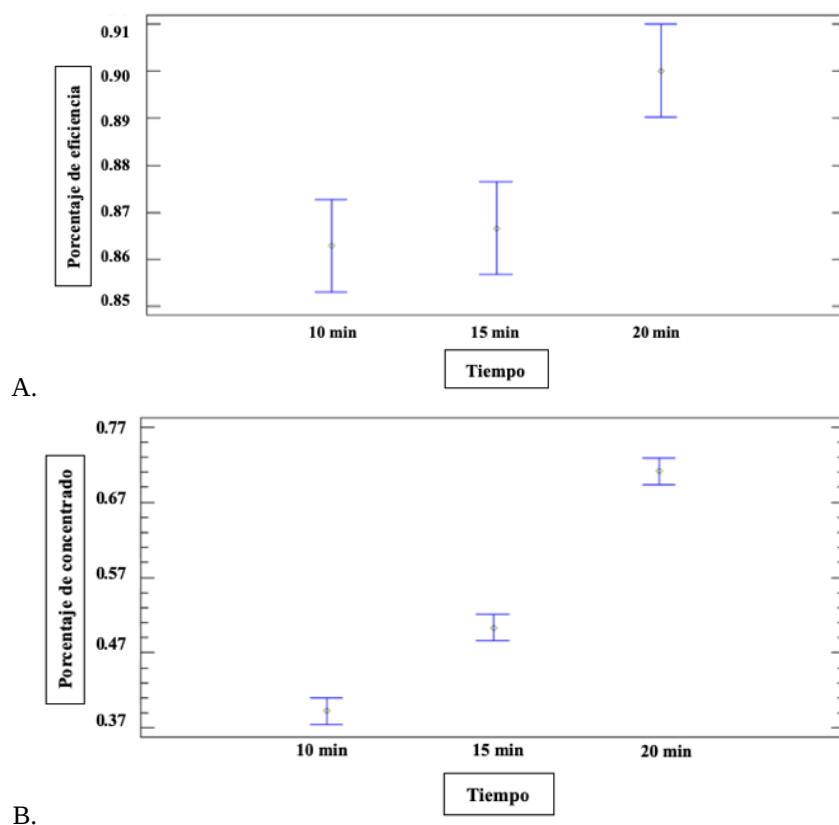


Figura 7-25. A. Resultados de eficiencia para la aplicación de tiempo de centrifugación del programa ANOVA y B. Resultados de porcentaje de concentrado para la aplicación de tiempo de centrifugación del programa ANOVA.

El comportamiento de la densidad en relación a la aplicación del pretratamiento de US, para la velocidad y tiempo de centrifugación se exhibe en la figura 7-26. En esta figura se puede

observar que no hay un cambio estadísticamente significativo entre los tratamientos. Sin embargo, a medida que aumenta el tiempo de centrifugación manteniendo la V3 constante (6000 rpm) se puede evidenciar que hay una disminución del 1.7% de la densidad para los tratamientos S-US. Mientras que, para la misma velocidad de centrifugación existe un incremento de la densidad en función al tiempo con la aplicación de US-B siendo este un valor de 1,0208 g/cm³ para 20 minutos (t3).

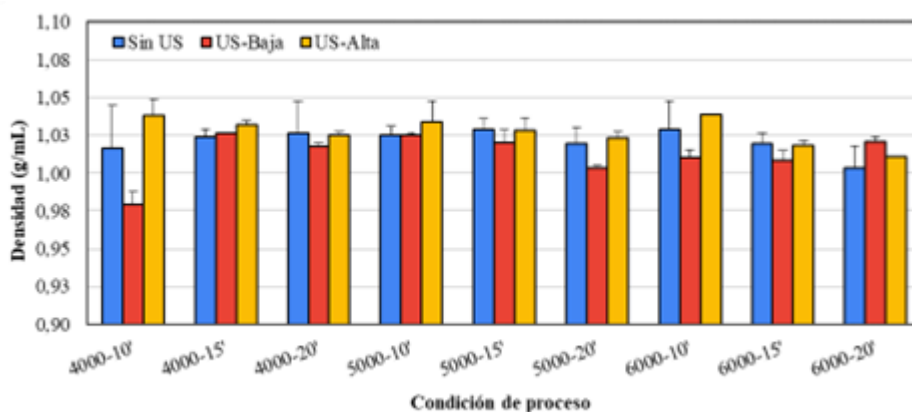


Figura 7-26. Resultados de densidad bajo las diferentes condiciones de proceso.

Este resultado confirma que la aplicación del pretratamiento de US-B (30 min) en combinación con las condiciones de tiempo (20 min) y velocidad (6000 rpm) seleccionadas para centrifugación, evidencia una mayor eficacia del proceso, debido a que, como se mencionó anteriormente, al seleccionar estas condiciones ocurre un proceso de convección ideal que mejora la transferencia de masa del soluto (Prestés, et al., 2022) lo cual está directamente relacionado con un incremento en la velocidad de separación de la interfaz hielo/concentrado, causando una mayor retención de %ST en la fracción concentrada (Santana et al., 2020). Este hecho explicaría que se obtuvo una mayor densidad debido a que se presentó posiblemente una menor retención de humedad y por consiguiente mejor dureza, dado que las proteínas pueden encontrarse más cercanas entre sí (Arce-Méndez et al., 2016; Rivas, & Chávez, 2017).

En conclusión, el diseño experimental con apoyo del análisis estadístico permitió definir que el pretratamiento de US-B por 30 min en combinación con la aplicación de centrifugación a 20 min con una velocidad de 6000 rpm conservando una temperatura de 18°C; fueron las condiciones óptimas para lograr el mejor resultado en términos de %EF y %PC en el proceso de crioconcentración.

Después de establecer las condiciones para la construcción del diseño experimental, se procedió a realizar una toma fotográfica de los resultados obtenidos (Anexo 11). Donde es posible notar un oscurecimiento progresivo en la muestra a medida que aumenta la velocidad de centrifugación (6000 rpm), en comparación con la muestra tratada a la velocidad mínima (4000

rpm), lo anterior se relaciona con el aumento de %ST en el concentrado obtenido y cómo este se ve afectado por la aplicación del pretratamiento de US. Sin embargo, no se han encontrado reportes acerca de cómo el principio de cavitación del US afecta el color en el lactosuero, mientras que, se ha evidenciado que el US puede reducir la turbidez del suero al disminuir el tamaño de las partículas, lo que puede mejorar la uniformidad de la solución (Ye et al., 2023). En la figura 7-27 se presenta la comparación del parámetro de color de los resultados de la aplicación del tratamiento S-US y US-B.

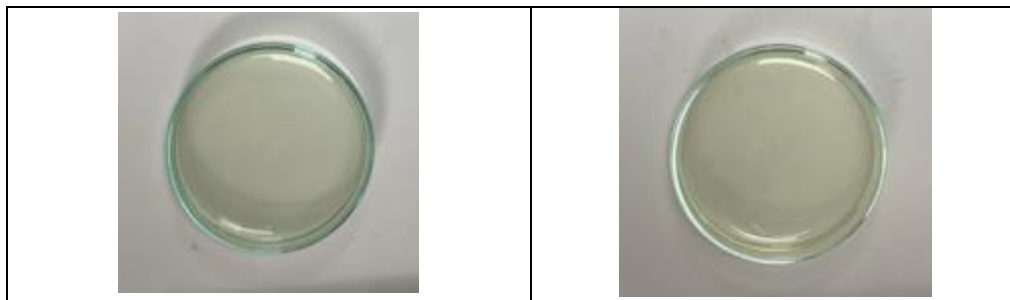


Figura 7-27. Resultados de color bajo una velocidad de 6000 rpm US-B por 30 min en comparación de la muestra sin tratar.

En la figura 7-28 es posible observar la curva de congelación del lactosuero sin la aplicación de ultrasonido (US), donde se muestra una pendiente muy gradual y menos pronunciada en la etapa inicial. En esta etapa, el lactosuero se encuentra en estado líquido a una temperatura ambiente de 25°C. A medida que transcurre el tiempo, la temperatura del lactosuero comienza a descender ubicándose cerca de los 0°C al transcurrir un tiempo cercano a las 2 horas.

A medida que el líquido se acerca a su punto de congelación, es importante considerar que, en ausencia del pretratamiento con ultrasonido (US), la formación de cristales de hielo puede tender a ser menos uniforme. Esto puede dar lugar a la aparición de cristales de hielo de mayor tamaño, lo cual representa un factor adverso para la calidad del producto final ya que estos cristales de mayor tamaño pueden influir negativamente en la textura, generando una consistencia menos deseable y, además, pueden ocasionar daño celular, lo que resulta en la perforación de las células del alimento. Este fenómeno conlleva a una ruptura más significativa de las estructuras celulares y a la liberación sustancial de líquido intracelular (Vargas et al., 2021).

Por otro lado, si se compara el tratamiento S-US con la condición de pretratamiento US-B (Fig 7-28), este último, contribuye a una agitación suave del alimento lo que ayuda a dispersar el calor de manera uniforme y que los cristales sean más pequeños en comparación con un proceso de congelación convencional. De igual manera, ayuda a desgarrar las estructuras celulares y favorece la liberación de agua intracelular, por ende, posibilita una congelación más rápida y

homogénea, lo que puede ser beneficioso para la textura y la calidad del producto (Qiu et al., 2020).

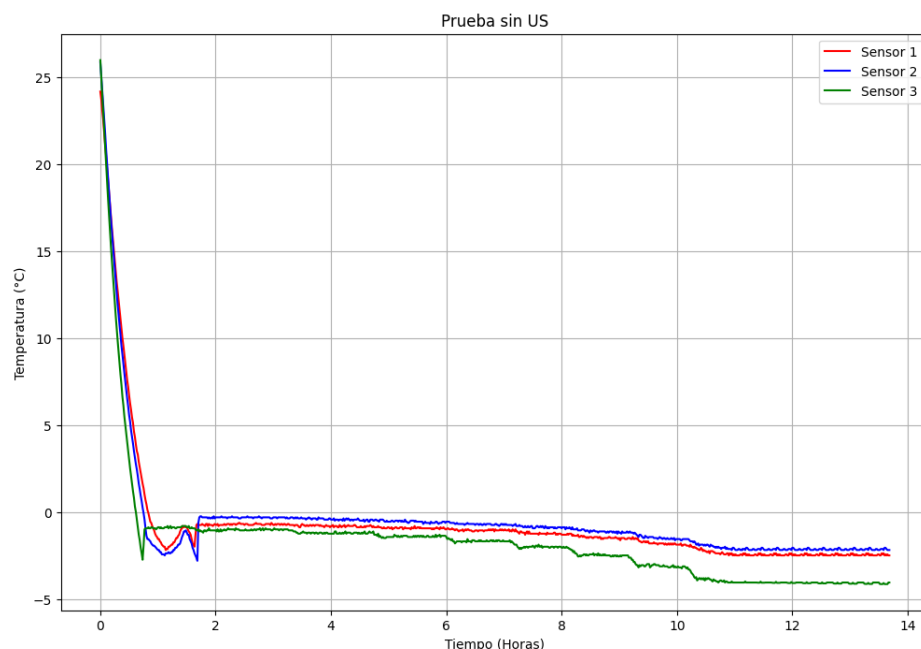


Figura 7-28. Interfaz gráfica de la curva de congelamiento del lactosuero sin US en MATLAB.

En la figura 7-29 es posible observar la curva de congelación de la aplicación de US a Baja potencia durante 30 minutos donde se evidencia una pendiente más gradual en comparación con la aplicación de alta potencia debido a que la transferencia de energía ultrasónica es menos intensa. Este proceso es más largo con una duración de 30 min en comparación con el tratamiento US-A, que dura solo 10 min (Fig 7-30), lo cual puede tener efectos positivos en la calidad del producto, debido a que el tratamiento de baja potencia puede ser menos agresivo con las estructuras celulares, lo que puede resultar mejorar la capacidad de retención de agua en la calidad del producto final (Taha et al., 2023). La aplicación del pretratamiento de US de alta potencia es más rápida en términos de congelación y puede generar cristales de hielo más pequeños, lo que puede ser beneficioso para la textura. Sin embargo, la aplicación de US de baja potencia durante un período más largo puede ser preferible si se busca una retención de calidad y una congelación más suave (Vargas et al., 2021).

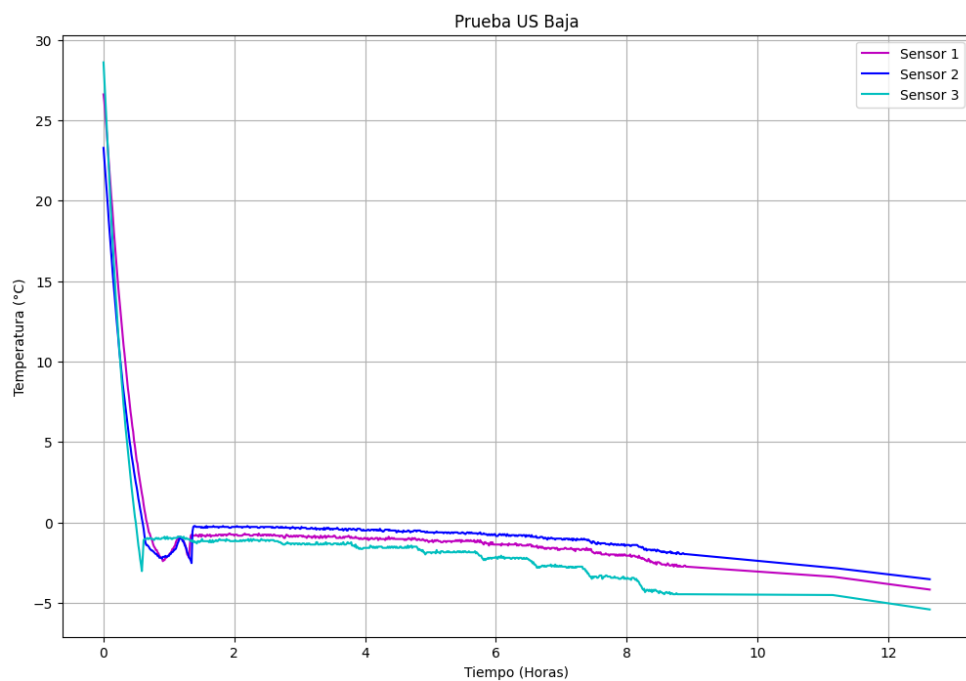


Figura 7-29. Interfaz gráfica de la curva de congelamiento del lactosuero en MATLAB bajo tratamiento de baja potencia por 30 minutos.

