



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

"ESTUDIO DEL EFECTO DEL pH Y FUERZA IONICA
EN LAS PROPIEDADES FISICOQUIMICAS Y
FUNCIONALES DE PROTEINAS ESPUMANTES
ESTABILIZADAS CON POLISACARIDOS"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A :

FLORES LEYVA LETICIA

ASESOR: IBO. NORMA B. CASAS ALENCASER

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO.

1998.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

266383



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

UNIVERSIDAD NACIONAL
 AVENIDA DE
 AZCAPOTZALCO

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
 P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
 Jefe del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

„Estudio del efecto del pH y fuerza iónica en las propiedades fisicoquímicas y funcionales de proteínas espumantes estabilizadas con polisacáridos“

que presenta la pasante: Leticia Flores Leyva
 con número de cuenta: 8402464-8 para obtener el TITULO de:
Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 18 de Junio de 199 8

- PRESIDENTE I.B.Q. J. Francisco Pontiel Sosa
- VOCAL M.en C. Rosa M. Arriaga Orihuela
- SECRETARIO I.B.Q. Norma B. Casas Alencaster
- PRIMER SUPLENTE Dra. Sara M. Valdés Martínez
- SEGUNDO SUPLENTE I.B.Q. Leticia Mijares Villareal

Agradezco a Dios por la oportunidad de la vida y todo lo que me ha dado.

A ti Mamá:

Por ser siempre mi ejemplo de fortaleza y calidez humana, agradezco a Dios ser tu hija y porque vives en mi corazón te dedico este trabajo con todo mi amor. (Q.E.D.)

A ti Papá:

Que das alegría a mi vida por tu amor , gracias por estar junto a mi y por tu paciencia.

Los amo.

A mis hermanos Sandra y Toño:

De quienes estoy orgullosa y agradezco el saber que puedo contar con ustedes siempre.

Los quiero.

A ti Marco:

Que me brindas cada día la alegría de conocer por ti el amor.

Gracias amor.

A mis compañeros de Universidad:

Que me brindan su amistad, con la cual esta etapa vivida deja huella en mi.

Gracias.

A ti Rocío:

Que a pesar de los años y lejanía me sigues brindando tu amistad.

Gracias.

Agradezco a la profesora Norma Casas:

Por la oportunidad brindada de asesorar este trabajo y por compartir conmigo su amistad y apoyo en los momentos difíciles vividos.

Mil Gracias.

A los profesores que me ayudaron de alguna forma a concluir este trabajo.

Gracias.

INDICE

RESUMEN	I
INTRODUCCIÓN	II

CAPITULO I ANTECEDENTES

INCISO	TEMA	PÁGINA
1.1.0	Aminoácidos	1
1.1.1	Clasificación de aminoácidos	1
1.2.0	Clasificación de las proteínas	5
1.2.1	Estructura de las proteínas	6
1.2.2	Fuerza de unión de las proteínas	7
1.2.3	Funcionalidad de las proteínas	10
1.3.0	Desnaturalización	13
1.3.1	Propiedades de hidratación	15
1.3.2	Factores que influyen las propiedades de hidratación	16
1.3.3	Solubilidad de las proteínas en el agua	17
1.3.4	Efecto de la fuerza iónica	19
1.3.5	Efecto del pH	21
1.3.6	Efecto de disolventes	21
1.3.7	Efecto de la temperatura	22

1.4.0	Espumas de proteínas	23
1.4.1	Formación de espumas	23
1.4.2	Estabilidad de espumas	25
1.4.3	Factores que determinan la estabilidad de las espumas	26
1.4.4	Medición de la estabilidad de espumas	28
1.4.5	Drenado	29
1.5.0	Interacción proteínas-polisacárido	30
1.6.0	Polisacáridos aniónicos	32
1.6.1	Carragenina	32
1.6.2	Carboximetil celulosa de sodio	35

CAPITULO II

OBJETIVOS, MÉTODOS Y MATERIALES

2.1.0	Objetivos	38
2.2.0	Cuadro de variables manejadas en los objetivos	39
2.3.0	Metodología de experimentación	40
2.4.0	Materiales y métodos	41
2.4.1	Materias primas	41
2.4.2	Preparación de dispersiones	41
2.5.0	Pruebas realizadas a dispersiones de proteína	42
2.5.1	Determinación del punto isoelectrico	42
2.6.0	Pruebas realizadas en las dispersiones de proteína y proteína-estabilizante a diferente pH y fuerza iónica	44
2.6.1	Determinación de la tensión superficial	44
2.6.2	Caracterización reológica de la fase continua (dispersión de proteína, proteína-polisacárido, proteína-polisacárido-sal)	45

2.6.3	Determinación del pH	47
2.6.4	Determinación de la solubilidad	48
2.7.0	Pruebas realizadas a las espumas	50
2.7.1	Determinación de propiedades de espumado	50

CAPÍTULO III RESULTADOS

3.1.0	Propiedades fisicoquímicas y espumantes de proteínas sin variación de pH	52
3.2.0	Propiedades fisicoquímicas y espumantes de los sistemas proteínas-polisacárido sin variación de pH	53
3.3.0	Propiedades fisicoquímicas y espumantes de los sistemas proteínas-polisacárido a diferente pH	56
3.4.0	Propiedades fisicoquímicas y espumantes de los sistemas proteínas-polisacárido a diferente pH y fuerza iónica	70

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	101
---------------------------------------	------------

BIBLIOGRAFÍA	105
---------------------	------------

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

DESCRIPCIÓN: CUADROS	PÁGINA
---------------------------------	---------------

1. Propiedades fisicoquímicas de las dispersiones proteína-agua	52
2. Propiedades fisicoquímicas y espumantes de proteínas-polisacáridos	54
3. Propiedades fisicoquímicas y espumantes de sistemas H88MC y H88GC a diferente pH	57
4. Propiedades fisicoquímicas y espumantes de Hyfoama 88 a diferente pH	57
5. Propiedades fisicoquímicas de polisacáridos a diferente pH	58

FIGURAS

1. Estructura de los aminoácidos	1
2. Aminoácidos representativos de las 4 familias	2
3. Formación de los enlaces peptídicos	7
4. Enlace peptídico que muestra la posible rotación de carbono α	9
5. Interacciones proteína-agua durante la hidratación de un polvo proteico	11
6. Representación esquemática de la estructura de espumas	25
7. Unidades repetidas de carragenina	33
8. Fórmula estructural de la carboximetil celulosa	35

ÍNDICE DE GRÁFICAS

No.	DESCRIPCIÓN	PÁGINAS
1.	Solubilidad v.s. pH	61
2.	Tensión Superficial v.s. pH	62
3.	Índice de Consistencia de la Fase Continua v.s. pH H88GC	63
4.	Índice de Consistencia de la Fase Continua (Kfc) v.s. pH H88MC	64
5.	Expansión de Espuma (F.E.) v.s. pH	65
6.	Estabilidad de Volumen de Espuma (F.V.S.) v.s. pH	67
7.	Estabilidad de Líquido de Espuma (F.L.S.) v.s. pH	68
8.	Solubilidad v.s. Fza. Iónica H88MC-NaCl	70
9.	Índice de Consistencia de la Fase Continua v.s. Fuerza Iónica H88MC-NaCl	72
10.	Expansión de Espuma (F.E.) v.s. Fza. Iónica H88MC-NaCl	73
11.	Estabilidad de Volumen de Espuma (F.V.S.) v.s. Fza. Iónica H88MC-NaCl	74
12.	Estabilidad de Líquido de Espuma (F.L.S.) v.s. Fza. Iónica H88MC-NaCl	74
13.	Solubilidad v.s. Fza. Iónica H88MC-Na ₂ SO ₄	75
14.	Índice de Consistencia de la Fase Continua v.s. Fza Iónica 88MC-N a ₂ SO ₄	76
15.	Expansión de Espuma (F.E.) v.s. Fza. Iónica H88MC-N a ₂ SO ₄	78

16.	Estabilidad de Volumen de Espuma (F.V.S.) v.s. Fza. Iónica H88MC-N a ₂ SO ₄	78
17.	Estabilidad de Líquido de Espuma (F.L.S.) v.s. Fza. Iónica H88MC-N a ₂ SO ₄	79
18.	Solubilidad v.s. Fza. Iónica H88MC-CaSO ₄	80
19.	Índice de Consistencia de la Fase Continua v.s. Fza Iónica H88MC-CaSO ₄	82
20.	Expansión de Espuma (F.E.) v.s. Fza. Iónica H88MC-CaSO ₄	83
21.	Estabilidad de Volumen de Espuma (F.V.S.) v.s. Fza. Iónica H88MC-CaSO ₄	83
22.	Estabilidad de Líquido de Espuma (F.L.S.) v.s. Fza. Iónica H88MC-CaSO ₄	84
23.	Solubilidad v.s. Fza. Iónica H88GC-NaCl	85
24.	Índice de Consistencia de la Fase Continua v.s. Fza Iónica H88GC-NaCl	87
25.	Expansión de Espuma (F.E.) v.s. Fza. Iónica H88GC-NaCl	88
26.	Estabilidad de Volumen de Espuma (F.V.S.) v.s. Fza. Iónica H88GC-NaCl	89
27.	Estabilidad de Líquido de Espuma (F.L.S.) v.s. Fza. Iónica H88GC-NaCl	90
28.	Solubilidad v.s. Fza. Iónica H88GC-Na ₂ SO ₄	91
29.	Índice de Consistencia de la Fase Continua v.s. Fza Iónica H88GC-Na ₂ SO ₄	92
30.	Expansión de Espuma (F.E.) v.s. Fza. Iónica H88GC-Na ₂ SO ₄	93
31.	Estabilidad de Volumen de Espuma (F.V.S.) v.s. Fza. Iónica H88GC-Na ₂ SO ₄	94
32.	Estabilidad de Líquido de Espuma (F.L.S.) v.s. Fza. Iónica H88GC-Na ₂ SO ₄	94

33.	Solubilidad v.s. Fza. Iónica H88GC-CaSO ₄	96
34.	Índice de Consistencia de la Fase Continua v.s. Fza Iónica H88GC-CaSO ₄	97
35.	Expansión de Espuma (F.E.) v.s. Fza. Iónica H88GC-CaSO ₄	98
36.	Estabilidad de Volumen de Espuma (F.V.S.) v.s. Fza. Iónica H88GC-CaSO ₄	99
37.	Estabilidad de Líquido de Espuma (F.L.S.) v.s. Fza. Iónica H88GC-CaSO ₄	100

RESUMEN

El propósito del presente trabajo fue el de analizar el efecto del pH y fuerza iónica sobre las propiedades fisicoquímicas (tensión superficial, índice de consistencia de la fase continua) y espumantes (rendimiento y estabilidad de espuma) de las proteínas Hyfoama 88 y Prolac H estabilizadas con polisacáridos aniónicos.

Se evaluaron los sistemas proteicos con polisacáridos aniónicos: carragenina (llamado comercialmente Genuvisco-C y J) y carboximetilcelulosa (llamado Macrocel) a concentraciones de 1.3% de proteína y 0.45% polisacárido. Se descartaron dos sistemas de acuerdo a las propiedades espumantes obtenidas, trabajándose con los sistemas Hyfoama 88-Macrocel y Hyfoama 88-Genuvisco-C a cuatro diferentes pH.

El pH afectó de forma determinante las propiedades espumantes al modificar el estado de carga tanto de la proteína como del polisacárido, lo que causa cambios de conformación, solubilidad, flexibilidad y propiedades superficiales. Se observó que la carga de los polisacáridos es factor determinante en los sistemas lo que influyó en la formación, estabilidad y rendimiento de las espumas.

Al adicionar sales con diferentes fuerzas iónicas los resultados fueron muy particulares para cada sistema, pero en general, las sales causaron poco aumento de estabilidad y rendimiento, con sus excepciones. En estas condiciones aún es el pH el factor determinante en estas propiedades. Las sales NaCl y CaSO₄ fueron las que proporcionaron los mejores resultados y la sal Na₂SO₄ provocó mayor inestabilidad en estos sistemas. En general al comparar ambos, Hyfoama 88-Genuvisco C con las tres sales presentó mejores rendimientos de espumas a todos los pH's y mejor estabilidad en pH ácido con NaCl y el sistema H88MC fue más estable con las tres sales a pH básicos.

INTRODUCCIÓN

Las proteínas, cuyo nombre significa "el primero" son las macromoléculas más abundantes en las células y constituyen casi la mitad del peso seco de la mayor parte de los organismos. Las proteínas desempeñan un papel muy importante en las funciones biológicas del organismo humano entre las que se encuentran principalmente la regeneración y formación de tejidos, la síntesis de enzimas, anticuerpos, hormonas y como constituyente de la sangre (2).

La importancia nutricional de las proteínas reside en que son fuente de aminoácidos. Veintidós aminoácidos son generalmente los constituyentes de las proteínas, nueve de ellos se han de proporcionar forzosamente a través de la dieta, para mantener la salud física y mental, puesto que el organismo es incapaz de sintetizarlos, son los llamados aminoácidos esenciales que se unen covalentemente mediante enlaces peptídicos para formar proteínas, el resto los sintetiza el organismo a partir del nitrógeno de las proteínas de la dieta (39).

Los alimentos ricos en proteínas como la carne, la leche, el huevo y el pescado son los más escasos en la mayoría de los países, sobre todo, en aquellos que están en vías de desarrollo; son además los más costosos de producir y por tanto los más difíciles de adquirir. Por lo que es un gran problema el proporcionar proteínas adecuadas para aumentar su uso en el mundo, debido a que se tienen grandes crisis de hambre. Aparte de su significado nutricional, las proteínas juegan un papel importante en las propiedades organolépticas de los alimentos, ejercen influencia sobre la textura de los alimentos de proteínas animales y tienen muchas otras propiedades funcionales. Las proteínas frecuentemente están presentes en los alimentos en combinación física o química con carbohidratos o lípidos. El envejecimiento de alimentos está asociado con cambios químicos en proteínas, durante el calentamiento (al hervir, cocer o rostizar) las cadenas aminoácidas se degradan o se afecta su interacción con otros componentes y dan

sabores típicos. El excesivo calentamiento por otro lado, reduce el valor nutritivo de la mayoría de las proteínas (39).

Al ser las proteínas polímeros con carga y con grupos hidrofílicos, presentan una importante reactividad con otros componentes de los alimentos y consigo mismas; lo que da lugar a una amplia gama de propiedades funcionales de importante aplicación en alimentos, como gelificación, texturización, emulsificación formación de espumas. Estas propiedades pueden ser controladas o dirigidas variando entre otras cosas, el pH o la fuerza iónica, ya que afectan el estado de carga y solubilidad de la proteína y en consecuencia su funcionalidad (2).

En la actualidad la tecnología de alimentos aplica ampliamente las propiedades funcionales de proteínas de leguminosas (soya principalmente), de leche (caseínas), de huevo, de cereales, etc., en una variedad de alimentos.

Una de las aplicaciones importantes de algunas proteínas es su capacidad espumante, debidas a sus propiedades tensoactivas. Así pues, aunque tradicionalmente se ha utilizado a la albúmina de huevo como proteína espumante en alimentos, en la actualidad está siendo sustituida por otras proteínas como el suero de la albúmina de bovino, proteínas del suero de la leche, proteínas de trigo (especialmente las gluteninas) y proteínas de soya (36).

En estudios previos se han analizado proteínas de origen diferente a la albúmina de huevo, como la caseína hidrolizada (PROLAC H) y el hidrolizado de proteína de gluten de trigo (HYFOAMA 88) junto con polisacáridos aniónicos como estabilizantes (4,36) los resultados muestran que pueden utilizarse alternativamente éstos en las mismas aplicaciones que la albúmina de huevo, presentando ventajas económicas, puesto que se utilizan a concentraciones más bajas que la albúmina de huevo y al utilizarse las proteínas con los estabilizantes adecuados dan características superiores de rendimiento y estabilidad, al pH natural de éstas proteínas (alrededor de 9 por ser proteínas con hidrólisis alcalina). La variación de pH y fuerza iónica son parámetros muy importantes en el desarrollo de las propiedades funcionales finales de la proteína ya que afectan su estado de carga y solubilidad. Los polisacáridos aniónicos como carragenina y carboximetil celulosa, han mostrado ser buenos estabilizantes de espumas de proteínas debido a que al ser polímeros cargados al igual que éstas, adoptan un estado de carga y solubilidad que depende del pH y fuerza iónica. Al coexistir ambos polímeros en el mismo medio forman diferentes tipos de sistemas en función del pH y fuerza iónica y bajo

determinadas condiciones, las propiedades funcionales como la formación y estabilidad de espumas son mejoradas de manera importante.

Los estudios antes mencionados se realizaron sin modificación de factores externos, como lo son la variación de pH y fuerza iónica, parámetros muy importantes en el desarrollo de las propiedades funcionales finales de las proteínas, por lo que se plantea el estudio de estos parámetros en relación con los sistemas proteínas-polisacáridos aniónicos teniéndose así un conocimiento más amplio de estas proteínas en un sistema con condiciones parecidas a las de un alimento.

CAPITULO I

ANTECEDENTES

1.1.0 AMINOACIDOS

Los aminoácidos son los monómeros constituyentes de las proteínas, por lo que su distribución y concentración determinan fundamentalmente las propiedades de cada proteína. Los aminoácidos tienen carácter anfotérico, debido a la presencia de los grupos amino y carboxilo y son alfa aminoácidos porque los grupos carboxilo y amino se encuentran en carbono alfa de la molécula (2,29).

La figura 1 muestra la estructura básica de los aminoácidos.

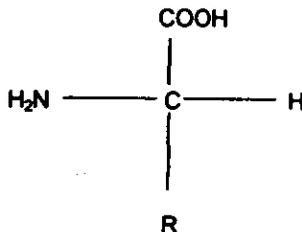


Fig. 1 Estructura general de los aminoácidos encontrados en las proteínas mostradas en forma no iónica. R representa la cadena lateral o grupo R en cada aminoácido Fuente: Lenninger L. A. Bioquímica, Editorial Omega España. 1991 p. 96.

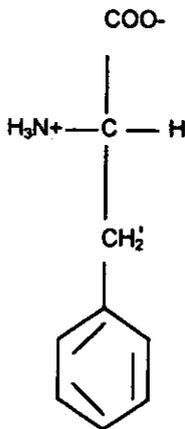
1.1.1 CLASIFICACIÓN DE AMINOACIDOS

Los aminoácidos se pueden clasificar como esenciales y no esenciales, dependiendo de la capacidad que tiene el cuerpo humano para sintetizarlos. Los esenciales son aquellos que forzosamente se deben obtener de la dieta, ya que bioquímicamente no se sintetizan en las cantidades requeridas por el hombre, mientras que los no indispensables son normalmente producidos en concentraciones suficientes

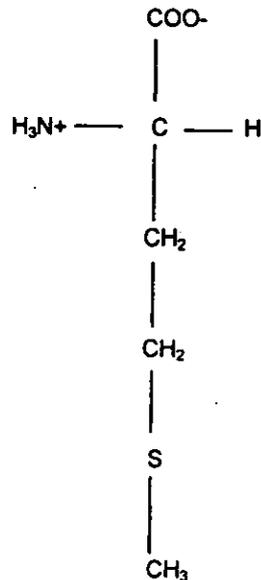
por el organismo humano, de tal manera que no es tan necesaria su presencia en las proteínas que se consumen provenientes de los alimentos (2).

Los aminoácidos también pueden agruparse en familias basadas en las propiedades de los grupos R, en particular de su polaridad, es decir, su tendencia a interactuar con el agua al pH biológico (en las proximidades del pH 7), los grupos R de los aminoácidos varían mucho en polaridad, desde los grupos R no polares o hidrofóbicos (repelentes al agua) hasta los grupos R muy polares o hidrofílicos (que atraen al agua). Los aminoácidos se agrupan en cuatro familias principales :

1) Grupos R no polares o hidrofóbicos, (todos como se hallarían a pH 7), ejemplo:

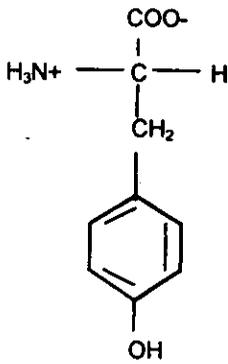


Fenilalanina

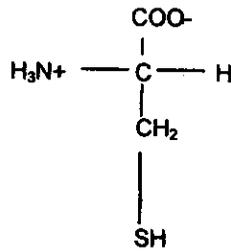


Metionina

2) Grupos R polares, sin carga, ejemplo:

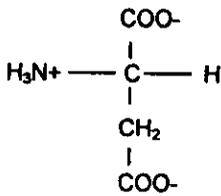


Tirosina

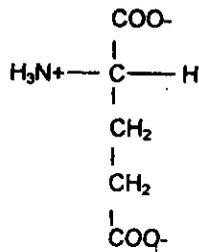


Cisteína

3) Grupos R con carga negativa:



Ácido Aspártico



Ácido Glutámico

4) Grupos R con carga positiva,

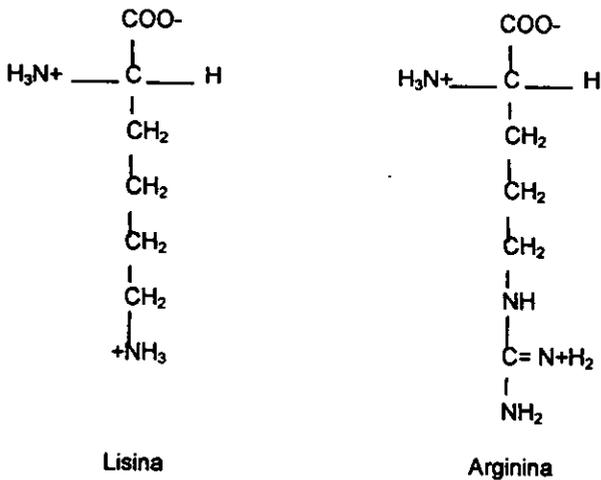


Fig. 2 Aminoácidos representativos de las cuatro familias basadas en las propiedades de los grupos R (polaridad). Se muestran con sus grupos amino y carboxilo ionizados, como se hallarían a pH 7.0 Fuente: Lenninger L. A. Bioquímica, Editorial Omega España. 1991 p.101.

Cuando un aminoácido cristalizado se disuelve en agua, se encuentra en forma de ion dipolar, puede actuar como un ácido (donador de protón) o como una base (aceptor de protón) las sustancias que poseen esta doble propiedad son llamadas anfotéricas (del griego amphi, ambos) y se llaman frecuentemente anfólitos, por lo cual, los aminoácidos son más solubles en agua que en disolventes no polares.

Debido a sus grupos ionizables, los aminoácidos tienen la capacidad de desarrollar cargas, de acuerdo al pH al que se encuentren. Esta situación hace que exista el estado químico conocido como punto isoelectrico o de doble ion, en el que el aminoácido tiene el mismo número de cargas positivas y negativas, por lo tanto su carga neta es cero. En pH menores de su punto isoelectrico se encuentran en forma protonada o catiónica, y por encima del punto isoelectrico adquieren un carga negativa en forma aniónica (29).

Para el establecimiento de la estructura de una proteína y conocimiento del punto isoelectrico se disponen de métodos sensibles y resolutivos para llevar a cabo la tarea con

rapidez, en particular la cromatografía del intercambio iónico y la electroforésis. Ambos métodos aprovechan las diferencias en comportamiento ácido base de los diferentes aminoácidos, es decir, las diferencias en el signo y en la magnitud de sus cargas eléctricas netas a un pH determinado (11).

1.2.0 CLASIFICACIÓN DE PROTEÍNAS

Existen varios métodos de clasificación de las proteínas, pero los principales están basados en la composición, forma, solubilidad y la función biológica de éstos biopolímeros. Las proteínas simples son aquellas que están compuestas exclusivamente de aminoácidos, mientras que las conjugadas contienen, además un grupo no proteico. Las glucoproteínas son las que tienen una fracción de carbohidrato que es generalmente un monosacárido o algún derivado nitrogenado. Las lipoproteínas se encuentran en la sangre y forman parte estructural de muchas células siendo los fosfolípidos, triacilglicéridos y el colesterol. Las nucleoproteínas son complejos de proteína y ácidos nucleicos y su importancia radica en las funciones biológicas que desempeñan. Dentro de la clasificación por solubilidad, las albúminas solubles en agua y globulinas solubles en soluciones salinas diluidas, son tal vez las más importantes.

Por su función biológica pueden clasificarse como: enzimas, proteínas de transporte, de reservas y nutritivas, contráctiles y motiles, estructurales, de defensa, reguladoras.

Las proteínas pueden dividirse también en dos grandes clases sobre la base de su forma y ciertas características físicas; son éstas: globulares y fibrosas. En las proteínas globulares la cadena polipeptídica o cadenas se hallan plegadas de modo muy compacto, adoptando formas esféricas o globulares. Las proteínas globulares son habitualmente solubles en sistemas acuosos y se difunden con facilidad, muchas de ellas desempeña una función móvil o dinámica, como en el caso de las enzimas, o las albúmina de huevo. Las proteínas fibrosas son insolubles en el agua, tienen moléculas finas y alargadas, con las cadenas polipeptídicas extendidas a lo largo de un eje en lugar de hallarse plegadas en forma globular. La mayor parte de las proteínas fibrosas desempeñan un papel protector o estructural, ejemplo colágeno, elastina, queratina, miosina, actina etc. (2,6,11,29,39).

1.2.1 ESTRUCTURA DE LAS PROTEÍNAS

Las propiedades y características de las proteínas dependen fundamentalmente de la conformación en que se encuentren, es decir, para que una proteína tenga una determinada actividad biológica es necesario que adquiera una conformación específica, única y con secuencias diferentes de sus unidades aminoácidas, ello explicado en las diferentes estructuras de las proteínas.

ESTRUCTURA PRIMARIA: Está determinada por la forma secuencial y ordenada en que se encuentran distribuidos los aminoácidos a lo largo de la cadena de proteína y es una propiedad altamente reproducible, controlada genéticamente y única para cada fracción proteica. Debido a la influencia de los diferentes grupos R la estructura primaria determina en gran medida el tipo y la intensidad de la estructura secundaria y terciaria de la proteína.

ESTRUCTURA SECUNDARIA: Es la ordenación en el espacio, es decir, la conformación de los residuos de aminoácidos adyacentes en las cadenas polipeptídicas. Existen tres tipos principales de estructuras secundarias: la hélice α , la conformación β y la hélice del colágeno, todas estabilizadas por diferentes fuerzas, siendo las más importantes las electrostáticas, los puentes de hidrógeno, las interacciones hidrófobas y las interacciones dipolo-dipolo (Van der Waals).

ESTRUCTURA TERCIARIA : Se le designa de esta forma al modo como se hallan plegadas las cadenas polipeptídicas de las proteínas globulares para que puedan adoptar las formas esféricas o globulares a diferencia de las proteínas fibrosas que presentan estructuras lineales sencillas, las globulares tienen sus cadenas plegadas en forma compacta con estructuras tridimensionales altamente organizadas. De todos los puentes y enlaces (como los enlaces de hidrógeno entre los grupos R de los residuos adyacentes de la cadena, las atracciones iónicas entre grupos R con carga opuesta, las atracciones hidrofóbicas, y los enlaces covalentes transversales), que intervienen en la estructura terciaria, el enlace disulfuro es el más fuerte e imparte una alta estabilidad a la proteína.

ESTRUCTURA CUATERNARIA: Se refiere a la asociación de dos o más cadenas de proteínas a través de uniones covalentes y no covalentes. Esta estructura pone de manifiesto la forma física en que se disponen en el espacio las cadenas polipeptídicas individuales de una proteína que está compuesta por más de una cadena (2,29).

1.2.2 FUERZAS DE UNIÓN DE LAS PROTEÍNAS

Los péptidos y las proteínas son el producto de la unión heterogénea de aminoácidos a través de enlaces peptídicos, que se forman por una condensación entre el carboxilo de un aminoácido y el grupo amino de otro, con la eliminación de una molécula de agua, ello se muestra en la siguiente figura :

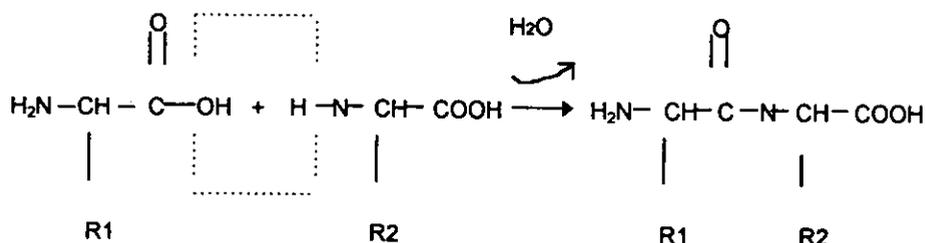


Fig. 3 Enlace peptídico formado por condensación de grupos carboxilo y amino de aminoácidos y eliminación de una molécula de agua. Fuente: Badui, Salvador. Química de los Alimentos. Editorial Alhambra Mexicana Méx. D.F. 1988, p.115.

