



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

**Efecto de la Relación Proteína-Hidrocoloide
en la Estabilidad de Emulsiones
Aceite-agua**

TESIS

que para obtener el título de

QUÍMICA DE ALIMENTOS

presenta

Raquel Loera Rivera



México, D.F.

2006



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).

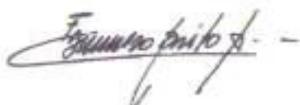
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

JURADO ASIGNADO

<i>Presidente</i>	<i>Profra. María de los Ángeles Valdivia López</i>
<i>Vocal</i>	<i>Profr. Marcos Francisco Báez Fernández</i>
<i>Secretario</i>	<i>Profr. Edmundo Brito de la Fuente</i>
<i>1er. Suplente</i>	<i>Profr. Arturo Navarro Ocaña</i>
<i>2o. Suplente</i>	<i>Profr. Luis Medina Torres</i>

*Laboratorio 313, Conjunto E, Facultad de Química,
Ciudad Universitaria*

Asesor



Dr. Edmundo Brito de la Fuente

Supervisor técnico



Dr. Luis Medina Torres

Sustentante

Loera Rivera Raquel



A mis padres

Silvia y Santiago

Con cariño,

A mi Abuelita Amelita

A mi hermana Silvy

A Kimbo y a Galia

A quienes compartieron conmigo los años en la Facultad: Betty, Arturo, Vanessita, el Inge,

Manuel

Y a todos aquellos:

Maestros, amigos y compañeros que, a lo largo de los años, dieron vida a los salones de clase con su ejemplo, con su alegría, con su entusiasmo... y que hoy viven allí, en los imperecederos espacios del alma:

Donde la memoria se ha convertido en recuerdo, y las letras y las ciencias en sentimientos

Agradezco profundamente:

A Dios que, entre tantas bendiciones, me permite llegar al día de hoy

A mis padres, por su apoyo en todos los aspectos

Al Dr. Edmundo Brito de la Fuente por su dirección y apoyo académico

A Isaías Hernández, por todo su apoyo, consejos y por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo

A Marco Fuentes, por regalarme cada día, el tesoro de su amistad;

A Paty Sánchez por las facilidades otorgadas

A los profesores miembros del jurado por sus comentarios y tiempo dedicado a la revisión del trabajo

A la Preparatoria # 6 y a la Facultad de Química por abrirme sus puertas y hacerme sentir, desde el primer día, el orgullo de pertenecer a la UNAM

CONTENIDO

	<i>página</i>
1 RESUMEN	1
2 INTRODUCCIÓN	2
3 ANTECEDENTES	4
3.1 TEORÍA DE EMULSIONES	4
3.2 FENÓMENOS DE INESTABILIDAD EN EMULSIONES	6
3.2.1 Cremado	6
3.2.2 Floculación	7
3.2.3 Coalescencia	8
3.3 FORMACIÓN DE UNA EMULSIÓN	10
3.3.1 Formando gotas pequeñas	10
3.3.2 Las proteínas como emulsificantes	11
3.4 ESTABILIDAD DE LA EMULSIÓN A LARGO PLAZO	12
3.4.1 Las proteínas como estabilizantes	13
3.4.2 Los hidrocoloides como estabilizantes	13
3.5 CONDICIONES DE ESTABILIDAD-INESTABILIDAD INDUCIDAS POR HIDROCOLOIDES Y PROTEÍNAS EN UNA EMULSIÓN	16
3.5.1 Condiciones de estabilidad-inestabilidad inducidas por polímeros no adsorbidos en interfases	16
3.5.2 Condiciones de estabilidad-inestabilidad inducidas por polímeros adsorbidos en interfases	23
3.5.3 Condiciones de estabilidad-inestabilidad inducidas por la presencia simultánea de proteínas e hidrocoloides en una emulsión	24
3.6 HERRAMIENTAS ÚTILES EN EL ESTUDIO DE EMULSIONES EN PRESENCIA DE PROTEÍNAS E HIDROCOLOIDES	28

3.6.1	Determinaciones reológicas sobre la emulsión.	28
3.6.2	Determinación de Tamaño de Partícula (DTP) y Turbidimetría	29
3.6.3	Otras determinaciones	31
3.7	PROTEÍNAS E HIDROCOLOIDES EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS. .	32
3.7.1	Proteínas e Hidrocoloides en una emulsión nutrimental.	32
3.7.2	Sinopsis del caseinato de calcio y de algunos hidrocoloides de importancia en la Industria de Alimentos	35
3.7.2.1	Caseinato de calcio	35
3.7.2.2	Goma de Mezquite.	36
3.7.2.3	Celulosa Microcristalina	38
3.7.2.4	Lambda-(λ)- Carragenina	39
4	PROBLEMA DE ESTUDIO Y OBJETIVO	42
5	MATERIALES Y MÉTODOS	43
5.1	MATERIALES	43
5.2	DISEÑO EXPERIMENTAL	43
5.3	PREPARACIÓN DE LAS EMULSIONES.	45
5.4	EVALUACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS.	45
5.4.1	Inestabilidad de emulsiones	45
5.4.2	pH.	48
5.4.3	Viscosidad	48
5.4.4	Densidad.	49
5.4.5	Determinación de Tamaño de Partícula	49
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	50
6.1	EMULSIONES CON CASEINATO DE CALCIO.	50
6.1.1	Observaciones de estabilidad.	50
6.1.2	Efecto de la concentración de caseinato de calcio sobre el pH de emulsiones aceite en agua.	52

6.1.3	Efecto de la concentración de caseinato de calcio sobre la viscosidad de emulsiones aceite en agua.	53
6.1.4	Efecto de la concentración de caseinato de calcio sobre el Tamaño de Partícula de emulsiones aceite en agua.	54
6.2	EMULSIONES CON CASEINATO Y GOMA DE MEZQUITE (Series AZ, BZ, CZ, DZ).	56
6.2.1	Observaciones de estabilidad.	56
6.2.2	Efecto de la concentración de Goma de Mezquite sobre el pH de emulsiones formuladas con caseinato de calcio.	58
6.2.3	Efecto de la concentración de Goma de Mezquite sobre la viscosidad de emulsiones formuladas con caseinato de calcio.	59
6.2.4	Efecto de la concentración de Goma de Mezquite sobre el Tamaño de Partícula de emulsiones formuladas con caseinato de calcio.	60
6.3	EMULSIONES CON CASEINATO Y AVICEL CL611 (AM, BM, CM, DM). ...	62
6.3.1	Observaciones de estabilidad.	62
6.3.2	Efecto de la concentración del Avicel CL611 sobre el pH de emulsiones formuladas con caseinato de calcio.	67
6.3.3	Efecto de la concentración del Avicel CL611 sobre la viscosidad de emulsiones formuladas con caseinato de calcio.	68
6.3.4	Efecto de la concentración del Avicel CL611 sobre el Tamaño de Partícula de emulsiones formuladas con caseinato de calcio.	69
6.4	EMULSIONES CON CASEINATO Y VISCARÍN GP209 (AL, BL, CL, DL) ..	71
6.4.1	Observaciones de estabilidad.	71
6.4.2	Efecto de la concentración del Viscarín GP209 sobre el pH de emulsiones formuladas con caseinato de calcio.	77
6.4.3	Efecto de la concentración del Viscarín GP209 sobre la viscosidad de emulsiones formuladas con caseinato de calcio.	79
6.4.4	Efecto de la concentración del Viscarín GP209 sobre el Tamaño de Partícula de emulsiones formuladas con caseinato de calcio.	80
7	CONCLUSIONES.	81
8	APÉNDICES.	84
9	REFERENCIAS.	90