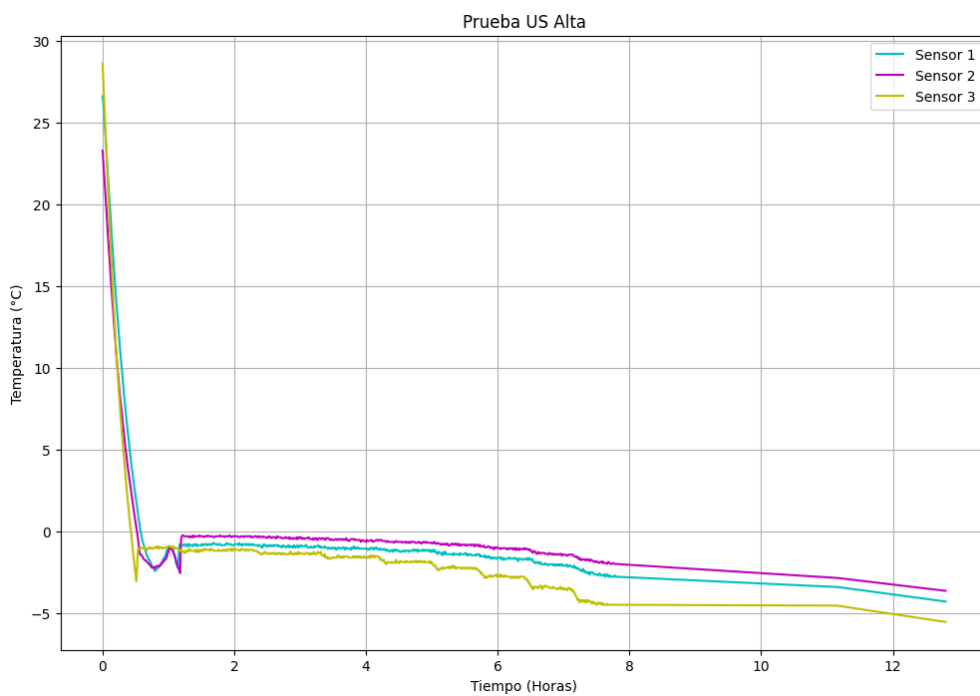


Figura 7-30. Interfaz gráfica de la curva de congelamiento del lactosuero en MATLAB bajo la aplicación de alta potencia por 10 minutos.

Después de la formación de los cristales de hielo, en el tratamiento de US-B se puede apreciar que la temperatura del lactosuero se estabiliza gradualmente a la temperatura de congelación (Pamidi, T., 2019), lo que puede ayudar a evitar picos de temperatura. Estas ventajas en conjunto respaldan la elección de la aplicación de ultrasonido a baja potencia como la opción preferida para mejorar la calidad del producto en estudio (*Water Freezing Process: Topics by Science.gov*, 2017).

La temperatura de congelación entre 0°C y -5°C generalmente se mantendrá constante durante el resto del proceso una vez que se ha alcanzado la temperatura de congelación deseada y se haya formado una cantidad suficiente de cristales de hielo. En esta etapa, el lactosuero se encuentra en estado sólido, con cristales de hielo distribuidos a lo largo del medio líquido, en donde es posible decir que el proceso de congelación se considera completo (Delgado y Sun., 2011).

A partir del análisis generado para las curvas de congelación obtenidas en el diseño experimental fue posible identificar como el tratamiento de aplicación del ultrasonido en baja potencia por 30 minutos causa una alteración en la curva de congelación, donde se anticipa una reducción en el punto de congelación y una aceleración en la velocidad de congelación, permitiendo indicar que hay una mayor pureza en el concentrado resultante con mayor cantidad de %ST.

FASE 4. Proceso de crioconcentración bajo 3 ciclos.

A continuación, se presentan los resultados de la evaluación de los parámetros fisicoquímicos, nutricionales y funcionales, de los concentrados obtenidos después de aplicar los tres ciclos de crioconcentración combinado con la aplicación de US.

Porcentaje Eficiencia e Índice de concentración de hielo:

En la Figura 7-31 A se exhiben los resultados del porcentaje de eficiencia en tres ciclos consecutivos del proceso de crioconcentración. Se aprecia un ligero incremento en el %EF a medida que se aplican más ciclos: C1 (88%), C2 (89%), C3 (92%). Aunque se registra esta tendencia ascendente, no se evidencia una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los ciclos según el análisis de Tukey aplicado a los resultados obtenidos. Este análisis no arrojó diferencias lo suficientemente marcadas como para asignar letras distintas a cada ciclo, lo que indica que no hay discrepancias relevantes y significativas entre ellos.

Sin embargo, es posible analizar que con cada ciclo de crioconcentración, el agua se congela y elimina, pero los sólidos permanecen. Esto destaca cómo la crioconcentración mejora la eficiencia en la eliminación del agua y la concentración de sólidos solubles, incluyendo

proteínas, en el concentrado de suero (Cochachin-Carrera et al., 2023). C3, en particular, alcanza la máxima concentración de proteínas y sólidos tras tres ciclos con la eficiencia más alta.

Por otro lado, en la figura 7-31B se muestra el índice de concentración en el hielo, el cual es una medida que indica cuánta agua se ha eliminado del lactosuero durante el proceso de crioconcentración. Cuanto menor sea este valor, mejor será la eliminación del agua y, por lo tanto, más eficiente será el proceso (Cibele et al., 2021). En este contexto, se observa que C3 registra el valor más bajo (0.10), lo que sugiere una eficiente eliminación del agua del lactosuero durante tres ciclos de procesamiento. Este resultado se respalda con una diferencia estadísticamente significativa notoria, tal como se evidencia en la asignación de letras por el análisis de Tukey (Anexo 12). Este análisis revela que C1 y C2, al compartir la misma letra, no muestran diferencias detectables entre sí. Por el contrario, el ciclo C3 se define como aquel que experimentó el cambio más significativo entre los ciclos evaluados.

Esto sugiere que la aplicación de un proceso de crioconcentración en combinación de US en tres ciclos es la opción más eficiente en términos de la eliminación del agua y, por lo tanto, es la mejor elección si se busca un concentrado más concentrado y con menos contenido de agua (Cochachin-Carrera et al., 2023).

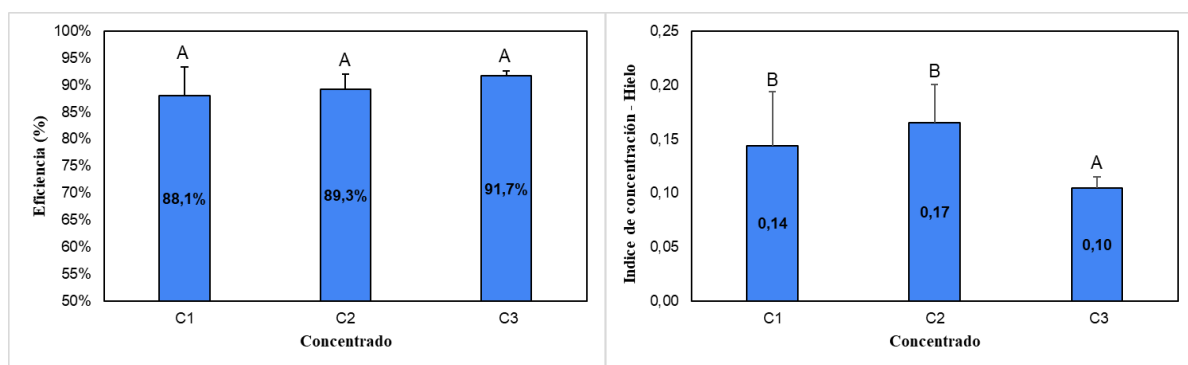


Figura 7-31 A. Porcentaje de eficiencia para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración.

B. Índice de concentración de hielo para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración.

Letras iguales indican que no existen diferencias significativas.

El aumento en la eficiencia del proceso se puede atribuir a una disminución en la retención de solutos en el hielo. Esto se explica por la reducción de la viscosidad de la solución a medida que la concentración aumenta, lo que permite una dispersión más uniforme de los solutos en la interfaz entre el hielo y el líquido, y esto se debe en parte al pretratamiento de US, que acelera la difusión de estos sólidos lejos de la interfaz hielo-líquido debido a la polarización de la concentración (Cochachin-Carrera et al., 2023). Por lo tanto, estos solutos se liberan con mayor facilidad del hielo formado. Esto conduce a una disminución en el coeficiente de partición de

solutos en la fase de hielo y, como consecuencia, a una reducción en la pérdida de sólidos durante el proceso (Sánchez, 2011).

Además, este efecto en la viscosidad influye en la cristalización, ya que las tasas de crecimiento de los cristales de hielo se ven afectadas por un posible aumento en la concentración de proteínas en el lactosuero, que actúa como sustancia crioprotectora. Estas proteínas forman enlaces de hidrógeno con moléculas biológicas, lo que protege tejidos, soluciones acuosas y proteínas contra la congelación (Cochachin-Carrera et al., 2023).

Porcentaje de Concentrado e Índice de concentración de concentrado:

En relación al parámetro de concentrado como se observa en la Figura 7-32, presenta un incremento estadísticamente significativo ($p < 0.05$) representado por las letras de la A a la C, siendo relacionadas de menor a mayor, dando paso para que C3 sea representado con la letra C y esto lleve a inferir que la diferencia estadísticamente significativa es progresiva a medida que se aplican ciclos de crioconcentración: C1 (58%), C2 (89%), C3 (92%), obteniéndose el mayor valor en ciclo 3 como se ilustra en la Figura 7-32A. Este aumento puede estar relacionado con la eliminación progresiva de agua del lactosuero a medida que se aplican más ciclos, lo que resulta en una mayor concentración de sólidos, incluyendo las proteínas (Quintero, 2020). Estos hallazgos se respaldan con los resultados obtenidos por Cochachin-Carrera (2023), que demuestran que el aumento en el número de ciclos de crioconcentración tiene un efecto significativo en el contenido de proteínas en las fracciones concentradas. A través del proceso de crioconcentración en bloques asistido por centrifugación, la concentración de proteínas aumentó hasta 3.7 veces en el tercer ciclo de crioconcentración.

En la Figura 7-32 B se observa el índice de concentración (IC) en el concentrado, el cual indica la cantidad de concentrado proteico presentes en el producto final. Según el estudio de Ramírez (2018), un IC deseable en estos procesos de crioconcentración debería situarse en el rango de 1 a 1.5. En este caso, tanto los concentrados obtenidos de los ciclos C1 como C3 se encuentran dentro de este intervalo, con valores de 1.44 y 1.26, respectivamente. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la eficiencia en la eliminación del agua es un indicador crítico de la calidad del concentrado. En este sentido, C3 que involucra tres ciclos completos de crioconcentración y alcanza una eficiencia del 92%, se destaca como la mejor elección. Esto resalta la importancia de una eliminación eficiente del agua en la producción de un concentrado de alta calidad.

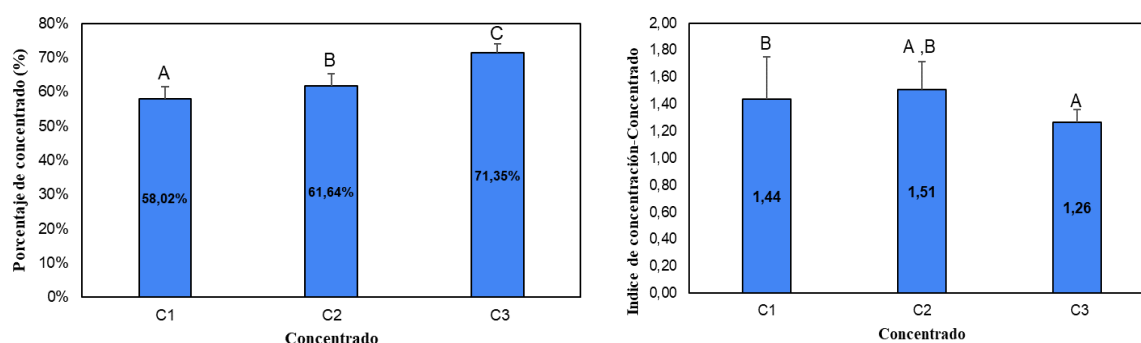


Figura 7-32 A. Resultados de porcentaje de eficiencia para la aplicación de 3 ciclos de US y criocentración.

B. Resultados de porcentaje concentrado para la aplicación de 3 ciclos de US y criocentración. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas

En la figura 7-33, se presenta el comportamiento del % de rendimiento de concentrado de lactosuero a medida que se aplican ciclos de criocentración: C1 (58%), C2 (61%), C3 (68%). Este incremento es estadísticamente significativo ($p < 0,05$), lo que se debe a la eliminación gradual del agua de la solución durante el proceso de criocentración, lo que puede conducir a un aumento en la concentración de proteínas en la solución (Cibele et al., 2021). Este fenómeno explica por qué el ciclo C3 alcanza el rendimiento más alto, ya que ha experimentado tres ciclos completos de criocentración, lo que ha resultado en la máxima concentración en el producto final, lo que es respaldado por el resultado del análisis estadístico en el cual se ve que hay un cambio significativo entre los 3 ciclos de concentración, teniendo el mayor valor el C3, que es representado por la letra C (Mayor impacto) (Cohachin-Carrera et al., 2023).