La condensación de aminoácidos a través de enlaces peptídicos produce los polipéptidos, de tal forma que cuando tienen pesos moleculares de más de 5000 daltones, se les denomina proteínas. Los péptidos y las proteínas tienen un grupo amino y un carbono terminal correspondiente a los dos aminoácidos que se localizan en los extremos de la cadena.

Para que una proteína tenga una determinada actividad biológica es necesario que adquiera una conformación específica y única. La destrucción de dicha conformación de la proteína trae consigo la pérdida de su actividad.

Las fuerzas de unión de las proteínas son:

UNIÓN COVALENTE: Que son las responsables de la estructura básica de la proteína, y se producen como resultado de un reparto de electrones entre dos o más átomos de los aminoácidos. Los grupos que interaccionan son C-C, C-N, C=O, S-S, C-N-C.

En general, las proteínas tienden a adquirir la conformación más estable que es la que se encuentra a los niveles más bajos de energía libre, y se produce debido a las diferentes uniones químicas que intervienen para la conformación del polipéptido. El establecimiento de uniones covalentes entre residuos de cisteína contribuye a su estabilización. Así, las moléculas proteicas que contengan varias uniones disulfuro son acusadamente estables, sobre todo bajo las condiciones que conducen para la mayor parte de las proteínas, a una desnaturalización irreversible (2,6).

PUNTES DE HIDRÓGENO: Estos enlaces pueden presentarse entre el oxígeno de un grupo carbonilo de un enlace peptídico y el H del NH de otra unión peptídica. Este tipo de enlace tiene una función fundamental en la estabilización de estructuras secundarias, tal como la hélice α , las hojas plegadas β y así mismo en la estabilización de estructuras terciarias. Los grupos polares de los aminoácidos, situados en la superficie de las proteínas, pueden formar con las moléculas del agua, un gran número de enlaces hidrógeno contribuyendo así a la estructura específica y a la solubilidad de algunas proteínas (2,6).

INTERACCIONES DE VAN DER WAALS: Las fuerzas atractivas de London-van del Waals se producen por una inducción mutua de un momento dipolar entre grupos eléctricamente apolares.

La naturaleza de la interacción (atractiva o repulsiva) depende de la distancia entre los átomos y en el caso de las proteínas también de los ángulos de torsión en torno de los átomos de carbono α (fig. 4), interaccionan por tanto los grupos apolares de las proteínas. Con grandes distancias, las interacciones son inexistentes, pero a medida que la separación disminuye, aparece una fuerza atractiva y cuando esta distancia se acorta aún más surge una fuerza repulsiva (2,6).

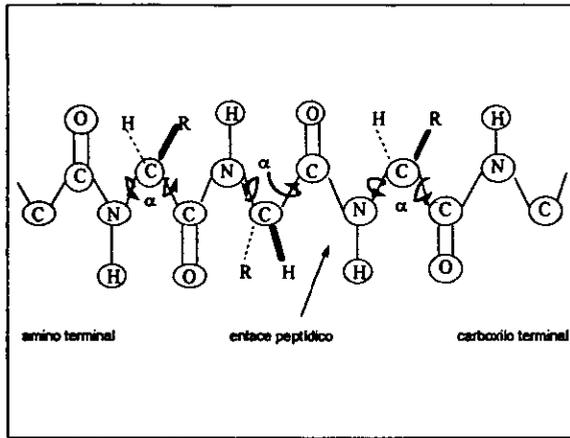


Fig. 4 Enlace peptídico que muestra que solo el carbono α tiene posibilidad de rotación. Fuente: Badui, Salvador. Química de los Alimentos. Editorial Alhambra Mexicana, México D.F. 1988, p. 117.

INTERACCIONES ELECTROSTÁTICAS: Es la atracción coulombica entre grupos cargados opuestamente. Donde los grupos ionizables originan fuerzas atractivas o repulsivas que contribuyen a estabilizar la estructura secundaria o terciaria. Varias interacciones proteína-ión contribuyen a estabilizar las estructuras proteicas cuaternarias. Así, las interacciones electrostáticas del tipo "proteína Ca^{++} - proteína" contribuyen a la estabilidad de las micelas de la caseína. En otros casos, el complejo proteína-ión, posee una actividad biológica como el transporte de iones o una actividad enzimática (6,11).

INTERACCIONES HIDRÓFOBAS: La hidrofobicidad de la cadena lateral de los residuos de aminoácidos se debe a su estructura química apolar, estas cadenas laterales no interfieren (salvo por las interacciones de Van der Waals) con moléculas polares, tales como las del agua. Tienen así tendencia a asociarse (interacciones hidrófobas) en las regiones hidrófobas internas de la proteína (2,6,11).

1.2.3 FUNCIONALIDAD DE LAS PROTEÍNAS

El término propiedad funcional con aplicación a los ingredientes alimenticios, se define como toda propiedad que influencia la utilidad de un ingrediente en un alimento. La mayor parte de las propiedades funcionales influyen sobre el carácter sensorial de éste (en especial la textura), pero también pueden tener un papel decisivo en el comportamiento físico de los alimentos o de los ingredientes alimenticios durante su preparación, transformación o almacenamiento (1,12).

Las propiedades funcionales de las proteínas, son propiedades fisicoquímicas que permiten contribuir a la características deseables de un alimento. Son varias las propiedades funcionales que intervienen habitualmente en algún alimento en particular.

Se han utilizado muchas formas de clasificación de propiedades funcionales de productos proteicos, una de ellas es la siguiente en función del tipo de interacción con otros compuestos o consigo misma (bioquímica):

a) propiedades de hidratación (que dependen de las interacciones proteína-agua)

b) propiedades relacionadas con las interacciones proteína-proteína.

c) propiedades superficiales.

El primer grupo abarca propiedades como absorción y retención de agua, adhesión, dispersabilidad, solubilidad y viscosidad.

El segundo grupo de propiedades se relaciona con procesos como la precipitación, gelificación y la formación de varias estructuras (por ejemplo fibras y pastas proteicas).

El tercer grupo de propiedades se relaciona con las características de tensión superficial, emulsificación y espumado. Estos grupos no son totalmente independientes, por ejemplo:

La gelificación no solamente implica las interacciones proteína-proteína, sino también las interacciones proteína-agua, mientras que la viscosidad y solubilidad dependen, una y otra de las interacciones proteína-agua y proteína-proteína (6).

Nakai y Powrie (1981)(39) agrupan las propiedades funcionales de las proteínas en los alimentos y su efecto en la calidad de éstos:

1) Propiedades sensoriales. Como sabor, color, olor y textura.

2) Hidratación. Dispersabilidad, solubilidad y humectación.

3) Propiedades de superficie activa. Como emulsificación, espumado, adsorción,

Incluyendo retención de grasa.

4) Las propiedades reológicas que incluyen gelificación y texturización.

5) Otras propiedades como adhesión, cohesividad, elaboración de pastas, películas y fibras.

La conformación de una proteína en solución depende fundamentalmente de sus interacciones con el agua. La mayor parte de los alimentos son sistemas sólidos hidratados y el comportamiento fisicoquímico y reológico de las proteínas y los otros constituyentes del alimento, está influenciado, no solo por la presencia de agua, sino también por la actividad de agua.

En la figura 5 se muestran las etapas del proceso de hidratación de proteínas.

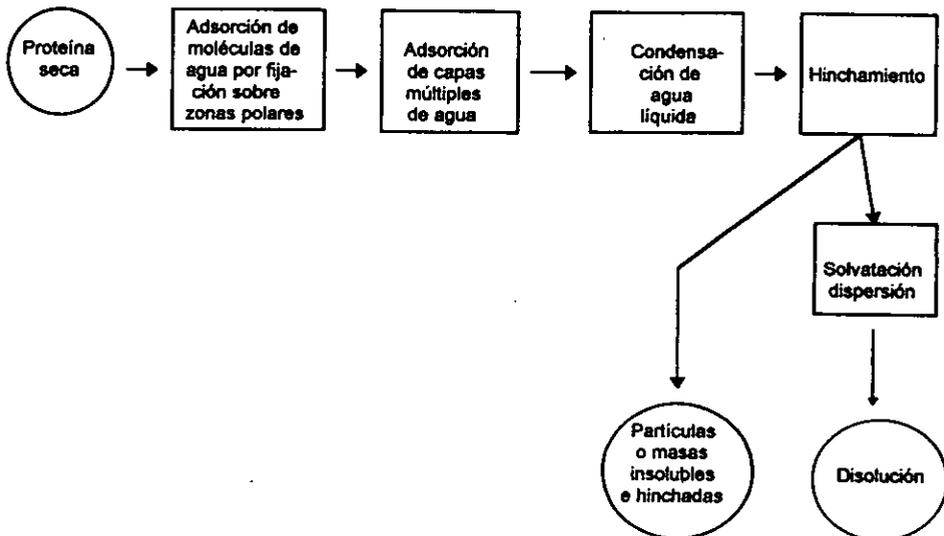


Fig. 5 Representación esquemática de la interacción proteína-agua que es producida durante el proceso de hidratación de un polvo proteico. Fuente: Cheftel, J. C. , Lorient D., Proteínas Alimentarias. Acribia 1989, p.52.

Muchas de las propiedades funcionales de una preparación proteica están en relación con esta hidratación progresiva. La absorción del agua, (llamada también afinidad, fijación de agua), el hinchamiento, mojabilidad, capacidad de retención de agua, así como la cohesión y adhesión, están en relación con las cuatro primeras etapas del proceso, mientras que la dispersibilidad y viscosidad (o poder espesante) implican también la quinta etapa. El estado inicial de la proteína, soluble o insoluble (parcial o totalmente) también en relación con importantes propiedades funcionales, tales como la solubilidad. La gelificación implica la formación de una masa insoluble bien hidratada, donde las interacciones proteína-proteína son importantes.

Las propiedades fisicoquímicas y funcionales de las proteínas son influenciadas por la presencia de polisacáridos (en particular aniónicos, lo cual es muy común en alimentos). La presencia en un mismo sistema de polisacárido y proteínas, puede resultar en una interacción o completa incompatibilidad, dependiendo del tipo de polisacárido y proteína, su concentración, el pH y fuerza iónica.

Lo anterior puede manejarse adecuadamente y orientarse hacia mejorar o favorecer propiedades funcionales de polisacárido y proteínas como gelificación, modificación de propiedades reológicas, formación y estabilización de emulsiones y espumas (12).

Las propiedades funcionales de las proteínas son influenciadas por factores intrínsecos y extrínsecos. Dentro de los intrínsecos están:

- tamaño
- forma
- conformación
- composición de aminoácidos
- tamaño de unidades moleculares
- enlaces disulfuro
- hidrofobicidad
- enlaces covalentes
- puentes iónicos
- puentes de hidrógeno
- fuerzas atractivas de Van der Waals

Los factores extrínsecos que influyen de manera determinante son:

- métodos y condiciones de aislamiento (refinación, secado, almacenamiento)

- grado de purificación (alteraciones de proceso)
- modificación física (calentamiento)
- modificación química (derivación, hidrólisis)
- procesos enzimáticos
- interacción con otros componentes
- almacenamiento
- impurezas presentes en las proteínas.
- los métodos empleados en la determinación de las propiedades funcionales
- el tipo de equipo utilizado
- los métodos de medición, etc.

1.3.0 DESNATURALIZACIÓN

La desnaturalización definida como la pérdida de las estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria de las proteínas sin que exista una hidrólisis del enlace peptídico, es un fenómeno donde nuevas conformaciones aparecen aunque son frecuentemente intermedios o de corta vida (2,6). Este proceso provoca las siguientes modificaciones:

- 1) mayor sensibilidad del enlace peptídico a los fenómenos de hidrólisis provocados por enzimas proteolíticas,**
- 2) disminución de la solubilidad,**
- 3) descenso e incluso, pérdida de la actividad enzimática,**
- 4) imposibilidad de cristalización,**
- 5) aumento de viscosidad intrínseca**
- 6) aumento del poder rotatorio específico de la proteína.**

El incremento de la viscosidad intrínseca parece indicar que la molécula pierde su estructura propia, con lo que crece la asimetría. Así los grupos hidrófobos, antes orientados hacia el interior, originan un descenso de la solubilidad (12).

La desnaturalización puede ser reversible o irreversible. Cuando los enlaces disulfuros contribuyen a la conformación de la proteína y si se rompen, la desnaturalización es frecuentemente irreversible.

Los agentes causantes de la desnaturalización y que por tanto alteran las propiedades funcionales de los productos proteicos son:

- Agentes Físicos.

La aplicación de calor es el más importante agente físico causante de la desnaturalización de las proteínas. La velocidad de desnaturalización de una proteína depende mucho de la temperatura. Así, en la desnaturalización de proteínas la velocidad de reacción aumenta aproximadamente unas 600 veces para el incremento de 10 °C. Debido a esto, la manipulación de proteínas a temperaturas bajas evita o reduce de manera considerable estos fenómenos que además están en función de diversos factores. Uno de ellos es el contenido de agua (especialmente en el caso de productos desecados), por ejemplo, la gliadina del trigo se desnaturaliza en igual grado en una hora en condiciones de 24% de humedad a 60 °C que con un 18% de humedad y a 70°C. La fuerza iónica, el pH, y la naturaleza de los iones presentes son factores capaces de modificar la susceptibilidad de la proteína a la desnaturalización por calor.

Las presiones elevadas (100 Kg/cm²) son capaces de provocar la desnaturalización de las proteínas, debido a que se modifican las estructuras de las moléculas y adquieren mayor densidad. Las radiaciones ultravioleta inactivan determinadas enzimas y disminuyen la solubilidad de ciertas proteínas.

- Agentes Químicos.

El pH del medio tiene gran importancia en los fenómenos de desnaturalización de proteínas. La mayoría de éstas son estables en un reducido intervalo de pH y los valores del mismo que se apartan de él provocan la desnaturalización.

Concentraciones altas de solutos (6-8 M), tales como urea o guanidina, son capaces de ocasionar la ruptura de enlaces de hidrógeno y, en último término, la desnaturalización de la proteína.

Los detergentes sintéticos son los agentes más energéticos para causar la desnaturalización, debido a sus propiedades de neutralizar a los grupos hidrófobos, bloqueando así las fuerzas necesarias para el mantenimiento de la estructura (12).

La desnaturalización no siempre es dañina y en muchos casos es necesaria, como por ejemplo en la fabricación del pan, en la producción de la proteína de soya texturizada, en la estabilización de leches concentradas, etc., en donde se persigue el cambio de las propiedades funcionales como parte esencial del proceso. Además, las proteínas desnaturalizadas pueden ser más fácilmente atacadas por las enzimas proteolíticas del estómago y por tanto se asimilan con mayor velocidad. Este es el caso de las proteínas del huevo, que son más digeribles después de un tratamiento térmico (2).

1.3.1 PROPIEDADES DE HIDRATACIÓN

La conformación de una proteína en solución depende, fundamentalmente, de sus interacciones con el agua. La mayor parte de los alimentos son sistemas sólidos hidratados y el comportamiento reológico y fisicoquímico de las proteínas y los otros constituyentes del alimento están influenciados, no solo por la presencia de agua, sino también, por la actividad de agua.

La absorción o hidratación es considerada por algunos como el paso crítico y el primero en impartir las propiedades funcionales de las proteínas. Las interacciones con agua son importantes en las propiedades tales como hidratación, hinchamiento, solubilidad, viscosidad y gelificación. Las propiedades superficiales tales como la emulsificación y formación de espumas, necesitan elevadas tasas de hidratación y dispersión de la proteína, además de otras características (6).

Las interacciones proteína-agua ocurren inicialmente en los sitios polares de los aminoácidos en las moléculas de las proteínas. La retención de agua de las proteínas se relaciona con los grupos polares, tales como carbonil, hidroxil, amino, carboxil y grupos sulfhidrilo; la mayoría de las proteínas contienen numerosos lados polares de su cadena a lo largo de sus constituyentes peptídicos, formando con ello cadenas hidrofílicas (2,6).

Las proteínas presentan diferentes capacidades de retención de agua debido a la facilidad que tienen de interactuar con las moléculas de este disolvente a través de puentes de hidrógeno. Estos grados de hidratación se deben en parte a las diferencias que existen en la relación de aminoácidos polares y no polares de cada proteína y además a factores extrínsecos como el pH, la fuerza iónica y la temperatura.

El tipo de aminoácido ejerce influencia en las interacciones proteína-agua; la naturaleza cationica, aniónica y no aniónica determina la capacidad de retención de agua. Los sitios activos más importantes de los aminoácidos con capacidad para formar puentes de hidrógeno son los $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$ (alifático y fenólico), $=\text{C}=\text{O}$ y $-\text{NH}$ y tienen una mayor capacidad de retención de agua cuando se encuentran en forma ionizada; por lo que la influencia del pH del sistema en que se encuentren es de fundamental importancia. La conformación tridimensional de la proteína ejerce a su vez una influencia muy grande en su hidratación, ya que los grupos activos deben estar expuestos hacia el exterior en contacto con el agua para permitir una mayor interacción (2).

1.3.2 FACTORES QUE INFLUENCIAN LAS PROPIEDADES DE HIDRATACIÓN

Diversos factores, tales como la concentración, pH, temperatura, tiempo, fuerza iónica, y presencia de otros constituyentes, afectan a las fuerzas que intervienen en las interacciones proteína-proteína, y proteína-agua. La mayoría de las propiedades funcionales vienen determinadas por el equilibrio entre éstas fuerzas.

Las variaciones de pH al modificar la ionización y carga neta de la molécula proteica, alteran las fuerzas atractivas y repulsivas entre proteínas y la capacidad de éstas últimas para asociarse con el agua. En el punto isoeléctrico las interacciones proteína-proteína son máximas y las proteínas asociadas y replegadas sobre ellas mismas, manifiestan el mínimo de hidratación e hinchamiento. Generalmente la fijación de agua por las proteínas decrece cuando la temperatura se eleva, debido a la disminución de enlaces hidrógeno. Puesto que durante el calentamiento se produce una

desnaturalización y agregación de proteínas, puede reducirse la superficie de la molécula proteica y la disponibilidad de grupos polares para fijar agua. Sin embargo, cuando se calientan proteínas de estructura muy compacta, se produce una disociación y desdoblamiento de moléculas, pueden llegar a la superficie enlaces peptídicos y cadenas laterales polares antes inactivos que mejoran la fijación de agua.

La naturaleza y concentración de los iones, tienen efectos significativos sobre la absorción de agua, hinchazón y solubilidad de las proteínas. Por lo general hay enlaces competitivos entre agua, sales y grupos laterales de aminoácidos (6).

1.3.3 SOLUBILIDAD DE LAS PROTEÍNAS EN EL AGUA

Las proteínas dependiendo de su estabilidad estructural (compactibilidad, flexibilidad, carga, enlaces disulfuro, hidrofobicidad) tienden a desdoblarse al establecer un nuevo equilibrio termodinámico (44). Muchas de las propiedades funcionales y moleculares de las proteínas alimenticias están relacionadas con el contenido de aminoácidos hidrófobos, y su distribución en la estructura primaria (23).

Las características superficiales de la proteína se afectan por el desdoblamiento, que está dirigido por la secuencia de aminoácidos y las condiciones del solvente; en este desdoblamiento la mayoría de los residuos no polares quedan dentro y los residuos polares se quedan en la superficie expuestos al solvente, así que la energía libre global de la proteína es mínima bajo las condiciones del medio. De acuerdo con esta regla general, en las proteínas globulares es común que los residuos hidrófobos se encontrarán escondidos en el interior y los residuos hidrofílicos estarán localizados en la superficie, aunque no todos los residuos hidrófobos están totalmente escondidos, esto puede ser debido a la gran hidratación y las fuerzas repulsivas electrostáticas de la superficie proteica. La solubilidad de las proteínas puede ser expresada como la manifestación del equilibrio entre las interacciones proteína-solvente (hidrofílicos) y proteína-proteína, éste es:



La solubilidad de las proteínas es un importante prerequisite para la formación de películas debido a la rápida migración y a la adsorción de la interfase que es crítica (23) y el desarrollo de las propiedades funcionales de las proteínas; aunque no siempre es correcto afirmar que las proteínas deben tener una elevada solubilidad inicial para que las otras propiedades funcionales sean buenas. La absorción de agua de un ingrediente proteico puede algunas veces, mejorarse con una desnaturalización e insolubilización previa. Todo esto está de acuerdo con el hecho de que la formación de emulsiones, espumas y geles presupone diversos grados de desdoblamiento, agregación e insolubilización de la proteína.

La ventaja principal de la solubilidad inicial es que permite una dispersión rápida y completa de las moléculas o partículas proteicas. Esto conduce a un sistema coloidal finamente disperso, con una estructura macroscópica homogénea y una textura suave. La solubilidad inicial facilita la difusión de la proteína en las interfases aire/agua y aceite/agua, mejorando así su actividad superficial (6).

La solubilidad de las proteínas está determinada por tres factores principales:

- ***Su grado de hidratación***
- ***Su densidad y distribución de carga a lo largo de la cadena,***
- ***La presencia de compuestos no proteicos como fosfatos, carbohidratos y lípidos que pueden tener efecto estabilizante.***

La solubilidad se afecta con factores como lo son la relación de aminoácidos hidrófobos-hidrófilos, su secuencia de aminoácidos o estructura primaria y la longitud de su cadena. Los principales agentes extrínsecos que afectan la solubilidad de las proteínas son: la fuerza iónica, el pH, las propiedades dieléctricas del disolvente y la temperatura (2).

1.3.4 EFECTO DE LA FUERZA IÓNICA

Las sales compiten con el agua para la captura de sitios de enlace en las cadenas laterales de los aminoácidos; la cantidad de agua ligada a la proteína es función de la concentración de sal. El efecto de la fuerza iónica en la funcionalidad de la proteína ha sido concentrado en la solubilidad. Generalmente la solubilidad de la proteína se incrementa a bajas concentraciones de sal y disminuye a altas concentraciones de sal (18).

La fuerza iónica se expresa como:

$$M = \frac{1}{2} \sum mZ^2$$

M = fuerza iónica

m = molalidad de la solución

Z = carga del ion.

Y no solo contribuye la medida de la concentración, sino también del número de cargas eléctricas provenientes de los cationes y aniones aportados por la sal (2).

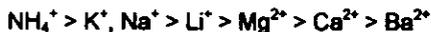
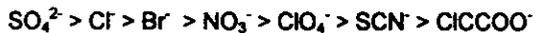
Las sales pueden afectar las interacciones electrostáticas en macromoléculas en contribución con la fuerza iónica. Sin embargo, aunado a semejantes efectos no específicos en las interacciones electrostáticas, las sales también exhiben efectos específicos sorprendentes en la conformación de proteínas (22).

Las sales neutras son conocidas por ejercer efectos notables en la solubilidad, en el equilibrio asociación-disociación de las proteínas, en la estabilidad de las estructuras globulares y fibrilares y en la transición conformacional de proteínas, polipéptidos y ácidos nucleicos.

La solubilidad de las proteínas está en función de la concentración de sal; ésta se incrementa al disminuir la concentración de sal, fenómeno llamado solubilización por salado, después de alcanzar un máximo de solubilidad empieza a disminuir otra vez, llamado insolubilización por salado, donde las sales a concentraciones elevadas tienen un efecto deshidratante sobre las proteínas que se refleja en que la proteína pierde parte

del agua que le rodea y que sirve como agente estabilizante. Las proteínas se estabilizan y permanecen solubles debido a que interactúan con las moléculas de agua a través de sus grupos hidrófilos iónicos, por lo que la eliminación de dicha agua estabilizante las obliga a reaccionar entre ellas mismas, de tal manera que se agregan y precipitan (7). La solubilidad aumenta cuanto se reduce el grado de interacción de las propias moléculas del soluto y el disolvente. Los cationes y aniones de las sales neutras tienen afinidad por los grupos iónicos, provenientes de los aminoácidos ionizables, por lo que evitan la interacción entre moléculas de proteína a través de los grupos cargados (2).

Estudios de compuestos simples como purinas, aminas, etc., revelan que el efecto de las sales neutras con moléculas polares y no polares de éstos compuestos y con ciertos iones exhiben efectos positivos mientras otros tienen efectos negativos en la solubilidad. En general el efecto de insolubilización por salado, en los iones y cationes sigue el orden:



que son llamadas series liotrópicas.

En general, la solubilización e insolubilización de proteínas por sales a varias concentraciones es el resultado neto de la maximización o minimización de las fuerzas electrostáticas e hidrofóbicas a diferentes concentraciones de sal. Esto podría también depender de la relación de superficie no polar y la densidad de carga en la superficie de la proteína. Si la proteína tiene grandes áreas de superficie no polar, la disminución en la interacción electrostática a bajas concentraciones de sal podría provocar la agregación hidrofóbica de tales proteínas resultando en una disminución de la solubilidad. A altas concentraciones de sal, además la disminución o aumento de solubilidad depende de la naturaleza liotrópica del ion. Si el área superficial hidrofóbica en la proteínas es menor y la densidad de carga es alta, la proteína se insolubilizará a bajas concentraciones de sal y a concentraciones más altas de sal, la solubilidad seguiría los efectos liotrópicos de iones diferentes (7).

1.3.5 EFECTO DEL pH

El pH del medio tiene gran importancia en los fenómenos de desnaturalización de proteínas. La mayoría de las proteínas son estables en un reducido intervalo de pH y valores del mismo que se aparten de él provocan la desnaturalización. A medida que el pH del medio se aleja del valor óptimo de estabilidad, aumentan las cargas en los grupos R y también las que ejercen repulsión entre diferentes zonas de la molécula. Esto causa la modificación de la estructura, aunque si éstos cambios no son excesivos, la proteína puede adquirir de nuevo su configuración normal cuando se restablece el valor de pH óptimo (12).

Debido a su naturaleza anfótera, la solubilidad de proteínas globulares está muy influenciada por el pH al que se encuentren; es mínima en su punto isoeléctrico, pero aumenta considerablemente al alejarse de él. Dependiendo del pH del sistema, las proteínas pueden actuar como cationes o aniones, de tal manera que al tener la misma carga eléctrica desarrollan fuerzas de repulsión entre ellas que repercuten en aumento de solubilidad y estabilidad. En el punto isoeléctrico, las fuerzas de repulsión son mínimas, lo que hace que las proteínas tiendan a agregarse con la consecuente precipitación (2).

1.3.6 EFECTO DE DISOLVENTES

Los disolventes también ejercen una influencia muy marcada en la estabilidad y solubilidad de proteínas, de tal manera que la constante dieléctrica del medio en que se disuelven es un factor determinante. La fuerza de atracción entre dos moléculas de proteína puede aumentar si se coloca un disolvente con un valor bajo de su constante dieléctrica, ya que se disminuyen las fuerzas electrostáticas de repulsión existentes entre las moléculas proteicas, lo que contribuye a su agregación y precipitación. Los disolventes (tales como el etanol o la acetona) entran así en competencia por las moléculas de agua y por lo tanto pueden reducir la solubilidad de las proteínas (2).

1.3.7 EFECTO DE LA TEMPERATURA

Dentro de un intervalo límite de 0 a 50°C, la solubilidad de la mayoría de las proteínas se aumenta al incrementar la temperatura, sin embargo existen algunas excepciones (2). Por encima de 40-50°C el movimiento de las moléculas es suficiente para romper los enlaces implicados en la estabilización de las estructuras secundaria y terciaria. Esta desnaturalización va seguida frecuentemente, de una agregación y la solubilidad de la proteína desnaturalizada llega a ser inferior a la de la proteína natural (6). Los efectos del calentamiento pueden aparecer de dos diferentes formas al considerar la hidrofobicidad :

- ***Desdoblamiento de las moléculas, con la consecuente exposición de sitios hidrófobos***
- ***Agregación inducida por el calentamiento, dando como resultado el de la disminución en la exposición de sitios hidrófobos y pérdida de solubilidad.***

Las propiedades alimenticias pueden diferir marcadamente en su respuesta al calentamiento. Contrariamente a la creencia popular de que el calentamiento resulta en la desnaturalización que se acompaña por disminución de solubilidad y funcionalidad, de hecho, existen algunos ejemplos donde la funcionalidad de las proteínas se mejora por el tratamiento térmico.

Para la extracción salina de proteínas de músculo, el calentamiento a 50°C o más altas temperaturas resulta en incremento de la hidrofobicidad y disminución de la solubilidad, que se acompaña por disminución de las propiedades de emulsificación. en brusco contraste, el calentamiento de aislado de proteína de soya provoca un incremento de hidrofobicidad y solubilidad, así como una marcada mejoría en el índice de actividad de emulsificación (35).

1.4.0 ESPUMAS DE PROTEÍNAS

Las espumas son sistemas coloidales termodinámicamente inestables, donde el gas está principalmente como fase dispersa, dispersada en un líquido matriz. Las burbujas están separadas entre sí por paredes líquidas llamadas lamelas (12). El espumado es principalmente un proceso físico, y la espuma es un ejemplo de un sistema disperso en el cual los fenómenos físicos juegan un papel importante (27).