1. RESUMEN

Se estudió el efecto que tienen los hidrocoloides: Goma de Mezquite, Avicel CL611 (producto a base de celulosa microcristalina, MCC) y Viscarin GP 209 (producto a base de lambda-(λ)-carragenina) en la estabilidad de emulsiones aceite/agua (o/w) que contienen además caseinato de calcio. Las proporciones de proteína y grasa en estas emulsiones son similares a las que pueden encontrarse en emulsiones de carácter alimenticio. Para cada hidrocoloide se prepararon 16 emulsiones simples con 4.06% de aceite en agua, utilizando un homogenizador de alta presión, HP y probando 4 concentraciones diferentes de hidrocoloide y 4 concentraciones diferentes de proteína (caseinato de calcio: 2.6, 3.8, 4.9 y 6.1 % peso/peso (w/w)). Las emulsiones fueron enlatadas y sometidas a tratamiento térmico (121 °C 15 min.). Se realizaron observaciones visuales, determinaciones fisicoquímicas y mediciones de tamaño de partícula. Los resultados sugieren una tendencia de las emulsiones a ser más estables a medida que aumenta la concentración de caseinato de calcio. Se encontró que, en los niveles adicionados, la goma de mezquite, a pesar de su actividad surfactante, no proporciona ninguna ventaja en la estabilidad de las emulsiones que aquí se estudiaron. Se sugiere que esto se debe a una posible competencia entre la goma de mezquite y el caseinato por la interfase. Los parámetros determinados indican que los efectos estabilizantes de la MCC o Avicel se deben al incremento en la viscosidad que este hidrocoloide imparte al medio. Las emulsiones preparadas con lambda-(λ)-carragenina fueron inestables en la mayoría de los casos. La mayor evidencia de inestabilidad se presentó para una relación hidrocoloide:proteína de 1:9 y se atribuye a interacciones atractivas entre el caseinato y la carragenina.

2. INTRODUCCIÓN

Las emulsiones aceite en agua tienen amplios usos en la industria. Dentro del ramo de los alimentos podemos encontrarlas en el yogurt para beber, los licores de crema y las fórmulas lácteas, entre algunos ejemplos.

Termodinámicamente, las emulsiones son sistemas inestables esto es; su formación requiere energía y una vez formadas sus fases tenderán a separarse al transcurrir el tiempo.

En la formulación de emulsiones puede distinguirse entre 2 tipos de ingredientes: el emulsificante y el estabilizante. El emulsificante es la especie química (o mezcla de especies) que promueve la formación de la emulsión y la estabilización a corto plazo mediante la acción interfacial mientras que el estabilizante es la especie (o mezcla) que le confiere a la emulsión estabilidad a largo plazo mediante algún mecanismo de adsorción o mediante modificaciones en la viscosidad de la fase continua (Dickinson, 2003).

Por su valor nutrimental, las proteínas son compuestos de amplio uso en la industria de alimentos. Por su naturaleza química las proteínas son capaces de adsorberse en interfases, lo que les permite, en una emulsión, adoptar el papel de emulsificantes. Algunos estudios al respecto son los publicados por Dickinson (1997), Euston (2000) y Srinivasan (2002).

Los hidrocoloides, por su parte, son polímeros especialmente conocidos por su capacidad de ligar agua y de conferir viscosidad a sus soluciones, lo que los hace capaces de funcionar como estabilizantes dentro de una emulsión. Por esta razón los hidrocoloides suelen ser agregados a las emulsiones en pequeñas cantidades con el único objetivo de prolongar su estabilidad.

En el conjunto de los alimentos procesados, es común encontrar a proteínas e hidrocoloides dentro de un mismo sistema. Las interacciones que estos dos polímeros presenten entre sí aumentarán por supuesto la complejidad de los sistemas, y en el caso de una emulsión, la estabilidad que confieran será el resultado de los efectos conjuntos en términos de funcionalidad.

Los estudios sobre las implicaciones de las interacciones entre proteínas y polisacáridos en emulsiones son por tanto de interés para la industria de alimentos. Generalidades y teorías respecto al tema han sido ampliamente tratados por Dickinson (1998) y Syrbe, (1998). La literatura también reporta estudios sobre sistemas específicos (Euston, 2002 y Garti, 1999).

La parte experimental de este trabajo es un estudio sobre las características de estabilidad o inestabilidad que presentan 4 sistemas modelo constituidos por emulsiones aceite en agua, formuladas con caseinato de calcio en presencia y en ausencia de 3 diferentes hidrocoloides: 1) goma de mezquite, 2) una mezcla comercial mayoritaria en celulosa microcristalina y 3) una mezcla comercial mayoritaria en lambda-(λ)-carragenina

El capítulo de antecedentes comienza con una revisión general sobre emulsiones -- conceptos fisicoquímicos, consideraciones sobre el proceso de formación y los fenómenos de inestabilidad que estas pueden presentar. El papel de proteínas e hidrocoloides dentro de dichos sistemas, se introduce en las secciones 3.3.2 y 3.4. En la sección 3.5 se revisan características y condiciones—estructura, concentración, tipos de interacción- en que los polímeros ayudarán efectivamente a la estabilidad de la emulsión o bien en que casos promoverán la inestabilidad.

Las conclusiones sobre la parte experimental se presentan en la sección 7 donde se subrayan también algunas recomendaciones.

3. ANTECEDENTES

3.1 TEORÍA DE EMULSIONES

A diferencia de una solución verdadera de partículas distribuidas de manera homogénea en una sola fase, la mayoría de los alimentos, por el tamaño y diversidad en la naturaleza química de sus partículas, llegan a constituirse en sistemas heterogéneos. Badui (1996) subdivide a dichos sistemas en función del tamaño de las partículas dispersas en:

- *sistemas coloidales (partículas mayores a 1nm e inferiores a 100nm) y*
- *dispersiones gruesas (aquellas donde los tamaños de partícula superan los 100 nm).*

Como un subconjunto de los sistemas coloidales, el mismo autor, presenta a las emulsiones, las cuales son sistemas dispersos constituidos por dos líquidos inmiscibles en donde uno de estos líquidos constituye una fase que se encuentra dispersa en forma de pequeñas gotas, distribuidas en el otro que constituye, a su vez, la llamada fase continua o dispersante.

De acuerdo con el componente que se encuentre en mayor cantidad, la emulsión podrá ser un sistema aceite/agua (o/w), donde el aceite es la fase dispersa y el agua la fase continua, o bien un sistema agua /aceite (w/o) en el que el agua será la fase dispersa y el aceite la fase continua.

Una fase se define comúnmente como un dominio limitado por una superficie cerrada, dicha superficie contiene energía libre y en ella, al menos algunas propiedades (ej presión, índice de refracción, densidad, capacidad calorífica, composición química) cambian abruptamente (Fennema, 1996).

Tomemos como ejemplo una emulsión de aceite en agua: La fase oleosa, presenta, entre otras características distintivas, una determinada fuerza cohesiva, esto es, las moléculas del aceite, vecinas unas de otras, serán atraídas entre sí con fuerzas iguales. Esta fuerza de atracción intermolecular cambiará drásticamente en la superficie donde las moléculas de aceite (al contacto con el agua) experimentarán una falta de simetría en la distribución de las fuerzas atractivas. Como resultado, dichas moléculas “sentirán” una fuerza neta hacia adentro, empaquetándose más apretadamente entre sí, haciendo que el líquido se comporte como si tuviera una membrana, que le impidiera aumentar su superficie (tensión superficial: Galiana, 1987).