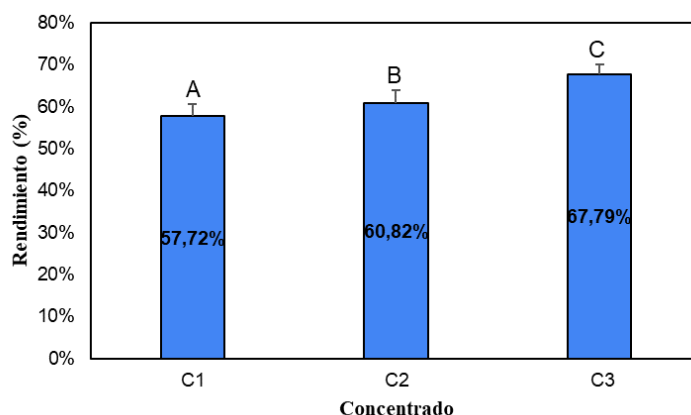


Figura 7-33. Resultados de porcentaje de rendimiento para la aplicación de 3 ciclos de US y criocentración. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas

Curvas de congelación de monitoreo.

Con el objetivo de analizar el comportamiento de la congelación del lactosuero durante proceso de crioconcentración, se determinó el punto de congelación en distintos ciclos de crioconcentración (C1, C2 y C3) (Tabla 7-7). La determinación se llevó a cabo a partir del uso del sistema de monitoreo de temperatura.

Tabla 7-7. Resultados de punto de congelación (C1, C2 y C3).

Concentrado	Punto de congelación
C1	-6 °C
C2	-9°C
C3	-13°C

El análisis de la variación en la posición del punto de congelación después de tres ciclos de crioconcentración, junto con la aplicación de ultrasonido, involucra aspectos fundamentales de la termodinámica y la química. Para comprender este fenómeno, se ha evaluado la curva de congelación en los tres ciclos de concentración, y se observa en la Figura 7-34 A, B y C, donde el sensor 3 desempeña un papel crucial al definir de manera clara el punto de congelación de la muestra. Estas curvas de congelación nos brindan información valiosa, ya que un valor bajo en la curva indica el inicio de la formación de cristales de hielo, lo que se conoce como nucleación, seguido de un aumento de la temperatura debido al calor latente generado durante el cambio de fase. La temperatura más alta alcanzada tras este proceso es la temperatura de congelación de la muestra, que está relacionada con el crecimiento de los cristales de hielo, es decir, la cristalización.

Al comparar las curvas obtenidas para los tres ciclos de congelación, se evidencia que la curva se deprime a medida que se aumentan los ciclos de concentración. Esta variación se ajusta a los principios de la ley de Blagden, que establece que la presencia de solutos en una solución interfiere con la formación de cristales de hielo al perturbar la estructura ordenada de las moléculas de agua. En otras palabras, a medida que la concentración de solutos aumenta en la solución, el punto de congelación disminuye, lo que afecta significativamente el proceso de congelación (Vuist et al., 2021).

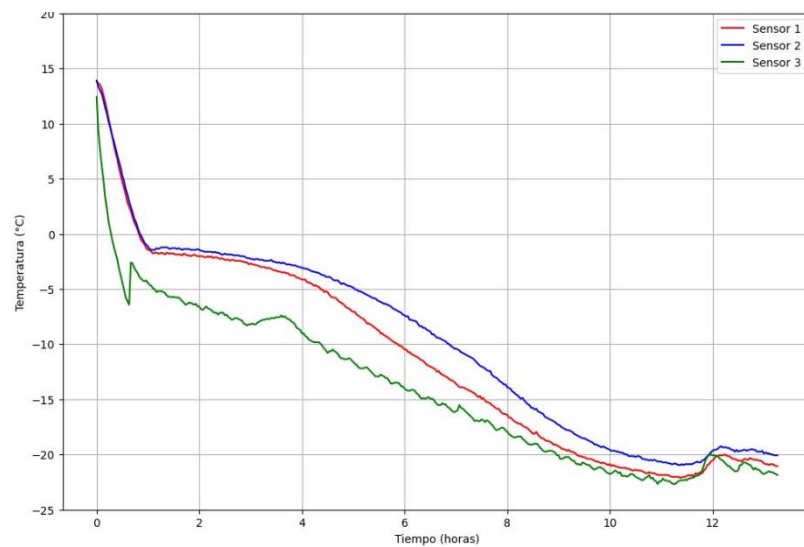
La interferencia de los solutos en la formación de cristales de hielo se origina a partir de las diferencias en las propiedades físicas y químicas de los solutos en comparación con las moléculas de agua. Estos solutos no solo ocupan espacio en la solución, sino también rompen los enlaces de hidrógeno presentes y pueden incluso establecer sus propios enlaces con las

moléculas de agua (Carbonel, 2018). Como consecuencia de estas alteraciones, las moléculas de agua enfrentan dificultades considerables para organizar una estructura cristalina, lo que tiene como efecto ralentizar significativamente el proceso de congelación.

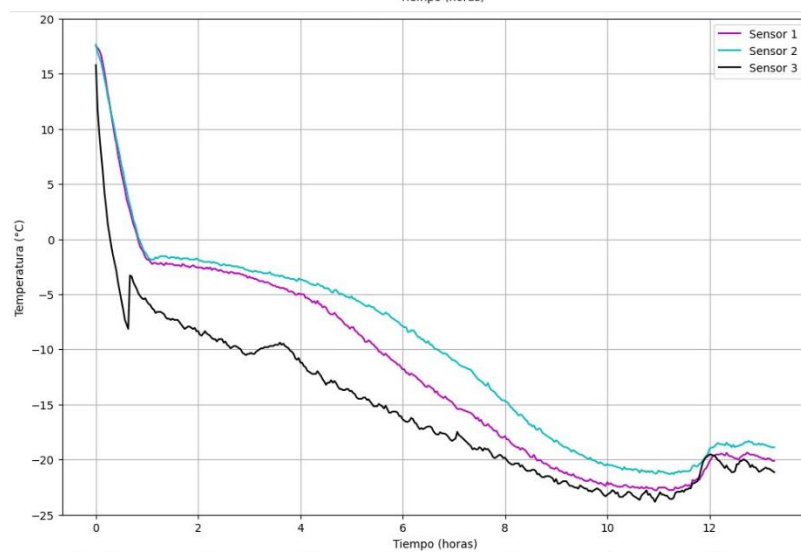
Los solutos pueden desempeñar roles diversos en la formación de cristales, actuando tanto como nucleadores como inhibidores. En este contexto específico de los ciclos de concentración C1, C2 y C3, el aumento y presencia de solutos promueve la formación de cristales de menor tamaño, lo cual mejora la efectividad del proceso de congelación. En consecuencia, el aumento en la concentración del producto resulta en una depresión del punto de congelación aún más pronunciada. Esto, a su vez, tiene un impacto directo en la eficiencia del proceso al proporcionar una mayor cantidad de sitios de nucleación para la formación de cristales de hielo.

Además de estos efectos, la aplicación del ultrasonido durante el proceso de congelación tiene un impacto beneficioso adicional. Los ultrasonidos de alta potencia aceleran significativamente la tasa de congelación al inducir cavitación acústica. Esta cavitación genera microburbujas que actúan como puntos de nucleación para la formación de cristales de hielo, lo que se traduce en una congelación más rápida (Dadan et al., 2021). Esta mejora en la transferencia de calor y masa, facilitada por la agitación generada por el ultrasonido, resulta en un enfriamiento más rápido y uniforme del producto con una consecuente mejora en la calidad del lactosuero congelado. Esto se refleja en la variación en la velocidad de congelación de cada concentrado en las curvas de congelación, lo cual se nota especialmente en las primeras dos horas del proceso debido al impacto del pretratamiento con ultrasonido en la velocidad de congelación.

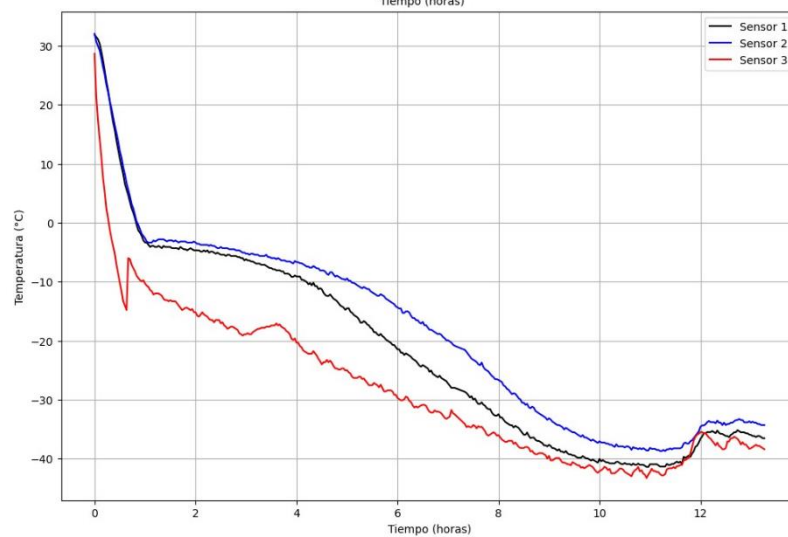
En conclusión, la interacción entre el pretratamiento con ultrasonido y la crioconcentración aplicada a través de tres ciclos ejerce una influencia significativa en la calidad y eficiencia del concentrado final obtenido en el tercer ciclo. Esto se manifiesta en las características sobresalientes del proceso de cristalización en términos de velocidad y tiempo de congelación para este último concentrado.



A.



B.



C.

Figura 7-34 A. Curva de congelación del concentrado 1, **B.** Curva de congelación del concentrado 2 y **C.** Curva de congelación del concentrado 3. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas.

- **ANÁLISIS DE PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS Y NUTRICIONALES**

- **pH**

En la figura 7-35 se observan los valores obtenidos para la evaluación del pH en los tres ciclos de concentración, donde se ve una disminución en los valores a medida que se aumenta el número de ciclos de crioconcentración, ya que C1 tiene el valor de pH más alto (3.80), seguido de C2 (3.76) y C3 (3.73). Esta disminución una ligera acidificación en los concentrados a medida que se aplican más ciclos de crioconcentración y puede atribuirse a factores como la concentración de sólidos, incluyendo el ácido láctico, y la interacción con otros componentes en el lactosuero (Короткий et al., 2019). Sin embargo, es importante destacar que estos cambios en el pH son estadísticamente significativos lo que está representado por el análisis de Turkey (Anexo 14), el cual permitió asignar la letra A para identificar el impacto que tiene la disminución del C3 en comparación el suero inicial. Adicional, los valores de pH en el rango cercano a 3.7-3.8 se encuentran dentro del rango encontrado y establecido en la caracterización inicial del lactosuero.

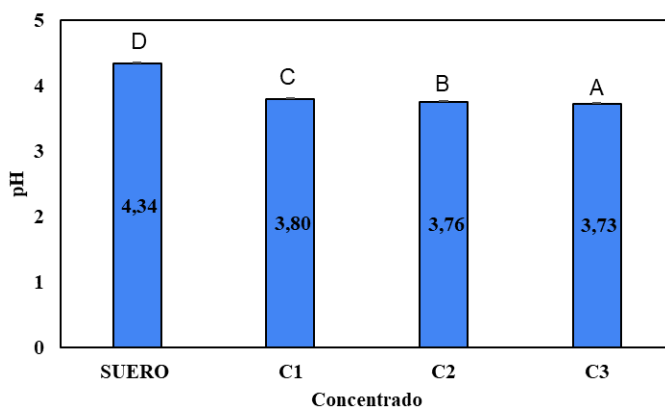


Figura 7-35. Resultados de pH para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas.

- **Acidez:**

La acidez en los productos lácteos, como el suero de leche, está relacionada principalmente con la presencia de ácido láctico. En este caso, la crioconcentración implica la eliminación

controlada de agua de la solución de suero, lo que resulta en una concentración relativa de los componentes presentes, incluido el ácido láctico. A medida que se aplican más ciclos de crioconcentración, disminuye la cantidad de agua y, en consecuencia, la concentración de ácido láctico y otros componentes aumenta en relación con el volumen total de la solución (Короткий et al., 2019).

En la figura 7-36 se evidencia que C1, al experimentar un solo ciclo de crioconcentración, tiene el valor más bajo de acidez (1.06). A medida que se aplican más ciclos, como en C2 y C3, la acidez aumenta considerablemente, con C3 mostrando el valor más alto (2.33), lo cual se soporta con la asignación de la letra D para el concentrado con mayor porcentaje de acidez (Anexo 15), quien representa la diferencia e impacto significativo que hay para este parametro en tres ciclos de concentración. Estos cambios en la acidez son indicativos de una mayor concentración de ácido láctico y otros ácidos orgánicos en los concentrados de suero a medida que se aplican más ciclos de crioconcentración. Esto sugiere que la acidez del lactosuero puede tener un impacto negativo en el proceso de crioconcentración, ya que el aumento de estos niveles puede alterar la estructura de las proteínas, influyendo en la capacidad para formar una red de retención de agua durante la congelación (Короткий et al., 2019)

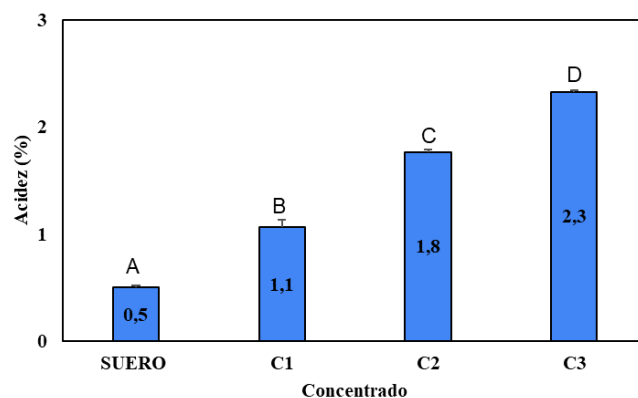


Figura 7-36. Resultados de porcentaje de acidez para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas.