Las espumas alimenticias son generalmente, dispersiones de burbujas de gas en una fase líquida continua o semisólida que contiene un surfactante soluble. Las espumas son utilizadas para proporcionar textura, consistencia y apariencia a los alimentos. Una gran variedad de espumas alimenticias existen con texturas muy diferentes como el merengue, pasteles, malvaviscos, y otros productos de confitería, crema batida, helados, suflés, mousses, cerveza espumosa y pan (11,27).

1.4.1 FORMACIÓN DE ESPUMAS

Existen varias formas de hacer un producto alimenticio aireado en casa o en la industria.

Primero se distingue entre los siguientes procesos:

- 1. *Agitación de una cantidad de líquido dada en una cantidad ilimitada de aire.***
- 2. *Agitación de una mezcla de gas y líquido en la cual ambos volúmenes son dados.***
- 3. *Permitir que el gas se genere desde el líquido en forma de burbujas.***

La clara de huevo batido es un ejemplo de un proceso en el cual la cantidad del líquido es dada y la cantidad de aire es ilimitada (caso 1). En el batido, el aire es introducido dentro del líquido en la forma de grandes burbujas, las cuales disminuyen su tamaño como resultado de una agitación mecánica. La cantidad limitada de aire tomada por el líquido en estado estacionario está relacionada de alguna forma con la geometría

del aparato y las propiedades espumantes, ya que tan pronto como las aspas se empiezan a cubrir por la espuma, no hay aire nuevo que se pueda atrapar en el sistema.

En la industria alimentaria, la aireación en proceso continuo (tipo 2) es frecuentemente realizada, al principio inyectando la cantidad de gas requerida en una cantidad de líquido dada. Las burbujas se forman en un orificio y éstas salen de él de un tamaño que se determina entre otras cosas por la viscosidad o fuerza de empuje ejercida por el líquido que fluye.

Las burbujas de gas pueden formarse del tipo 3, de dos diferentes formas:

- *El gas es generado "in situ" en el líquido, lo que significa que el líquido ha sido saturado con gas o*
- *El líquido es sobresaturado con gas y las burbujas se forman por nucleación heterogénea.*

Un ejemplo de la producción in situ de gas es la obtención de dióxido de carbono que se genera por las células de levadura; los ejemplos de formación de burbujas de gas de un líquido sobresaturado por medio de la nucleación heterogénea se encuentra en la producción de espuma en cerveza y otras bebidas carbonatadas (40).

Debido a la gran producción de espuma, las burbujas de forma polihédricas se presionan mutuamente, por lo que se empiezan a deformar, construyéndose una clase de estructura de panal, en la figura 6 se muestra la estructura de una espuma donde se muestra esta estructura:

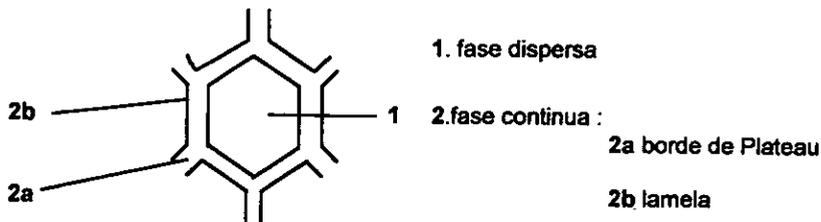


Fig. 6 Representación esquemática de la estructura de las espumas. Fuente: Halling J.P. Protein-stabilized foams and emulsions. C.R.C. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. October, p. 158.

Entre las burbujas se forma una película delgada, casi plana, la cual se rodea por el llamado borde de Plateau. En un borde de Plateau tres películas se encuentran siempre a un ángulo de 120° entre ellas, para cumplir la condición de equilibrio mecánico (40).

1.4.2 ESTABILIDAD DE ESPUMAS

Cuando las espumas son inicialmente formadas, las burbujas de aire son esféricas (debido a la presión interna) y la lamela es espesa y contiene grandes cantidades de agua. Con el tiempo, el líquido drena de las espumas, la lamela se adelgaza, las burbujas de aire se empiezan a cerrar y asumen formas polihédricas. El drenado del líquido de la lamela es la principal fuerza desestabilizante de las espumas, pues esto permite que las burbujas se junten más, haciendo que el tamaño de las burbujas crezca a expensas de las más pequeñas. Para minimizar esto es necesaria la retención de humedad en la lamela y tener una película fuertemente impermeable (25).

1.4.3 FACTORES QUE DETERMINAN LA ESTABILIDAD DE ESPUMAS

La formación y estabilidad de espumas de proteínas depende en gran medida de las propiedades de la película interfacial. Los límites de las interacciones moleculares y las propiedades de la película dependen de la proteína en particular y las condiciones previas de tratamiento (método de obtención, tratamientos térmicos, etc.). Diferentes fuerzas pueden ser más o menos deseables en diferentes estados de formación de película; además la electronegatividad neta en la superficie acuosa de la película, causa repulsión entre burbujas contiguas, que es deseable para la estabilidad de la espuma. La estabilidad de las espumas refleja un balance entre las fuerzas con la película (la cual le imparte viscoelasticidad) y varias fuerzas (repulsión electrostática y estérica entre burbujas adjuntas, efectos osmóticos y fenómenos viscosos en la fase lamelar y acción capilar), todas tienden a estabilizar las espumas (25).

Varios factores intrínsecos y extrínsecos afectan las propiedades espumantes de las proteínas como lo son la estructura de la proteína y estabilidad conformacional, las interacciones secundarias, pH, sales, agentes oxidantes/reductores, propiedades de la mezcla de proteínas, interacciones proteína-proteína en la película, temperatura y grado de modificación. La formación de una espuma alimenticia requiere de una rápida formación de una película cohesiva viscoelástica con alta dilatación y módulo de corte, para minimizar el escape de aire y la coalescencia de burbujas adjuntas (25).

Los tres factores más importantes que contribuyen a estabilizar las espumas son: una baja tensión entre fases, una alta viscosidad de la fase líquida y películas de proteína absorbidas resistentes y elásticas, además de una rápida difusión de proteínas en la interfase (11).

La flexibilidad molecular es considerada como un factor determinante en la actividad emulsificante y espumante de las proteínas y con algún cambio en el número de enlaces sulfuro en una proteína en particular es posible afectar estas propiedades funcionales. Para la glicina, una reducción de algunos enlaces disulfuro causa una pérdida de estructura terciaria produciendo una mayor flexibilidad molecular, capaz de permitir un rápido desdoblamiento en las interfases aire-agua o agua-aceite (26).

La velocidad del drenado se retarda por la sustitución de grupos polares (por captación de agua) en la fase lamelar y por adición de azúcar e hidrocoloides, los cuales ávidamente captarán el agua y aumentarán la viscosidad de la fase continúa.

El drenado de una delgada película líquida se puede detener completamente si las superficies de la película se repelen mutuamente. Cuando la repulsión es lo suficientemente fuerte para compensar la succión del borde de Plateau, la atracción de Van der Waals entre las superficies y los disturbios causados por los movimientos térmicos, se dice que ha llegado al equilibrio de película. Las películas estabilizadas por surfactantes iónicos de bajo peso molecular proporcionan estabilidad y también la presencia de iones en la película líquida. La formación de la doble capa eléctrica en la superficie conduce a una repulsión que depende fuertemente del potencial superficial y la concentración y valencia de los iones. Tales películas tienen grosor de equilibrio de 4-10 nm, las espumas alimenticias generalmente contienen surfactantes macromoleculares, tales como proteínas o polisacáridos; el medio es estabilizado estéricamente con el grosor de equilibrio que será mayor del proporcionado por surfactantes de bajo peso molecular (40).

La estabilidad de las espumas (por retención del volumen y humedad) es un reflejo de la integridad de la película, la permeabilidad del gas y la película mecánicamente resistente. Varios factores afectan la estabilidad de las espumas espesor de la película, fuerza mecánica, propiedades viscoelásticas de película, repulsión estérica entre burbujas, fenómenos osmóticos, presión de separación, repulsiones electrostáticas, atracción de Van der Waals, viscosidad de la fase acuosa, efectos de capilaridad, permeabilidad de la película y velocidades de drenado. El pH de la fase acuosa afecta el espumado al determinar la magnitud y naturaleza de la carga neta en las proteínas. La variación del número y disposición de las cargas, las cuales varían con el pH de las proteínas afectan las interacciones proteína-proteína en la película y repulsión entre las burbujas de las espumas, e incluso la capacidad de que la espuma se forme.

Las propiedades de espumado de las proteínas pueden relacionarse con la hidrofobicidad de la superficie. Por lo cual, debido a las regiones hidrofóbicas o segmentos que están generalmente restringidas en el interior de las proteínas globulares ganan considerable entropía por desdoblamiento dentro de la fase de aire (apolar) en la espuma, que favorece la adsorción y las interacciones moleculares hidrofóbicas entre

polipéptidos contiguos en la interfase y puede ser importante en la estabilización de películas.

La manipulación del pH puede explotarse al alterar las cargas de las proteínas y aumentar las propiedades de superficie activa. Por lo cual, la tensión superficial inicial desarrollada por las proteínas es marcadamente dependiente del pH mostrando su máximo alrededor de los pH cercanos a su punto isoeléctrico.

En solución la velocidad de adsorción de las proteínas en la interfase se incrementa al acercarse a su punto isoeléctrico. Las proteínas adsorbidas ejercen menor repulsión electrostática en la interfase haciendo que las interacciones proteína-proteína se faciliten. Esto se refleja en el aumento de las propiedades de espumado de las proteínas (25).

1.4.4 MEDICIÓN DE LA ESTABILIDAD DE ESPUMAS

La estabilidad de una espuma puede ser valorada por medición de:

a) La cantidad de líquido drenado o por la espuma colapsada (reducción del volumen dado).

b) El tiempo total o el tiempo medio de drenado (tiempo requerido para que drene el total o la mitad del volumen del líquido).

c) El tiempo en el que el drenado comienza.

La expansión (frecuentemente medida vía disminución en la densidad de las espumas) generalmente tiene un máximo, que refleja un balance dinámico entre la formación de burbujas y la destrucción por batido excesivo. Existen dos características obvias en la estabilidad de las espumas:

- El goteo de líquido (sinéresis)
- El colapso.

Estos procesos visibles no corresponden directamente al drenado lamelar y ruptura.

Cuando la ruptura ocurre, se produce un colapso desordenado con grandes vacíos que directamente conectan con la atmósfera, mientras pequeñas burbujas permanecen intactas y la medición del volumen de espuma se hace difícil (6).

1.4.5 DRENADO

Debido a que las espumas tienen áreas superficiales muy grandes, son inestables. Existen tres mecanismos principales de desestabilización:

1. Drenado del líquido de la lamela debido a la gravedad, diferencias de presión y/o evaporación.

En las espumas de baja densidad las burbujas tienden a presionarse estrechamente entre sí, lo que aumenta la pérdida de líquido de las laminillas. Tensiones interfaciales bajas y diámetros de burbujas grandes disminuyen la presión interna y existe una pérdida de líquidos.

La presión interna dentro de las burbujas es dada por la presión capilar de Laplace, que tiene la siguiente ecuación:

$$P = P_{atm} + \frac{2\gamma}{R}$$

P_{atm} : Presión atmosférica (Pa)

γ : Tensión interfacial (N/m)

R: Radio de curvatura de la burbuja (m)

2. Difusión de gas de las burbujas pequeñas a las grandes.

Tal ruptura resulta de la solubilidad del gas en la fase acuosa.

3. Ruptura del líquido lamelar que separa a las burbujas.

Tal ruptura da como resultado incremento en el tamaño de burbujas que provoca coalescencia y el colapso de la espuma (6).

El drenado de líquido de una espuma y la formación de las burbujas son fenómenos que están relacionados en la medida en que ambos describen el movimiento relativo de burbujas y medio de dispersión, en el batido el movimiento de burbujas es más grande que el movimiento de líquido; en el drenado el movimiento de líquido es más importante que el movimiento de burbujas. La gravedad es la fuerza que dirige el drenado de una película delgada, ésta fuerza actúa de dos formas: directamente en el líquido, en una película no horizontal e indirectamente a través de succión del borde de Plateau (40).

1.5.0 INTERACCIONES PROTEÍNA-POLISACÁRIDO

La estabilidad física de los sistemas alimenticios es un factor determinante en el juicio de calidad, así como la vida de anaquel de los productos. La inestabilidad de los productos es frecuentemente causada por la incompatibilidad de los componentes o por la interacción entre éstos.

Sin embargo, no siempre es posible crear un producto estable por manipulación de proceso y, en tales circunstancias es necesario utilizar agentes estabilizantes. El uso de tales aditivos se conoce como una práctica benéfica en la manufactura de leche evaporada, helados y otros tipos de bebidas (17).

Los complejos que involucran interacciones polisacárido-proteínas ocurren en el mundo biológico en materiales como el tejido conectivo de animales y las diferentes membranas encontradas en el huevo, por lo que no es sorpresa que in vitro éstas macro +moléculas interactúen cuando se mezclan bajo condiciones apropiadas. La mayoría de los trabajos reportados han sido hechos en sistemas que involucran polisacáridos ácidos (carboximetil celulosa, alginato, pectato y polisacáridos sulfatados). Se ha visto que existe poco o no hay interacción entre proteínas y gomas no iónicas, por lo que el factor estabilizante en éstas interacciones es iónico, siendo muy dependiente de la carga de las macromoléculas, y la máxima interacción ocurre a una carga neta mínima (28).

Debido al potencial de estas interacciones en la remoción de proteínas para la reducción de la demanda biológica de oxígeno (BOD) o la recuperación de proteínas para la reutilización en productos alimenticios y en la texturización de proteínas para nuevos tipos de alimentos, no es de sorprender que una gran cantidad de investigadores se haya dedicado al estudio de éstos sistemas proteína-polisacárido. Los trabajos reportados en éstos sistemas sugieren que la mayor fuerza responsable para éstas interacciones son de naturaleza electrostática.

Como ejemplo Ganz (1974) determinó la viscosidad de varios sistemas proteínas-CMC en función del pH encontrando que, mientras el pH disminuye a valores donde se aproxima al punto isoelectrico de la proteínas, la viscosidad aumenta debido a la formación de un complejo soluble. Al disminuir el pH por debajo del punto isoelectrico, el complejo precipita debido a que la carga neta disminuye (28).

Imerson, Ledward y Mitchell, (1977) encontraron que las interacciones entre mioglobina, albumina de suero de bovino (BSA) y los polisacáridos aniónicos (pectato, alginato y CM) son muy dependientes de la carga de las macromoléculas, de su naturaleza electrostática, debido a que las interacciones disminuyen con el incremento de la fuerza iónica y se aumentan cuando el pH disminuye de 7 a 5; con el incremento de la carga positiva en la proteína. La naturaleza electrostática de las interacciones también es explicada porque a pH 6 las interacciones son más fuertes con mioglobina, que posee carga neta positiva a este pH que con BSA, la cual tiene carga neta negativa. Aunque las interacciones son muy dependientes de las fuerzas electrostáticas, no parece racional que unos simples enlaces salinos sean capaces de mantener en solución acuosa, bajo estas condiciones a los grupos cargados que están fuertemente hidratados. Por lo que con unas simples sales iónicas, las interacciones deben ser mínimas en el agua y, por tanto, uno debe suponer que algunas fuerzas importantes cooperativas se involucran en la producción de este complejo soluble y estable de alto peso molecular. Cualquiera que sea la naturaleza precisa de estas interacciones la dependencia de carga sugiere que los grupos carboxilatos de los polisacáridos deben estar involucrados, junto con algunas o todas las cargas positivas de los residuos aminoácidos como lo son ϵ -amino, α -amino, guanidina e imidazol, y la fuerza real de las interacciones se relaciona con el número y distribución de estos sitios así como la carga total en la proteína (28).

En la mezcla de soluciones acuosas de proteínas y polisacáridos se pueden tener en general, tres resultados diferentes:

1) Un sistema líquido de dos fases (emulsiones agua en agua) que se pueden obtener donde dos componentes macromoleculares están principalmente en dos fases distintas. Esto es debido a la limitada compatibilidad termodinámica de las proteínas y polisacáridos en medio acuoso.

2) Un sistema de dos fases donde ambos componentes macromoleculares están concentrados en la misma fase. Este fenómeno (complejo coacervado) se atribuye a la formación de un complejo electrostático insoluble proteína-polisacárido aniónico.

3) Soluciones homogéneas estables donde dos componentes macromoleculares no interactúan o alternativamente existen como complejos solubles (46).

El tipo de sistema que se forme dependerá de:

- *el tipo de proteína y polisacárido*
- *el pH*
- *la fuerza iónica*
- *la concentración de ambos componentes.*

Lo que afecta las propiedades funcionales, por ejemplo, en una dispersión de leche con carragenina pueden formarse geles o estabilizar las suspensiones de cocoa dependiendo del tipo de carragenina de que se trate y los tipos de iones presentes.

1.6.0 POLISACÁRIDOS ANIÓNICOS

La mayoría de los estabilizantes utilizados en la industria alimenticia se derivan de plantas o algas marinas. Con la variación de las estaciones, edades y la diferencia del medio ambiente local de estas especies de plantas, es posible que estos estabilizantes extraídos se desempeñen de forma diferente según la época.

1.6.1 CARRAGENINA

La carragenina proviene de algas marinas rojas (rodoficeas), *Chondrus crispus*; los diferentes polisacáridos derivados de la carragenina tienen una fórmula química similar, que consiste en unidades de D-galactosa unidas por enlaces glucosídicos α -(1-3) y β -(1-4) en forma alternada. Se diferencian entre ellos por la cantidad de moléculas de los azúcares anhidros 3,6-anhidro-D-galactosa que contengan y por la posición en que los grupos sulfato se encuentran en la molécula de D-galactosa. Las fracciones de carragenina más importantes son las denominadas κ , λ , ι .

Se le designa a la fracción sensible al potasio como κ -carragenina y λ -carragenina a la fracción no sensible al potasio, y otra sensible al calcio llamada ι -carragenina.

En la figura 7 se muestra la estructura de las carrageninas:

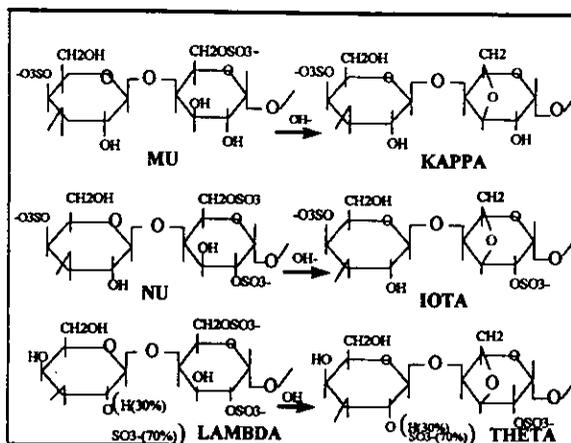


Fig.7. Unidades repetidas de carrageninas. Fuente: Graham D:H: Food Colloids. AVI Publishing Company, 1977, p. 349.

La carragenina es un polielectrolito fuertemente aniónico de gran peso molecular y tamaño. Esto da una propiedad única de reaccionar con grandes o pequeñas partículas, por medio de varios mecanismos involucrando enlaces iónicos, enlaces de hidrógeno o fuerzas de Van der Waals (16).

La reactividad química de las carrageninas es debida principalmente al grupo $-SO_3^-$ el cual es fuertemente aniónico, siendo comparable con el ácido sulfúrico; el ácido libre inestable y las carrageninas comerciales están disponibles en forma de sales de potasio, de calcio o más generalmente como mezcla de ellas

La hidratación de las carrageninas es afectada por sales y solventes orgánicos. Concentraciones suficientes de sal como cloruro de sodio o potasio retardan y previenen la hidratación de carrageninas κ , λ . La carragenina ι es peculiar y única ya que se disuelve en soluciones salinas calientes.

La carragenina es completamente estable a pH arriba de 7, pero abajo de éste pH la estabilidad disminuye, especialmente con el incremento de la temperatura. A niveles de pH menores de 5-7 donde la degradación es ya inminente, la carragenina se degrada rápidamente al elevar la temperatura, por lo que es buena práctica ajustar o bajar el pH durante los pasos finales del proceso (16).

La κ -carragenina, generalmente se hincha o espesa bastante, pero se disuelve solo ligeramente en agua fría, dependiendo del método de preparación, sin embargo exhibe varios grados de hinchamiento en agua fría, y en concentraciones suficientes forma geles térmicamente reversibles en presencia de iones de potasio. Es insoluble en soluciones concentradas de varias sales en dispersiones frías y calientes.

La ι -carragenina requiere de calor para solubilizarse. En dispersiones frías, particularmente en sales de calcio puede exhibir un alto grado de hinchamiento y tixotropía (16).

Generalmente, en sistemas proteína-carragenina se involucran las interacciones entre los grupos sulfatados de la carragenina y los grupos cargados de las proteínas. Las reacciones dependen de la relación de carga neta entre la proteína-carragenina y es función del punto isoeléctrico de la proteína, el pH del sistema, y la relación de peso entre carragenina-proteína. El alcance de la reacción es mayor cuando la relación de carga neta es igual a 1. Generalmente esto resulta en la precipitación de un complejo insoluble proteína-carragenina. La formación de complejos está acompañada por cambios en las propiedades físicas de las soluciones y geles (9).

La habilidad de la carragenina a reaccionar con proteínas depende de muchos factores tales como la concentración de carragenina, el tipo de proteína, temperatura, pH y punto isoeléctrico de la proteína. La reactividad de la carragenina parece ser dependiente del número y posición de los grupos sulfatos. El punto isoeléctrico de las proteínas es importante en la reactividad de la carragenina-proteína. Una solución de proteína abajo del punto isoeléctrico tiene carga neta positiva, la carragenina está negativamente cargada a cualquier pH. Si una proteína está disuelta en agua y se mezcla con carragenina se da una reacción simple:



Si la proteína y la carragenina están por arriba del punto isoeléctrico de la primera, ambas están cargadas negativamente y la reacción anterior no ocurrirá debido a la repulsión electrostática. En presencia de ciertos cationes, tales como calcio es posible para esta mezcla formar una doble sal insoluble que pueda precipitar por abajo del punto isoeléctrico, en el punto isoeléctrico de las proteínas también es posible para la

carragenina y la proteína reaccionar por medio de interacciones dipolo-ión al formar un sistema tricompuesto (16).

1.6.2 CARBOXIMETIL CELULOSA DE SODIO (CMC)

Uno de los más importantes derivados de la celulosa, y el más ampliamente utilizado en la industria alimentaria es el CMC. La figura 8 muestra la estructura de la carboximetil celulosa:

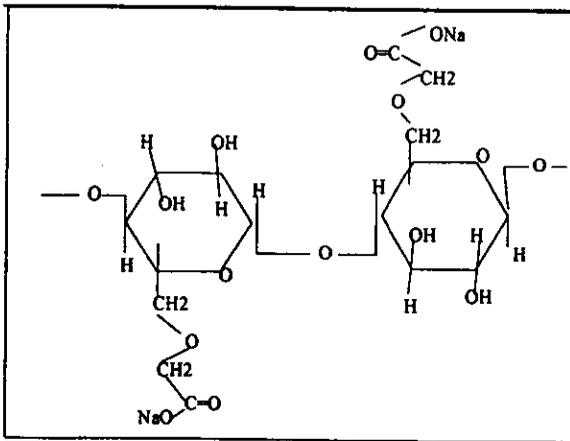


Fig. 8. Fórmula estructural de la carboximetil celulosa. Fuente: Ganz, A. Jerome. Cellulose Hydrocolloids. En Food Colloids. Graham, D.H. AVI Publishing Company. 1977, p 387.

La modificación de la celulosa por la introducción dentro de la molécula de un número controlado de grupos carboximetilos de sodio (NaOOC-CH_2) proporciona la solubilidad deseable en agua. Debido a la introducción de los grupos carboximetilos el resultado es un producto iónico. Esta es la sal de un ácido débil, teniéndose una constante de disociación comparable con el ácido acético.

El CMC es insoluble en solventes orgánicos y soluble en agua donde pueden ser preparadas en un amplio rango de viscosidades alrededor de 50,000 cps de una solución al 2% de CMC-7L1. El CMC en solución tiene un comportamiento típicamente no

Newtoniano. Este comportamiento a velocidades de deformación baja es primero pseudoplástico debido a las largas cadenas moleculares que tienden a orientarse en dirección del fluido. Cuando el esfuerzo de corte se incrementa la resistencia al flujo (viscosidad) se disminuye. La viscosidad de la goma de celulosa es dependiente de la temperatura, cuando ésta se incrementa, la viscosidad disminuye y, cuando la temperatura disminuye la viscosidad se incrementa, éstos cambios de viscosidad con la temperatura son reversibles (16,17).

Las soluciones de CMC son bastante estables en viscosidad sobre un amplio rango de pH de alrededor de 5-10, con la mejor estabilidad a pH de 7-9. La acidificación abajo de pH 5 tiende a reducir la viscosidad y la estabilidad de la solución. Abajo de pH 3, la precipitación del ácido carboximetil celulosa se puede dar. La compatibilidad de las soluciones de celulosa con varias sales ionizables depende de la habilidad de la sal para formar sales solubles de CMC. En general, los cationes monovalentes forman sales solubles y tienen pequeños efectos en la viscosidad de las soluciones. Los cationes divalentes son la frontera debido a que algunos cationes producen "películas" en la solución a ciertas concentraciones.

El CMC es un polímero catiónico, que reacciona con proteínas en muchos casos, para aumentar las propiedades funcionales; el CMC inhibe la precipitación de la caseína en un rango cercano a su punto isoeléctrico, las soluciones de CMC-caseína tienen una viscosidad anormalmente alta. Las soluciones de CMC reaccionan con la gelatina y son caracterizadas por un incremento anormal de la viscosidad. El grado de este incremento se afecta por el pH, concentración, tipo de gelatina y presencia de sales. Los complejos tienen propiedades físicas y químicas únicas y pueden ser preparadas por reacción de la gelatina y CMC bajo condiciones controladas (16,17).

Un gran número de investigadores mostraron que es posible recobrar proteínas de fluidos residuales y de otros polisacáridos ácidos. Gillberg y Tornell (1976) descubrieron un método para la precipitación de aislados proteicos de semilla de colza, usando polímeros ácidos al precipitar soluciones proteicas diluidas seguido de una extracción alcalina inicial. Por lo que existe la posibilidad de un gran número de precipitantes, incluyendo alginato de sodio, CMC y carrageninas que son capaces de recuperar proteína con un 90% de eficacia aproximadamente (28).