Como se dijo anteriormente, esta superficie contiene energía libre (es decir, su formación requirió energía, dado que se trata de líquidos inmiscibles). Como consecuencia, las emulsiones son inestables y si se les permite reposar por algún tiempo, las moléculas de la fase dispersa (aceite en nuestro ejemplo) tienden a asociarse para constituir una capa que, eventualmente, migrará hacia la superficie (Fennema, 1996). Es por esto, que, al hablar de “estabilidad de una emulsión” debemos siempre hacer referencia a un tiempo de observación.

Una emulsión estable es aquella que no presenta cambios apreciables en la distribución de tamaño de partícula, estado de agregación o en su arreglo espacial en un tiempo determinado (Dickinson, 2003).

La industria de alimentos buscará siempre alargar el periodo de tiempo, en el que el alimento conserva las propiedades físicas, químicas, sensoriales y microbiológicas que lo hacen inocuo y agradable al gusto del consumidor (vida de anaquel). Esto incluye por supuesto, en el caso de las emulsiones, prolongar su estabilidad.

Los principales fenómenos de desestabilización que afectan la homogeneidad de las dispersiones son la migración de las partículas (cremado, sedimentación) y la variación del tamaño de partícula (coalescencia, floculación). Dichos fenómenos se

tratarán, tomando como ejemplo una emulsión aceite en agua, de manera general a continuación:

3.2 FENÓMENOS DE INESTABILIDAD EN EMULSIONES

3.2.1 Cremado

Se hablará primeramente de los factores relacionados con la migración de las partículas dispersas, esto es el fenómeno de inestabilidad conocido como sedimentación (o cremado para emulsiones o/w). Estos están considerados en la ecuación de velocidad de separación de fases conocida como Ley de Stokes (Fennema, 1996; Huang, 2001):

$$V_S = \frac{a(\rho_D - \rho_C)d^2}{18\eta_C} \quad (1)$$

Donde

V_S = velocidad de separación de las fases

$a = 9.81 \text{ m / sec}^2$ para sedimentación por gravedad

o bien

$a = R \omega^2$, donde R es el radio de la centrífuga y ω es la tasa de rotación en radianes por segundo.

ρ_D = densidad de la fase dispersa.

ρ_C = densidad de la fase continua.

d^2 = cuadrado del diámetro de las partículas dispersas

η_C = viscosidad de la fase continua.

De acuerdo con la formula de Stokes (ecuación 1), el tamaño pequeño de las partículas dispersas es importante en la estabilidad ya que la velocidad de separación de fases, será directamente proporcional al cuadrado de su diámetro, la viscosidad de la fase

continua por su parte también favorece la estabilidad. La velocidad de separación aumentará al aumentar la diferencia de densidades. Una diferencia de densidades negativa en la ecuación 1 (como es el caso de las emulsiones o/w) implica sedimentación en la parte superior, esto es cremado.

La ecuación de Stokes es muy útil para predecir tendencias, sin embargo, en la mayoría de los casos, especialmente en sistemas complejos como los alimentos hay muchos factores de desviación: La ecuación trata el comportamiento de las partículas durante la sedimentación como si se tratara siempre de esferas homogéneas, y no considera a los agregados que, de encontrarse presentes, aumentan la velocidad de sedimentación; asume además que la fase continua presentará una viscosidad newtoniana, lo cual es falso en algunos casos (Fennema, 1996). La viscosidad y la diferencia de densidades entre las fases dependerán de los componentes que las constituyen.

3.2.2 Flocculación.

La flocculación, es definida por el mismo autor (Fennema, 1996) como el estado en el cual las partículas se encuentran cercanas durante un tiempo mayor al que les correspondería en ausencia de interacciones atractivas entre ellas (atracciones coloidales). Estas interacciones dependen de características propias del material de las partículas y de la fase continua (Fuerzas de Van der Waals, interacciones eléctricas entre partículas, la fuerza iónica, la constante dieléctrica de la fase y el pH). La flocculación no implica la ruptura de la película interfacial que rodea a las partículas de la fase dispersa; sin embargo, las gotas de aceite cuando han flocculado se mueven como un conjunto en vez de cómo individuos.

En el contexto de la industria de alimentos es frecuente encontrar emulsiones con una gran variedad de componentes tales como proteínas y polisacáridos; estos biopolímeros aunque bien pueden promover la estabilidad de la emulsión (en función

de sus concentraciones, tamaños y de su capacidad o incapacidad de adsorberse en la interfase agua-aceite) también pueden dar lugar a dos tipos adicionales de floculación: Floculación por puenteo (cuando el biopolímero se adsorbe en la interfase) y floculación por agotamiento (cuando no hay adsorción). Como se verá más adelante (Sección 3.5) este tipo de inestabilidades han sido descritas y estudiadas por varios autores (Dickinson, 2003; Mc Clements, 2000; Syrbe, 1998) y es común encontrarlas en emulsiones nutrimentales.

3.2.3 Coalescencia

La coalescencia es, de los tipos de inestabilidad, la mas indeseable (las otras también lo son, sin embargo en algunos alimentos se pudiera permitir, en cierto grado, alguna inestabilidad reversible que se eliminara al agitar el envase).

Fennema (1996) explica que la coalescencia es inducida por la ruptura de la delgada película que se encuentra entre dos gotas cercanas y las separa. Si un pequeño agujero de alguna manera se forma en la película, las gotas inmediatamente fluirán en una sola. La ruptura de esta película es un fenómeno probabilístico, cuya ocurrencia será proporcional al tiempo durante el cual las gotas se encuentren cercanas entre si (será especialmente probable en un cremado o en agregados por floculación) y al tamaño de la película que separe a las gotas (este será menor en gotas pequeñas y la probabilidad de ruptura también será menor). Mientras que cualquier circunstancia que mantenga las gotas apartadas (como serían repulsiones eléctricas y/o estéricas) disminuirá las probabilidades de coalición. El mismo autor señala que una tensión interfacial alta es otra circunstancia que disminuye las probabilidades de coalición pues implica una mayor dificultad para deformar la superficie de la gota. (Los tensoactivos disminuyen la tensión interfacial facilitando la deformación y ruptura de la gota y son útiles para formar una emulsión- ver adelante).

La coalescencia resulta en gotas grandes (no en agregados). Es bastante usual que la coalescencia lleve a distribuciones de tamaño de partícula anchas y entonces las gotas que son mas grandes creman rápidamente. En este punto vale la pena resaltar que aunque floculación, cremado y coalescencia son fenómenos distintos, se encuentran relacionados: La floculación acrecienta el cremado, y si esto ocurre, el cremado a su vez aumenta la tasa de floculación. Ambas, tanto floculación como cremado favorecen que ocurra la coalescencia.

La Figura 1 ilustra los tipos de inestabilidades que se han descrito.

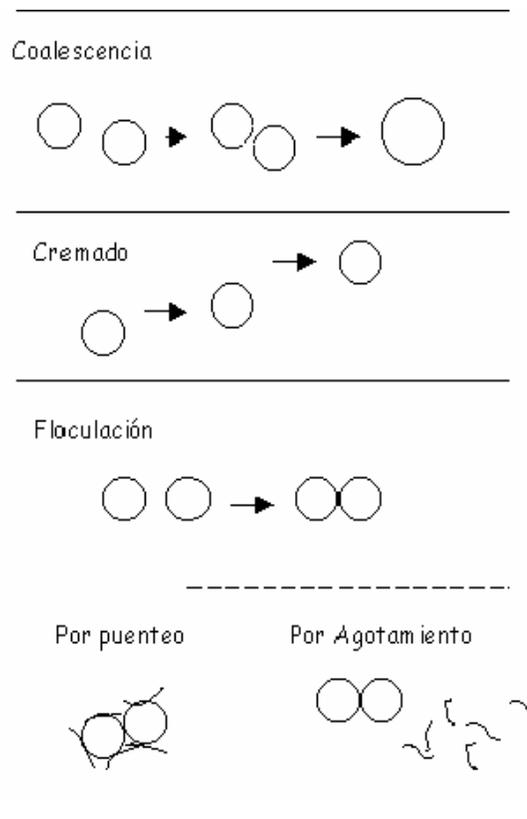


FIGURA 1

Tipos de inestabilidades en una emulsión.