- °Brix:

El °Brix es una medida de la concentración de sólidos solubles en una solución, expresada en porcentaje de sacarosa en peso en agua. En el caso de C1, que ha experimentado un solo ciclo de crioconcentración, el valor del °Brix es relativamente bajo (8.7). A medida que se aplican más ciclos de crioconcentración, como en C2 y C3, el valor del °Brix aumenta significativamente, con C3 mostrando el valor más alto (18.1), lo cual es acorde con el resultado obtenido en el análisis estadístico, donde se evidencia que hay un impacto significativo entre

los ciclos de concentración aplicados, donde C3 es el mayor valor (D)($p<0000$), teniendo una diferencia notoria en comparación con los demás ciclos (Anexo 16). Este aumento en el °Brix es indicativo de una mayor concentración de sólidos solubles en el concentrado de suero a medida que se aplican más ciclos de criocentración. Es decir, hay una mayor concentración de azúcares, en relación con el volumen total de la solución.

Este efecto se produce porque, a medida que se aplican más ciclos, se elimina parte de la presencia de agua del lactosuero, lo que concentra los sólidos solubles restantes. Como resultado, el concentrado de suero se vuelve más espeso y concentrado en sólidos solubles, lo que se refleja en un aumento del valor del °Brix.

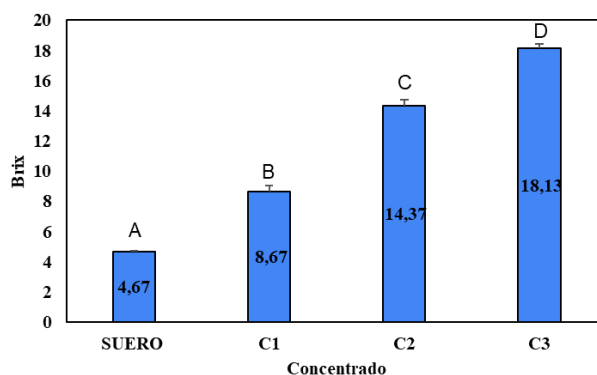


Figura 7-37. Resultados de grados Brix para la aplicación de 3 ciclos de US y criocentración. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas.

- Densidad:

La densidad es una propiedad física que representa la masa de un material por unidad de volumen. En el contexto de un concentrado de suero, una mayor densidad indica que hay una mayor cantidad de sólidos en la solución por unidad de volumen. En el caso de C1, que ha experimentado un solo ciclo de criocentración, la densidad es relativamente baja (1.01). A medida que se aplican más ciclos de criocentración, como en los casos C2 y C3, la densidad aumenta gradualmente, debido a la concentración de sólidos solubles en la solución, siendo C3 el concentrado con la mayor densidad (1.05). Sin embargo, en este caso el análisis Turkey permitió identificar que entre el suero inicial y el concentrado uno se comparten aspectos que demuestran que no se presenta una diferencia significativa, caso similar al que se observa en la relación del C1 y C2. Sin embargo, el valor que demuestra el impacto significativo ($p<0.05$) es el C3 (D) en comparación con el suero inicial (A) (Anexo 17).

La disminución en la densidad de la fracción de hielo en C1 podría explicarse por la disminución de la cantidad total de materia seca contenida en esta fracción. En cada etapa de criocentración, la fracción de grasa restante se concentraba más en la fracción de hielo que

en la concentrada. La grasa tiene una densidad menor que el agua, y su contribución a la disminución de la densidad es evidente. Según los resultados obtenidos, es posible inferir que tres etapas de crioconcentración son suficientes para un proceso eficiente (Короткий, et al., 2019).

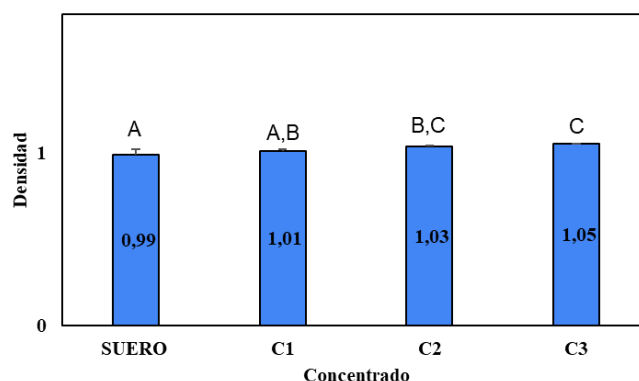


Figura 7-38. Resultados de densidad para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas.

- Porcentaje de Sólidos y Humedad:

En las figuras 7-39 A y B, podemos observar cómo varían el porcentaje de humedad y el porcentaje de sólidos después de llevar a cabo tres ciclos de crioconcentración. Es evidente que a medida que se incrementan los ciclos de crioconcentración, el porcentaje de humedad disminuye de manera notable. Esta reducción se debe principalmente a la congelación del agua presente en la muestra en hielo conforme esta se enfría. Este proceso de cambio de estado del agua a hielo conlleva a una separación de fases en la muestra. El agua se solidifica en forma de hielo y se separa del líquido restante, que se enriquece en solutos, como lactosa y proteínas (Majjad et al., 2020). A medida que la muestra continúa enfriándose, se repite este proceso, lo que resulta en una reducción gradual del contenido de humedad y un aumento proporcional en la concentración de solutos en el concentrado final. Esta tendencia también se refleja en la diferencia estadísticamente significativa que podemos observar en las figuras.

Por lo tanto, el tercer ciclo de crioconcentración se destaca por obtener la mayor cantidad de sólidos (20,39%) y la menor cantidad de humedad (79,61%) en la muestra de lactosuero, lo que lo convierte en el ciclo con las características más favorables en términos de concentración de solutos.

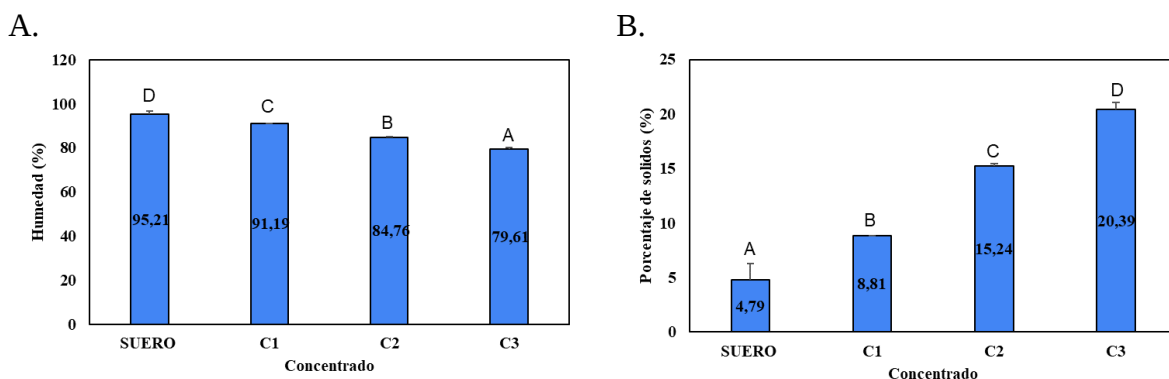


Figura 7-39 A. Resultados de porcentaje de humedad para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración.

B. Resultados de porcentaje de solidos para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas.

- **Proteína y Grasa:**

En las figuras 7-40 A y B, se presentan los resultados de la evaluación de los parámetros nutricionales, especialmente en lo que respecta a la proteína y la grasa. Estos resultados indican que el porcentaje de proteína aumenta de manera significativa a medida que se aplican más ciclos de crioconcentración y el porcentaje de grasa disminuye.

En contraste con lo señalado por Cochachin-Carrera (2023) en su estudio, esta información respalda la idea de que, durante en el proceso de crioconcentración, la grasa se retiene en la fracción de hielo y no en las soluciones concentradas, mientras que, en el proceso de concentración por evaporación, a medida que se elimina el agua, la grasa se concentra en la solución concentrada. Las soluciones concentradas por evaporación mostraron un aumento en la presencia de estructuras laminares intramoleculares (49,36%), mientras que en las soluciones crio concentradas la α -hélice fue la estructura predominante (42,73%).

Los resultados estadísticos obtenidos en términos de porcentaje de grasa y proteína fueron soportados por un análisis Turkey, en donde fue posible evidenciar que la proteína tiene un cambio significativo a medida que aumentan los ciclos, lo que se ve soportado por que el C3 se identifica con la letra D, demostrando que es el concentrado que genero mayor porcentaje de proteína con respecto al suero inicial. Sin embargo, este comportamiento es contrario para el porcentaje de grasa, donde no se evidencia que a medida que transcurren los ciclos se presente un cambio significativo e comparación con el suero inicial ($p>0.05$) (Anexo 18).

De esta manera, fue posible obtener un C3 más enriquecido en componentes valiosos, como proteínas y minerales, lo que lo hace idóneo para específicas en la industria alimentaria., empleándolo como ingrediente en productos lácteos, bebidas fortificadas o suplementos proteicos (Yáñez, 2020).

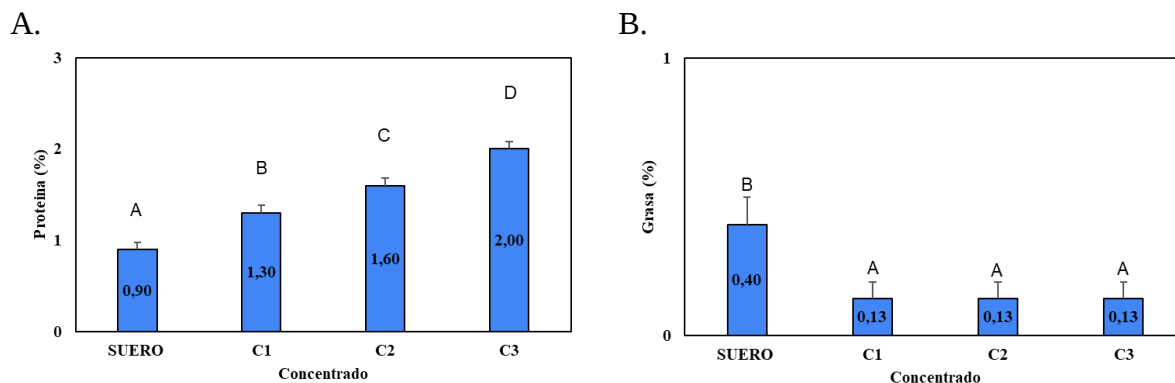


Figura 7-40 A. Resultados de porcentaje de proteína para la aplicación de 3 ciclos de US y criocentración.

B. Resultados de porcentaje de grasa para la aplicación de 3 ciclos de US y criocentración.

Letras iguales indican que no existen diferencias significativas.

CAPACIDAD EMULSIFICANTE Y ESTABILIDAD DE ESPUMAS

La capacidad emulsificante (CE) es una propiedad importante en la industria de alimentos, pues se refiere a la capacidad de un material para estabilizar y mantener una emulsión, en este caso de la mezcla de aceite y agua, sin que los componentes se separen con el tiempo. En la figura 7-41 es posible observar los resultados para la capacidad emulsificante respectivamente, los cuales muestran un comportamiento directamente proporcional entre estos parámetros a medida que se aumentan los ciclos de criocentración, este fenómeno provoca cambios en la estructura de las proteínas presentes en el lactosuero, mejorando su capacidad para estabilizar emulsiones y contribuir al aumento de la capacidad emulsificante es progresivo y significativo. Este comportamiento permite identificar que hay una diferencia estadísticamente significativa generado por el análisis Turkey realizado entre el suero inicial y el ciclo 3 (D), esta diferencia puede darse por la acumulación gradual de componentes como proteínas, lípidos o emulsionantes naturales del lactosuero.

A medida que se concentran los componentes proteicos, se evidencia que la capacidad emulsificante en aumenta luego de 3 ciclos en un 85.88%, ya que hay más materiales emulsionantes disponibles. Las proteínas son conocidas por su capacidad para estabilizar

emulsiones, por lo que un mayor contenido de proteínas contribuye al aumento de la capacidad emulsificante. Esto puede deberse a la interacción más efectiva de las moléculas de emulsionantes en la interfaz entre el agua y el aceite. A su vez, la eliminación del agua puede reducir la interferencia de este componente en la formación y estabilidad de las emulsiones. También, fue posible analizar que a medida que se concentran los componentes proteicos, se evidencia que la estabilidad emulsificante (Figura 7.42) disminuye, lo que está principalmente asociado a que en el proceso de crioconcentración posiblemente se presentaron modificaciones en la composición de los lípidos del lactosuero, siendo estos esenciales para la formación y estabilidad de las emulsiones. Estos cambios significativos en la evaluación de las propiedades funcionales del crioconcentrado final son representados en las gráficas por el análisis Turkey aplicado al ANOVA realizado y fue posible identificar que C3 a pesar de representar una buena capacidad emulsionante, la estabilidad de la emulsión disminuyó a medida que pasaron los ciclos. Sin embargo, este comportamiento es contrarrestado por la capacidad espumante que contiene el concentrado final, ya que como se observa en la figura 7-43, esta propiedad aumenta luego de 3 ciclos en un 291.44%. Lo que soportado porque los tamaños de partículas más pequeños pueden conducir a una mejor estabilidad, ya que proporcionan una superficie más grande para la interacción con los componentes de la emulsión, como las gotas de aceite y las moléculas de agua. Esta mayor superficie permite una mejor dispersión y estabilización de la emulsión. Además, se ha demostrado que la proteína presente en el concentrado de suero, cuando se adsorbe en la superficie de las partículas de grasa, aumenta con la concentración de proteína y está influenciada por el pH durante la emulsificación (Kilian, et al., 2020)

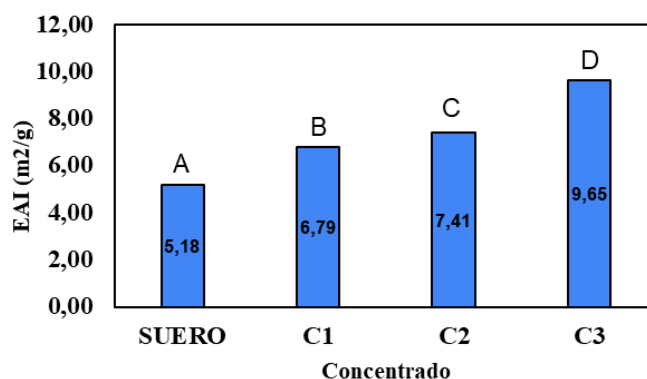


Figura 7-41. Resultados de capacidad emulsificante para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas.