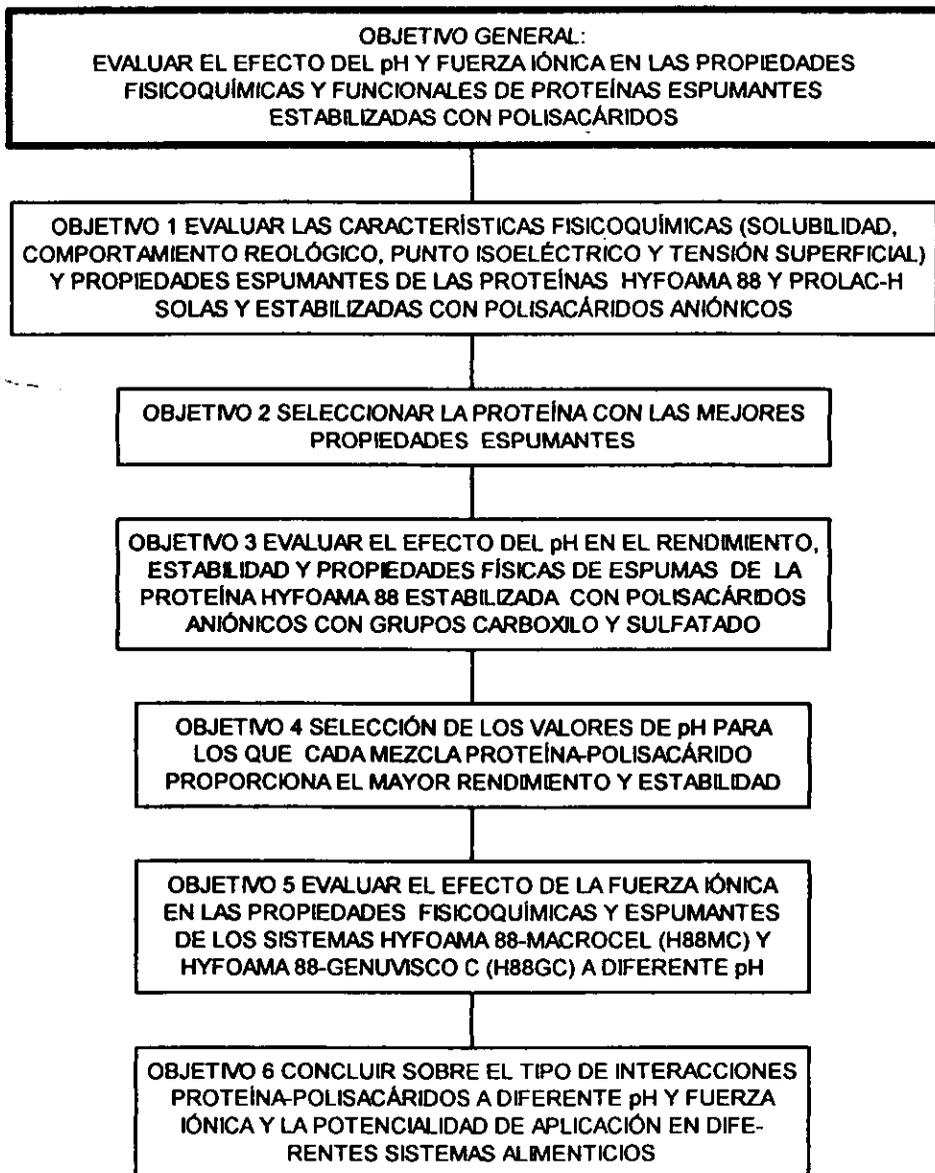
La recuperación de proteína del suero del queso se ha estudiado mucho y se encontró que entre otros, el CMC se puede utilizar para precipitar proteínas (Shank y

Cunningham 1968, Hansen y Gould 1971, Sternberg y Chiang 1976). Sin embargo, se han estudiado más ampliamente los sistemas donde se utiliza el CMC y se muestra que la cantidad de proteína precipitada depende mucho del pH, fuerza iónica y grado de sustitución de los derivados de celulosa. Bajo condiciones favorables, más del 90% de las proteínas se pueden remover de la solución y las proteínas extraídas por este método tienen excelentes propiedades funcionales. La precipitación de las proteínas del suero del queso por CMC es selectiva y puede usarse como método en la separación de los componentes proteicos. Hidalgo y Hansen (1969) encontraron que a pH 4 los complejos precipitados se componían enteramente de β -lactoglobulina y CMC, la α -lactalbúmina restante permaneció en solución. Al disminuir posteriormente el pH a 3.2 la adición del CMC precipitó la α -lactalbúmina (28).

CAPITULO II

OBJETIVOS, MÉTODOS Y MATERIALES

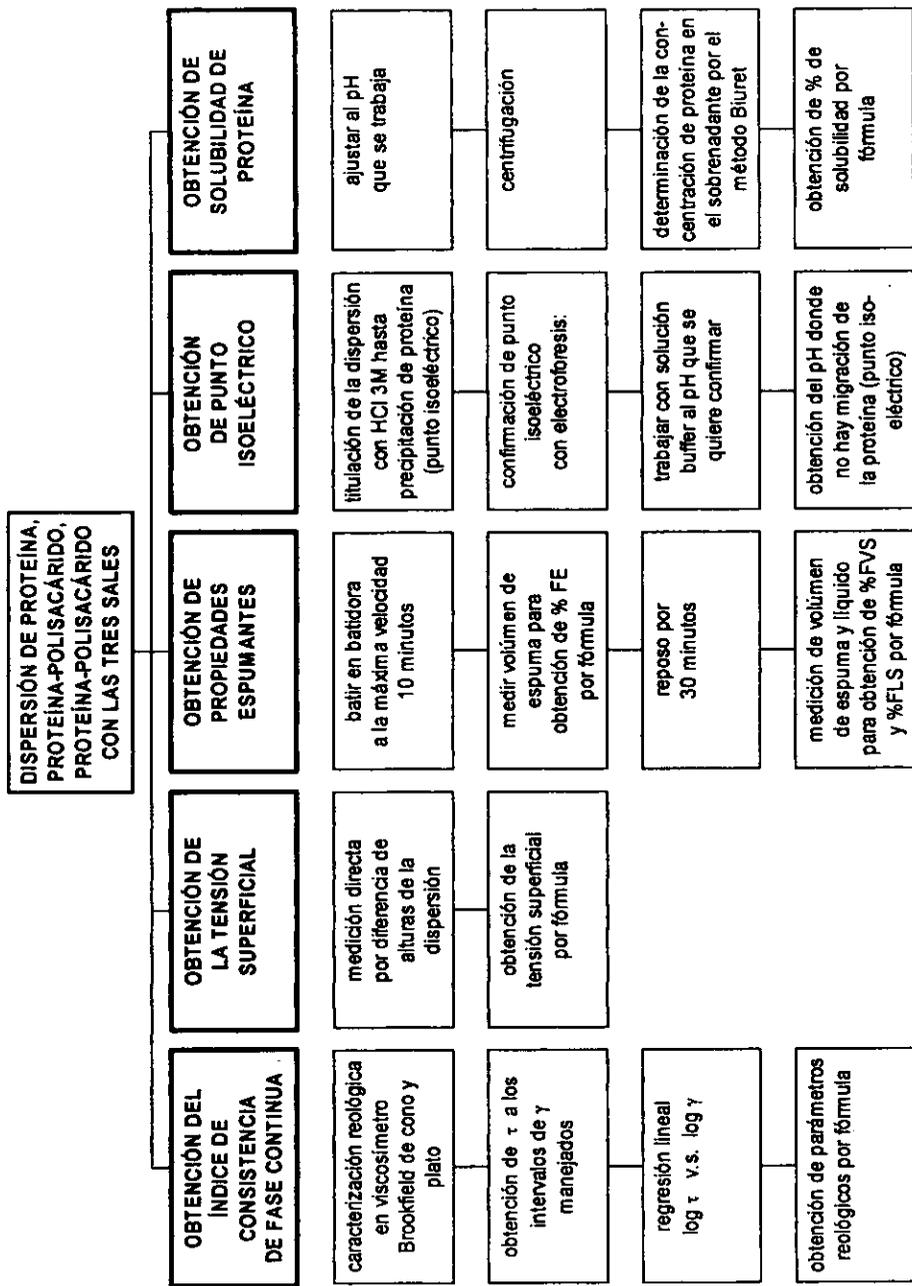
2.1 OBJETIVOS



2.2.0 CUADRO DE VARIABLES MANEJADAS EN OBJETIVOS

OBJETIVO	CONDICIONES CONSTANTES	VARIABLES	NIVELES DE VARIACIÓN	VARIABLES DE RESPUESTA	MÉTODOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO
1,2	<ul style="list-style-type: none"> • 1.3% proteína • 0.45% estabilizante • pH 11.5 	<ul style="list-style-type: none"> • tipo de estabilizante • tipo de proteína 	<ul style="list-style-type: none"> • sulfatado GC (carragenina) • carboxílico MC (CMC) • Prolac H • Hyfoama 88 	<ul style="list-style-type: none"> • % solubilidad • punto isoeléctrico • tensión superficial • índice de consistencia de la fase continua • % estabilidad y • % rendimiento de espumas 	análisis factorial y prueba de rango múltiple (Duncan)
3, 4	<ul style="list-style-type: none"> • proteína Hyfoama 88 • 1.3 % proteína • 0.45% estabilizante 	<ul style="list-style-type: none"> • pH • tipo de estabilizante 	<ul style="list-style-type: none"> • 3, 5, 7, 11.5 • carboxílico MC y sulfatado GC 	<ul style="list-style-type: none"> • % solubilidad • tensión superficial • índice de consistencia de la fase continua • % estabilidad y • % rendimiento de espumas 	factorial para cada mezcla proteína-polisacárido y prueba Duncan
5	<ul style="list-style-type: none"> • proteína Hyfoama 88 • 1.3% proteína • 0.45% estabilizante • tipo de sales: NaCl, Na₂SO₄, CaSO₄ 	<ul style="list-style-type: none"> • pH • fuerza iónica 	<ul style="list-style-type: none"> • 3, 5, 7, 11.5 • tres fuerzas iónicas por sal 	<ul style="list-style-type: none"> • % solubilidad • tensión superficial • índice de consistencia de la fase continua • % estabilidad y • % rendimiento de espumas 	factorial para cada mezcla proteína-polisacárido y prueba Duncan

2.3 METODOLOGÍA DE EXPERIMENTACIÓN



2.4.0 MATERIALES Y MÉTODOS

2.4.1 MATERIAS PRIMAS

Proteínas:

Prolac H: Hidrolizado de Caseína de Arancia, S.A. (PH)

Hyfoama 88: Hidrolizado de proteína de gluten de trigo de Quest Internacional, S.A. (H88).

Polisacáridos:

Carragenina Iota: Genuvisco J de Química Hércules, S.A. (GJ).

Carragenina Kappa: Genuvisco C de Química Hércules, S.A. (GC)

Carboximetil Celulosa: Macrocel de DEMACSA, S.A. (MC)

(13,36).

2.4.2 PREPARACION DE LAS DISPERSIONES

Proteína:

Las proteínas solas a una concentración de 1.3%, se dispersaron a la temperatura ambiente, disolviéndose con agitador magnético para evitar la formación de espuma excesiva.

Proteína-Polisacárido:

Los sistemas con proteína-polisacárido se elaboraron a concentración de 1.3% de proteína, y 0.45% de los estabilizantes utilizados. Primero, se adicionó el polisacárido al agua, poco a poco con el agitador magnético se dispersó por espacio de 15 minutos para luego adicionar la proteína agitando otros 15 minutos.

Con la carragenina se hicieron las pruebas de dispersión en frío y en caliente y se eligió aquella que dio mejores resultados en cuanto a rendimiento y estabilidad de espuma, para carboximetil celulosa todas las dispersiones se hicieron frío.

Proteína-Polisacárido- Sal:

Las dispersiones hechas con sales fueron elaboradas de la siguiente forma: primeramente se adicionó la sal al agua, agitándose por espacio de 10 minutos, luego se adicionó el estabilizante en la forma anteriormente descrita, para dar paso a la adición de la proteína.

Ajuste de pH:

El ajuste de pH se realizó con HCl 3M cuando todos los componentes estaban ya disueltos. El cambio del pH se evaluó con potenciómetro.

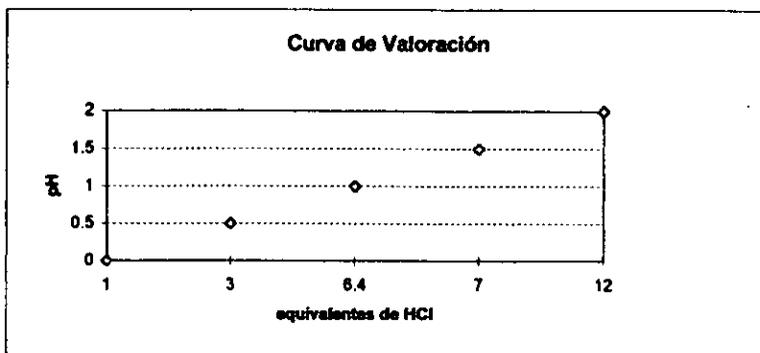
2.5.0 PRUEBAS REALIZADAS A DISPERSIONES DE PROTEÍNA

2.5.1 DETERMINACIÓN DEL PUNTO ISOELÉCTRICO

Para conocer el punto isoeléctrico de las proteínas usadas se hizo lo siguiente:

a) Determinación aproximada del punto isoeléctrico por medio de una titulación potenciométrica.

Se tituló con HCl 3M una muestra de cada una de las proteína tomando, como punto final de la titulación, el primer indicio de aparición de precipitado el cual es el punto isoeléctrico aproximado.



b) Prueba confirmatoria aplicando electroforésis en papel .

ELECTROFORÉISIS

Se utilizó como buffer el pH que se encontró por titulación y en el cual las proteínas precipitan, es de esperarse que éstas no deberán migrar hacia ningún lado, ya que en este pH la carga neta será cero en la disolución.

Reactivos:

- Un litro de solución buffer pH 4.4 (250 ml de italato ácido de potasio 0.2 M y 33 ml de NaOH 0.2 M, diluyendo en agua hasta completar el litro), para la proteína PH.
- Un litro de solución buffer pH 6.4 (250 ml de KH_2PO_4 0.2 M y 58 ml de NaOH 0.2 M, diluyendo en agua hasta completar el litro) para la proteína H88.

Material:

- Una cuba de electroforésis.
- Fuente de poder.
- Papel de acetato de celulosa.
- Solución de Ponceau (colorante) al 10%
- Ácido acético al 5%.

Procedimiento:

Se deposita una gota de la dispersión de proteína a 1.3% en el papel de acetato, luego de colocar el buffer en la cuba de electroforésis, se coloca el papel en la cuba dejándose por espacio de 30 minutos a 200 volts y 2.5 miliamperes. Luego de esto se revela el papel con solución de Ponceau, se deja por 10 minutos en la solución, se saca, se lava con ácido acético para quitar el exceso de colorante y se seca al medio ambiente; permitiendo observarse perfectamente la migración de las proteínas. Si existen proteínas mezcladas éstas se mueven en distintas direcciones debido a las diferencias en el punto isoeléctrico. En caso de no confirmarse el punto isoeléctrico se hacen más pruebas con valores de pH cercanos, hasta encontrar aquél en que no haya migración de la proteínas sobre el papel ya que será el mismo de la proteína y el buffer luego de la electroforesis (29,45).

2.6.0 PRUEBAS REALIZADAS EN LAS DISPERSIONES DE PROTEÍNA Y PROTEÍNA-ESTABILIZANTE, A DIFERENTE pH Y FUERZA IÓNICA.

2.6.1 DETERMINACIÓN DE LA TENSIÓN SUPERFICIAL

Equipos y Materiales:

- Aparato de tensión superficial Fisher para método capilar.
- Agitador magnético.
- Vasos de precipitados de 500 ml.
- Balanza analítica.
- Agua destilada.

El aparato de tensión superficial consiste básicamente de un tubo capilar de vidrio de borosilicato de 0.5 mm de diámetro, acoplado a una escala graduada de 0 a 10 cm con incrementos de 1 mm, una probeta con un brazo a un lado, abierta cerca de la tapa, un tapón plástico con un orificio para que pase el tubo capilar (19).

Operación:

Previamente se midió la densidad de la muestra a temperatura ambiente.

1. Colocar la cantidad de muestra en la probeta.
2. Insertar el tubo capilar dentro de la probeta de tal forma que el final del tubo capilar y la escala se sumerjan en el líquido.
3. Soplar hacia dentro del brazo que contiene la probeta para que la muestra se mueva completamente hacia arriba y abajo a lo largo del capilar para que las paredes del capilar se mojen.
4. Soplar por el brazo hasta que el menisco del capilar suba.
5. Dejar que la altura del menisco en el capilar alcance el equilibrio.
6. Usando la escala, medir la distancia (en centímetros) entre el menisco inferior en la probeta y el menisco del capilar.
7. Repetir los pasos 4, 5, y 6

8. Aspirar por el brazo de la probeta hasta que el menisco baje. Dejar que llegue al equilibrio.
9. Usando la escala, medir la distancia (en centímetros) entre el menisco superior e inferior.
10. Repetir los pasos 7, 8, 9.
11. Promediar las cuatro lecturas.

Por medio de la siguiente ecuación se obtiene el valor de tensión superficial:

$$\gamma = 1/2 \cdot h \cdot r \cdot d \cdot g.$$

γ = tensión superficial (dinas / cm)

h = diferencia de altura entre meniscos (cm)

r = radio del capilar (cm)

d = densidad de la muestra (g /cm³ a la temperatura de medición)

g = aceleración debida a la gravedad (cm / sec²)

2.6.2 CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA DE LA FASE CONTINUA (DISPERSIÓN DE PROTEÍNA, PROTEÍNA-POLISACÁRIDO, PROTEÍNA-POLISACÁRIDO-SAL)

La caracterización reológica se hizo en un viscosímetro Brookfield Rheoset con geometría de cono y plato; programado y manejado por computadora, por medio de software, donde se tiene control de la temperatura.

El equipo consta de lo siguiente:

- Baño de control de temperatura.
- Cabeza de medición
- Cono y plato
- Computadora

Operación:

1. Prender el baño, para control de temperatura

2. Cargar el software
3. Seleccionar la temperatura y cono a utilizar
4. Se ejecuta el autocero (para calibración del aparato).
5. Se ajusta la distancia entre el cono y el plato
6. Se selecciona el intervalo de rpm dentro del cual se obtenga un torque 100% ; $\langle T \rangle$ 10%
7. Se programa una operación ascendente-descendente en el intervalo de rpm fijado para determinar si la muestra es dependiente del tiempo.
8. Se coloca la muestra a trabajar, en éste momento empieza la caracterización
9. En caso de encontrarse dependencia del tiempo, la muestra es llevada al equilibrio a la máxima velocidad e inmediatamente se programa una operación descendente. Ya encontradas las condiciones para cada muestra, se corren tres réplicas.

El software del equipo proporciona los datos de esfuerzo de corte " τ " y velocidad de deformación " $\dot{\gamma}$ " (tanto en pantalla como impresos), los cuales se calculan con las ecuaciones:

$$\dot{\gamma} = \frac{2 \pi N}{\tan \theta}$$

R = radio del cono

T = torque

$$\tau = \frac{3 T}{2 \pi R^3}$$

θ = ángulo del cono

N = rpm

Con los valores de " τ " y " $\dot{\gamma}$ " para cada muestra, se busca el modelo reológico al que más se aproximan.

Potencia

$$\tau = \kappa \dot{\gamma}^n$$

$n > 1, \quad n < 1$

Bingham $\tau = \tau_y + \eta \dot{\gamma}$

Casson $\tau^{1/2} = \tau_y^{1/2} + \eta_a \dot{\gamma}^{1/2}$

Hershell B. $\tau = \tau_y + k \dot{\gamma}^n$

Newtoniano $\tau = k \dot{\gamma}$ $n = 1$, $k = \eta$

y se calcularon los parámetros correspondientes (20).

2.6.3 DETERMINACIÓN DE pH

Equipos y materiales:

- Potenciometro Corning modelo 7.
- Agitador magnético
- Vasos de precipitados de 250 m.
- Balanza analítica
- Agua destilada

Se disolvió la proteína a concentración 1.3% y se midió el pH inmediatamente a temperatura ambiente.

2.6.4. DETERMINACION DE LA SOLUBILIDAD

Para la determinación de la solubilidad de proteínas existen métodos como el Índice de Nitrógeno Soluble (NSI) y el Índice de Proteínas Dispersable (PDI). La definición de solubilidad de proteína difiere de la de nitrógeno soluble por la utilización del procedimiento Biuret para la primera y el de Kjeldahl para el segundo que cuantifica la cantidad de nitrógeno(43). La cuantificación de la proteína se hizo por el método de Biuret, que es específica para enlaces peptídicos. Donde la solución proteica adicionada de sulfato de cobre y sosa da una coloración, la cual tendrá una intensidad proporcional a la concentración en proteínas (2).

Equipo y reactivos:

- Reactivos y materiales comunes de laboratorio

Curva Patrón:

- Se pesan 100 mg de muestra (0.1 g).
- Se adicionan 6 ml de NaOH 1N agitando.
- Aforar con NaOH hasta 10 ml.
- Tomar alícuotas apropiadas de la dispersión de 0.1 a 0.5 ml para tener una concentración de proteína final de 0-0644 mg/ml.
- Llegar a un volumen de 1 ml.
- Adicionar 4 ml del reactivo Biuret.
- Agitar con vórtex.
- Tomar absorbancias a 540 nm, luego de mantener de 15-30 minutos para el desarrollo del color.

Con estos datos se construye la curva patrón (As v.s. Concentración de proteína).

Se construyó una curva patrón de absorbancia (As) v.s. concentración de proteína, con una proteína de referencia (Supro 620) de solubilidad conocida (17.2 % solubilidad), reportada por Morr, German, Kinsella (33).

Luego de hacer la gráfica de (As v.s. Concentración) y obtenerse casi una línea recta, se prosigue con el método.

1. Se pesan exactamente 500 mg de proteína.

2. Agregar agua destilada para disolución, llegando a un volumen de 40 ml.
3. Mezclar con agitador magnético.
4. Determinación rápida del pH y ajustar al pH deseado con HCl o NaOH 0.1 M.
5. Agitar por una hora.
6. Tomar el pH intermitentemente y ajustar si es necesario.
7. La dispersión se transfiere a un matraz de 50 ml.
8. Diluirla hasta la marca con el disolvente.
9. Agitar.
10. Una alícuota de la dispersión se centrifuga 30 min.
11. Filtrar a través del papel filtro Whatman No. 1.
12. Tomar alícuotas apropiadas del filtrado.
13. Con las alícuotas tomadas se lleva hasta un volumen de 1 ml.
14. Se le agregan 4 ml de reactivo Biuret.
15. Agitar con vórtex.
16. Tomar absorbancias a 540 nm luego de mantener 15-30 min para desarrollo de color.

Con los valores obtenidos de absorbancia se buscará en la curva patrón el valor de concentración de proteína (mg/ml) que corresponda con la absorbancia obtenida, teniéndose luego que aplicar la fórmula siguiente para obtener el % de solubilidad de la proteína (contando anteriormente con el % de proteína para cada muestra que se tomó del proveedor) :

% Proteína reportado para cada muestra:

• Supro 620	92.5%
• Hyfoama 88	40%
• Prolac H	65%

$$\% \text{ Sol. de Proteína} = \frac{\text{Concentración de proteína (mg/ml)} \times 50 \times 100}{\text{Peso de la muestra (mg)} \times \frac{\% \text{ de proteína de la muestra}}{100}}$$

Si los resultados de solubilidad de la proteína de referencia (Supro 620) son parecidos a los valores de solubilidad reportados por Morr, German y Kinsella (33) se precede igual para nuestras proteínas, ajustando solo las condiciones del pH y disolvente a utilizar, tomando como curva patrón la gráfica de absorbancia contra concentración de cada proteína (31,33).

2.7.0 PRUEBAS REALIZADAS A LAS ESPUMAS

2.7.1 DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES DE ESPUMADO

Equipos y Materiales:

- Batidora Oster de 12 velocidades.
- Tazón de batido.
- Cronómetro.
- Probetas de 2000 ml.
- Agitador magnético.
- Vasos de precipitados de 250 ml.
- Espátula

Las propiedades espumantes pueden dividirse en dos grupos:

- Rendimiento de espuma y
- Estabilidad de espuma.

La evaluación fué hecha por el método de batido-drenado propuesto por Patel, Stripp y Fry (37).

PROCEDIMIENTO :

Se preparan 250 ml de proteína-estabilizante al pH y fuerza iónica determinadas y siguiendo el procedimiento de dispersión indicado al principio, mezclando con el agitador magnético para formar la menor cantidad de espuma posible por 15 minutos, luego la dispersión se bate a la máxima velocidad por 10 minutos, se transfiere la espuma luego a una probeta, se miden los valores de espuma y líquido si existe, después de 30 minutos

se vuelve a medir el volúmen total de la espuma y del líquido y con éstos datos se calcula lo siguiente:

- Expansión de Espuma, rendimiento (FE)
- Estabilidad del Volúmen de la Espuma (FVS)
- Estabilidad del Líquido en la Espuma (FLS) (36) (37).

$$\% \text{ FE} = \frac{\text{Vol. inicial de espuma (ml)} - 250}{250} \times 100$$

$$\% \text{ FVS} = \frac{\text{Vol. de Espuma a los 30 minutos}}{\text{Vol. Inicial de Espuma Incluyendo Líquido}} \times 100$$

$$\% \text{ LD (líquido drenado)} = \frac{\text{Vol. del Líquido Drenado Después de 30 min.}}{250} \times 100$$

$$\% \text{ FLS} = 100 - \text{LD}$$

CAPITULO III

RESULTADOS

3.1.0 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y ESPUMANTES DE PROTEÍNAS SIN VARIACIÓN DE pH

A las proteínas a su pH natural se les evaluó el punto isoeléctrico, solubilidad, tensión superficial, comportamiento reológico, pH y las propiedades de rendimiento y estabilidad de las espumas formadas. Al poner en dispersión a las proteínas sin cambiar condiciones iniciales se hicieron evidentes los cambios que se generaron al cabo de las distintas condiciones a que se expusieron éstas. Las dispersiones fueron hechas a temperatura ambiente a concentración de 1.3 % (36). En el cuadro No. 1 se muestran los resultados, que son la media de tres determinaciones.

CUADRO 1. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LAS DISPERSIONES PROTEÍNA-AGUA.

	pH	PUNTO ISOELEC.	% SOLUB.	T.SUP. (Dina/Cm)	Kfc (Pa.S ^m)	* % F.E.	* % F.V.S.	* % F.L.S.
Hyfoama 88	11.5	6.4	59.97	59.61	_____	854.66	67..33	22.66
Prolac-H	11.5	4.4	73.97	74.56	_____	596	0.432	0

* F.E = expansión de espuma

* FVS = estabilidad del volumen de la espuma

* FLS = estabilidad del líquido de la espuma

PUNTO ISOELEC. = punto isoeléctrico

T. SUP. = tensión superficial

Kfc = índice de consistencia de la fase continua

Ambas proteínas debido a su forma de obtención (hidrólisis alcalina) presentan inicialmente pH alcalinos.

Se obtuvo el punto isoeléctrico de ambas proteínas, por principio por medio de una titulación y comprobando los valores encontrados por medio de una electroforésis en papel, teniendo que el punto isoeléctrico de Hyfoama 88 es 6.4 y el de Prolac-H es 4.4, por lo cual al pH en el que se encuentran ambas proteínas que es 11.5 se encuentran en forma aniónica y por tanto los grupos polares de los aminoácidos se repelen entre sí

teniendo mayor capacidad de retención de agua puesto que se pueden formar enlaces hidrógeno contribuyendo a la formación de la estructura específica y a solubilizar proteínas (2).

El índice de consistencia no pudo ser medido debido a la baja viscosidad presentada por las proteínas obteniendo lecturas poco confiables por ser muy pequeñas. En las espumas formadas a pesar de que ambas proteínas mostraron muy poca estabilidad, en especial la estabilidad del líquido (FLS), puede notarse una diferencia entre ellas (cuadro 1) y es que la proteína Prolac H presentó menor estabilidad en comparación con la proteína Hyfoama 88 que presenta también mayor rendimiento. El tamaño de burbuja formada por Hyfoama 88 es mas fino que el de Prolac-H, debido quizás a que Hyfoama 88 retiene más su estructura terciaria presentando mejores propiedades viscoelásticas y puede adaptarse a perturbaciones físicas sin ruptura (25) dando como resultado mayor estabilidad de espuma.

3.2.0 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y ESPUMANTES DE LOS SISTEMAS PROTEÍNA-POLISACÁRIDO SIN VARIACIÓN DE pH

Debido a la poca estabilidad se hace necesaria la utilización de gomas y tomando como referencia lo citado por diferentes autores (2, 4, 9,11, 12, 16, 17) respecto al papel que juegan los polisacáridos aniónicos en las propiedades funcionales de las proteínas se seleccionaron dos tipos de polisacáridos: carragenina (con grupos sulfatos) y carboximetil celulosa (con grupos carboxilo) para evaluar su efecto en las propiedades fisicoquímicas y espumantes de este sistema.

A continuación en el cuadro 2 se muestran resultados de las propiedades fisicoquímicas y espumantes de ambas proteínas con los polisacáridos utilizados, para la combinación proteína-genuvisco se hizo la dispersión en frío y caliente, según (36):

CUADRO 2. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y ESPUMANTES DE PROTEÍNAS-POLISACÁRIDOS

	% SOLUBILIDAD	T. SUP. (Dina/Cm)	Kfc (Pa.S ⁿ)	% F.E.	% F.V.S.	% F.L.S.
H88MC	56.14	64.53	1.247	686.69	100	100
H88GC-F	79.49	59.65	0.105	753.33	100	100
H88GC-C	*	*	*	244	100	98.66
PHMC	99.27	67.95	2.218	476	98.63	100
PHGJ-F	*	*	*	561.33	44.26	52
PHGJ-C.	72.98	64.72	8.318	672	100	100

*No se tienen estos valores debido a que se observó que las propiedades espumantes de estas combinaciones eran inferiores a las restantes por lo que ya no se les aplicaron las otras pruebas.

PHGJ-F significa Prolac H y Genuvisco-J dispersados en agua fría (ambiente)

PHGJ-C es Prolac-H y Genuvisco-J dispersos en agua caliente 35°C

H88GC-F es Hyfoama 88 y Genuvisco-C dispersos en agua fría (ambiente)

H88GC-C es Hyfoama 88 y Genuvisco-C dispersos en agua caliente 35°C

El Hyfoama 88 y el Prolac-H con Macrocel (H88MC y PHMC respectivamente) se dispersaron en frío. Se utilizó la selección realizada en la referencia 36 para trabajar las combinaciones a concentración 1.3 % de proteína, 0.45% de goma.