(Adaptada de Dickinson, 1998; Fennema, 1996; Syrbe et al, 1998)

A grandes rasgos, estas son las inestabilidades que se presentan en una emulsión. En este punto, la pregunta que interesa es ¿Cómo pueden retardarse esos efectos y alargar la vida útil de la emulsión? Para responder esta pregunta es necesario identificar a los agentes que causan las inestabilidades y eliminarlos hasta donde sea posible. Se comenzará por revisar como se puede lograr un tamaño de partícula pequeño que favorezca la estabilidad de la emulsión.

3.3 FORMACIÓN DE UNA EMULSIÓN

3.3.1 Formando gotas pequeñas

El tamaño de partícula depende del proceso de preparación de la emulsión y de la ausencia o presencia de tensoactivos.

Para preparar una emulsión se necesita aceite, agua y energía (generalmente energía mecánica). La resistencia que presenta la fase dispersa a la deformación y ruptura aumenta a medida que el tamaño de gota disminuye. La energía requerida para formar gotas pequeñas, suele ser proporcionada por un homogenizador de alta presión donde los cambios drásticos e intensos de presión rompen las gotas de aceite.

La energía necesaria puede ser disminuida si la tensión interfacial es reducida por la adición de un emulsificante.

Un emulsificante o tensoactivo es una molécula que consta de una parte hidrófila y de otra hidrófoba. Esta naturaleza les permite situarse en las interfases reemplazando a las moléculas superficiales, lo que conduce a una menor energía libre es decir a una menor tensión interfacial. Al disminuir la tensión interfacial la superficie de la gota se deforma y rompe más fácilmente (Galiana, 1987). El tipo y la cantidad adecuada de emulsificante harán posible la formación de gotas más pequeñas.

Dentro del tiempo en que la intensa turbulencia en el homogenizador rompe la fase oleosa se propician también frecuentes encuentros entre las gotas de aceite. Con frecuencia, en gotas recién formadas, cuya interfase naciente no ha sido aún totalmente cubierta por emulsificante, y que se encuentren próximas a coalescer, se crean gradientes en la concentración de emulsificante presente en su superficie. Este gradiente es importante durante la homogenización ya que genera el desplazamiento del emulsificante hacia la zona donde la tensión superficial es mayor arrastrando agua con su parte hidrofílica. El agua arrastrada se interpondrá entre las gotas de aceite alejándolas y propiciando la estabilidad de la emulsión (Efecto Marangoni: Fennema, 1996, Dickinson, 2003).

El proceso, por llevarse a cabo en tiempos muy cortos, puede repetirse varias veces durante un solo paso a través de la válvula de homogenización; y generalmente lleva a un equilibrio entre ruptura y coalescencia de gotas. Los emulsificantes más usados en la industria de alimentos pueden ser pequeñas moléculas anfifílicas como los Tween, y los fosfolípidos.

Por otro lado, aunque la funcionalidad principal de las proteínas en los alimentos es meramente nutricional, estas pueden también actuar como emulsificantes.

3.3.2 Las proteínas como emulsificantes

El carácter anfifílico de las proteínas y una estructura flexible será determinante en la habilidad de las mismas para adsorberse y desdoblarse rápidamente formando una capa en la naciente interfase agua-aceite, esto es acción emulsificante. Euston (2000) señala por ejemplo, que el caseinato de sodio y las proteínas del lactosuero son buenos para formar emulsiones, gracias a su estructura flexible. Agregados proteicos más estructurados poco flexibles, como las miscelas de caseína, no pueden desdoblarse rápidamente en la interfase agua aceite y son, por tanto, emulsificantes pobres.

Los párrafos anteriores, explican, a grandes rasgos la importancia de los emulsificantes; debe notarse que todo se refirió al proceso de formación de la emulsión ya que es este momento en el cual el papel de los emulsificantes es determinante en el tamaño de la partícula dispersa. Una vez que una emulsión de gotas pequeñas ha sido preparada exitosamente, las consideraciones referentes a la tensión interfacial dejan de ser relevantes. Lo que importará ahora para lograr estabilidad a largo plazo será la medida en que la naturaleza de la fase continua, la naturaleza de la fase dispersa y la presencia de una capa adsorbida, interaccionen para minimizar las atracciones entre las gotas de aceite (Dickinson, 2003).

3.4 ESTABILIDAD DE LA EMULSIÓN A LARGO PLAZO

Existen dos mecanismos mediante los cuales se puede lograr la estabilidad de una emulsión a largo plazo:

- 1) El aumento en la viscosidad de la fase acuosa (Ley de Stocks 3.2.1)*
- 2) El desarrollo o adquisición por la interfase, de una protección eléctrica y/o estérica que proteja a las gotas impidiendo su fusión con otras (Dickinson, 2003).*

Un estabilizante será cualquier componente químico (o una mezcla) que confiera estabilidad a largo plazo a una emulsión mediante cualquiera de los mecanismos descritos. De acuerdo con Dickinson (2003) un estabilizante puede, aunque no necesariamente, ser adsorbido en la interfase.

Los estabilizantes en las emulsiones nutrimentales son comúnmente polímeros: proteínas e hidrocoloides.

3.4.1 Las proteínas como estabilizantes

La acción estabilizante de las proteínas se basa principalmente en su capacidad de adsorción en la interfase, su alto peso molecular y su carácter polielectrolito. Estas características permiten la formación de una capa protectora sobre las gotas de la emulsión. A diferencia de las moléculas pequeñas, las proteínas son capaces de actuar como emulsificantes y como estabilizantes (Dickinson, 2003; Euston, 2000).

Euston (2000) indica sin embargo, que aquellas proteínas que son buenas durante el proceso de formación de la emulsión no necesariamente lo serán para proporcionar estabilidad a largo plazo.

De entre los caseinatos, el caseinato de calcio proporciona mayor estabilidad a las emulsiones que el caseinato de sodio. Sin embargo, este último es mejor para adherirse a la interfase agua aceite en el proceso de formación de emulsiones, es decir, es un mejor emulsificante, mientras que el primero es mejor estabilizante (Euston, 2000).

3.4.2 Los hidrocoloides como estabilizantes

Al igual que las proteínas, los hidrocoloides poseen un alto peso molecular y carácter polielectrolito. Son conocidos especialmente por su capacidad de ligar agua y su actividad estabilizante está comúnmente relacionada con cambios en la viscosidad o formación de gel en la fase continua acuosa.

De acuerdo a su naturaleza química, los hidrocoloides son polisacáridos; con excepción de la gelatina que es de naturaleza protéica. De acuerdo con su función biológica se han dividido en dos grandes grupos: (a) Los que constituyen la estructura celular y le confieren rigidez a los tejidos como son la celulosa y las pectinas y (b) los que representan la reserva energética como el almidón (Badui, 1996).