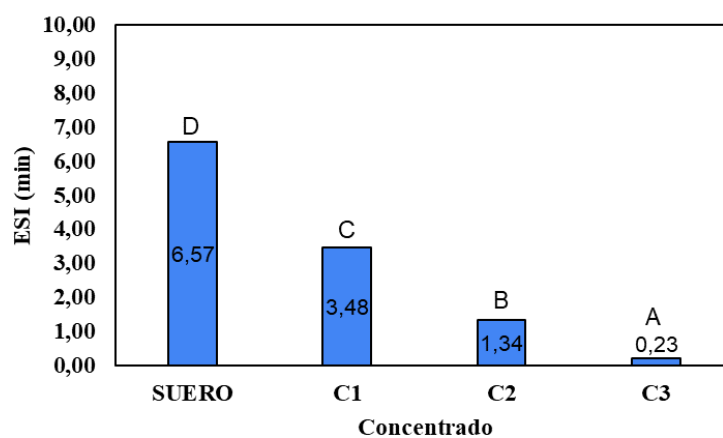


Figura 7-42. Resultados de estabilidad emulsificante para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas.

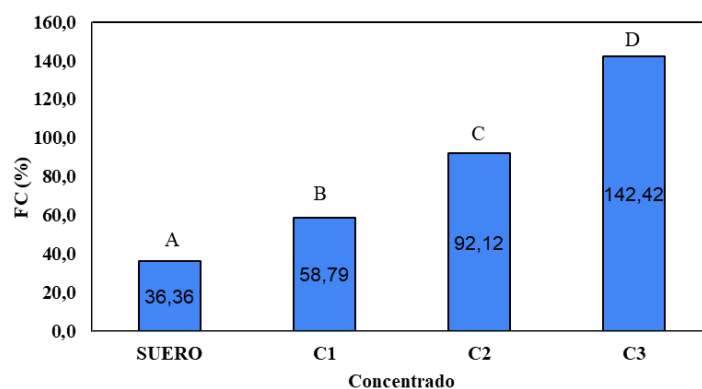


Figura 7-43. Resultados de estabilidad emulsificante para la aplicación de 3 ciclos de US y crioconcentración. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas.

METODOLOGIA FINAL

La aplicación de ultrasonido en combinación con el proceso de crioconcentración ayuda en el proceso de mejora de la eficiencia, ya que permite un mayor control sobre la formación de cristales de hielo y la separación de agua y solutos. Esto conlleva a un aumento en el porcentaje de concentrado de proteínas, lo que permite que el producto final tenga posibilidad de ser aprovechado por la industria alimentaria. Además, la aplicación de ultrasonido permite conservar los parámetros fisicoquímicos esenciales contribuyendo a una mayor homogeneidad y estabilidad del producto. En el presente trabajo de grado, fue posible definir que esta tecnología aplicada a una baja potencia por un tiempo prolongado no solo aumenta la eficiencia y calidad del proceso de crioconcentración, sino que también cumple con los estándares de calidad requeridos en la industria, lo que lo convierte en un avance significativo en la producción de concentrados de lactosuero de alta calidad y valor agregado.

La metodología final es descrita a continuación:

1. Recolecte 6 Litros de Lactosuero evitando generar algún tipo de contaminación cruzada.
2. Preparación de Equipos y Materiales: Verificar y preparar los equipos necesarios para la recolección, como recipientes herméticos de 3L para cada lote, etiquetas de identificación, termómetro, y material de limpieza y desinfección para garantizar condiciones sanitarias favorables.
3. De ser necesario, tenga en cuenta lo siguiente para realizar el almacenamiento de la muestra: Tras la recolección, se almacene el primer lote a temperatura de refrigeración de -4°C para evitar cambios en las propiedades del lactosuero.
4. Empleando un matraz de filtración y papel filtro Whatman con un tamaño de poro de $11\mu\text{m}$, proceda a llevar a cabo la filtración por gravedad de 405ml del suero inicial. Asegúrese de que el suero pase a un recipiente limpio.
5. Realice el llenado del baño de ultrasonido con 400ml de agua destilada hasta alcanzar el nivel de funcionamiento recomendado (Línea que es posible observar en el equipo) y ajuste la temperatura a 20°C .
6. Tome 250ml de lactosuero previamente filtrado y colóquelo en un vaso precipitado, encienda el equipo y aplique el tratamiento de US.
7. Coloque el equipo US (Marca Branson (CPX1800H)) en las siguientes condiciones de funcionamiento: Potencia: US-B (Baja potencia (2Bar), Tiempo: 30 min.
8. Realice el llenado del baño de ultrasonido con 400ml de agua destilada hasta alcanzar el nivel de funcionamiento recomendado (Línea que es posible observar en el equipo) y ajuste la temperatura a 20°C .

9. Tome 250ml de lactosuero previamente filtrado y agréguelo en un vaso precipitado encienda el equipo y aplique el tratamiento de US.
10. Usando la muestra previamente tratada, rellene cuidadosamente los tubos falcon de 50 ml hasta un aforo de 45 ml.
11. Después de llenar cada tubo hasta 45 ml, colóquelos en un soporte de tubos Falcon de 50 ml y proceda a la congelación. Verifique que el tiempo de congelación sea mínimo 12 horas.
12. Somete los tubos congelados a un proceso de centrifugación en las condiciones de (Velocidad: 6000 rpm, Temperatura (°C): 18°C, Tiempo: 20 min).
13. Utilice unas pinzas para extraer la porción congelada (hielo) del concentrado obtenido.
14. Lleve el concentrado nuevamente a congelación y repita el paso anterior por un tiempo de 3 ciclos de crioconcentración.

Al aplicar esta metodología podras obtener un concentrado rico en proteina, con capacidad emulsificante mayor al 70% y esatbilidad de espumas de un porcentaje de crecimiento del 30% entre el suero inicial y el concentrado 3.

8. CONCLUSIONES

- Se observó una mejora en las características fisicoquímicas, como pH (3.80), acidez (2.33), Brix (18.1) y densidad (1.05), así como en los parámetros nutricionales, en comparación con el lactosuero sin tratamiento. Estos cambios positivos sugieren que el crioconcentrado de proteína obtenido es de mayor calidad y puede tener un mayor valor en la industria alimentaria.
- La implementación del sistema de monitoreo de temperatura posibilitó obtener una interfaz gráfica para visualizar la curva y punto de congelación de 3 ciclos (-6, -9 y -13 °C). Esta herramienta ha demostrado ser valiosa para analizar el impacto positivo de la temperatura, al observar la reducción en el tiempo de eficiencia del proceso.
- Se han determinado las mejores condiciones de proceso para la aplicación de las tecnologías de ultrasonido (US-B a 30 min) y crioconcentración (6000 rpm a 10 min). Este hallazgo presenta ventajas en comparación a los demás métodos maximizar el rendimiento y la eficiencia del proceso, minimizando pérdidas de proteína.
- En este trabajo, el concentrado de proteína obtenido mostrará altos contenidos de sólidos disueltos totales que aumentaron significativamente a medida que aumentaba el número de ciclos de concentración. La fracción concentrada mostró mayores cantidades de proteína que la fracción de hielo, con un porcentaje de concentrado del 71% y una eficiencia del 92%.

RECOMENDACIONES

- Optar por papel filtrante con una porosidad y tamaño de poro adaptados al tipo de partículas presentes en la muestra, garantizando así una eficiencia de retención óptima. Así mismo, regular cuidadosamente la velocidad de filtración para evitar la saturación prematura del papel y asegurar una separación eficiente de los sólidos.
- Ajustar las velocidades de centrifugación y los tiempos según las características específicas de la muestra para lograr una separación eficiente sin dañar los componentes deseados. Seleccionar tubos y rotores compatibles con las propiedades físicas y químicas de la muestra, evitando así posibles interacciones no deseadas y optimizando la eficiencia de separación. Distribuir equitativamente las muestras en la centrífuga para evitar desequilibrios que puedan afectar la eficacia de la separación y causar daños al equipo.
- Monitorear la temperatura durante el proceso de ultrasonido para prevenir posibles variaciones que puedan afectar la estabilidad de la muestra.

BIBLIOGRAFÍA

- Adriana. Delgado, Da-Wen. Sun. (2011). *Ultrasound-Accelerated Freezing from: Handbook of Frozen Food Processing and Packaging* CRC Press.
- Aider, M., De Halleux, D., & Akbache, A. (2007). Whey cryoconcentration and impact on its composition. *Journal of Food Engineering*, 82(1), 92-102.
- Aider, M., De Halleux, D., & Melnikova, I. (2009). Skim milk whey cryoconcentration and impact on the composition of the concentrated and ice fractions. *Food and bioprocess technology*, 2, 80-88.
- Análisis del Tereftalato de Polietileno (PLÁSTICO PET). (n.d.). Recuperado de <https://repositorio.cuc.edu.co/bitstream/handle/11323/8472&isAllowed=y>
- Angurell, I., Casamitjana, N., Caubet, A., Dinarés, I., Llor, N., Muñoz-Torrero, D., Ernesto, N., Pérez-García, M., Pujol, M., Rosell, G., Seco, M. & Velasco, D. (n.d.). *Operaciones Básicas en el Laboratorio de Química*. Ub.edu wbioiebsite. Disponible en: <http://www.ub.edu/oblq/oblq%20castellano/index1.html#>
- Arce-Méndez, J. R., Thompson-Vicente, E., & Calderón-Villaplana, S. (2016). Incorporación de la proteína del suero lácteo en un queso fresco. *Agronomía Mesoamericana*, 27(1), 61-71.
- Armenta Ortega, A. (2016). Evaluación de propiedades funcionales de proteína concentrada de suero tratada por ultrasonido de potencia (Bachelor's thesis).
- Axioma Estudio SAS. (2020). Encuentra tu viaje perfecto. Retrieved October 27, 2023, from Frontera Travel website: <https://fronteratravel.co/es/viaje/-78-000-recorrido-guiado-por-la-catedral-de-sal-de-zipaquira>
- Barba, F. J. (2021). An Integrated Approach for the Valorization of Cheese Whey. *Foods*, 10(3), 564.
- Bausà, J., Carlos, A., Gómez, G., Zaragoza, B., Gil, A., Daniel, M., ... Llinares, A. (n.d.). *Sensores de Temperatura*. Disponible en <https://www.sistemamid.com/panel/uploads/biblioteca/1/349/1259/6572/6629/78932.pdf>

- Bing, L., Haji Akber, A., & Abulimiti, Y. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction of sheep abomasum protein concentrates by response surface methodology and evaluation of their properties. *Food Science and Technology*, 39, 85-92.
- Borbolla Pérez, M. I. (2019). Concentración de suero de leche por congelación y determinación de sus propiedades fisicoquímicas.
- Borilova, G., Fasiangova, M., Harustiakova, D., Kumprechtova, D., Illek, J., Auclair, E., & Raspoet, R. (2020). Effects of selenium feed supplements on functional properties of eggs. *Journal of food science and technology*, 57, 32-40.
- Buchanan, D., Martindale, W., Ehab Romeih, & Essam Hebishy. (2023). Recent advances in whey processing and valorisation: Technological and environmental perspectives. *International Journal of Dairy Technology*, 76(2), 291–312. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12935>
- Buyanova, I. V., Lupinskaya, S. M., Ostroumov, L. A., & Mazeeva, I. A. (2021). Innovative low temperature methods of milk whey processing. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 640, No. 3, p. 032007). IOP Publishing.
- Cao, E., Chen, Y., Cui, Z., & Foster, P. R. (2003). Effect of freezing and thawing rates on denaturation of proteins in aqueous solutions. *Biotechnology and Bioengineering*, 82(6), 684–690. <https://doi.org/10.1002/bit.10612>
- Casas-Forero, N., Orellana-Palma, P., & Petzold, G. (2021). Recovery of Solutes from Ice and Concentrated Fractions in Centrifugal Block Cryoconcentration Applied to Blueberry Juice. *Food and Bioprocess Technology*, 14(6), 1155-1168.
- Carbonel, D. (2018). Adsorción de Cadmio, Cobre y Plomo en Bentonita, Caolín y Zeolita Naturales y Modificadas: Una Revisión de los Parámetros de Operación, Isotermas y Cinética. *Ingeniería*, 23(3). <https://doi.org/10.14483/23448393.13418>
- Chen, G. Q., Eschbach, F. I. I., Weeks, M., Gras, S. L., & Kentish, S. E. (2016). Removal of lactic acid from acid whey using electrodialysis. *Separation and Purification Technology*, 158, 230–237. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.12.016>
- Cibele, A., Quinteros, G. J., Shadi Yaribeigi Darvishvand, Blanco, M., E. Hernández, Elane Schwinden Prudencio, & Shafirah Samsuri. (2021). The combined use of progressive and block freeze concentration in lactose-free milk: Effect of process parameters and influence on the content of carbohydrates and proteins. *Journal of Food Process Engineering*, 44(11). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13867>
- Cisneros-Ruiz, M., & Rito-Palomares, M. (2005). Estrategias de bioingeniería para la recuperación primaria de productos biológicos. *Revista mexicana de ingeniería Química*, 4(1), 131-139.
- Cochachin-Carrera, B., Moreno-Cuevas, J., & Carvajal-Mena, N. (2023). Effects of concentration by block freezing and vacuum evaporation on the physicochemical properties and digestibility of whey. *CyTA - Journal of Food*, 21(1), 313–320. doi:10.1080/19476337.2023.2196321
- Cury, K., Aguas, Y., Martinez, A., Olivero, R., & Ch, L. C. (2017). Residuos agroindustriales: su impacto, manejo y aprovechamiento. *Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECIA*, 9(S1), 122-132.
- Dadan, M., Matys, A., Kaminska-Dworznicka, A., Lammerskitten, A., Toepfl, S., & Parniakov, O. (2021). Improvement of freezing processes assisted by ultrasound. Design and Optimization of Innovative Food Processing Techniques Assisted by Ultrasound, 217–273. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818275-8.00001-5>
- Dalvi-Isfahan, M., Hamdami, N., Xanthakis, E., & Le-Bail, A. (2017). Review on the control of ice nucleation by ultrasound waves, electric and magnetic fields. *Journal of Food Engineering*, 195, 222-234.
- Díaz Urueña, J. (2019). Lactosueros en Colombia, uso e impactos. Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos – Invima. Disponible en: <https://www.invima.gov.co/documents/20143/1434876/Lactosueros+en+Colombia+Res+299+7+de+2007.pdf>
- Dong, X., Du, S., Deng, Q., Tang, H., Yang, C., & Wei, F. et al. (2020). Study on the antioxidant activity and emulsifying properties of flaxseed gum-whey protein isolate conjugates prepared by Maillard reaction. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 153, 1157-1164. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.10.245
- Estacio, Ñ., Mayumi, R., Oregon, L., & Mardin, L. (2018). Correlación y modelamiento crioscópico de la actividad de agua en suero de queso utilizando glucosa y sacarosa. Retrieved 26 April 2022, from <https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/4785/Laurente%20Oregon%20%20C3%91ahui%20Estacio.pdf?sequence=1>
- Fatemi, M., & Hashemi Shahraki, B. (2018). An Experimental and Theoretical Analysis of Foam Formation in the Sour Gas Sweetening Process. *Iranian Journal of Oil and Gas Science and Technology*, 7(4), 79-89.
- Foegeding, E. and P. Luck. 2002. Whey protein products. 1957-1960. In: Caballero, B., L. Trugo, P. Finglas (eds.). *Encyclopedia of Foods Sciences and Nutrition*. Academic Press, New York.