Se presentó un aumento considerable en la estabilidad de las espumas formadas con respecto a la proteína sola (cuadro 1 y 2). La presencia de los polisacáridos aumentó el índice de consistencia de la fase continua (Kfc) de manera que éste ya pudo ser evaluado. El aumento del Kfc es uno de los factores que contribuyeron al aumento de estabilidad (cuadro 1-2) aunque no es regla general que un alto valor de Kfc determine la estabilidad de las espumas, sino que se trata de un conjunto de factores en los cuales las proteínas podrán desarrollar estas propiedades espumantes o no según las condiciones existentes en el medio, presentando mayor o menor importancia estos factores para cada condición en específico.

Con respecto a la dispersión de la carragenina en frío o caliente, se observó que para Genuvisco-C (GC) fue mejor la dispersión en frío ya que en caliente disminuyó notablemente el rendimiento de la espuma. Para Genuvisco-J (GJ) la dispersión en frío bajó de manera importante la estabilidad.

Ambas proteínas dieron mejor rendimiento con carragenina (GC o GJ) que con Macrocel (MC). Al comparar con la proteína sola la presencia de estabilizante disminuyó su

rendimiento, para Hyfoama 88 con Genuvisco-C disuelta con agua caliente la disminución fue del 71% y para Hyfoama 88 con Genuvisco-C en frío del 22%. Para Prolac-H la disminución fue evidente con Macrocel (MC) de 20% y hubo un aumento de 18.7% con Genuvisco -J disuelta en agua caliente.

La tensión superficial para Hyfoama 88 aumentó con la presencia de Macrocel y disminuyó ligeramente con Genuvisco-C. Para Prolac-H la tensión superficial disminuyó con ambos polisacáridos. La utilización de polisacáridos en Prolac H mostró la tendencia de disminuir tensión superficial, a diferencia de lo que se presentó con Hyfoama 88. Debido a que en todos los casos la estabilidad (F.V.S) y (F.L.S.) fue prácticamente de 100% no puede concluirse sobre el efecto que tuvieron en la estabilidad los cambios en tensión superficial, puesto que aún en los casos en que la tensión superficial aumentó la estabilidad fue de 100%. Esto indica que si bien la tensión superficial es un factor importante en las propiedades espumantes, no es el único que las determina (cuadro 2).

En relación a la solubilidad con respecto a la proteína sola disminuyó para Hyfoama 88-Macrocel y aumentó con Hyfoama 88-Genuvisco-C. Para Prolac-H prácticamente no cambia con Genuvisco-J y aumenta notablemente con Macrocel. En Prolac-H y Macrocel donde el aumento de solubilidad fue importante, se presentó uno de los menores rendimientos de espuma (F.E.) con la presencia de polisacárido.

El pH del Prolac-H es de 11.5, lo que le da una carga negativa, con lo que la proteína se estira dando una solubilidad alta en agua. Al adicionar Macrocel el rendimiento disminuye un poco (cuadro 1 y 2), pero la estabilidad se mejora notablemente, la tensión superficial disminuye y la solubilidad aumenta bastante. A este pH, ambos componentes presentan cargas negativas, lo que hace que se repelen entre sí, con lo que se explica la alta solubilidad de la proteína en el sistema. Disminuye la expansión de la espuma con relación a la proteína sola, lo cual puede atribuirse a la carga neta del sistema (47). También el aumento de viscosidad del medio continuo causa la estabilidad de la espuma en el sistema y se puede considerar un sistema donde coexisten en solución en la misma fase o la formación de un complejo donde alternativamente existen proteína-polisacárido como complejos solubles (46).

En el caso del sistema formado por Prolac-H y Genuvisco-J se aumenta el rendimiento de la espuma con respecto a la proteína sola y la estabilidad se mejora, el porcentaje de solubilidad es casi el mismo que para la proteína sola y la tensión superficial disminuye por debajo del valor inicial del Prolac-H. Este aumento en estabilidad tan

notable del sistema Prolac-H y Genuvisco-J es explicable debido a que la viscosidad de la fase continua se eleva por efecto del Genuvisco, aún por arriba de lo obtenido con el Macrocel, haciendo que disminuya el drenado debido a que la mezcla se hace más elástica al formarse una película más flexible sin provocar la ruptura de la espuma. Se tiene gran expansión de la espuma y aumento de estabilidad porque existe gran exposición de los componentes proteína-estabilizante debido a la repulsión de cargas, causando que la proteína se encuentre totalmente desdoblada (25).

El análisis estadístico factorial, apoyado con la prueba de Duncan para comparación de diferencia de medias indican como tendencia general que, tanto el tipo de proteína como el de polisacárido influyen por separado y en interacción en las propiedades fisicoquímicas evaluadas, con excepción de la solubilidad que mostró que el tipo de goma no afecta resultados pues presenta valores muy cercanos entre sí y si es significativamente importante el tipo de proteína adicionada en los resultados.

3.3.0 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y ESPUMANTES DE LOS SISTEMAS PROTEÍNA-POLISACÁRIDO A DIFERENTE pH

A causa de que la estabilidad de las espumas es muy buena para las dos proteínas y sus respectivas gomitas utilizadas a pH 11.5 se elige una proteína y dos polisacáridos de acuerdo al mayor rendimiento de las espumas formadas. A partir de este momento se trabajó con la proteína Hyfoama 88 y dos polisacáridos Macrocel (MC) y Genuvisco-C (GC) a diferente pH y temperatura ambiente.

Los pH's que se manejaron fueron los siguientes: 3,5,7, y el obtenido luego de realizar la dispersión (pH 11.5), eligiendo éstos para abarcar una gama amplia de valores, que va desde los ácidos hasta los básicos y los cercanos al punto isoelectrico de la proteína.

En el cuadro 3 se muestran los resultados obtenidos luego de la variación de pH. Estos valores son una media de tres determinaciones.

CUADRO 3. PROPIEDADES FISCOQUÍMICAS Y ESPUMANTES DE SISTEMAS H88MC Y H88GC A DIFERENTE pH

pH	% SOLUBILIDAD	TENSION SUPERFICIAL (Dina/Cm)	Kfc (Pa.S ²)	% F.E.	% F.V.S.	% F.L.S.
H88MC11.5	56.14	64.03	1.24	686.6	100	100
H88MC-7	28.98	56.80	2.07	212.2	96.58	90.85
H88MC-6.4	*	*	2.67	175	94.46	85.07
H88MC-5	19.28	28.30	2.52	36.1	36.77	4.51
H88MC-3	17.88	57.67	7.18	846.6	96.45	74.29
H88GC-11.5	79.49	59.65	0.103	753.3	100	100
H88GC-7	55.06	62.99	0.107	717.9	86.07	22.64
H88GC-6.4	*	*	0.108	628.2	90.83	39.74
H88GC-5	51.31	63.93	0.069	905.9	72.7	44.55
H88GC-3	36.38	54.23	0.051	874.2	92.49	37.06

* No pudieron ser evaluados por presentar precipitación de proteína.

Para tener una referencia mas clara del efecto del polisacárido sobre la proteína al variar el pH, se evaluaron las propiedades fisicoquímicas de la proteína a diferentes pH sin estabilizante, lo que se muestra en el cuadro 4.

CUADRO 4. PROPIEDADES FISCOQUÍMICAS Y ESPUMANTES DE HYFOAMA 88 A DIFERENTE pH.

pH	% SOLUBILIDAD	TENSION SUP. (Dina/Cm)	% F.E.	% F.V.S.	% F.L.S.
Hyfoama88-11.5	77.21	59.8	854.66	67.33	22.66
Hyfoama88-7	43.91	44.6	445.6	43.30	88.09
Hyfoama88-6.4	*	*	278.25	41.88	9.31
Hyfoama88-5	39.50	39.2	8.88	6.31	9.90
Hyfoama88-3	34.84	40.2	87.42	0	0

* No se evaluaron estas propiedades por encontrarse en el punto isoelectrico y haber precipitación de proteína.

Al disminuir el pH disminuye la carga neta y la solubilidad de la proteína, así como el rendimiento y la estabilidad. La conformación de la proteína a pH menores o cercanos al punto isoelectrico no favorece su desdoblamiento para acomodarse en la interfase aire-agua la cual provoca bajo rendimiento, tampoco proporciona adecuadas propiedades de

película para la formación de espuma. A pH 11.5 presentó la proteína la mayor solubilidad, rendimiento y estabilidad, la tensión superficial también sigue el mismo comportamiento.

El tratamiento alcalino previo de la proteína ocasiona un rearrreglo entre los grupos sulfatos intermoleculares resultando para la proteína en mayor flexibilidad y por tanto alto rendimiento (26). La proteína a pH 11.5 lleva carga neta negativa, lo que ocasiona repulsión entre moléculas, se tiene alta solubilidad debido a que la proteína no tiene condiciones para asociarse consigo misma, lo cual favorece un rápido desdoblamiento y migración a la interfase, se produce una gran cantidad de espuma con película más fuerte que para los restantes pH pero en sí poco elástica, la baja viscosidad de la fase continua ocasiona poca estabilidad, en particular con drenado rápido . A pH 7 se está cerca del punto isoelectrico que es 6.4. La carga neta de la proteína es negativa pero con menor densidad de carga que a pH 11.5, lo cual ocasiona menor repulsión y mas tendencia a la asociación, la proteína está menos hidratada y su capacidad para dar un alto volumen de espuma disminuye. La película que puede ser poco elástica y el índice de consistencia (Kfc) pequeño ocasionan muy baja estabilidad. A pH 3 y 5 la proteína lleva una carga neta positiva. Este estado de carga ocasiona un deterioro notable en las propiedades espumantes de la proteína dándole un mínimo de estabilidad. El pH ácido por abajo del punto isoelectrico provoca precipitación de proteínas que se refleja en la disminución de solubilidad y pérdida de la poca estabilidad de la espuma hasta llegar a ser nula en pH 3. El siguiente cuadro muestra las propiedades fisicoquímicas de los polisacáridos a diferente pH con los cuales se trabajó con el objeto de ver como se comportaron y su influencia con la proteína en dispersión.

CUADRO 5. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE POLISACÁRIDOS A DIFERENTE pH.

POLISACÁRIDO	TENSIÓN SUPERFICIAL (Dina/Cm)	Kfc (PA.S ²)
MACROCEL-11.5	41.98	4.87
MACROCEL-7	41.98	8.19
MACROCEL-3	43.21	0.32
GENUVISCO-11.5	47.09	0.13
GENUVISCO-5	45.30	0.15
GENUVISCO-3	26.44	0.12

Cuando el MC y el H88 se encuentran juntos en dispersión el comportamiento del K_{fc} es inverso al encontrado para el MC solo, donde disminuye el K_{fc} al disminuir el pH y unidos, el K_{fc} aumenta al disminuir el pH que es un indicativo de una importante modificación de las propiedades de ambos componentes en el sistema estando en función de su relación de carga neta y el pH (16). El GC disperso a diferente pH presenta valores constantes y pequeños de K_{fc} que ya en dispersión con la proteína a pH básico resulta en K_{fc} ligeramente menores a los que se presentaron con el GC solo y al disminuir el pH por debajo del punto isoeléctrico 6.4 disminuye evidentemente el K_{fc}, indicando algún cambio por efecto de las condiciones en la coexistencia en el mismo sistema con la proteína.

Se nota que la tensión superficial del Macrocel se mantiene casi constante a lo largo de los diferentes valores de pH, el Genuvisco disminuye la tensión superficial a pH's menores de 5 lo que se nota en pH 3. El comportamiento de los sistemas Hyfoama 88-Macrocel y Hyfoama 88-Genuvisco (cuadro 3) es diferente entre sí y con respecto con la proteína sola (cuadro 4) y polisacárido solo (cuadro 5); ello debido a que en sistemas proteína-polisacárido aniónico las reacciones dependen de la relación de carga neta entre componentes, siendo función del punto isoeléctrico de la proteína, el pH del sistema y su relación de peso entre ambos, la diferencia entre polisacáridos que a pesar de ser ambos aniónicos su constante de disociación es diferente pues el Macrocel es una sal de ácido débil y el Genuvisco es fuertemente aniónico (16,17).

SOLUBILIDAD DE HYFOAMA 88 GENUVISCO-C A DIFERENTE pH

Se varió el pH al agregar HCl 1 N a temperatura ambiente. Los resultados muestran que la solubilidad va aumentando conforme aumenta el pH (gráfica 1). En los pH ácidos la densidad de carga de la proteína es altamente positiva y la del estabilizante negativa, existe una interacción de cargas muy importante que hace que pueda formarse un complejo con carga neta mínima y de baja solubilidad que va aumentando conforme se aumenta el pH. En pH 6.4 el complejo formado es soluble con carga neta negativa; para pH 11.5 tanto la proteína como el polisacárido presentan cargas netas negativas por lo cual ambos componentes se repelen entre sí encontrándose la proteína muy desdoblada debido a su carga (16). La presencia en el medio de dos polímeros con carga

negativa en este pH (11.5) ocasiona cambio conformacional que favorece el rendimiento y estabilidad de la espuma formada (gráficas 5-7) suponiendo que sin interacción de componentes se formó un sistema donde ambos coexisten en solución en la misma fase o se forma un complejo donde alternativamente existen la proteína-polisacárido como complejos solubles (46).

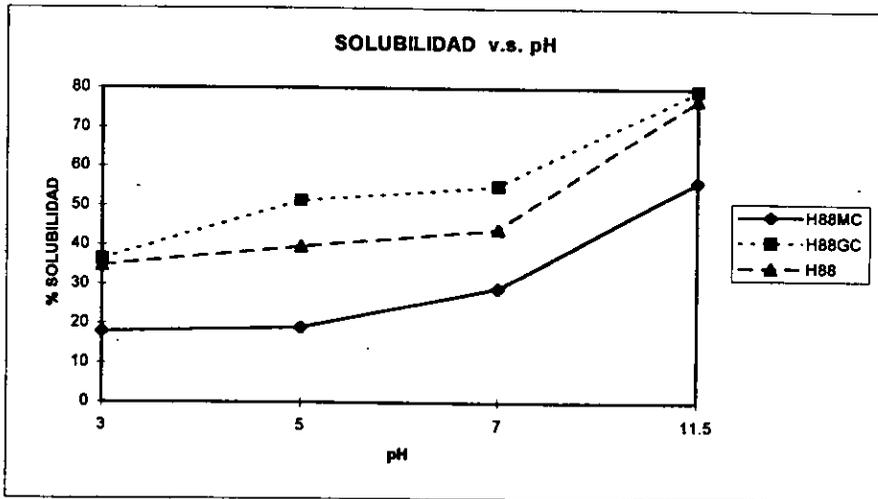
El GC aumentó la solubilidad de la proteína en todo el intervalo de pH's manejados. Lo anterior coincide con lo reportado por Tolstoguzov (46) referente a que cuando se mezclan proteínas y polisacáridos sulfatados a pH alto y luego se baja el pH abajo del punto isoeléctrico, se forman complejos solubles (Complejo T) a diferencia de cuando la mezcla se hace directamente a pH bajo, se forman complejos insolubles (Complejo M).

SOLUBILIDAD DE HYFOAMA 88 MACROCEL A DIFERENTE pH

La solubilidad se incrementó al aumentar el pH, presentándose la solubilidad mas alta a pH 11.5 (gráfica 1) en pH 5 probablemente no se permite la exposición de los grupos hidrofílicos ni el desdoblamiento de la proteína, dando como resultado que la espuma y estabilidad sean mínimas.

A todos los valores de pH la solubilidad fue menor con MC que con GC. Se presenta el mismo comportamiento que con Hyfoama 88-Genuvisco-C debido a que los dos polisacáridos son aniónicos. Esto influenciado quizás por la diferencia en el grado de ionización de las sales del Macrocel que forman electrolitos débiles en contraste con el Genuvisco que tiene mayor grado de ionización, resultando evidente en este pH (16,34).

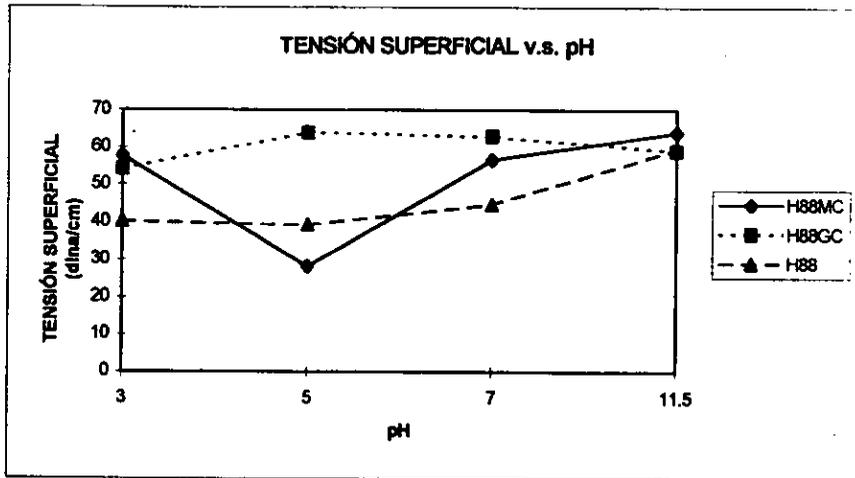
GRÁFICA 1



TENSIÓN SUPERFICIAL DE HYFOAMA 88 GENUVISO C A DIFERENTE pH

La tensión superficial en los pH extremos 3 y 11.5 disminuye con respecto a los pH 5 y 7 (gráfica 2). En el pH 7 aumenta la tensión superficial en disolución, al respecto Kitabatake y Doi (27) reportan que la tensión superficial es una propiedad física importante para las espumas, siendo conocido que las soluciones con baja tensión superficial presenta buenas propiedades espumantes, sin embargo, esta afirmación se ha modificado ya que los mismos autores afirman que el valor absoluto de la tensión superficial es importante pero que también es determinante la velocidad con que disminuye, o sea la tensión superficial dinámica.

GRÁFICA 2



TENSIÓN SUPERFICIAL DE HYFOAMA 88 MACROCEL A DIFERENTE pH

A lo largo de todos los pH en el más básico (11.5), se obtuvo el valor de tensión superficial más alto y el más bajo fue el pH 5.

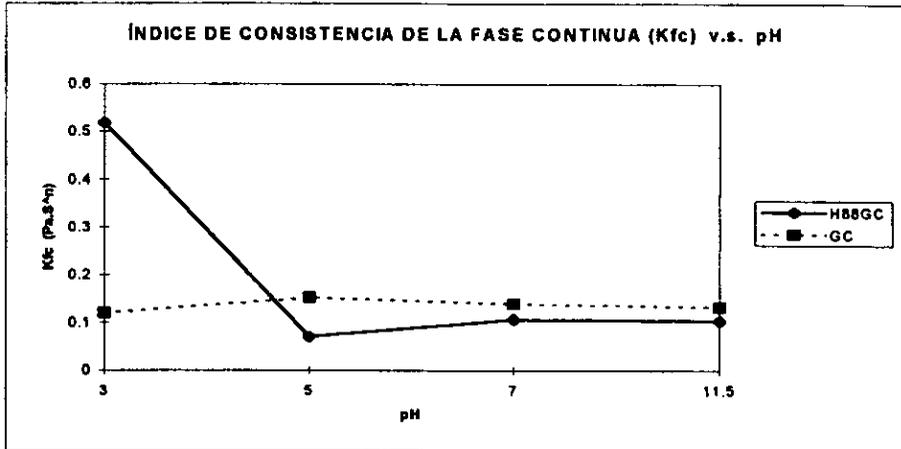
No encontrándose una tendencia general para los dos polisacáridos con la proteína (gráfica 2). Bibliográficamente (27) se afirma que las proteínas con baja tensión superficial no siempre presentan altos valores de espumado.

ÍNDICE DE CONSISTENCIA DE LA FASE CONTÍNUA (Kfc) DE HYFOAMA 88 GENUVISCO-C

Al aumentarse el pH disminuye drásticamente el índice de consistencia de Hyfoama 88-Genuvisco C pero aún así es medible esta propiedad, presentando un comportamiento distinto del GC solo en todos los pH donde el comportamiento fue casi constante. El polisacárido se comporta de manera distinta al agregar proteína por la interacción de ambos componentes, su reacción depende ya de la relación de carga neta entre la proteína-carragenina, estando en función del pH del sistema. En la gráfica se

puede observar que en la cercanía del punto isoeléctrico de la proteína sola (pH 6.4) disminuye el Kfc (gráfica 3).

GRÁFICA 3



ÍNDICE DE CONSISTENCIA DE LA FASE CONTINUA (Kfc) Pa.S^n				
	3	5	7	11.5
H88GC	0.519	0.0899	0.107	0.1031
GC	0.12	0.152	0.14	0.1322

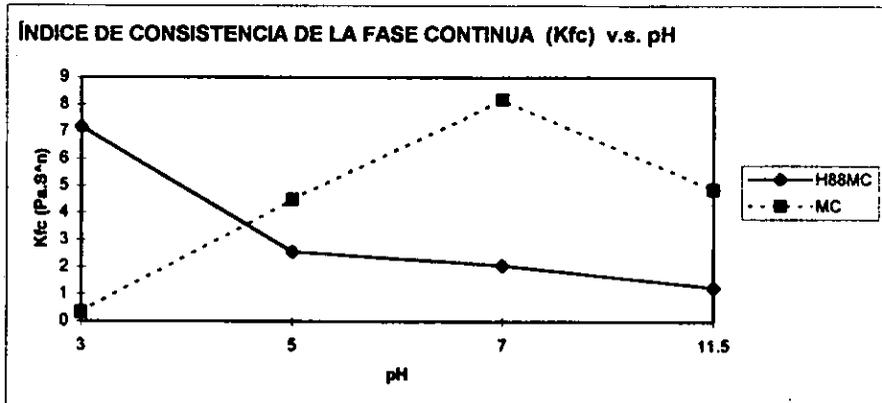
ÍNDICE DE CONSISTENCIA DE LA FASE CONTÍNUA (Kfc) DE HYFOAMA 88 MACROCEL

El sistema Hyfoama 88-Macrocel disminuye su Kfc al aumentar el pH de forma muy notoria, siendo su máximo en pH 3 lo que indica que la viscosidad del sistema esta en función del pH, al disminuir el pH por debajo del punto isoeléctrico el complejo presenta menor solubilidad pero contrario a ello la viscosidad aumenta, que indica que el Kfc no está determinado solo por la solubilidad sino también por la relación de cargas del medio.

En la gráfica 4 se ve que el Kfc del Macrocel aumenta al aumentar el pH, teniendo su máximo a pH 7. La acidificación abajo de pH 5 reduce grandemente la viscosidad y la estabilidad de la solución (16). A pH 3 las espumas del sistema H88MC formadas

presentan el mayor rendimiento y buena estabilidad debida en parte al Kfc alto y a un cambio en conformación de los componentes ocasionados por su estados de carga.

GRÁFICA 4

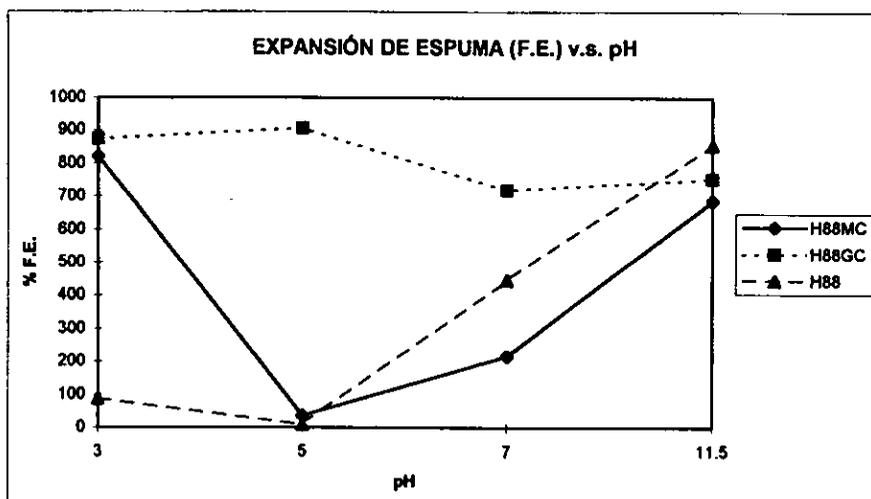


INDICE DE CONSISTENCIA DE LA FASE CONTINUA (Kfc) Pa.S ⁿ)				
	3	5	7	11.5
H88MC	7.181	2.562	2.076	1.249
MC	0.324	4.5	8.19	4.871

PROPIEDADES ESPUMANTES DE HYFOAMA 88-GENUVISCO-C

El rendimiento de espuma del sistema H88GC mejoró en todos los pH's con respecto a la proteína sola, excepto para el pH 11.5 con la tendencia general que al aumentar pH disminuye rendimiento (gráfica 5).

GRÁFICA 5



En el pH 3 se tuvo alto rendimiento de espuma debido a que el complejo de carga neta mínima que se forma en estas condiciones permite el desdoblamiento de los componentes proporcionando volumen de espuma alto.

A pH 5 se presentó el mayor rendimiento de la espuma comparado con la proteína sola y a los otros pH's junto con un alto valor de F.V.S hace suponer la existencia de un complejo que presenta buenas propiedades de interfase, ya que a pesar del bajo K_{fc} y alta tensión superficial se tienen buenos resultados; solo presentando bajo F.L.S.

En pH 7 se encontró bajo rendimiento y la menor estabilidad del volumen en la espuma (F.L.S.) por la cercanía con el punto isoeléctrico de la proteína que afectó las propiedades del complejo existente.

En pH 11.5 no existe interacción de componentes debido a la carga neta de ambos, aún así existió una conformación que favoreció rendimiento y estabilidad aunque el tamaño de burbuja fue grande y poco homogéneo.

La estabilidad de la espuma (F.V.S.) aumentó notablemente a todos los pH's con respecto a la proteína sola, con mínimo en pH 5 y valores máximos a pH 11.5 y 3 (gráfica 6). La estabilidad del líquido en la espuma (F.L.S.) aumentó

moderadamente en todos los pH's con respecto a la proteína sola con mínimo en pH 7 y máximo en pH 11.5 (gráfica 7).

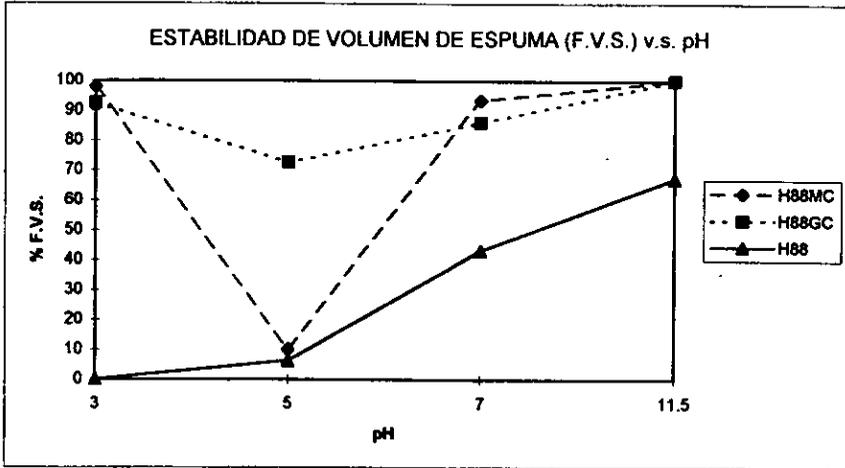
La estabilidad de las espumas en pH 3 no es muy buena quizás por la baja solubilidad presentada en este pH.

En pH 6.4 debido a que la proteína se encuentra en su punto isoelectrico, la carga de ésta es cero y el polisacárido tiene carga negativa, esto sugiere la posibilidad de interacción entre ambos, con lo que disminuye la autoasociación de la proteína, permitiendo su desdoblamiento con lo que aumenta el Kfc del medio dando como resultado buena estabilidad de espuma F.V.S.

En pH 7 el sistema presentó mayor estabilidad F.V.S. y rendimiento que la de la proteína sola que tiende a autoasociarse y tiene dificultades para desdoblarse, por la cercanía con el punto isoelectrico. Esta autoasociación se evita al agregar el polisacárido, ya que la proteína con una pequeña densidad de carga negativa podrá asociarse con el genuvisco, que tiene carga neta negativa pudiendo efectuarse cierta interacción de componentes para formar un complejo soluble con carga neta negativa que aumenta el Kfc del medio y la solubilidad provocando mayor estabilidad que con la proteína sola; pudiendo existir interacciones de los iones sulfato del Genuvisco C con los grupos cargados de las proteínas (2).

A pH 11.5 se tiene 100% de estabilidad de espuma y líquido. Se observa que a pesar de tener un Kfc muy parecido al del pH 7 (gráfica 3) la estabilidad del líquido es mucho mayor, atribuible al estado de carga de los componentes. Y si bien el medio viscoso no es tan alto es suficiente para mantener la estabilidad de las espumas formadas.