Dependiendo del pH, y de los grupos químicos presentes en sus moléculas los hidrocoloides presentarán carga eléctrica (negativa). Dickinson (1998) clasifica a los hidrocoloides en función del grupo que les confiere su carga eléctrica como:

- *Polisacáridos carboxilados: alginatos, pectinas y carboximetilcelulosa*
- *Polisacáridos sulfatados como las carrageninas*
- *Gomas neutras como la goma Guar*

Pocos son los casos reportados en la literatura de hidrocoloides que presentan actividad superficial, entre ellos se encuentran los galactomananos (locust bean, Tara, guar, fenugreek), la goma arábiga y la goma de mezquite (Dickinson, 2003; Garti, 1999; Vernon, 2000). La actividad superficial de estas gomas parece deberse a la presencia de una fracción protéica que puede encontrarse como contaminante, o bien unida ya sea física o covalentemente al hidrocoloide.

En el conjunto de los alimentos procesados, es común encontrar a proteínas e hidrocoloides dentro de un mismo sistema. Un ejemplo es el caso de las emulsiones fluidas de carácter nutrimental donde lípidos y proteínas se encuentran presentes en porcentajes mayoritarios mientras que los hidrocoloides suelen agregarse en pequeñas cantidades con el único objetivo de favorecer la estabilidad del sistema.

De acuerdo con lo mencionado hasta ahora se esperaría que, gracias a su capacidad de adsorción, las proteínas se encontraran cubriendo las superficies de las gotas mientras que los hidrocoloides se encontraran libres en el medio dispersante. Esta descripción será cierta en muchos casos, sin embargo, dependiendo del tipo de hidrocoloide, puede darse un tercer mecanismo que confiera estabilidad a la emulsión. Consideremos el caso de los hidrocoloides sulfatados:

La atracción entre los grupos $-\text{OSO}_3^-$ del hidrocoloide y los grupos $-\text{NH}_3^+$ presentes en la proteína son muy fuertes y hacen posible la formación de un co-polímero proteína-

hidrocoloide que muestra al mismo tiempo un alto grado de carácter hidrofóbico (debido a las cadenas no polares presentes en la fracción protéica) que lo mantiene permanentemente anclado a la interfase, y por otro lado, una porción hidrofílica de alto peso molecular que se extiende hacia el medio acuoso y le confiere a la gota de grasa una gruesa capa que le proporciona estabilidad estérica. Adicionalmente, se espera que grupos cargados presentes en los hidrocoloides contribuyan a la repulsión entre las superficies de las partículas (Dickinson, 2003).

La Figura 2 resume los mecanismos mediante los cuales proteínas e hidrocoloides pueden favorecer la estabilidad de una emulsión aceite/agua.

Es necesario señalar en este punto, que las condiciones en que proteínas e hidrocoloides se encuentren en una emulsión pueden ser muy variadas dependiendo del tipo de proteína y/o hidrocoloide que se trate, de su concentración y de las fuerzas intermoleculares que se generen en el sistema, es por ello que las situaciones de estabilidad que se han descrito son mas bien una excepción.

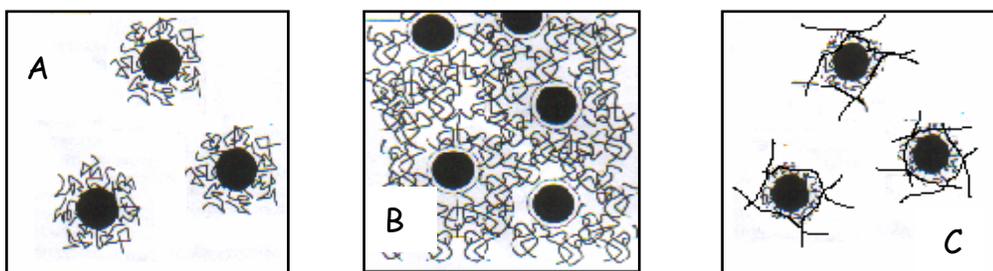


FIGURA 2. Proteínas e Hidrocoloides como estabilizantes de una emulsión (Adaptada de Dickinson, 2003 y Syrbe, 1998).

- A. Estabilización Estérica por un polímero adsorbido en la interfase
- B. Estabilización por efecto de la viscosidad aportada por un polímero
- C. Estabilización mediante la formación de un co-polímero proteína-hidrocoloide (proteína representada por trazos pequeños; hidrocoloide representado por trazos largos).

3.5 CONDICIONES DE ESTABILIDAD-INESTABILIDAD INDUCIDAS POR HIDROCOLOIDES Y PROTEÍNAS EN UNA EMULSIÓN.

Cuando se adicionan macromoléculas a una emulsión o a cualquier suspensión coloidal de partículas se observa generalmente el fenómeno de floculación. Los mecanismos involucrados pueden ser el “puenteo” cuando las cadenas del polímero son capaces de adsorberse en las superficies de las partículas coloidales o el “agotamiento” cuando las cadenas del polímero son excluidas de la región contigua a la superficie de la partícula. La ocurrencia de uno u otro mecanismo depende de la interacción neta entre las partículas, las macromoléculas y el solvente. Las condiciones en las que se dará la estabilidad o bien la inestabilidad inducida por polímeros en una emulsión se estudiarán a continuación:

3.5.1 Condiciones de estabilidad-inestabilidad inducidas por polímeros no adsorbidos en interfases.

Cuando un polímero (proteína o polisacárido) no se adsorbe en la superficie coloidal, su papel en la estabilidad de la emulsión estará relacionado con la viscosidad que proporcione al sistema.

La mayoría de la literatura referente a la viscosidad de polímeros en solución, está referida al caso particular de los hidrocoloides o polisacáridos (Fennema, 1996; Mc Clements, 2000), sin embargo, ha de considerarse que estos son solo el caso mas representativo del comportamiento general que presenta cualquier molécula (proteína, etc) no adsorbida en la interfase.

De acuerdo con la literatura, la viscosidad de una solución de polisacárido es una función del tamaño, extensión y rigidez que las moléculas del polisacárido adopten en el solvente. Estas a su vez, dependerán de la composición de sus monómeros, de la cantidad de ramificaciones y de las repulsiones o atracciones intramoleculares. Como

resultado, algunos polímeros serán extendidos y otros compactos. (Fennema, 1996; Mc Clements, 2000).

Ahora bien, un polímero en solución se flexiona y gira rápidamente, barriendo un espacio que se denomina radio de giro (R_g) (Fennema, 1996). Este radio de giro está correlacionado con el volumen del polímero en la solución.

Las moléculas de polisacáridos lineales en solución, al girar, barren un espacio grande, esto es: presentan grandes radios de giro. Frecuentemente estos polisacáridos colisionan entre ellos, creando fricción, consumiendo energía y produciendo viscosidad. Los polisacáridos lineales producen soluciones altamente viscosas, incluso a bajas concentraciones. En contraste, una molécula de polisacárido globular o muy ramificada barrerá, mucho menos espacio que un polisacárido lineal del mismo peso molecular. Como resultado las moléculas globulares o altamente ramificadas colisionarán con menos frecuencia y producirán viscosidades mucho menores que las moléculas lineales (Fennema, 1996).

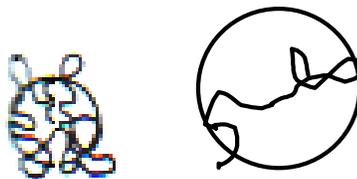


FIGURA 3 Espacios "barridos" por el giro de polisacáridos lineales y globulares. (Fennema, 1996).

El comportamiento al flujo de una solución de polisacárido está determinado por el tamaño, forma, flexibilidad y por la presencia y magnitud de cargas presentes en estas moléculas hidratadas o en sus agregados.