- Freezing Basics. (2021). <https://extension.missouri.edu/publications/gh1501>
- Gabas, A. L., Telis-Romero, J., & Telis, V. R. N. (2003). Influence of fluid concentration on freezing point depression and thermal conductivity of frozen orange juice. *International Journal of Food Properties*, 6(3), 543-556.
- Galketi, U., & Dekermendjian, A. (2023). Market summaries. FOOD OUTLOOK MILK AND MILK PRODUCTS. Contact. https://www.fao.org/3/cc3020en/cc3020en_milk.pdf
- García-Garibay, M., Jiménez-Guzmán, J., & Hernández-Sánchez, H. (2008). Whey proteins: bioengineering and health. In *Food Engineering: Integrated Approaches* (pp. 415-430). Springer, New York, NY.
- Goded, A. 2000. Industrias derivadas de la leche. Barcelona, España, Editorial Salvat S.A. 745 p. ISBN: 75482694812
- Glassco, J. (2019, October 28). Emulsion Stability and Testing | LLS Health CDMO. Retrieved November 29, 2023, from LLS Health CDMO website: <https://lubrizolcdmo.com/technical-briefs/emulsion-stability-and-testing/>
- Golfo Moatsou, & Ekaterini Moschopoulou. (2021). CHEESE and WHEY: The Outcome of Milk Curdling. *Foods*, 10(5), 1008–1008. <https://doi.org/10.3390/foods10051008>
- González, L., Téllez, A., Sampedro, J. G., & Nájera, H. (2007). Las proteínas en la nutrición. *Revista salud pública y nutrición*, 8(2), 1-7.
- González F, Margolles, & Rúas M. (2020). Suero lácteo, un subproducto de quesería para aplicaciones biotecnológicas. *Boletín de Ciencias Y Tecnología*, (55), 313–328. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8964081>
- Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., van Otterdijk, R., & Meybeck, A. (2011). FAO: Pérdidas y desperdicio de alimentos en el mundo. Alcance, Causas y Prevención. In “SAVE FOOD.
- Gunasekaran S., Mehmet A.K.M., Cheese texture. 2003, in: *Cheese Rheology & Texture* (eds. S. Gunasekaran, A.K.M. Mehmet). CRC Press, New York, NY, pp. 299– 329.
- Henriques, M., Gomes, D., & Pereira, C. (2017). Liquid Whey Protein Concentrates Produced by Ultrafiltration as Primary Raw Materials for Thermal Dairy Gels. *Food Technology and Biotechnology*, 55(4). <https://doi.org/10.17113/ftb.55.04.17.5248>
- Hernández, J. C., García, F. P., Cruz, V. E. R., Santillán, Y. M., & Marzo, M. A. M. (2012). Caracterización fisicoquímica de un lactosuero: potencialidad de recuperación de fósforo. *Acta universitaria*, 22(1), 11-18.
- Hernández, L., & Rodríguez, G. (2019) "Cadena Láctea", *Sioc.minagricultura.gov.co*. [En línea]. Disponible en: <https://sioc.minagricultura.gov.co/SICLA/Documentos/2019-03-30%20Cifras%20Sectoriales.pdf>.
- Herrera Ponce, A. L. (2020). Aplicación de ultrasonido de alta intensidad en la formulación de una bebida funcional de Lactosuero-Avena. Universidad Autónoma de Chihuahua. Repositorio Digital. Uach.mx. <https://doi.org/http://repositorio.uach.mx/311/1/Tesis.pdf>
- Hu, Y., Ting, Y., Hu, J., & Hsieh, S. (2017). Techniques and methods to study functional characteristics of emulsion systems. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 16–26. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.10.021>
- ISO, E. (2010). (IDF 21:2010) Milk, cream and evaporated milk: Determination of total solids content (Reference method). International Organization for Standardization.
- ISO, E. (2014). ISO 8968-1: 2014 (IDF 20-1: 2014) Milk and milk products: Determination of nitrogen content-Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- Kilian, J., Ilizandra Aparecida Fernandes, Luize, A., Steffens, C., Abirached, C., Steffens, J., & Valduga, E. (2020). Interfacial and emulsifying properties of whey protein concentrate by ultrafiltration. *Food Science and Technology International*, 26(8), 657–665. <https://doi.org/10.1177/1082013220921595>
- Короткий, И.А., Korotkiy, I.A., Плотников, И., Plotnikov, I.B., Мазеева, И., & Maseeva, I. (2019). Current Trends in Whey Processing. *Food Processing: Techniques and Technology*.
- León C., José C. (2021). Producción mundial de leche alcanzó los 544.1 millones de toneladas en 2021. Agraria.pe Agencia Agraria de Noticias. <https://agraria.pe/noticias/produccion-mundial-de-leche-alcanzo-los-544-1-millones-de-to-28139>
- León-López, A., Pérez-Marroquín, X. A., Estrada-Fernández, A. G., Campos-Lozada, G., Morales-Peñaloza, A., Campos-Montiel, R. G. and Aguirre-Álvarez, G.
- León-López, A., Pérez-Marroquín, X. A., Estrada-Fernández, A. G., Campos-Lozada, G., Morales-Peñaloza, A., Campos-Montiel, R. G., & Aguirre-Álvarez, G. (2022). Milk Whey Hydrolysates as High Value-Added Natural Polymers: Functional Properties and Applications. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articl>

- Ma, X., Mei, J., & Xie, J. (2021). Mechanism of ultrasound assisted nucleation during freezing and its application in food freezing process. *International Journal of Food Properties*, 24(1), 68–88. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1858862>
- Majjad, K. O. (2020). *Crioconcentración al vacío de tres tipos de suero de leche de vaca* (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de Catalunya. Escola Superior d'Agricultura de Barcelona).
- Maeve Henchion, Hayes, M., Anne Maria Mullen, Fenelon, M. A., & Tiwari, B. K. (2017). Future Protein Supply and Demand: Strategies and Factors Influencing a Sustainable Equilibrium. *Foods*, 6(7), 53–53. <https://doi.org/10.3390/foods6070053>
- Mason, T. J. (2020). High powered ultrasound in physical and chemical processing. *New Acoustics. Selected Topics*.
- Matriz-de-Pugh. (2019). Retrieved October 28, 2023, from Scribd website: <https://es.scribd.com/document/541609919/Matriz-de-Pugh>
- McClements, D., Lu, J., & Lutz Großmann. (2022). Proposed Methods for Testing and Comparing the Emulsifying Properties of Proteins from Animal, Plant, and Alternative Sources. *Colloids and Interfaces*, 6(2), 19–19. <https://doi.org/10.3390/colloids6020019>
- Menchik, P., Zuber, T., Zuber, A., & Moraru, C. (2019). Short communication: Composition of coproduct streams from dairy processing: Acid whey and milk permeate. *Journal Of Dairy Science*, 102(5), 3978–3984. doi: 10.3168/jds.2018-15951
- Medalit, C., Egoavil, M., Pamela, D., & Flores. (2022). *Para optar el Título Profesional de Ingeniera Ambiental Escuela Académico Profesional de Ingeniería Ambiental*. Retrieved from https://repositorio.continental.edu.pe/bitstream/20.500.12394/11106/1/IV_FIN_107_TE_Curilla_Diego_2022.pdf
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2020) "Cadena Cárnica Porcina", Sioc.minagricultura.gov.co. [En línea]. Disponible en: [https://sioc.minagricultura.gov.co/Porcina/Documentos/2020-03-31%20Cifras%20Sectoriales .pdf](https://sioc.minagricultura.gov.co/Porcina/Documentos/2020-03-31%20Cifras%20Sectoriales.pdf)
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2020) "Sector Lácteo", Sioc.minagricultura.gov.co. [En línea]. Disponible en: [https://sioc.minagricultura.gov.co/SICLA/Documentos/2020-03-30%20Cifras%20Sectoriales. pdf](https://sioc.minagricultura.gov.co/SICLA/Documentos/2020-03-30%20Cifras%20Sectoriales.pdf)
- Ministerio de la Protección Social. (2010). Resolución 1031 de 2010, Marzo 19, por la cual se modifica el artículo 6to de la resolución 2997 de 2007 modificado por el artículo 1 de la resolución 715 de 2009.
- Ministerio de Salud. (1986). Resolución 2310 de 1986, Febrero 24, por la cual se reglamenta parcialmente el título V de la Ley 09 de 1979, en lo referente a procesamiento, composición, requisitos, transporte y comercialización de los derivados lácteos.
- Mohammed, A., Okoye, S., & Salisu, J. (2016). Effect of Dispersed Phase Viscosity on Stability of Emulsions Produced by a Rotor Stator Homogenizer. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*, 25(2), 256–267. Retrieved from <https://core.ac.uk/download/pdf/249335059.pdf>
- Montaño, L. (2021). Función del Baño María Ultrasónico [Video]. YouTube. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=qQBxSDRfyfM>
- Montes, J. (2020) "Desarrollo de un prototipo de laboratorio de biosensor para la cuantificación de lactosa presente en el lactosuero residual de la industria láctea, como alternativa para el monitoreo de sus vertimientos en el Municipio de Sopó (Cundinamarca)", Universidad el Bosque. Unbosque.edu.co. <https://doi.org/http://hdl.handle.net/20.500.12495/4087>.
- Montesdosca, R. R. P., & Chávez, K. P. (2020). Evaluación fisicoquímica del lactosuero obtenido del queso fresco pasteurizado producido en el taller de procesos lácteos en la Espam "MFL". *Revista Ciencia y Tecnología El Higo*, 10(1), 2-10.
- Montoya, P., Chavez, A., Rodriguez, J., Aguilar, N., Renteria, A., & Rodriguez, G. (2014). Características fisicoquímicas y microbiológicas de suero de leche de queso Chihuahua. Retrieved 3 October 2022, from <https://www.redalyc.org/pdf/674/67432507002.pdf>
- Muñi, A., G. Paez, J. Faría, J. Ferrer y E. Ramones. 2005. Eficiencia de un sistema de ultrafiltración/ nanofiltración tangencial en serie para el fraccionamiento y concentración del lactosuero. *Revista Científica* 15(4): 361–367.
- Muvdi-Nova, C. J., Mora-García, S. A., & Cáceres-Roa, S. A. (2021). Evaluating volume reduction of clarified acid bovine milk whey via falling film vacuum evaporation. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 22(1). Disponible en: https://doi.org/10.21930/rcta.vol22_num1_art:1241
- Nafar Galeano, J. & Ortiz Rodríguez, A. (2021). Determinación de una alternativa viable para el aprovechamiento del lactosuero generado por la empresa quesillos armero guayabal Fundación Universidad de América. Uamerica.edu.co. Disponible en: <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/8312/1/6161806-2021-1-IQ.pdf>
- Nielsen, E. N., Merkel, A., Yazdi, S. R., & Ahmé, L. (2021). The effect of acid whey composition on the removal of calcium and lactate during electrodialysis. *International Dairy Journal*, 117, 104985. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.104985>