GRÁFICA 6



PROPIEDADES ESPUMANTES DE HYFOAMA 88-MACROCEL

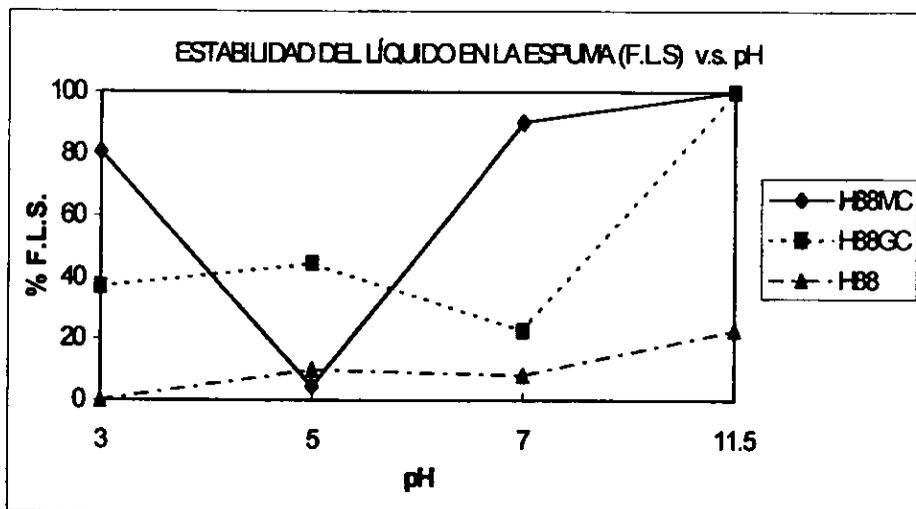
El sistema H88MC disminuyó rendimiento de espuma con respecto a la proteína sola a todos los pH's excepto en el 3 (gráfica 5).

La estabilidad de la espuma y líquido aumentó mucho con respecto a la proteína sola, con excepción del pH 5 que tuvo la misma estabilidad que sin polisacárido (gráficas 6-7).

En el pH 3 se encuentra el sistema a un pH menor del punto isoelectrico, lo que da a la proteína una carga neta positiva y el MC se encuentra con un ligero grado de ionización o no ionizado, lo que da lugar a una ligera interacción para la formación de un complejo con carga neta positiva, la carga neta del complejo proteína-polisacárido es mayor que a pH 5, lo que ocasiona que se estire, aumentando el Kfc dando el volumen más alto de espuma y estabilidad bastante buena, atribuible en parte al alto Kfc del sistema y a las propiedades del complejo formado.

En pH 5 la densidad de carga es menor, no se permite la exposición ni estiramiento de grupos hidrofílicos, resultando en una formación de espuma y estabilidad mínimos a pesar de que el K_{fc} es alto pero menor que a pH 3. Pasado el pH crítico (pH 5) el rendimiento de la espuma aumenta, al igual que la estabilidad de las espumas.

GRÁFICA 7



En pH 7 el sistema está un poco por arriba del punto isoeléctrico, existiendo para la proteína carga neta negativa pero con mucho menor densidad de carga que a pH 11.5, por tanto existen aún cargas positivas que pueden causar cierto grado de interacción con el polisacárido que tiene carga negativa creando una ligera interacción de componentes que forman un complejo relativamente soluble con carga neta negativa que mejora las propiedades espumantes evidentemente con respecto al pH 5.

En el caso del pH 11.5 se tiene un alto rendimiento de espuma (gráfica 5) y estabilidad (gráficas 6-7) debido a que la proteína está desdoblada, la estabilidad es excelente debido en parte al alto K_{fc} que actúa disminuyendo el drenado del líquido y también a la conformación de los componentes ocasionado por la repulsión de cargas

pues no hay interacción alguna entre proteína y polisacárido. Se supone que el tipo de sistema es una solución homogénea estable donde la proteína y polisacárido no interactúan entre sí o alternativamente existen como complejo soluble (46).

Luego del análisis estadístico factorial y prueba Duncan realizados en los sistemas H88GC y H88MC a diferente pH los resultados indican que existe un efecto muy marcado sobre las propiedades fisicoquímicas y espumantes al variar el pH y el tipo de polisacárido, aunque se siga un comportamiento similar, pues ambos polisacáridos son del tipo aniónico. El Macrocel es sal de un ácido débil por lo que las interacciones con la proteína son menores que las del Genuvisco que presenta mayor carga neta negativa, el Genuvisco es una sal de un ácido fuerte (16,17), siendo el GC más reactivo que el MC.

A cualquier pH ambos polisacáridos en sistema con la proteína mejoraron notablemente la estabilidad de las espumas con respecto a la proteína sin polisacárido, siendo excepción el sistema H88MC en pH 5 que fue inferior. Comparando los dos sistemas se tuvo que :

Se presentaron los mayores rendimientos de espuma a todos los pH en el sistema H88GC.

Los sistemas H88MC tuvieron Kfc mayores a los presentados por H88GC a lo largo de los diferentes pH que resultó en general en mayor estabilidad. La mayor estabilidad de espuma (F.V.S.) y líquido (F.L.S.) a pH 3 y 7 se tuvo en el sistema H88MC, en pH 5 el sistema H88GC tuvo mejor estabilidad y en pH 11.5 ambos sistemas fueron estables.

Los valores obtenidos de tensión superficial no resultaron del todo confiables debido a la dificultad de medición causado por la viscosidad, sobre todo para el sistema Hyfoama 88-Macrocel, mas aún así se realizaron. Motivo por el cual se decide no evaluar esta propiedad en las etapas siguientes.

3.4.0 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y ESPUMANTES DE LOS SISTEMAS PROTEÍNA-POLISACÁRIDO A DIFERENTE pH Y FUERZA IÓNICA

HYFOAMA 88 y MACROCEL - NaCl

Para NaCl se manejaron tres fuerzas iónicas 0.01, 0.05, y 0.1 Mol/Kg. a diferente pH.

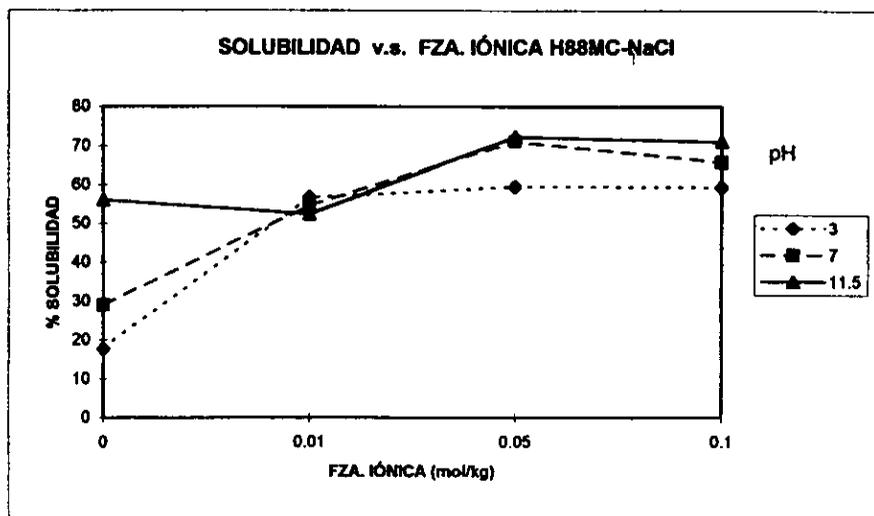
SOLUBILIDAD EN INTERACCIÓN CON FUERZA IÓNICA

Gráfica 8:

pH 11.5

La solubilidad aumenta al aumentarse la fuerza iónica presentando su máximo de solubilidad a la fuerza iónica 0.05 Mol/Kg. Inicialmente es en este pH donde se presentó la mayor solubilidad.

GRÁFICA 8



pH 7

La solubilidad se incrementa al aumentar la fuerza iónica y es mas notorio que en pH 11.5, con máximo en la fuerza iónica 0.05 Mol/Kg. luego disminuye al afectarse su estado de carga y la hidratación del sistema adquiriendo una estructura tal que ocasiona un bajo rendimiento de espuma, en la fuerza iónica mayor empieza probablemente la insolubilización por salado pues esta propiedad empieza a disminuir. La presencia del NaCl aumentó la solubilidad del complejo.

pH 3

La solubilidad aumenta notablemente con la presencia de sales pero en valores por abajo de los otros dos pH para todas las fuerzas iónicas. Las sales aumentan la solubilidad del complejo (disminuyen su carga neta positiva) pero el cambio de estructura no favorece la estabilidad de la espuma.

ÍNDICE DE CONSISTENCIA DE LA FASE CONTÍNUA (Kfc)

Gráfica 9:

pH 11.5

El Kfc disminuye al aumentar la fuerza iónica a partir de 0.05 mol/kg. Al no haber interacción de componentes en este pH el NaCl afectó la viscosidad de los componentes con la consecuente disminución de la viscosidad del Macrocel (16).

pH 7

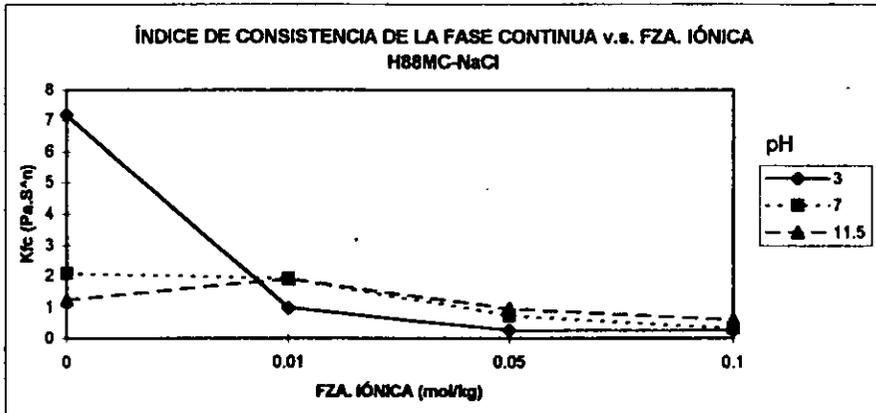
Se tiene un efecto similar que en el pH anterior. El Kfc disminuye al aumentar la fuerza iónica conforme se inhibe mas la formación del complejo o se altera su estado de carga y por tanto su conformación.

pH 3

El comportamiento es parecido a los otros pH, pero con notable disminución del Kfc al agregar sales aún en la concentración menor y sus valores están por debajo de los otros pH, lo cual hace suponer que el estado de carga generado a estas

condiciones cambia la conformación del complejo o probablemente lo inhiba y el sistema se separe en dos fases por efecto de la fuerza iónica y en especial a la más alta (46).

GRÁFICA 9



ÍNDICE DE CONSISTENCIA DE LA FASE CONTINUA (K _{fc}) Pa.S ⁿ					
	0	0.01	0.05	0.1	
3	7.181	0.981	0.279	0.259	
7	2.076	1.915	0.747	0.329	
11.5	1.249	1.901	0.963	0.621	

PROPIEDADES DE ESPUMADO (F.E., F.V.S., F.L.S)

Gráficas 10-12:

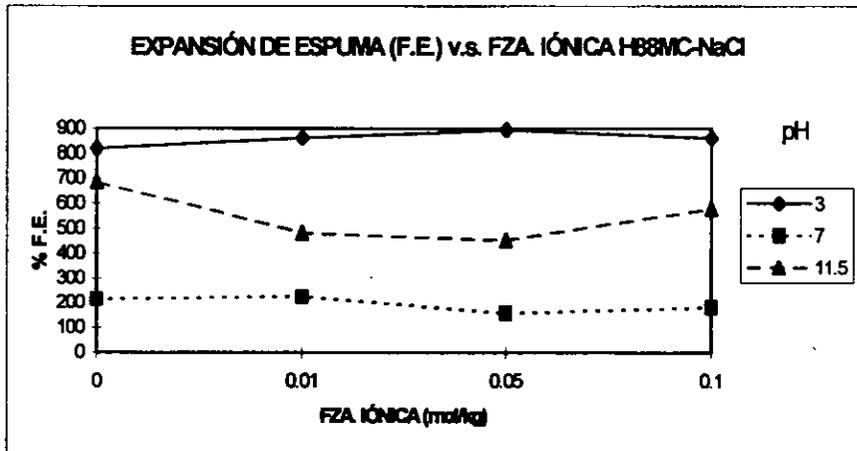
pH 11.5

La expansión de la espuma disminuye al adicionar NaCl y aumentar la fuerza iónica, aunque esta disminución no es muy drástica, debido a un cambio estructural de la proteína por efecto de la sal; a este pH no hay interacción entre proteína y polisacárido. El efecto del NaCl en la estabilidad es mínimo.

pH 7

La disminución del K_{fc} por la presencia de NaCl ocasiona la pérdida de estabilidad observada conforme aumenta la fuerza iónica. En cuanto a la expansión de la espuma en la fuerza iónica mas baja se tiene un valor muy parecido al sistema sin sales.

GRÁFICA 10

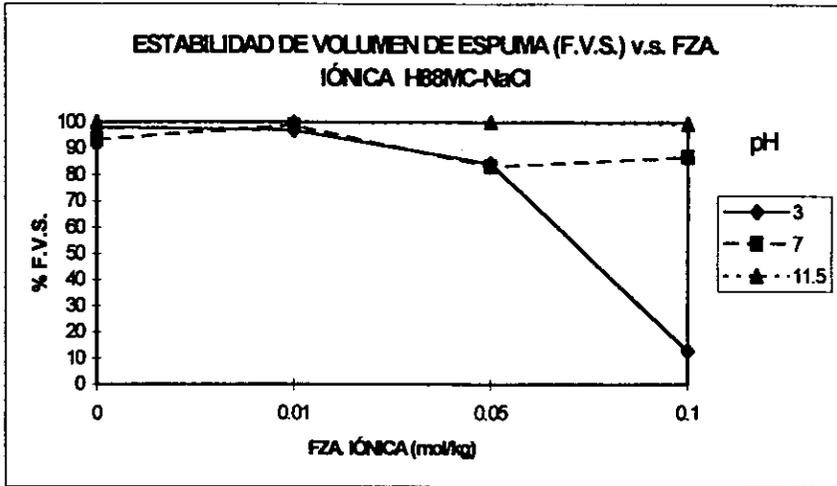


pH 3

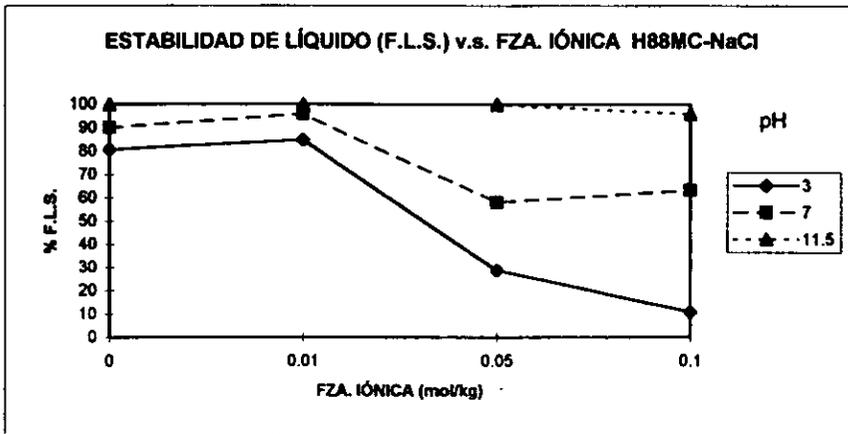
En las tres fuerzas iónicas se tiene rendimiento de espuma alto y constante. Al aumentar la fuerza iónica se disminuye drásticamente la estabilidad de la espuma probablemente por el descenso de viscosidad a pesar de que el sistema aumenta su solubilidad.

Para pH 3 y 7 la disminución de K_{fc} afecta la estabilidad de las espumas no así en pH 11.5 donde la estabilidad se presenta casi inalterable (arriba del 90%), puede deberse a que el estado de carga que impera en este pH y el sistema de solución homogénea sin interacción de componentes no permiten la desestabilización de las espumas a pesar de la disminución de K_{fc} .

GRÁFICA 11



GRÁFICA 12



HYFOAMA 88 y MACROCEL - Na₂SO₄

Se manejan para esta sal tres fuerzas iónicas 0.03, 0.15, y 0.3 mol/kg.

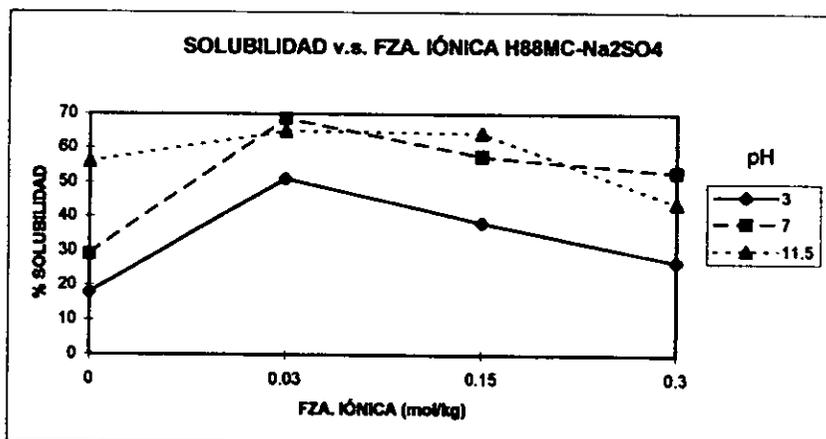
SOLUBILIDAD

Gráfica 13:

pH 11.5

La solubilidad aumenta al adicionar Na₂SO₄ excepto para la fuerza iónica mas alta donde se tiene un valor menor de solubilidad que para el sistema sin Na₂SO₄; esta disminución se explica porque a esta fuerza iónica se empieza a dar el efecto de insolubilización por salado, para las otras dos fuerzas iónicas la proteína es mas soluble pues existe mayor contacto con el disolvente (12).

GRÁFICA 13



pH 7

Al adicionar sal la solubilidad aumenta notablemente para las tres fuerzas iónicas por efecto de la sal con su máximo en la fuerza iónica menor luego disminuye al aumentar fuerza iónica pero aún así es alta.

pH 3

Se dio una tendencia parecida con el anterior pH, pero por debajo de éste. La solubilidad aumenta de manera importante cuando se adiciona Na_2SO_4 , que modifica el estado de carga del complejo soluble de forma positiva para la solubilidad.

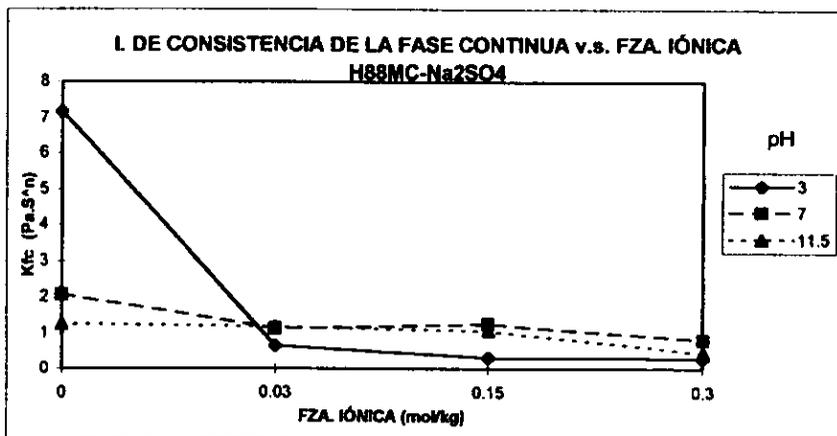
ÍNDICE DE CONSISTENCIA DE LA FASE CONTÍNUA (Kfc)

Gráfica 14:

pH 11.5

El Kfc disminuye cuando se aumenta la fuerza iónica, por un cambio en conformación de la proteína debido a la adición de sal siendo más evidente en la fuerza iónica mayor.

GRÁFICA 14



I. CONSISTENCIA DE FASE CONTINUA (Pa.S ⁿ) H88MC-Na ₂ SO ₄				
	0	0.03	0.15	0.3
3	7.181	0.64	0.309	0.286
7	2.076	1.126	1.249	0.801
11.5	1.249	1.174	1.062	0.44

pH 7

El valor de K_{fc} disminuye a la mitad al agregar esta sal, con un mínimo en la fuerza iónica más alta debido al cambio conformacional operado en el complejo proteína-polisacárido por efecto de sal y de carga que no resulta favorable para esta propiedad.

pH 3

El sistema sin sales tiene un alto K_{fc} que al agregar sal se hace casi nulo y va disminuyendo al aumentar la fuerza iónica de forma evidentemente drástica.

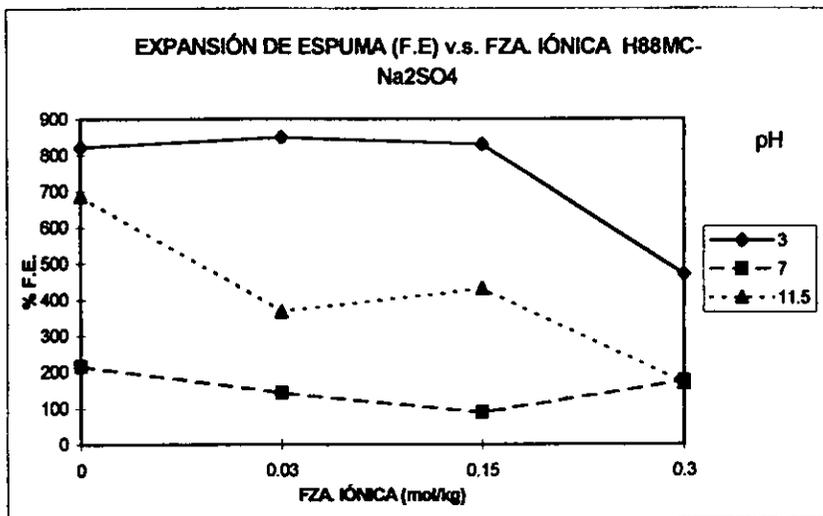
PROPIEDADES ESPUMANTES (F.E., F.V.S., F.L.S.)

Gráfica 15-17:

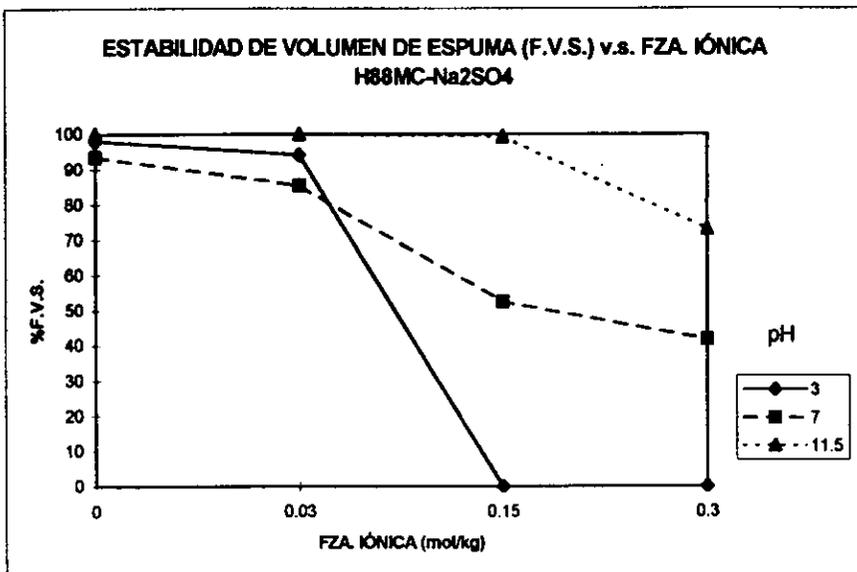
pH 11.5

La expansión de la espuma disminuye en este pH al aumentar la fuerza iónica, en cuanto a la estabilidad de espuma y líquido a la fuerza iónica mayor esta propiedad se disminuye pero en las otras fuerzas iónicas se presentan valores de casi el 100% en estabilidad, ello apoyado por una viscosidad y solubilidad moderadamente alta. La sal influyó negativamente sobre el desdoblamiento de las proteínas disminuyendo la expansión de espuma al incrementarse la fuerza iónica.

GRÁFICA 15



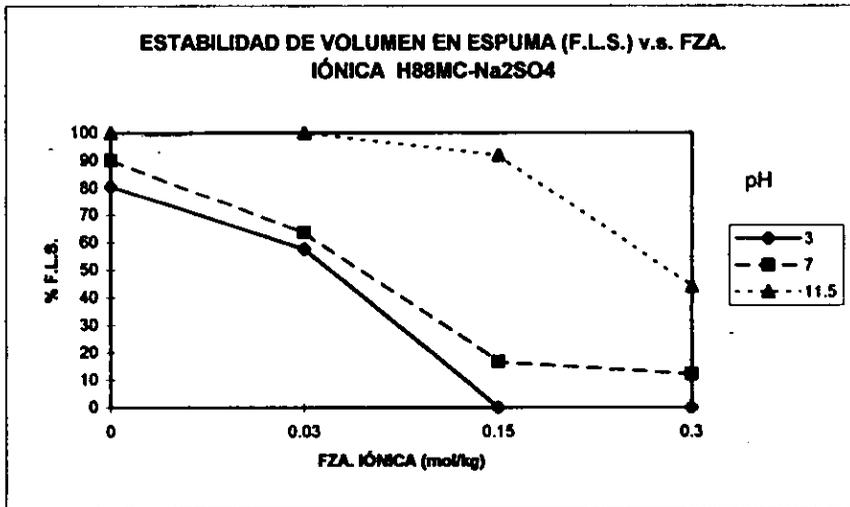
GRÁFICA 16



pH 7

El rendimiento se mantuvo bajo y constante, los resultados muestran que al aumentar la fuerza iónica disminuyen los valores de estabilidad de líquido y espuma, siendo evidentemente claro este comportamiento en la fuerza iónica mayor, los valores obtenidos en general son menores que los del pH 11.5 a pesar de presentar un K_{fc} mayor.

GRÁFICA 17



pH 3

La expansión de la espuma para las dos primeras fuerzas iónicas es ligeramente mayor que el sistema sin sales que fue buena, en la fuerza iónica mayor disminuye casi a la mitad, aunque con respecto a los otros pH la expansión es muy alta. La estabilidad de la espuma y líquido disminuyó al aumentar la fuerza iónica debido al efecto de las sales en la configuración del complejo proteína-polisacárido o a que se inhibe la formación del mismo, además de que se disminuye notablemente el K_{fc} y la proteína sola a este pH no es estable (46).

HYFOAMA 88 MACROCEL-CaSO₄

SOLUBILIDAD

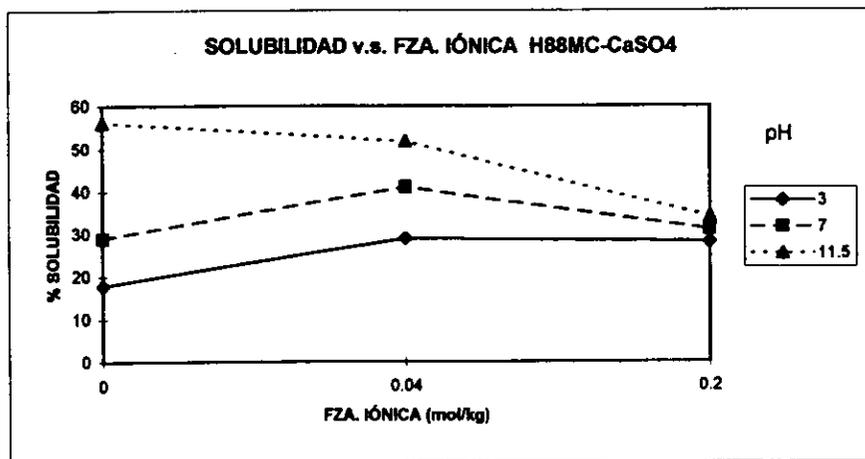
Gráfica 18:

El pH que tiene la solubilidad mas alta del sistema resultó ser el de 11.5 a las tres fuerzas iónicas y esta propiedad disminuye al disminuir el pH. A la fuerza iónica mas alta (0.4) los componentes empezaron a precipitar impidiendo la medición, por tal no se evaluó solubilidad en esta fuerza iónica.

pH 11.5

La solubilidad de la proteína disminuye al ir aumentando la fuerza iónica debido quizás a la formación de un complejo poco soluble donde el calcio fue el elemento que actuó como mediador en la unión de polisacárido y proteína, otra posibilidad es que no haya interacción y la disminución de solubilidad se deba al efecto de la sal al disminuir la hidratación de la proteína.

GRÁFICA 18



pH 7

La solubilidad presenta valores mayores que sin sales debido a que el complejo que se forma es diferente por los iones calcio, éste complejo mas soluble produce un mayor rendimiento de espuma .

pH 3

La solubilidad aumenta un poco por arriba del valor del sistema sin sales. En referencia con los otros pH en éste se presentaron los valores de solubilidad mas bajos.