En lo que respecta a los fenómenos de inestabilidad que pueden llegar a presentarse en soluciones viscosas, la explicación mas ampliamente aceptada (Berli, 2002; Fennema, 1996; Mc Clements, 2000) está basada en la Teoría del Volumen Excluido desarrollada por Asakura y Oosawa en 1958. En esta teoría se asume que las especies no adsorbidas en la interfase se comportan como esferas sólidas con un radio definido. Una partícula con esas características será excluida de la región cercana a una interfase porque el centro de su molécula no puede acercarse a la interfase mas allá de lo que físicamente le permite su radio.

Alrededor de la interfase se crea entonces una llamada “zona de agotamiento” donde la concentración de las partículas es menor que la que existe en el resto de la fase dispersante. El grosor de esta capa es aproximadamente igual al radio de las partículas en solución.

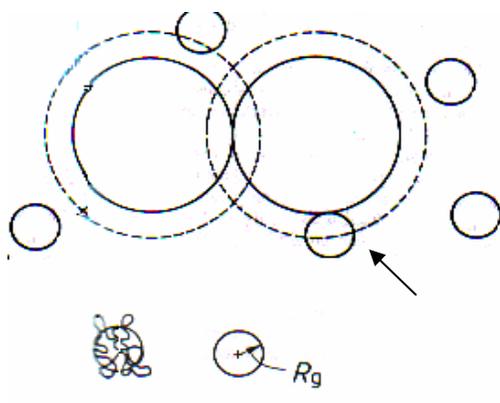


FIGURA 4. Zonas de agotamiento de polímeros no adsorbidos definidas alrededor de una interfase.

La flechas señalan moléculas con radio de giro R_g . Estas no pueden acercarse a la superficie de partículas coloidales (círculos grandes) mas allá de lo que físicamente les permite su R_g . La diferencia de concentraciones se da entre la zona de agotamiento (delimitada por línea punteada) y el resto de la solución.

Imagen tomada de Fennema, 1996. Texto basado en descripciones de Fennema, 1996 y Mc Clements, 2000

La diferencia de potencial osmótico creada favorece el movimiento de las moléculas del solvente desde la zona de agotamiento hacia el resto de la solución con el objetivo de

diluir las moléculas de polímero y reducir, de esta manera, el gradiente de concentración. La única forma en que esto puede realizarse es mediante la agregación de las gotas (“depletion flocculation” Mc Clements, 2000).

En otras palabras, cuando 2 zonas de agotamiento se traslapan, es decir, cuando un par de interfases se aproximan a una distancia menor que el diámetro promedio del polímero libre, este es excluido del espacio entre las partículas. La tendencia del solvente a fluir junto con el polímero fuera del espacio entre interfases se traduce como una fuerza atractiva entre las gotas y comienza la agregación. La desestabilización de la emulsión se manifiesta por un cremado rápido y separación acuosa (Dickinson, 2003).

En las consideraciones teóricas de su trabajo sobre la floculación promovida por polisacáridos Mc Clements (2000) asume que un polisacárido flexible rotando en solución con un radio de giro R_g puede tratarse de manera similar a una esfera sólida con un radio definido.

De acuerdo con modelos teóricos citados por Mc Clements (2000), la fuerza atractiva que lleva a la floculación de las gotas depende principalmente de dos factores: la concentración del polisacárido y el tamaño de la zona de agotamiento, que esta determinada a su vez por el radio de giro. Los resultados reportados señalan que, a medida que aumenta el radio de giro de un polímero no adsorbido:

- aumenta la viscosidad del medio acuoso.*
- aumenta la magnitud de la fuerza de atracción inducida entre las partículas coloidales*

El autor introduce además los siguientes términos relacionados con la concentración de polisacárido no adsorbido de acuerdo con cálculos teóricos:

➤ *Concentración de Viscosidad Crítica (CVC).*- Esta concentración es definida como el valor al cual la viscosidad de la fase acuosa tiende hacia el infinito.

➤ *Concentración de Flocculación Crítica (CFC).*- Concentración que produce una atracción por agotamiento suficiente para producir la flocculación de las gotas.

Para moléculas pequeñas o altamente enrolladas o ramificadas (esto es con radios de giro pequeños) las concentraciones necesarias para alcanzar tanto la CVC como la CFC son muy altas mientras que, en el caso de polímeros grandes o extendidos (con radios de giro grandes) es necesario solo cantidades pequeñas para lograr una gran viscosidad o bien para promover la flocculación. A mayores concentraciones, y en presencia de alguna fuerza atractiva entre las moléculas del polímero (P.ej. puenteo por calcio, puentes de hidrógeno), suele presentarse la gelificación del sistema.

El caso más reportado (Dickinson, 2003; Euston, 2002; Huang, 2000) de un polímero capaz de inducir flocculación por agotamiento a muy bajas concentraciones es el de la goma xantana: un polímero de estructura rígida y extendida protegida por cadenas aniónicas (Fennema, 1996). Esta goma es también conocida por su alta capacidad viscosante y es ampliamente utilizada en la industria alimentaria. López y Brito (1999) reportan que la viscosidad aparente de sus soluciones se incrementa exponencialmente con la concentración.

Dickinson (2003) estudió el efecto de diversas concentraciones de goma xantana en la estabilidad de fases dispersas constituidas por gotas de aceite cubiertas de proteína. En dicho estudio, concentraciones muy bajas de xantana (0.025; 0.05 % en peso) fueron suficientes para inducir flocculación por agotamiento y la consecuente separación de fases dos horas después de la preparación. Al aumentar la concentración de goma la separación de fases tardó mas tiempo en ser evidente.

En el caso anterior, gotas de aceite cubiertas por proteína floclaron en presencia de un polisacárido no adsorbido. ¿Es posible que la floclación por agotamiento sea también inducida por proteína que, por encontrarse en concentraciones superiores a las necesarias para cubrir las interfase o bien por haber sido desplazada de la misma se encuentre “no adsorbida”, es decir, libre en la fase acuosa?

De acuerdo con la bibliografía consultada (Dickinson, 1999; Srinivasan, 2002; Srinivasan, 2003) las moléculas individuales de caseína son demasiado pequeñas para inducir la atracción entre gotas; pero, si las caseínas se encontraran formando pequeños agregados entonces podría considerarse la generación de un potencial osmótico suficientemente fuerte para generar la floclación. De acuerdo con Dickinson (1999) una concentración de 3% de sub-micelas de caseína con un diámetro de 10 nm pueden inducir la floclación por agotamiento de gotas de 0.6 μm de diámetro.

Srinivasan (2002) reporta floclación inducida por caseinato de sodio (2%) en emulsiones con 30% de aceite de soya sometidas a tratamiento térmico (121°C 15 min). En contraste, en emulsiones realizadas posteriormente utilizando caseinato de calcio (2%) hubo ausencia total de floclación (Srinivasan, 2003). El autor atribuye estos resultados a la alta agregación que suele presentar el caseinato de calcio al ser sometido a tratamiento térmico. Si los agregados son excesivamente grandes, el efecto osmótico se ve disminuido. Las condiciones de estabilidad-inestabilidad inducidas por polímeros en solución se ilustran en la Figura 5.