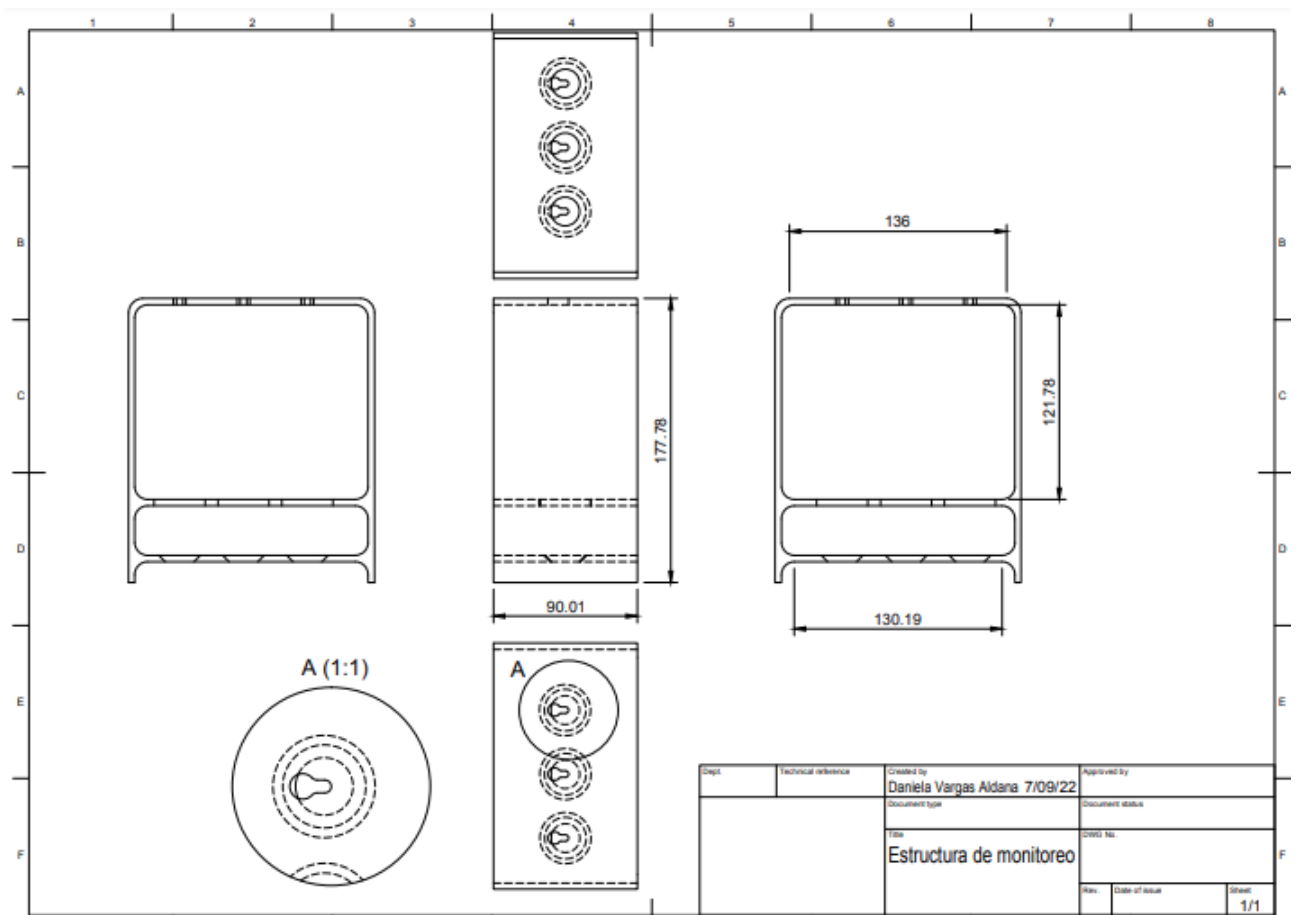
- NuestroMunicipio. (2017). Zipaquira-cundinamarca.gov.co. Disponible en: <https://www.zipaquira-cundinamarca.gov.co/municipio/nuestro-municipio>.
- OCLA. Evolución de la producción mundial de leche. (2021). Ocla.org.ar website: <https://www.ocla.org.ar/contents/news/details/17823806-evolucion-de-la-produccion-mundial-de-leche>
- Ouaffak Majjad, Khitam. (2020). Crioconcentración al vacío de tres tipos de suero de leche de vaca. Bachelor's thesis, Universitat Politècnica de Catalunya. Upc.edu. Disponible en <https://doi.org/http://hdl.handle.net/2117/329088>.
- Palatnik, D. R. (2019). Desarrollo de quesos funcionales y aprovechamiento de proteínas de lactosuero. *Unlp.edu.ar*. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/87205>
- Pamidi, T. R. K. (2019). *Process Intensification by Ultrasound Controlled Cavitation* (Doctoral dissertation, Luleå University of Technology).
- Panghal, A., Patidar, R., Jaglan, S., Chhikara, N., Khatkar, S. K., Gat, Y., & Sindhu, N. (2018). Whey valorization: current options and future scenario—a critical review. *Nutrition & Food Science*, 48(3), 520-535.
- Petzold, G., Moreno, J., Lastra, P., Rojas, K., & Orellana, P. (2015). Concentración por congelación en bloque asistida por centrifugación aplicada a jugos de arándano y piña. *Ciencia innovadora de los alimentos y tecnologías emergentes*, 30, 192–197. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.03.007>
- Pezo Cuñaña, C. M. (2019). Obtención y caracterización de un aislado proteico a partir de la torta desengrasada de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.). Universidad Nacional de San Martín. *Unsm.edu.pe*. <https://doi.org/http://hdl.handle.net/11458/3452>
- Pineda, E. M., Torres, G. M., & Cepeda, H. E. (2021). Contenido de proteína, grasa y lactosa de los lactosueros ácidos de nueve empresas procesadoras de queso doble crema en el municipio de belén (Boyacá). *Contenido De Proteína, Grasa Y Lactosa De Los Lactosueros ácidos De Nueve Empresas Procesadoras De Queso Doble Crema En El Municipio De Belén (Boyacá)*, 1-4.
- Prestes, A. A., Helm, C. V., Esmerino, E. A., Silva, R., da Cruz, A. G., & Prudencio, E. S. (2022). Freeze concentration techniques as alternative methods to thermal processing in dairy manufacturing: A review. *J Food Sci*, 87, 488–502. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16027>
- Qiu, L., Zhang, M., Chitrakar, B., & Bhandari, B. (2020). Application of power ultrasound in freezing and thawing Processes: Effect on process efficiency and product quality. *Ultrasonics Sonochemistry*, 68, 105230. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105230>
- Quinteros, G. J. (2020). Estudios de concentración de lactosuero mediante crioconcentración progresiva agitada. Universitat Politècnica de Catalunya. Upc.edu. Disponible en: https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/327075/TFM-QUINTEROS_GISELA_Julio20.pdf
- Rahman, M., Guizani, N., Al-Khaseibi, M., Ali Al-Hinai, S., Al-Maskri, S., & Al-Hamhami, K. (2002). Analysis of cooling curve to determine the end point of freezing. *Food Hydrocolloids*, 16(6), 653-659. doi: 10.1016/s0268-005x(02)00031-0
- Ramírez Navas, J. S. (2012). Aprovechamiento Industrial de Lactosuero Mediante Procesos Fermentativos. *Publicaciones e Investigación*, 6, 69. Disponible en: <https://doi.org/10.22490/25394088.1100>.
- Ramírez-Navas, J. S., Solís-Carvajal, C. A., & Pasos, C. A. V. (2018). Tecnología de membranas: Obtención de proteínas de lactosuero. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 12(24), 52-59.
- Reyes, C. (2023). The Dairy Industry in Colombia. Ohio Dairy Industry Resources Center. *Osu.edu*. <https://dairy.osu.edu/newsletter/buckeye-dairy-news/volume-15-issue-6/dairy-industry-colombia>
- Ricardo, F., Pradilla, D., Cruz, J. C., & Óscar Álvarez. (2021). Emerging Emulsifiers: Conceptual Basis for the Identification and Rational Design of Peptides with Surface Activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4615–4615. <https://doi.org/10.3390/ijms22094615>
- Rivas, I. K., & Chávez-Martínez, A. (2017). Efecto del ultrasonido aplicado al suero de leche previo al calentamiento en la elaboración de requesón. *Interciencia*, 42(12), 828-833.
- Robles, L. & Ochoa, L. (2012). Ultrasonido y aplicaciones en el procesamiento de alimentos. *Revista iberoamericana de tecnología postcosecha*, 13(2), 109-122.
- Rocha-Mendoza, D., Kosmerl, E., Krentz, A., Zhang, L., Badiger, S., Miyagusuku-Cruzado, G., ... y García-Cano, I. (2021). Revisión invitada: Tendencias del suero ácido y beneficios para la salud. *Revista de ciencia láctea*, 104 (2), 1262-1275.
- Rubio Moreno, A. (2018). Recuperación de los solutos retenidos en el hielo procedente de crioconcentración de productos lácteos. Universitat Politècnica de Catalunya. Upc.edu. Disponible en: <https://doi.org/http://hdl.handle.net/2117/120716>.

- Sánchez, J., Hernández, E., Auleda, J. M., & Raventós, M. (2011). Freeze concentration of whey in a falling-film based pilot plant: Process and characterization. *Journal of Food Engineering*, 103(2), 147–155. doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.10.009.
- Santana, T., Moreno, J., Petzold, G., Santana, R., & Sáez-Trautmann, G. (2020). Evaluation of the temperature and time in centrifugation-assisted freeze concentration. *Applied Sciences*, 10(24), 9130.
- Seifert, I., & Friess, W. (2020). Freeze concentration during freezing: How does the maximally freeze concentrated solution influence protein stability? *International Journal of Pharmaceutics*, 589, 119810–119810. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119810>
- Sebastián, M., Solís Escuela, A., Panamericana, A., & Honduras, Z. (2020). *Fermentación de lactosuero para la obtención de etanol y su uso en cervezas y bebidas saborizadas Revisión de Literatura*. Retrieved from <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/dac4a18a-1b49-41ed-b8d3-bdf98ec7e58f/content>
- Sbodio, O. A., & Revelli, G. R. (2012). Coagulación de la leche: Desarrollo de un dispositivo para el “monitoreo” online del proceso. *Avances en la Argentina. RIA. Revista de investigaciones agropecuarias*, 38(3), 236-246.
- Silva, R. G., Fischer, T. E., Zardo, D. M., Los, P. R., Demiate, I. M., Nogueira, A., & Alberti, A. (2021). Technological potential of the use of ultrasound and freeze concentration in Fuyu persimmon juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, e15989.
- Singh, S. K., Kolhe, P., Wang, W., & Nema, S. (2009). Large-scale freezing of biologics. *BioProcess Int*, 7(9), 32-44.
- Soria, A. C., & Villamiel, M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends in food science & technology*, 21(7), 323-331.
- Statista Market Forecast. Milk – Colombia. (2023). Statista; Statista. <https://www.statista.com/outlook/cmo/food/dairy-products-eggs/milk/colombia>
- Stobaugh, H., Ryan, K., Kennedy, J. W., Grise, J. B., Crocker, A. H., Chrissie Thakwalakwa, Litkowski, P., Maleta, K., Manary, M. J., & Trehan, I. (2016). Including whey protein and whey permeate in ready-to-use supplementary food improves recovery rates in children with moderate acute malnutrition: a randomized, double-blind clinical trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 103(3), 926–933. <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.124636>
- Superintendencia de industria y comercio -Delegatura para el control y verificación de reglamentos y metrología legal. (n.d.). Retrieved from <https://www.oiml.org/en/publications/other-language-translations/spanish/g014-es11.pdf>
- Skryplonek, K., & Jasińska, M. (2015). Fermented probiotic beverages based on acid whey. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 14(4), 397-405. doi: 10.17306/j.afs.2015.4.39
- Taha, A., Mehany, T., Pandiselvam, R., Siddiqui, S. A., Mir, N. A., Malik, M. A., Sujayasree, O. J., Alamuru, K. C., Khanashyam, A. C., Casanova, F., Xu, X., Pan, S., & Hu, H. (2023). Sonoprocessing: mechanisms and recent applications of power ultrasound in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–39. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2161464>
- ThinkUSADairy by the U.S. Dairy Export Council. (2017). Uso del suero lácteo. Thinkusadairy.org. Disponible en: <https://www.thinkusadairy.org/es/inicio/productos-lacteos-estadounidenses/ingredientes-y-proteina-de-suero-lacteo/uso-del-suero-lacteo>
- Torres-Martínez, & Katia Romero León. (2020). Alternativas tecnológicas para uso del lactosuero: valorización económica de residuos. *Estudios Sociales : Revista de Investigación Del Noroeste*. <https://doi.org/10.24836/es.v30i55.908>
- Universidad Nacional Abierta y a Distancia - UNAD. (2021). Conferencias en industrias alimentarias: Escenario nacional e internacional del uso del lactosuero [YouTube Video]. Recuperado por <https://www.youtube.com/watch?v=YjU9k7p1wrM>
- Universidad de Jaén - UJA. (2020). TEMA 3: Métodos para el análisis de proteínas. Ujaen.es. Disponible en: <http://www4.ujaen.es/~esiles/TEMA3PROTEINASalumno.pdf>
- Valencia Denicia, E., & Ramírez Castillo, M. (2009). La industria de la leche y la contaminación del agua. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*. 16(73), 27-31ç
- Vargas, M., & Hernández, E. (2020). The social determinants of child malnutrition in Colombia from a family medicine perspective. *Medwave*, 20(02), e7839–e7839. <https://doi.org/10.5867/medwave.2020.02.7839>
- Vargas, S. A., R.J. Delgado-Macuill, H. Ruiz-Espinosa, M. Rojas-López, & Amador-Espejo, G. G. (2021). High-intensity ultrasound pretreatment influence on whey protein isolate and its use on complex coacervation with kappa carrageenan: Evaluation of selected functional properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105340–105340. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105340>