ÍNDICE DE CONSISTENCIA DE LA FASE CONTÍNUA (Kfc)

Gráfica 19:

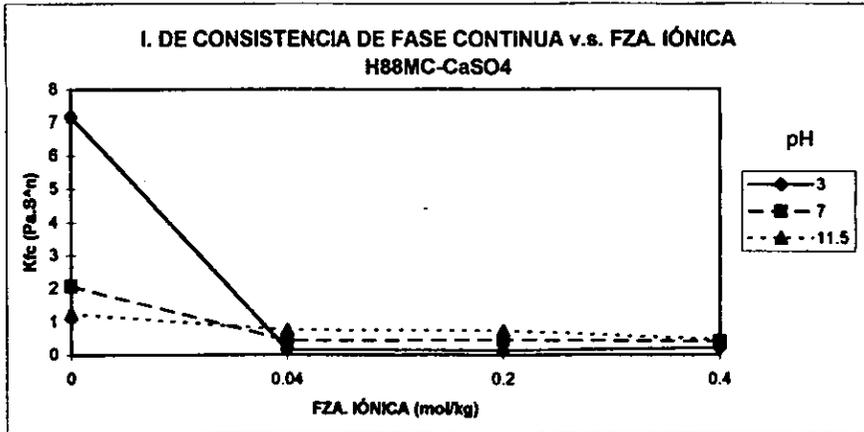
pH 11.5

Cuando aumentó la fuerza iónica disminuyó el Kfc, lo que puede deberse al efecto causado por el descenso de la solubilidad del sistema, la hidratación de los componentes no es completa pues hay competencia por el agua por aumento en la densidad de carga o a la formación de un complejo insoluble.

pH 7

En este pH se tuvo la misma tendencia que en el pH anterior aunque la disminución del Kfc fue mas notoria a la fuerza iónica mas baja en relación al sistema sin sales. Esto puede atribuirse a la formación de un complejo en el que intervienen los iones Ca^{++} , con diferentes propiedades que el complejo sin sales.

GRÁFICA 19



I. CONSISTENCIA DE FASE CONTINUA (Pa.S ⁿ) H88MC-CaSO ₄				
	0	0.04	0.2	0.4
3	7.181	0.171	0.124	0.215
7	2.076	0.433	0.446	0.404
11.5	1.249	0.747	0.732	0.46

pH 3

En este pH la disminución de K_{fc} fue mas drástico que en los otros pH puesto que el K_{fc} inicial era el mas alto de todos y al aumentar la fuerza iónica disminuye este por el cambio conformacional y de carga generado por la adición de la sal.

PROPIEDADES ESPUMANTES (F.E., F.V.S., F.L.S)

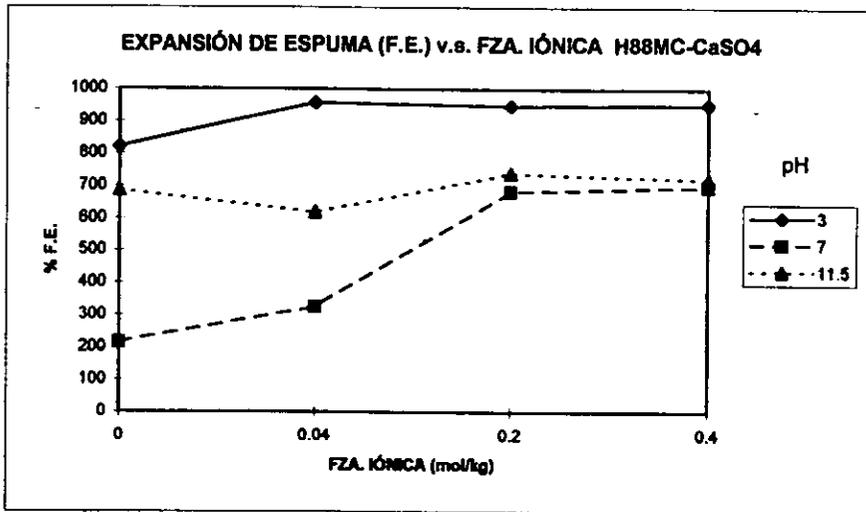
Gráficas 20-22:

pH 11.5

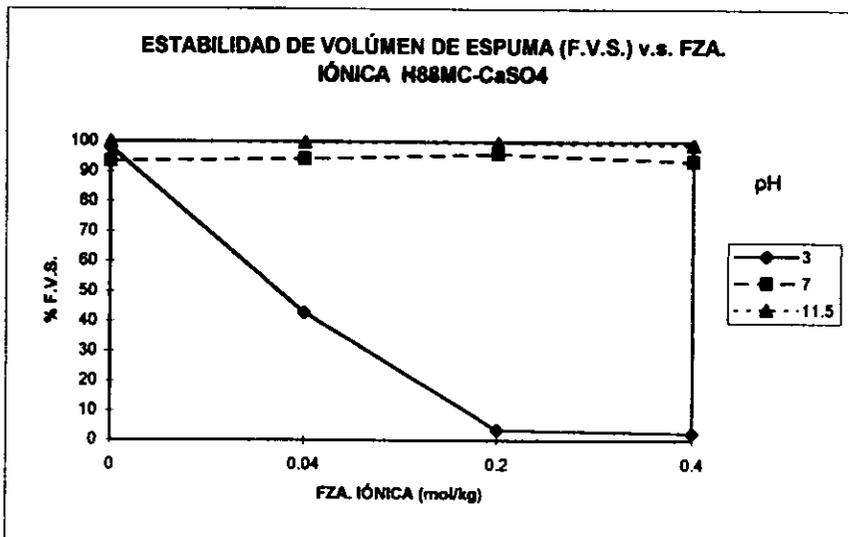
Aumentó la expansión de las espumas ligeramente al adicionarle esta sal, para el caso de la estabilidad fue en este pH donde las espumas fueron mas estables a todas las fuerzas iónicas, teniendo casi constante el valor de 100% en estabilidad, acorde con el K_{fc} mas alto y constante a lo largo de todas las fuerzas iónicas que proporciona estabilidad a las espumas formadas. Los iones Ca^{++} no influyen en la

estabilidad al formar uniones entre los grupos carboxílicos de la proteína y el Macrocel (6).

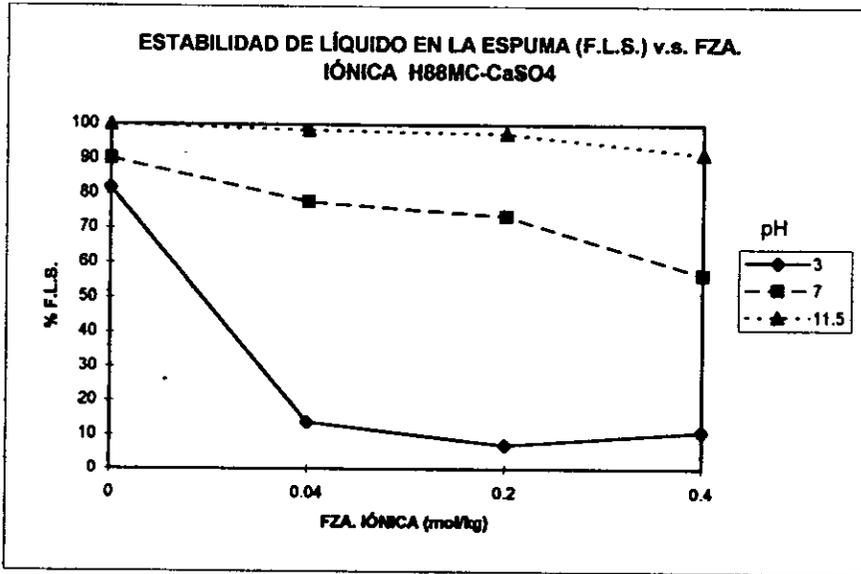
GRÁFICA 20



GRÁFICA 21



GRÁFICA 22



pH 7

A este pH la presencia de CaSO_4 tiene un efecto favorable en el rendimiento en referencia con el sistema sin sales, el F.V.S. presenta valores arriba de 90%, pero con disminución en la estabilidad (F.L.S.), ello debido por el K_{fc} que es moderadamente alto, aunque disminuye con el aumento de fuerza iónica y no resulta suficiente para estabilizar el líquido de las espumas formadas.

pH 3

Se presentó el mayor rendimiento en relación al pH y los sistemas sin sales y menor estabilidad a todas las fuerzas iónicas, atribuible a un posible cambio en el estado de carga e hidratación del complejo que lo hace ligeramente más soluble y flexible pero con un importante deterioro en la estabilidad de las espumas formadas pues el K_{fc} disminuye drásticamente. Como tendencia general al incrementar la fuerza iónica con las tres sales se aumenta la expansión de la espuma, la estabilidad disminuye en particular el

(F.L.S.), el Kfc disminuye para las tres sales y el pH donde se presenta la mayor expansión es el mismo que tiene la menor estabilidad de espuma.

HYFOAMA 88 GENUVISCO-C Y NaCl

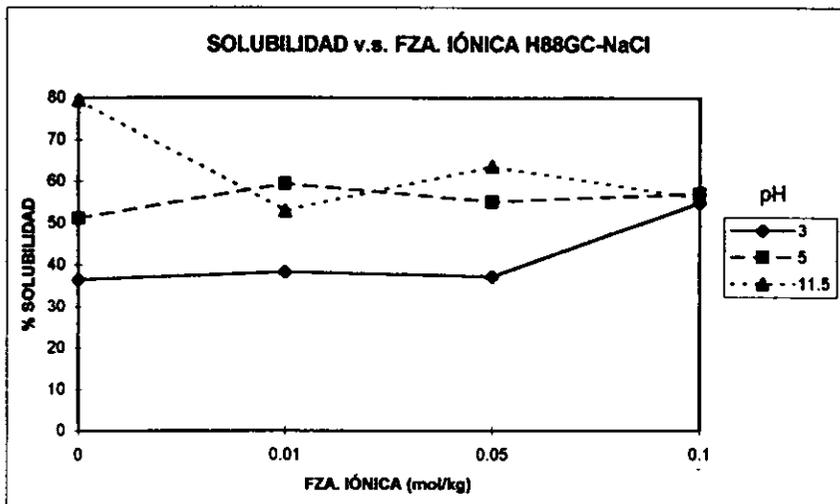
SOLUBILIDAD

Gráfica 23:

pH 11.5

La solubilidad del sistema disminuye al adicionar NaCl en las tres fuerzas iónicas debido a un cambio en conformación de los componentes (proteínas y polisacárido) que no resulta favorecedor para el sistema, este cambio en conformación es debido al efecto de la sal en el medio, pues se afecta la hidratación de ambos componentes (7) y al estado de carga del sistema. Este cambio es diferente al del sistema Hyfoama 88-Macrocel por el diferente tipo de grupos ácidos en los polisacáridos utilizados.

GRÁFICA 23



pH 5

La solubilidad de la proteína se incrementa ligeramente al adicionar sales aunque el aumento no es muy importante, presentándose un máximo en la fuerza iónica mas pequeña. Este pequeño aumento puede atribuirse a un cambio en conformación del complejo formado en la menor fuerza iónica, el estado de cargas, o a la inhibición de la formación del complejo a fuerzas iónicas altas, puesto que el cambio conformacional de los componentes individuales limita la interacción entre sí. La formación del complejo a este pH sin sales mejoró las propiedades espumantes en relación a la proteína sola.

pH 3

En este pH se aumenta la solubilidad del sistema por efecto de la sal y disminuyen así las atracciones electrostáticas entre cargas opuestas de moléculas cercanas (12). Inhibiendo probablemente la formación del complejo o alterando su conformación y carga neta que favoreció las propiedades espumantes en relación a la proteína sola.

ÍNDICE DE CONSISTENCIA DE LA FASE CONTÍNUA (Kfc)

Gráfica 24:

pH 11.5

El cambio en conformación aumentó ligeramente el Kfc cuando se incrementó la fuerza iónica. A este pH los valores de Kfc son mayores. En medio alcalino la viscosidad de la mayoría de las proteínas aumenta por las cargas eléctricas negativas que presuponen un desdoblamiento y alargamiento máximos (6). La viscosidad del GC disminuye por la presencia de sales.

pH 5

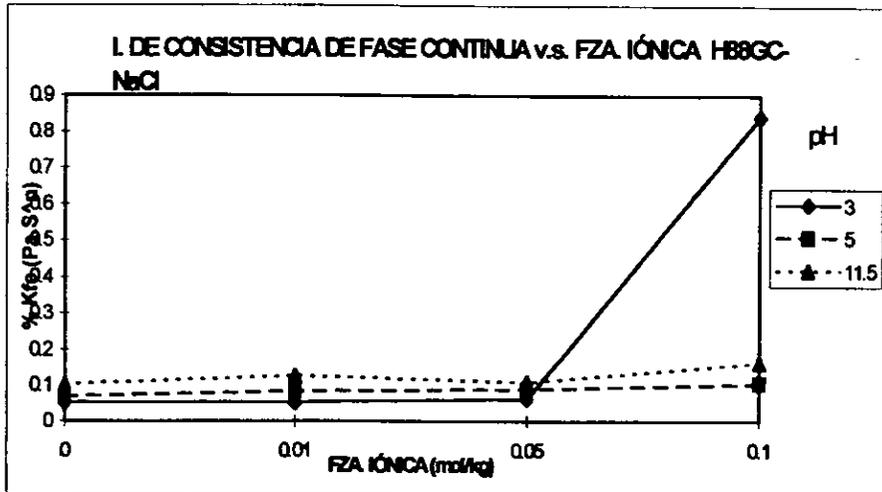
El Kfc aumentó al incrementar la fuerza iónica de forma muy ligera.

pH 3

En este pH se sigue el mismo comportamiento que en los otros pH, cuando se aumenta la fuerza iónica -aumenta el Kfc, ligeramente a fuerza iónica baja y de

manera notoria a valores de 0.1 de fuerza iónica, esta diferencia atribuida a cambios en la estructura y conformación del complejo proteína-polisacárido.

GRÁFICA 24



I. DE CONSISTENCIA DE FASE CONTINUA (Pa.S/Sp) HB8GC-NaCl				
	0	0.01	0.05	0.1
3	0.051	0.052	0.061	0.842
5	0.069	0.0833	0.088	0.104
11.5	0.103	0.125	0.109	0.162

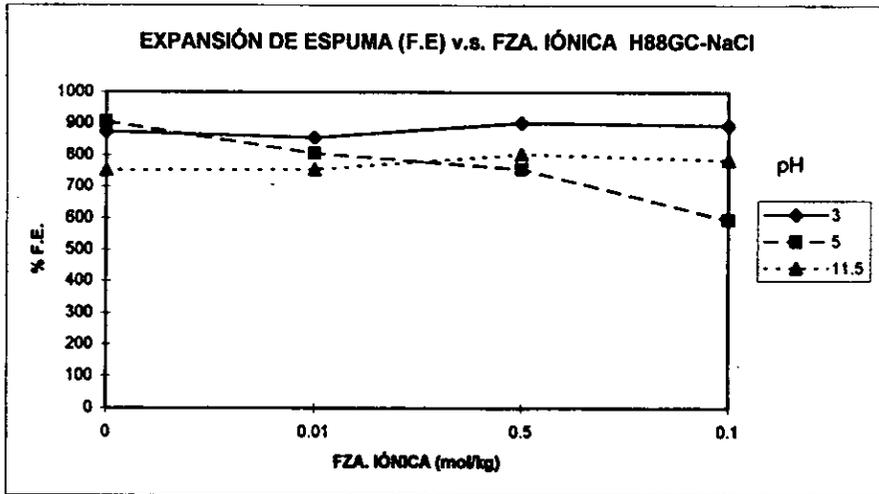
PROPIEDADES ESPUMANTES (F.E., F.V.S., F.L.S.)

Gráficas 25-27:

pH 11.5

Para la expansión de las espumas se observa que al aumentar la fuerza iónica aumenta ligeramente la expansión.

GRÁFICA 25

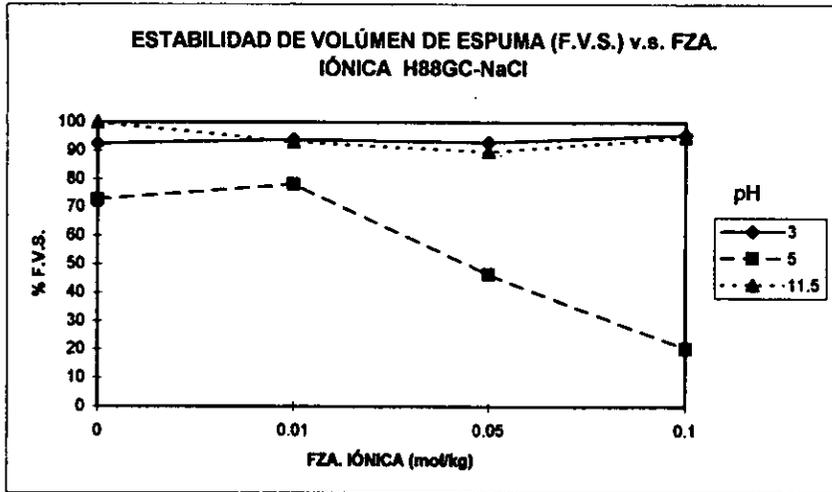


En cuanto a la estabilidad, disminuye con respecto a las espumas donde no se adicionó sal, siendo evidente en el F.L.S. que disminuye hasta un 40% debido a la disminución de solubilidad y a posible cambio en conformación de la proteína que no favorecen las propiedades de interfase que proporcionen estabilidad a pesar del aumento en consistencia.

pH 5

La expansión de la espuma disminuye cuando se aumenta la fuerza iónica, pero no de forma muy drástica. La estabilidad disminuye notablemente al aumentar la fuerza iónica (gráficas 26,27) y es este pH donde todas las propiedades espumantes son menores con respecto a los otros pH sobre todo a la fuerza iónica mayor. Esto significa que el complejo sin sales tiene mejores propiedades de interfase y la estructura y conformación del mismo en presencia de sales no resulta favorecedor en la formación y estabilidad de espumas.

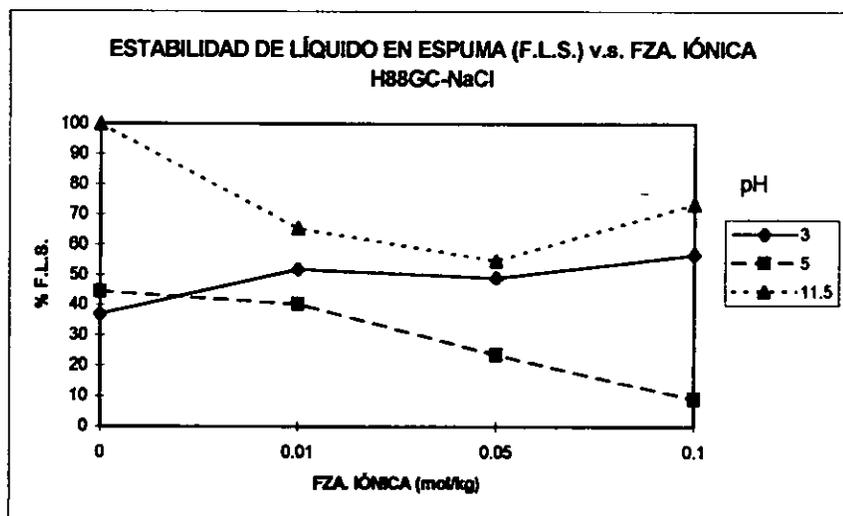
GRÁFICA 26



pH 3

Al incrementarse la fuerza iónica aumenta ligeramente la expansión de la espuma, lo mismo sucedió en la estabilidad de la espuma y líquido y para las dos primeras propiedades en valores superiores a los otros pH. Esto puede atribuirse a que el complejo en presencia de sales tiene características que lo hacen mas apto para la estabilización de la espuma.

GRÁFICA 27



HYFOAMA 88 GENUVISCO-C Y Na_2SO_4

SOLUBILIDAD

Gráfica 28:

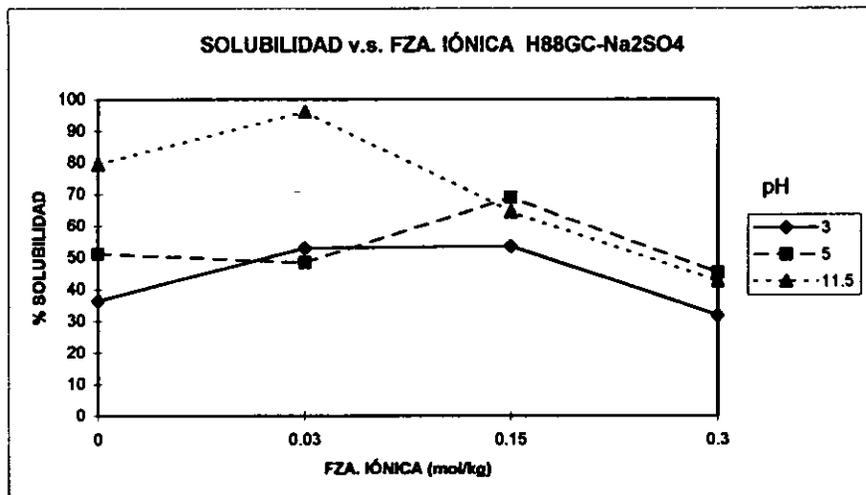
pH 11.5

La solubilidad del sistema aumenta de forma considerable en la fuerza iónica menor para ir disminuyendo drásticamente al aumentar la fuerza iónica hasta estar por abajo de la solubilidad obtenida sin sales, se cree que se efectuó un cambio conformacional en la estructura de los componentes individuales a fuerza iónica alta y pudo ocurrir una insolubilización por salado.

pH 5

En este pH se observa un comportamiento similar que a pH 11.5, desplazándose hacia una fuerza iónica mayor (0.15) el máximo de solubilidad. En este caso, el efecto de las sales fue sobre la solubilidad del complejo (46).

GRÁFICA 28



pH 3

La solubilidad del sistema presenta valores mayores que el sistema sin sal excepto para la fuerza iónica más alta, el complejo es mas insoluble que a pH 5 y el efecto de las sales es similar con el valor máximo desplazado hacia la fuerza iónica mas baja.

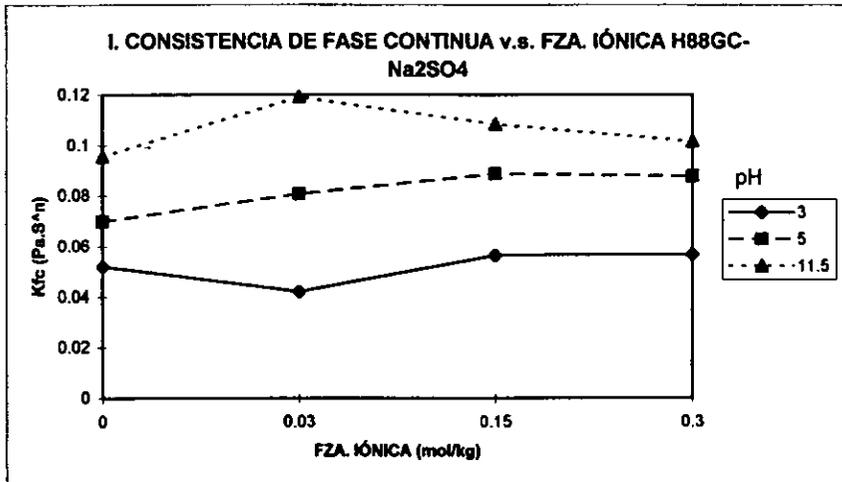
ÍNDICE DE CONSISTENCIA (K_{fc}) Y PROPIEDADES ESPUMANTES (F.E., F.V.S., F.L.S.)

Gráficas 29-32:

pH 11.5

En este pH se presentan los valores más altos de K_{fc} y un comportamiento casi constante a lo largo de las tres fuerzas iónicas teniendo un máximo en la menor fuerza iónica dada por esta sal y una tendencia similar a la de la solubilidad.

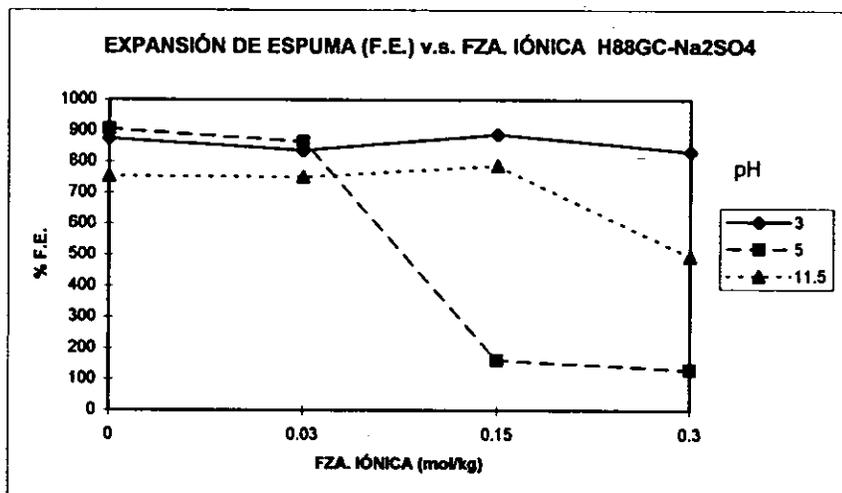
GRÁFICA 29



	0	0.03	0.15	0.3
3	0.0519	0.042	0.0563	0.0567
5	0.0699	0.0807	0.0886	0.0876
11.5	0.0956	0.1192	0.1084	0.1016

Al adicionar sales tanto (F.V.S.) (F.L.S.) como la expansión a fuerza iónica alta disminuyen por abajo del valor inicial que es alto.

GRÁFICA 30

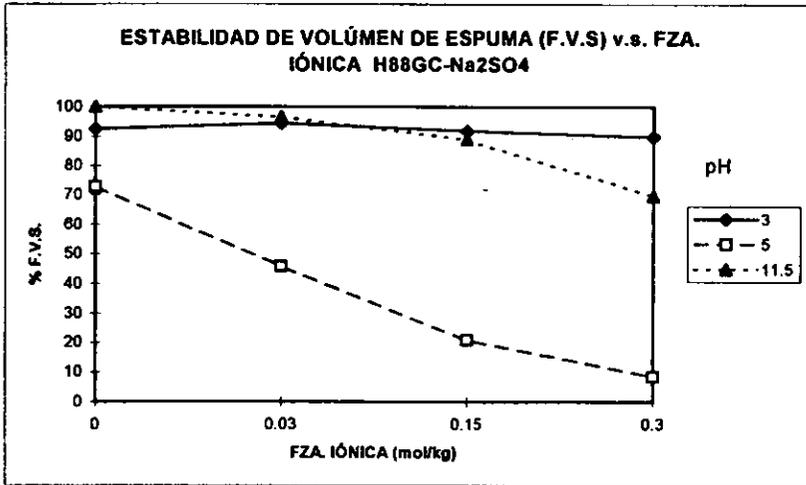


El cambio de conformación probablemente hizo al sistema menos flexible deteriorando sus propiedades espumantes y su estructura terciaria que disminuyeron la estabilidad (25) a pesar de un alto valor de K_{fc} . Para la expansión de la espuma se mantiene casi constante a lo largo de las dos primeras fuerzas iónicas.

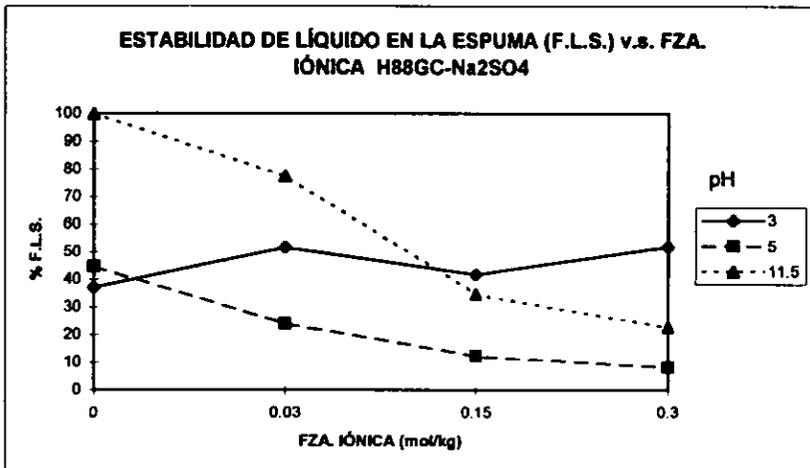
pH 5

El K_{fc} aumenta al incrementar la fuerza iónica a pesar de ello, la estabilidad y rendimiento se ven reducidos de forma muy importante; ello debido posiblemente a que la estructura y conformación del complejo tiene propiedades pobres para la formación y estabilidad de espuma, a pesar de tener solubilidad y K_{fc} relativamente altos.