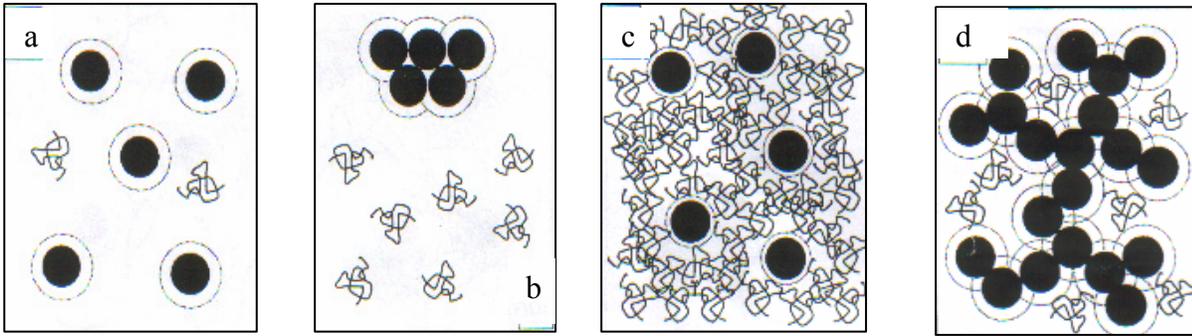


FIGURA 5. Sistema coloidal en presencia de diferentes concentraciones de polímero no adsorbido y en condiciones de baja fuerza iónica. Figuras tomada de Syrbe (1998), texto basado en descripciones de Syrbe (1998) y Mc Clements (2000).

- a.- Inestable. No hay floculación ($c < CFC$) y la viscosidad es relativamente baja ($c < CVC$). Las gotas se mueven hacia arriba a una velocidad que es proporcional a su diámetro y recíproca a la viscosidad de la fase acuosa
- b.- Altamente inestable. Hay floculación ($c > CFC$) y viscosidad relativamente baja ($c < CVC$). El tamaño efectivo de las partículas en la emulsión aumenta por efecto de la floculación y la viscosidad no es lo suficientemente alta para evitar que los agregados crezcan.
- c.- Estable.- No hay floculación ($c < CFC$) y hay alta viscosidad ($c > CVC$). Las gotas no están floculadas, y la viscosidad de la fase acuosa es alta y les impide moverse.
- d.- Estable.- Hay floculación ($c > CFC$) y alta viscosidad ($c > CVC$). Las gotas están floculadas, pero la viscosidad de la fase acuosa es tan alta que no se pueden mover.

Lo anterior se refiere únicamente al caso específico de un polímero que no se adsorbe en la interfase. Se hablará ahora de lo que sucede cuando el polímero si es capaz de adsorberse en la interfase.

3.5.2 Condiciones de estabilidad-inestabilidad inducidas por polímeros adsorbidos en interfases.

Cuando la concentración de un polímero con capacidad de adsorción no es suficiente para cubrir completamente la superficie, algunas moléculas de dicho polímero pueden adsorberse simultáneamente en más de una partícula coloidal, formando así puentes entre ellas conduciéndolas a la floculación (“Bridging flocculation”; Dickinson, 2003; Syrbe, 1998). La extensión espacial del polímero tiene además que ser suficiente para unir dos partículas al mismo tiempo.

A mayores concentraciones, cuando la cobertura de la superficie es total se presenta la estabilización estérica. A concentraciones aún mayores habrá un porcentaje de polímero excedente que no se encuentre asociado a la interfase y que se comportará como un polímero en solución.

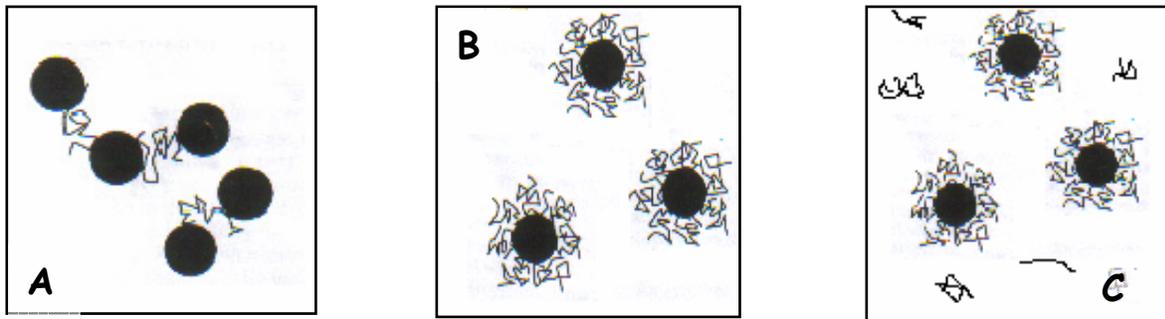


FIGURA 6. Sistema coloidal en presencia de diferentes concentraciones de polímero adsorbido. (Dickinson, 1998; Syrbe, 1998,).

- a.- Inestable.- La concentración de polímero es muy baja y este no cubre completamente las interfases. El polímero se adsorbe simultáneamente en dos interfases mal protegidas.
- b.- Estable.- La concentración del polímero es suficiente para proteger las interfases.
- c.- Estable o Inestable.- Hay un excedente de polímero que se comporta como polímero no adsorbido. El sistema puede ser estable o inestable dependiendo del radio y concentración del polímero.

3.5.3 Condiciones de estabilidad-inestabilidad inducidas por la presencia simultánea de proteínas e hidrocoloides en una emulsión.

Los sistemas que contienen simultáneamente proteínas e hidrocoloides son muy complejos y las situaciones de estabilidad-inestabilidad dependerán, además de su radio y concentración, del tipo de interacciones que estos polímeros tengan entre si.

La interacción neta entre proteínas e hidrocoloides depende de muchos factores como los enlaces covalentes, los puentes de hidrógeno, el puenteo por iones, las fuerzas de Van der Waals y las interacciones electrostáticas (Dickinson, 1998). En lo concerniente a las interacciones electrostáticas son especialmente importantes los grupos presentes en los polímeros y las condiciones del medio acuoso:

- La distribución, concentración y grado de ionización de los diferentes tipos de grupos presentes: NH_3^+ , CO_2^- y OSO_3^- .*
- Las condiciones del medio acuoso: pH, fuerza iónica y calidad del solvente.*

El efecto de la fuerza iónica se ve reflejada en el “apantallamiento” de los grupos cargados presentes en los polímeros.

El pH del medio es muy importante pues determina el grado de ionización de los grupos: A pHs por debajo del punto isoeléctrico del polímero, la mayoría de los grupos están protonados y el polímero tiene una carga neta positiva. A pHs por encima del punto isoeléctrico, la mayoría de los grupos están ionizados y el polímero tiene una carga neta negativa.

En conjunto, todos estos factores dan lugar a una interacción neta resultante entre proteínas e hidrocoloides que puede ser atractiva o repulsiva y da lugar a las situaciones que se exponen a continuación:

a) *Miscibilidad: ni atracción ni repulsión*

Cuando la interacción entre polímeros diferentes es similar a la que existe entre sus iguales ocurre un mezclado espontáneo, sin embargo, este caso es la excepción, y se vuelve mas difícil al aumentar el peso molecular de los polímeros. El único caso reportado en la bibliografía consultada se refiere a la asociación entre pectina y albúmina sérica (Dickinson, 1998; Syrbe, 1998).

b) *Incompatibilidad: Interacciones repulsivas.*

Esta situación se presenta cuando la interacción entre polímeros diferentes es mas repulsiva que la que existe entre moléculas del mismo polímero. Las interacciones repulsivas se deben principalmente a efectos termodinámicos de exclusión y a repulsiones debidas a efectos electrostáticos (Dickinson, 1998; Syrbe, 1998).