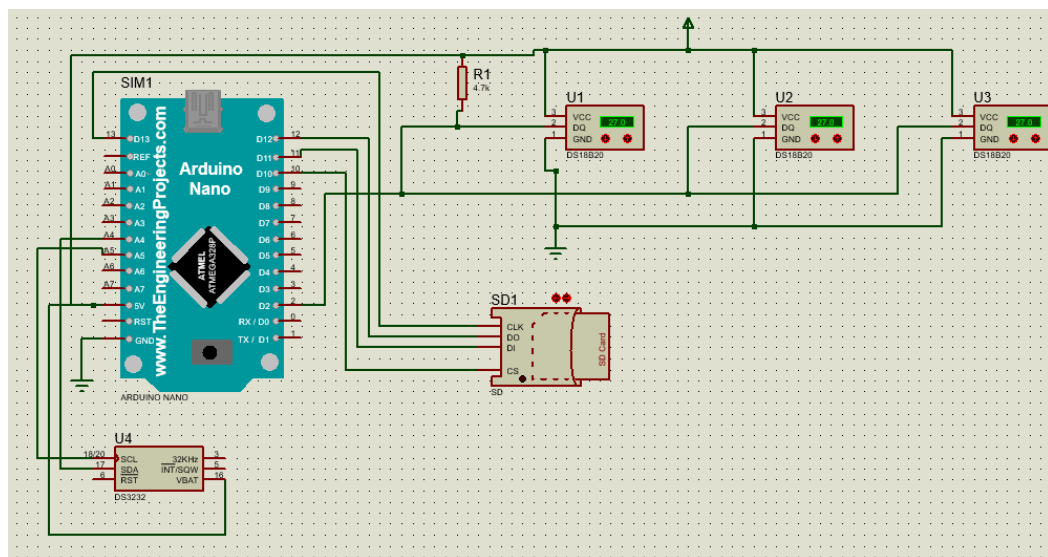
- Viteri, C. A., de Illera, M. G., & Pantoja, J. A. M. (2014). Caracterización fisicoquímica del suero dulce obtenido de la producción de queso casero en el municipio de Pasto. *Revista Colombiana de investigaciones agroindustriales*, 1(1), 22-32.
- Vuist, JE, Boom, RM y Schutyser, MAI (2020). Inclusión de solutos y tasa de congelación durante la concentración de congelación progresiva de soluciones de sacarosa y maltodextrina. *Tecnología de secado*, 1-9. <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1742151>
- Water Freezing Process: Topics by Science.gov. (2017). Science.gov. <https://www.science.gov/topicpages/w/water+freezing+process>
- World Food Program. (2023). Food security assessment for the Colombian population, Colombia - May 2023. ReliefWeb. <https://reliefweb.int/report/colombia/food-security-assessment-colombian-population-colombia-may-2023>.
- Xu, Q., Qi, B., Han, L., Wang, D., Zhang, S., Jiang, L., Xie, F., & Li, Y. (2021). Study on the gel properties, interactions, and pH stability of pea protein isolate emulsion gels as influenced by inulin. *LWT*, 137, 110421–110421. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110421>
- Yadav, J. S. S., Yan, S., Pilli, S., Kumar, L., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2015). Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnology advances*, 33(6), 756-774.
- Ye, H., Wang, B., Xiao, D., Li, H., Wu, D., Wang, J., Cheng, L., & Geng, F. (2023). Ultrasound-assisted pH-shifting to construct a stable aqueous solution of paprika oleoresin using egg yolk low-density lipoprotein as a natural liposome-like nano-emulsifier. *Ultrasonics Sonochemistry*, 98, 106477. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106477>
- Zandona, E., Blažić, M., & Režek, A. (2021). Whey Utilisation: Sustainable Uses and Environmental Approach. *Food Technology and Biotechnology*, 59(2), 147–161. <https://doi.org/10.17113/ftb.59.02.21.6968>
- Zapata Bustamante, S. (2020). Aprovechamiento de lactosuero ácido para la obtención de péptidos bioactivos mediante tecnologías de concentración proteica e hidrólisis enzimática. Universidad Nacional de Colombia. Unal.edu.co. <https://doi.org/https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/79497>
- Zhang, L., Zhou, R., Zhang, J., & Zhou, P. (2021). Heat-induced denaturation and bioactivity changes of whey proteins. *International Dairy Journal*, 123, 105175–105175. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105175>
- Zhang, Y., Diao, Y., Zhang, W., Xu, W., Hu, Z., & Yi, Y. (2022). Influence of molecular structure and interface behavior on foam properties of rice bran protein nano-particles. *LWT*, 163, 113537–113537. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113537>

ANEXOS.

ANEXO 1. Planos de la estructura



ANEXO 2. Simulación en Proteus del circuito de monitoreo de temperatura.



ANEXO 3.

Resultado de análisis ANOVA para Eficiencia (Definición de condiciones centrifugación).
Velocidad: Porcentaje de Concentrado

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Velocidad	0,0139333	3	0,00464444	1,9500	0,2235
B:Replica	0,00301667	2	0,00150833	0,6300	0,5635
RESIDUOS	0,0143167	6	0,00238611		
TOTAL (CORREGIDO)	0,0312667	11			

ANEXO 4.

Resultado de análisis ANOVA para Eficiencia (Definición de condiciones centrifugación).
Velocidad: Eficiencia

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Velocidad	0,0054	3	0,0018	9,3900	0,0110
B:Replica	0,000316667	2	0,000158333	0,8300	0,4821
RESIDUOS	0,00115	6	0,000191667		
TOTAL (CORREGIDO)	0,00686667	11			

ANEXO 5.

Resultado de análisis ANOVA para Eficiencia (Definición de condiciones centrifugación).
Temperatura: Porcentaje de Concentrado

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:temperatura	0,0690667	2	0,0345333	51,8	0,0014
B:B.replica	0,00166667	2	0,000833333	1,25	0,3787
RESIDUOS	0,00266667	4	0,000666667		
TOTAL (CORREGIDO)	0,0734	8			

ANEXO 6.

Resultado de análisis ANOVA para Eficiencia (Definición de condiciones centrifugación).
Temperatura: Eficiencia

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:temperatura	0,00568889	2	0,00284444	4,9200	0,0835
B:B.replica	0,00335556	2	0,00167778	2,9000	0,1663
RESIDUOS	0,00231111	4	0,000577778		
TOTAL (CORREGIDO)	0,0113556	8			

ANEXO 7.

Resultado de análisis ANOVA para Eficiencia (Definición de condiciones centrifugación).

Tiempo: Porcentaje de Concentrado

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:tiempo	0,0747667	2	0,0373833	22,5800	0,0155
B:C.Replica	0,0205667	2	0,0102833	6,2100	0,0858
RESIDUOS	0,00496667	3	0,00165556		
TOTAL (CORREGIDO)	0,1222	7			

ANEXO 8.

Resultado de análisis ANOVA para Eficiencia (Definición de condiciones centrifugación).

Tiempo: Eficiencia

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:tiempo	0,00348333	2	0,00174167	7,4600	0,0684
B:C.Replica	3,33333E-05	2	1,66667E-05	0,0700	0,9326
RESIDUOS	0,0007	3	0,000233333		
TOTAL (CORREGIDO)	0,0046875	7			

ANEXO 9.

Resultado de análisis ANOVA para valor de eficiencia (Diseño experimental).

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:T-US	0.0683951	2	0.0341975	26.17	0.0000
B:Velocidad	0.0802469	2	0.0401235	30.71	0.0000
C:Tiempo	0.0224691	2	0.0112346	8.60	0.0004
D:Replica	0.000246914	2	0.000123457	0.09	0.9100
RESIDUOS	0.0940741	72	0.00130658		
TOTAL (CORREGIDO)	0.265432	80			

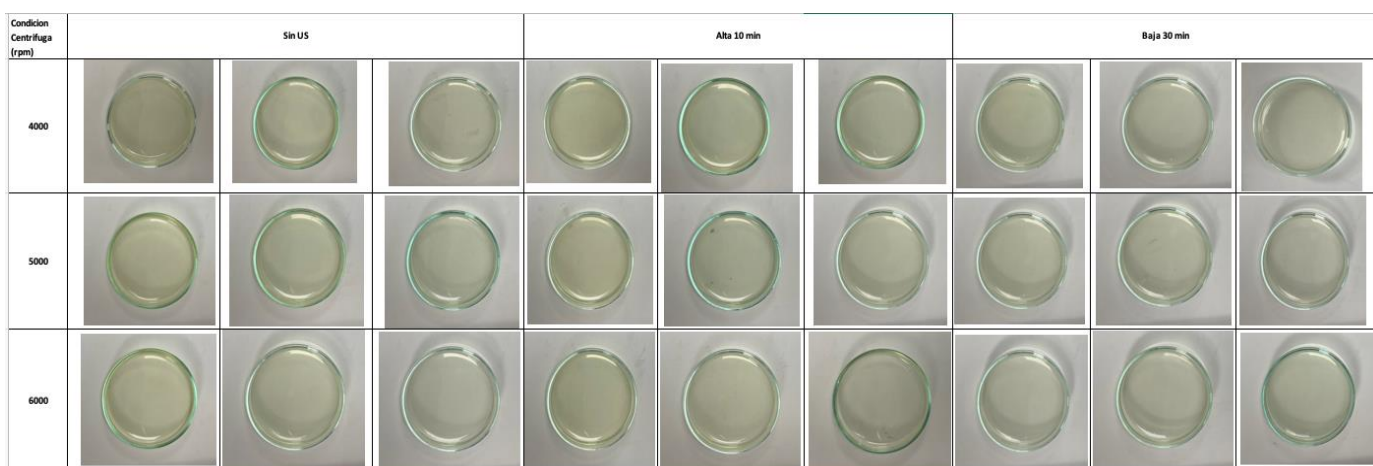
ANEXO 10.

Resultado de análisis ANOVA para el porcentaje de concentrado (Diseño experimental).

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:T-US	0.356543	2	0.178272	43.32	0.0000
B:Velocidad	0.720247	2	0.360123	87.51	0.0000
C:Tiempo	1.41136	2	0.705679	171.48	0.0000
D:Replica	0.0017284	2	0.000864198	0.21	0.8111
RESIDUOS	0.296296	72	0.00411523		
TOTAL (CORREGIDO)	2.78617	80			

ANEXO 11.

Registro fotográfico de los concentrados obtenidos, luego de la aplicación del diseño experimental.



ANEXO 12.

Resultado de análisis ANOVA para IC hielo.

Análisis de Varianza para IC hielo - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:T-US	0.23538	2	0.11769	60.58	0.0000
B:Velocidad	0.259795	2	0.129898	66.86	0.0000
C:Tiempo	0.338402	2	0.169201	87.10	0.0000
D:Replica	0.0043284	2	0.0021642	1.11	0.3338
RESIDUOS	0.139874	72	0.0019427		
TOTAL (CORREGIDO)	0.97778	80			

ANEXO 13.

Resultado de análisis ANOVA para IC concentrado.

Análisis de Varianza para IC concentrado - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:T-US	2.20852	2	1.10426	49.61	0.0000
B:Velocidad	2.35329	2	1.17665	52.86	0.0000
C:Tiempo	6.54451	2	3.27225	147.01	0.0000
D:Replica	0.00758765	2	0.00379383	0.17	0.8436
RESIDUOS	1.60261	72	0.0222585		
TOTAL (CORREGIDO)	12.7165	80			

ANEXO 14.

Resultado de análisis ANOVA para pH luego de la aplicación de 3 ciclos de crioconcentración en combinación con US.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Ciclo	0.770867	3	0.256956	4625.20	0.0000
B:replica	0.000466667	2	0.000233333	4.20	0.0723
RESIDUOS	0.000333333	6	0.0000555556		
TOTAL (CORREGIDO)	0.771667	11			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para pH por Ciclo

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>Ciclo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
3	3	3.72667	0.00430331	X
2	3	3.75667	0.00430331	X
1	3	3.8	0.00430331	X
0	3	4.34333	0.00430331	X

ANEXO 15.

Resultado de análisis ANOVA para Acidez luego de la aplicación de 3 ciclos de crioconcentración en combinación con US.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Ciclo	5.76537	3	1.92179	1242.09	0.0000
B:replica	0.00185	2	0.000925	0.60	0.5797
RESIDUOS	0.00928333	6	0.00154722		
TOTAL (CORREGIDO)	5.7765	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para acidez por Ciclo

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>Ciclo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0	3	0.5	0.0227099	X
1	3	1.06333	0.0227099	X
2	3	1.76667	0.0227099	X
3	3	2.33	0.0227099	X

ANEXO 16.

Resultado de análisis ANOVA para Brix luego de la aplicación de 3 ciclos de crioconcentración en combinación con US.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Ciclo	320.803	3	106.934	1060.50	0.0000
B:replica	0.201667	2	0.100833	1.00	0.4219
RESIDUOS	0.605	6	0.100833		
TOTAL (CORREGIDO)	321.609	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para brix por Ciclo

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>Ciclo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0	3	4.66667	0.183333	X
1	3	8.66667	0.183333	X
2	3	14.3667	0.183333	X
3	3	18.1333	0.183333	X

ANEXO 17.

Resultado de análisis ANOVA para Densidad luego de la aplicación de 3 ciclos de crioconcentración en combinación con US.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Ciclo	0.00642998	3	0.00214333	5.78	0.0334
B:replica	0.000349932	2	0.000174966	0.47	0.6453
RESIDUOS	0.00222602	6	0.000371004		
TOTAL (CORREGIDO)	0.00900593	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para densidad por Ciclo

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>Ciclo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0	3	0.9899	0.0111206	X
1	3	1.01227	0.0111206	XX
2	3	1.03487	0.0111206	XX
3	3	1.0512	0.0111206	X

ANEXO 18.

Resultado de análisis ANOVA para Proteína y Grasa luego de la aplicación de 3 ciclos de crioconcentración en combinación con US.

Proteína

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Ciclo	1.95	3	0.65	406.25	0.0000
B:replica	0.0416	2	0.0208	13.00	0.0066
RESIDUOS	0.0096	6	0.0016		
TOTAL (CORREGIDO)	2.0012	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para proteína por Ciclo

Método: 95.0 porcentaje LSD

Ciclo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
0	3	0.9	0.023094	X
1	3	1.3	0.023094	X
2	3	1.6	0.023094	X
3	3	2.0	0.023094	X

Grasa

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Ciclo	0.16	3	0.0533333	16.00	0.0029
B:replica	0.02	2	0.01	3.00	0.1250
RESIDUOS	0.02	6	0.00333333		
TOTAL (CORREGIDO)	0.2	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para grasa por Ciclo

Método: 95.0 porcentaje LSD

Ciclo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	3	0.133333	0.0333333	X
2	3	0.133333	0.0333333	X
1	3	0.133333	0.0333333	X
0	3	0.4	0.0333333	X