GRÁFICA 31



GRÁFICA 32



pH 3

Se presentaron valores de Kfc muy bajos a lo largo de las tres fuerzas iónicas. El rendimiento de la espuma con la adición de esta sal en pH 3 permanece casi constante en todas las fuerzas iónicas al igual que el F.V.S. que en ambos casos es alto y aumentando un poco el F.L.S. la adición de esta sal favoreció las propiedades espumantes, aún contando con los valores mas bajos de Kfc en todas las fuerzas iónicas, por lo que se deduce un cambio conformacional del complejo con poca solubilidad (46) que le presentó propiedades de interfase favorecedoras para la estabilidad y rendimiento de espumas.

HYFOAMA 88-GENUVISCO-C Y CaSO₄

SOLUBILIDAD

No se evaluó solubilidad a la fuerza iónica mayor por precipitación de los componentes.

Gráfica 33:

pH 11.5

La solubilidad del sistema con la adición de CaSO₄ disminuye al aumentar la fuerza iónica pero es mas alta que con los otros pH's. El cambio en solubilidad puede atribuirse al efecto de las sales en la proteína o a la posible formación de un complejo proteína-polisacárido mediado por calcio.

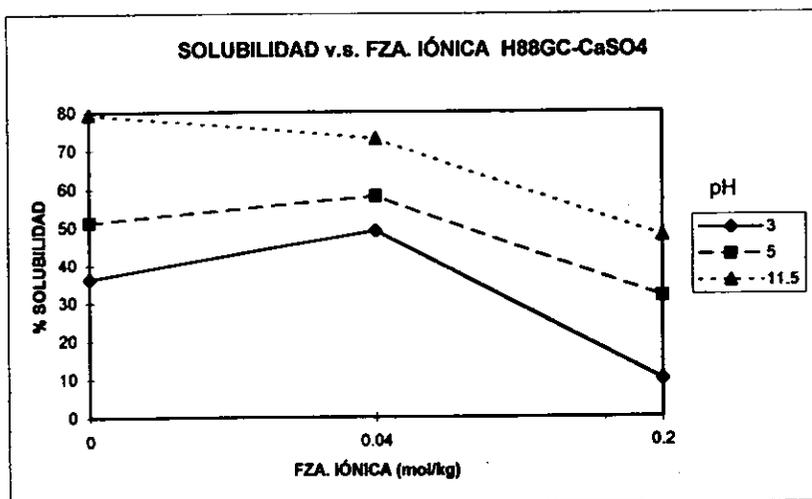
pH 5

La solubilidad de la proteína aumenta ligeramente a la fuerza iónica menor luego disminuye a la fuerza iónica mas alta. La disminución de la solubilidad del complejo se puede atribuir al efecto de la sal, que al aportar iones Ca⁺⁺, aumenta los sitios de unión proteína-polisacárido disminuyendo la carga neta del complejo similar al reportado para carragenina-caseína (9), que disminuye la atracción electrostática del complejo entre cargas opuestas que se afectaron sus propiedades espumantes al inducir cambios conformacionales (7).

pH 3

El valor inicial de solubilidad de la proteína sin sales se ve rebasada positivamente en la fuerza iónica menor para luego volverse casi insoluble y de los tres pH es en este donde esta propiedad es menor, puede deberse al mismo efecto del pH 5 pero mas marcado.

GRÁFICA 33



ÍNDICE DE CONSISTENCIA DE LA FASE CONTÍNUA (K_{fc})

Gráfica 34:

pH 11.5

El K_{fc} disminuyó ligeramente con respecto a su valor inicial en particular en la fuerza iónica intermedia, para llegar a su valor inicial nuevamente en la fuerza iónica mayor.

pH 5

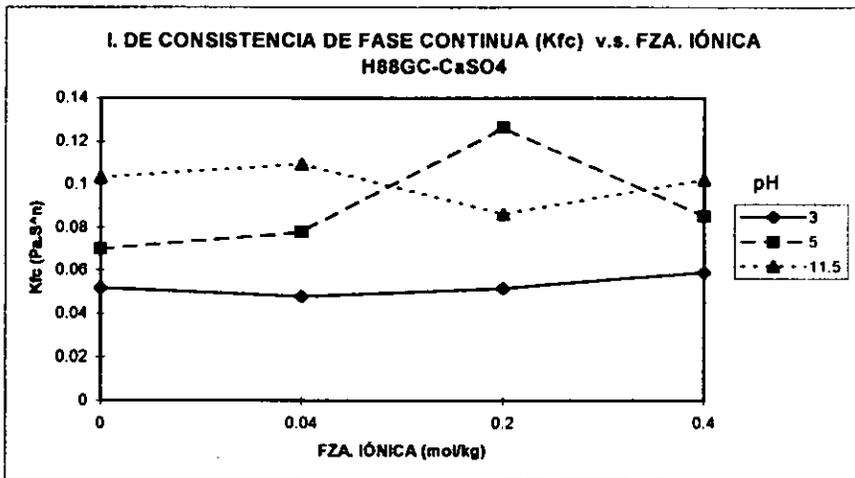
El Kfc aumenta notablemente en la fuerza iónica intermedia para disminuir casi a su valor inicial.

pH 3

El Kfc no presenta gran variación a lo largo de las tres fuerzas iónicas y de los tres pH, en este se presentan los valores mas pequeños. Al disminuir pH disminuye el Kfc a cualquier fuerza iónica.

Los cambios observados en Kfc a pH 3 y 5 pueden atribuirse a los cambios en conformación y solubilidad de los complejos.

GRÁFICA 34



	0	0.04	0.2	0.4
3	0.0519	0.048	0.0516	0.059
5	0.0699	0.0778	0.1264	0.085
11.5	0.1031	0.1094	0.0862	0.102

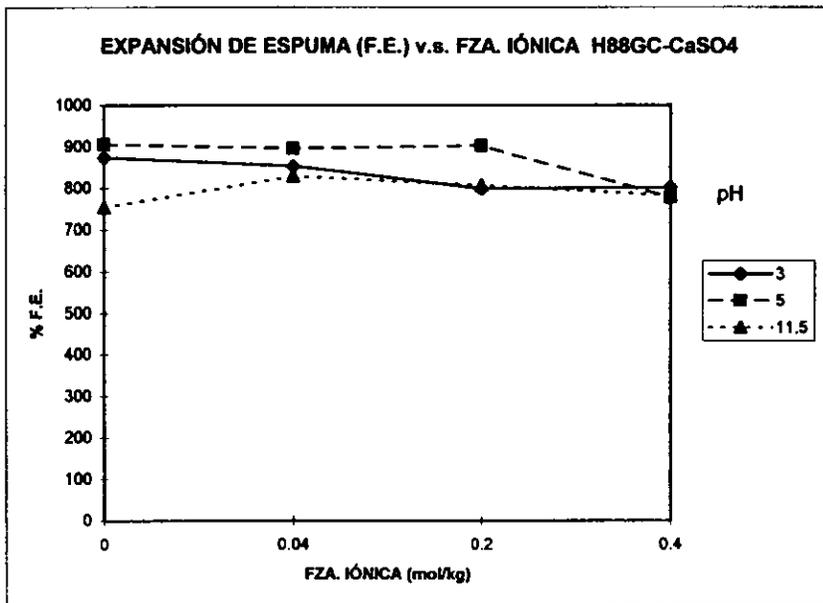
PROPIEDADES ESPUMANTES (F.E., F.V.S., F.L.S.)

Gráficas 35-37:

pH 11.5

El rendimiento aumentó ligeramente al incrementar la fuerza iónica teniéndose un mejor resultado en rendimiento en la fuerza iónica menor. La estabilidad (F.V.S.) disminuye ligeramente cuando se agrega sal, el F.L.S. disminuye de forma mas evidente al aumentar la fuerza iónica a pesar de que ambas propiedades conservan valores altos todo ello debido al cambio en conformación de la proteína inducido por la adición de sal que resultó favorecedor en rendimiento y estabilidad con respecto a los otros pH's. También es posible la formación de un complejo mediado por calcio con baja solubilidad.

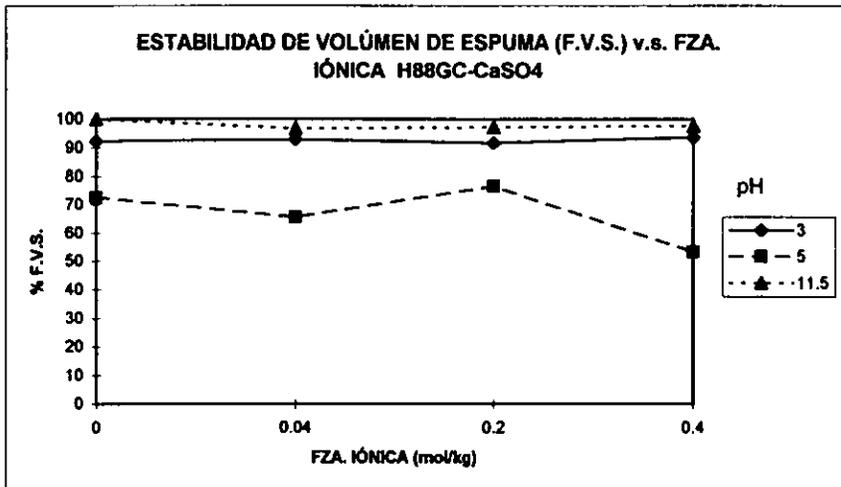
GRÁFICA 35



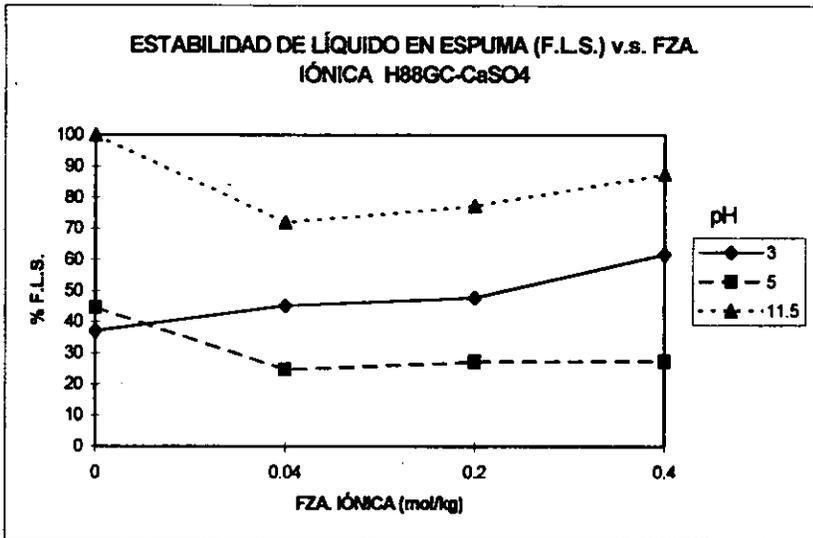
pH 5

El rendimiento (F.E.) disminuye en la fuerza iónica mayor, para las otras fuerzas iónicas es casi la misma que para la espuma formada sin sal, siendo en este pH donde esta propiedad resultó mayor con respecto a los otros pH; la estabilidad no es muy buena pudiendo deducir con esto una estructura con propiedades de interfase pobres.

GRÁFICA 36



GRÁFICA 37



pH 3

Aumenta el F.L.S., conservándose arriba del 90 % que favorece la formación y estabilidad de espuma.

Luego del análisis estadístico de rango múltiple, se evidencia en las medias muestrales que el pH y fuerza iónica en conjunto afectan significativamente la solubilidad de los sistemas proteína-polisacárido, pero sobre todo el pH fue el factor determinante en estas modificaciones.

No se presentó una tendencia general sobre las otras propiedades estudiadas, siendo muy particular para cada sistema. Para las propiedades espumantes la utilización de las tres sales en el sistema H88GC mejoró la estabilidad del líquido en la espuma (F.L.S.) y conservó el (F.V.S) y el rendimiento (F.E.) a pH 3. En el sistema H88MC con CaSO₄ se obtuvo buen rendimiento, en especial a pH 7 pero con mediana estabilidad siendo mejor a pH 11.5. En general, tanto para H88GC y H88MC la utilización de Na₂SO₄ provocó los rendimientos y estabilidades menores que con las otras sales.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La proteína Hyfoama 88 (H88) sin estabilizante forma espumas con mayor rendimiento y estabilidad que aquellas elaboradas con Prolac H (PH) que no presentaron estabilidad alguna.

Cuando se varió el pH de la proteína Hyfoama 88 en solución se tuvo el más alto rendimiento en pH 11.5 y fue disminuyendo en pH's ácidos, disminuyó la estabilidad al descender el pH, siendo nula en el 3.

Con la adición de los polisacáridos Mácrocel y Genuvisco C al sistema y sin variación de pH; se disminuyó el rendimiento y aumentó la estabilidad de las espumas si se compara con la proteína sola, la estabilidad de ambos sistemas es la misma, pero con un Kfc mucho menor en Hyfoama 88-Genuvisco C (H88GC) que en Hyfoama 88-Macrocel (H88MC).

Al variar el pH de ambos sistemas disminuyó el rendimiento de espuma con respecto a la proteína sola a todos los pH's para H88MC, con excepción en el pH 3 en el cual se tuvo gran rendimiento, en cuanto a estabilidad aumentó mucho con la adición del polisacárido a todos los pH's. Con H88GC el rendimiento de espuma aumentó en casi todos los pH's, la excepción se presentó en pH 11.5, la estabilidad también se aumentó con la excepción en FLS para el pH 7 que junto con el sistema H88MC en pH 5 fueron los más inestables aún por debajo de lo que se tuvo con la proteína sola, posiblemente por su cercanía con el punto isoeléctrico de la proteína que creó este efecto en los sistemas. Al comparar los dos sistemas se obtuvo lo siguiente: en H88GC se tuvo mayor rendimiento de espuma que con H88MC a todos los pH's y el sistema H88MC tuvo mayor estabilidad apoyado por Kfc mayores a los de H88GC, la excepción se presentó en pH 5 donde H88GC fue más estable.

Los polisacáridos aniónicos empleados aumentaron la estabilidad de las espumas en todos los pH por uno o más de los siguientes factores:

- aumento del índice de consistencia de la fase continua
- modificación de la conformación de las proteínas

- formación de complejos de diferente solubilidad
- cambios en la carga neta y conformación de la proteína y/o complejo proteína-polisacárido.

Las propiedades espumantes y fisicoquímicas de las proteínas son afectadas evidentemente por el pH siendo en los extremos donde se evidencia más este efecto debido a la carga neta que tienen los sistemas en estas condiciones. Para el medio básico se forma un sistema donde coexisten en la misma fase proteína-polisacárido sin interacción o alternativamente existen como complejo soluble; en el cual éstos están desdoblados sin posibilidad de interacción por la igualdad de cargas presentando estabilidad por contar con viscosidades altas. Para pH ácidos la carga de los componentes hace evidente su interacción entre sí y con el medio, existiendo la posibilidad de formación de complejos de baja solubilidad más flexibles que permiten aumento de estabilidad.

En cuanto a las sales no se tuvo una tendencia muy clara en el efecto causado sobre las propiedades estudiadas, siendo muy particular para cada sistema, pero en general, influye la fuerza iónica de las sales sobre el estado de carga y la solubilidad del polisacárido y proteína ocasionando cambios en la conformación de los componentes que afectó la interacción de estas macromoléculas. Las sales mejoran poco las propiedades espumantes de los sistemas, en general conserva las propiedades iniciales. Aunque existieron casos de excepción; los mejores resultados con respecto al sistema sin sal fueron los sistemas H88GC:

Con NaCl : El F.E. y F.V.S. se conservaron en pH 3 y 11.5 y el F.L.S. aumentó en pH 3.

Con Na₂SO₄ :El F.E. y F.V.S. se conservaron en pH 3 y el F.L.S. aumentó en pH 3.

Con CaSO₄ :El F.E., F.V.S. se mantienen constantes en los tres pH's, la estabilidad F.L.S. aumentó en pH 3.

Para el sistema H88MC sin sales comparado con los de sales se tuvo:

Con NaCl : F.E. aumentó un poco a pH 3 y el F.V.S. se conservó en pH 11.5 y 7.

Con Na₂SO₄ : Aumenta ligeramente rendimiento en pH 7.

Con CaSO₄ :Aumentó mucho el rendimiento a pH 7 y moderadamente en pH 3 y 11.5, se conservó F.V.S. a pH 7 y 11.5 y también el F.L.S. a pH 11.5.

Los factores que motivaron todos los resultados anteriores fueron:

- la conformación de la proteína que cambio en las diferentes condiciones de los sistemas formados
- por efecto de la formación de complejos de diferente solubilidad y conformación
- los complejos creados en medios básicos donde coexisten los componentes en la misma fase sin interacción o alternativamente existen como complejos solubles
- los sistemas de pH ácidos donde ambos componentes están concentrados en la misma fase con baja solubilidad.

Estos factores influyen en el Kfc de la fase continua y las propiedades de interfase que afectan directamente la estabilidad y rendimiento de las espumas formadas.

Se recomienda la utilización de otro método de medición de tensión superficial donde se eviten problemas con tubos capilares en la toma de lecturas de sistemas viscosos, una alternativa es por medio del tensiometro de Du Noüy.

Efectuar pruebas más específicas que permitan confirmar el tipo de sistema formado por efecto de las variables manejadas, como puede ser: centrifugación para ver si existe separación de fases y cuantificación de polisacárido y proteína en cada uno, espectros de adsorción de la luz, separación por cromatografía, cambios en propiedades térmicas RMN.

Cabe aclarar que en el presente estudio se mantuvieron constantes las concentraciones de proteína (1.3%) y polisacáridos (0.45%) y que otro factor determinante en la compatibilidad termodinámica y sistemas formados por estos componentes es la concentración de cada uno de ellos y que el cambio de concentración puede dar resultados distintos, por lo que es otro factor a estudiar.

Aplicar los resultados en sistemas específicos de alimentos como lo son helados, pan, bebidas, merengues y en general repostería.

Desde el punto de vista de la aplicación de los resultados se recomienda lo siguiente:

- La adición de azúcar y otros polisacáridos no iónicos para aumentar la estabilidad de los sistemas en los cuales fue bajo
- Los sistemas H88MC a pH 7 con CaSO₄ y H88GC a pH 5 sin sales tienen buen rendimiento y estabilidad que se puede reforzar con azúcar o algún estabilizante no

iónico para incrementar el índice de consistencia de la fase continua y obtener de esta forma sistemas que conserven por mas tiempo el volumen inicial de las espumas

- El sistema H88GC a pH 3 con la adición de sales tuvo mayor estabilidad de las espumas formadas que la del sistema sin sales por lo que se puede utilizar este sistema en medios ácidos y si se desea aumentar esta estabilidad se puede hacer con la adición de azúcar, con la ventaja de que el rendimiento de espumas es muy alto también
- El sistema H88GC presentó alto rendimiento de espuma a todos los pH, especialmente a los mas ácidos, si se adiciona sal al sistema en concentraciones bajas el rendimiento se mantiene, pudiendo utilizar este sistema en cualquier pH y obtener mayor estabilidad con la adición de azúcar
- Si es necesaria la adición de sales a los sistemas H88GC en pH 3 y se quiere tener rendimiento y estabilidad de espumas resulta recomendable la adición de NaCl, NaSO₄ y CaSO₄ a bajas concentraciones y en los sistemas H88MC en pH 7 se puede aumentar rendimiento de espumas con CaSO₄ y Na₂SO₄.

Los estudios de interacciones de proteínas y polisacáridos y su efecto en las propiedades funcionales han estado más enfocadas a la generación del conocimiento básico utilizando proteínas de estructura más conocida como mioglobina, albumina de suero de bobina, caseína, gelatina globulina de soya y a aspectos de aplicación en lo referente a las propiedades funcionales de estos sistemas en la texturación, formación de geles, precipitación de proteínas para su recuperación, solubilización de proteínas en su punto isoeléctrico y con respecto a la funcionalidad para la formación de espumas se reporta mucho menos información, por lo que es importante generar estudios sobre esta área.

BIBLIOGRAFÍA

1. Akiva Pour-el.
Protein Functionality: classification, definition an methodology
En Protein Funtionality in Foods. ACS Symposium
Editor Cherry J.P. A.C.S. S. 174 (1981) pp.1
2. Badui Dergal S.
La Química de los Alimentos
Editorial Alhambra, México (1988) pp. 105
3. Bell Ellis J., Bell T. Evellin.
Proteins an Enzimes
Editorial Prentice-Hall Inc. New Jersey (1988) pp. 295
4. Casas A. N., Muñoz M.E., Silvia P.C.
Efecto de las Propiedades Reológicas de la Fase Continua en la Estabilidad y Proteínas Estabilizadas con Polisacáridos
Memorias de la II Conferencia Internacional sobre Ciencia y Tecnología Alimentaria. Habana, Cuba (1993).
5. Chang Raymond.
Fisicoquímica con Aplicaciones a Sistemas Biológicos
Editorial CECSA, México, (1986) pp. 261
6. Chefel J.C., Cuq. J.L., Lorient D.
Proteínas Alimentarias. Bioquímica- Propiedades Funcionales, Valor Nutricional, Modificaciones Químicas
Editorial Acribia, Madrid (1989), pp. 20
7. Damodaran Srinivasan, Kinsella John E.
Effects of Ions on Protein Conformation and Functionality
Editor: Cherry P.J. A.C.S. Symposium (1989). pp. 327
8. Daniel W. Wayne.
Bioestadística
Editorial Limusa, México (1983), pp 200

9. Davison, Robert. L.
Handbook of Water Soluble Gums and Resins
Editorial McGraw Hill, New York (1971). pp. 6.
10. Devaux, G., Crockett. R., Jouzier E.
Técnicas de Bioquímica Clínica
Editorial Jims, Barcelona (1974) pp. 129
11. Fennema Owen R.
Food Chemistry.
Editorial Dekker, New York (1989). pp. 132
12. Fennema, Owen R.
Introducción a la Química de los Alimentos
Editorial Reverté Barcelona (1988). pp. 264
13. Folletos de Quest. y Arancia de Hyfoama 88 y Prolac H.
Información Técnica de propiedades fisicoquímicas y de aplicación.
14. Ganz. A. Jerome.
"Cellulose Hydrocolloids",
En Food Colloids.
Editor: Graham D. H.
Editorial: AVI Publishing Company, Connecticut (1977) pp. 320
15. German J.B., Phillips L.G.
"Molecular Properties of Proteins Importants in Foams"
En Food Proteins
Editor: Kinsella J.E., W.F. Society American Oil Chemistry S. (1989) pp. 132
16. Gliscksman M.
Gum Technology in the Food Industry
Foos Science an Tecnology. A. series of Monographs.
Editorial: Academic Press, New York (1969) pp. 32
17. Graham D. H
"Water and Fat Absortion"
Protein Functionality in Foods.
Editado por Cherry J.P.
ACS Symposium Serie No. 147. Washington D.C. (1981) pp. 177

18. Hutton W.C., Cambell M.A.
 "Water and Fat Absortion"
Protein Functionality in Foods.
 Editado por Cherry J.P.
 ACS Symohosium Serie No. 147. Washington D.C. (1981) pp. 177

19. Instructivo y Manual de operación del Aparato de Tensión Superficial
 Fisher Scientific Company

20. Instructivo y Manual de Viscosimetro Brookfiel de Cono y Plato,
 Rheoset.
 Brookfiel Company.

21. Jevons F.R.
Symposium on Foods Proteins an their Reactions. The Third in a series of Symposia
 En Foods Held at Oregon State University
 Editor: Shultz H.W., Ph . D.
 The AVI Publishing Company, Inc. 2da. Edición New York (1969) pp. 153

22. Kakalis Lazaros T., Regenstein Joe M.
 Effect of pH and Salts on the Solubility of Egg White Proteins
Journal of Food Science 51 (6) (1986), pp.1445-1447.

23. Kinsella J.E.
 "Protein Structure and Functional Properties: Emulsification and Flavor Binding Effects"
En Food Protein Deterioration: Mechanism anf Functionality.,
 Editor: Cherry P.J. ACS Symphosium, Serie 206. Washington, D.C. (1981) pp.301

24. Kinsella J. E. Mohite R.R.
 "Characteristics and Properties of Sesame Proteins"
En Food Science and Technology. A series of Monograps. Vol. 5 Seed Storage Proteins.
 Editorial Academic Press, New York (1985) pp. 447

25. Kinsella J.E. Phillips G.L.
 "Funtion Relationship in Food Proteins, Film an Foaming Behavior",
Food Protein.
 Editor Kinsella J.E. Society.
 American Oil Chemistry Society Champ. III (1989) pp. 1952

26. Kinsella J.E. Whitehead.
 "Emulsifying and Foaming Properties of Chemically Modified Proteins"
Advances in Food and Foam.
 Editores: Dickinson E., Stainsby G.
 Editorial: Elsevier Applied Science (1988) pp. 163

27. Kitabatake Noofumi, Doi Etsushiro.
 "Surface Tension and Foaming of Protein Solution"
Journal of Food Science (47) (1982) pp.1218-1221.

28. Ledward D. A.
Polysaccharides in Food
 Editado por Blanshard, Mitchell
 Editorial Butterworths, New York (1979) pp. 205

29. Lenninger L. Albert.
Bioquímica
 Editorial: Omega, España (1991) pp. 95-130

30. Lin, Chifa F.
 "Interaction of Sulfated Polysaccharides with Proteins"
 En Food Colloids
 Editor Graham D.H.
 Editorial AVI Publishing Company, Connecticut (1977), pp. 320

31. Lynch Raphael, Mellor, Spare, Inwood.
Métodos de Laboratorio
 Editorial Interamericana, México 2da.Edición (1977) pp. 225

32. Merino A. Manuel Editor S.S. A.
Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos
 S.S.A. México (1975) pp. 105

33. Morr, C.V., German B. Kinsella J.E., Regenstein J.M Van Buren, Kilara, Lewis,
 Mangino.
 "A Collaborative Study to Develop an Standardized Food Protein Solubility Procedure"
Journal of Food Science (50) (1985) pp.1715-1718

34. Morris J.G.
Fisicoquímica para Biólogos
 Editorial Reverté, Barcelona (1987) pp. 1980

35. Nakai, Li-Chan.
 "Effects of Heating on Protein Functionality"
 En Protein Quality and the Effects of Processing.
 Editores: Phillips R.D., Finley J.W.
 Editorial: Marcel Dekker, Inc. N.Y. (1989) pp. 1932

36. Patel P.D., Stripp A.M., Fry J.C.
 "Whipping Test for the Determination of Foaming Capacity of Proteins: a Colabotative Study"
International Jomal of Food Science and Technology. (23) (1988) pp.57-63.

37. Peltonen-Shalaby R., Mangino M. E.
 "Compositional Factors that Affect the Emulsifying and Foaming Properties of Whey Protein Concentrates".
Journal of Food Science (51) (1986) pp. 91-95.

38. Pomeranz Yeshajahu.
 "Funtional Properties of Food Components, Food Science and Technology". A Series of Monographs.
 Editorial Academic Press ,Inc. Florida (1986) pp. 180-192.

39. Prins A.
 "Principles of Foam Stability"
 En: Advances in Food Emulsions and Foams.
 Editores Dickinson E., Stainsby G.
 Editorial Elsevier Applied Science, London (1988) pp. 65-74.

40. Princen H. M.
 "The Mechanical and Flow Properties of Foam and Highly Concentrates Emulsions"
 En Food Colloids.
 Editores: Richmond, Mingins, Bee.
 Editorial Royal Society of Chemistry, London (1989). pp. 150-168.

41. Shen Jerome L.
 "Solubility and Viscosity"
 En Protein Functionality in Foods.
 Editores: Cherry J. P., and Editors.
 ACS Symposium Serie No. 147 (1980), pp. 89.

42. Shen Jerome L.
 "Soy Protein Solubility: The Effects of Experimental Conditions on the Solubility of Soy Protein Isolates".
 En Cereal Chemistry. Vol 53, Nov-Dic. (1976) pp. 902.

43. Srivaran Damodaran.
"Interrelationship of Molecular and Functional Properties of Food Proteins"
Editores: Kinsella J. E., Society W. C.
American Oil Chemistry Society (1989) pp. 50-80.

44. Scopes K. Robert.
Protein Purification, Principles and Practice
Editorial Springer-Verlag, London (1988) pp. 85-90.

45. Tolstoguzov V. R.
"Funcional Properties of Protein-Polysaccharide Mixture"
En Functional Properties of Food Macromolecules.
Editorial Elsevier Applied Science Publishers, London (1980) pp.170-190.

46. Townsend Althea A., Nakai Shuryo.
"Relationships Between Hydrophobicity and Foaming Characteristics of Food Proteins"
Journal of Food Science (48) (1983) pp. 588-594.

47. Walpole, Ronald.
Probabilidad y Estadística para Ingenieros
Editorial Nueva Editorial Interamericana, México (1986) pp.150-160.

48. Williams Bryan L., Wilson Keith.
Principios y Técnicas de Bioquímica Experimental
Editorial Omega, Barcelona (1981) pp. 605.