b.1 *Efectos de exclusión:*

Puesto que es imposible que dos segmentos de cualquier molécula se encuentren al mismo tiempo en el mismo lugar, la libertad de configuración que dos polímeros pueden tener en solución se ve restringida por su tamaño y forma. Esta restricción hace que su interpenetración o mezclado sea en términos de entropía un proceso muy poco favorecido y las macromoléculas tiendan a estar lejos unas de otras (Dickinson, 1998; Syrbe, 1998).

b.2 *Efectos electrostáticos.*

De acuerdo con Syrbe (1998) la incompatibilidad está, para estos efectos, directamente relacionada con la auto-asociación de las proteínas. Esta será mas evidente a medida que el pH se acerque al punto isoeléctrico (pI) de las proteínas. En estas condiciones las moléculas no tienen carga neta que permita su repulsión, sino que presentan dipolos fluctuantes responsables de las interacciones atractivas. La

proteína de interés en este trabajo es la caseína. Su punto isoeléctrico es 4.6 (Langendorff, 2000). Puesto que el punto isoeléctrico de los hidrocoloides suele encontrarse alrededor de 3, se puede asumir que, en el rango de pH relevante en alimentos, la auto-asociación de los hidrocoloides es mínima o nula; también será de esta manera en el caso de los hidrocoloides no iónicos (Syrbe, 1998).

La incompatibilidad se manifiesta mediante la aparición de dos fases acuosas inmiscibles una de ellas teniendo por soluto a la proteína y la otra al polisacárido (Syrbe, 1998).

c) Atracción.

Las interacciones atractivas entre proteínas e hidrocoloides cubren un amplio rango de posibilidades en función de su fuerza y especificidad, pudiendo ir desde los complejos solubles hasta los enlaces covalentes .

Las uniones entre proteínas e hidrocoloides suelen ser muy fuertes cuando ambos polímeros tienen carga neta opuesta ($\text{pH} < \text{pI}$ proteína) y da lugar a la formación de complejos coacervados. La formación de estos se distingue por la formación de dos fases acuosas: una de ellas será rica en ambos biopolímeros, mientras que la otra carecerá de ambos (Dickinson, 1998; Syrbe, 1998).

Cuando el pH se encuentra por encima del punto isoeléctrico de la proteína (4.6) esta, al igual que el hidrocoloide se encontrará con una carga neta negativa. Cuando proteínas e hidrocoloides tienen la misma carga neta, las interacciones atractivas son aún posibles entre ellos. En este caso la atracción involucra zonas o “parches” cargados positivamente situados en la proteína (principalmente grupos $-\text{NH}_3^+$) que interaccionan con el polisacárido aniónico. Un aumento en la carga neta negativa de una proteína disminuye la atracción electrostática polisacárido-proteína por apantallamiento de los residuos + de esta última (Dickinson, 1998).

En este punto es necesario hacer una distinción entre los polisacáridos carboxilados y los polisacáridos sulfatados (como las carrageninas). La atracción del grupo protéico –NH₃⁺ es mucho mas fuerte por los grupos OSO₃⁻ que por los grupos CO₂⁻. Por tanto, los polisacáridos sulfatados en fuerzas iónicas bajas, pueden formar complejos con las proteínas en pHs aun muy por encima del punto isoeléctrico de las mismas (Dickinson, 1998; Syrbe, 1998). En contraste, para los polisacáridos carboxilados a pH > pI proteína, el complejo proteína-polisacárido es muy débil o inexistente o el sistema puede incluso volverse incompatible (Syrbe, 1998).

Las interacciones atractivas entre polímeros con cargas netas del mismo signo también son posibles mediante el puenteo por iones divalentes. Por otro lado, en función de la fuerza iónica del medio las partículas podrán adquirir una carga eléctrica asociada a su superficie. Esta carga eléctrica influirá en las interacciones entre polímeros y estará definida por la cantidad de iones presentes en solución (Kasuba, 2003).

Falta mencionar el caso extremo de interacción que es el enlace covalente; este el cual representa una ventaja sobre la atracción electrostática, pues permite la asociación proteína-polisacárido sobre un amplio rango de pH y fuerza iónica sin la aparición de precipitación (Dickinson, 2003).

La Figura 7 presenta la distribución de proteínas e hidrocoloides que pueden esperarse como resultado del tipo de interacciones estudiadas.

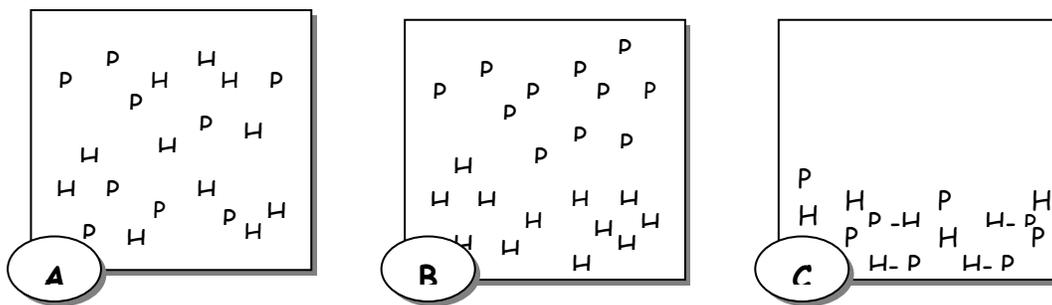


FIGURA 7. Posibles interacciones entre Proteínas e Hidrocoloides (Syrbe 1998).

P = proteína; H = Hidrocoloide

- A. Miscibilidad
- B. Incompatibilidad
- C. Atracción

Las interacciones entre proteínas e hidrocoloides aquí presentadas podrán observarse tanto en solución acuosa como en la interfase de una emulsión. La interfase se supondrá cubierta de proteína y las situaciones de formación de complejos, miscibilidad e incompatibilidad se transformarán en adsorción y no adsorción del hidrocoloide en la superficie protéica.

Así, en una emulsión en presencia de proteínas e hidrocoloides pueden darse múltiples circunstancias muchas de las cuales llevarán al sistema a una situación de inestabilidad. Cuando se presenta inestabilidad en una emulsión, es siempre conveniente, conocer las causas que propiciaron dicha situación. Se presentan a continuación algunas herramientas útiles en el estudio de este tipo de sistemas.

3.6 HERRAMIENTAS ÚTILES EN EL ESTUDIO DE EMULSIONES EN PRESENCIA DE PROTEÍNAS E HIDROCOLOIDES.

3.6.1 Determinaciones reológicas sobre la emulsión

La determinación de la viscosidad medida sobre la emulsión, como indicador de estabilidad o inestabilidad de la misma, puede tener (dependiendo los componentes presentes) más de una interpretación como Dickinson (2003) lo expone al comparar 2 casos de emulsiones que presentaron alta viscosidad:

- *Caso 1) Emulsión con Tween 20 (emulsificante) y un polisacárido aniónico.- La emulsión presentó una gran estabilidad al cremado. En este caso la alta viscosidad medida sobre la emulsión es mas bien un reflejo de la alta viscosidad de la fase acuosa (Ley de Stokes 3.2.1)*
- *Caso 2) Emulsión con proteína y pectina de alto metoxilo.- En esta emulsión donde la floculación era evidente, Dickinson interpreta una alta viscosidad como el resultado de una significativa atracción entre la proteína y el hidrocoloide en estudio.*

Berli (2002), reporta comportamientos pseudoplásticos en emulsiones con un exceso de caseinato sodio no adsorbido. El autor atribuye este comportamiento al rompimiento de agregados que se da al aumentar el esfuerzo de corte aplicado.

3.6.2 Determinación de Tamaño de Partícula (DTP) y Turbidimetría

La DTP es una herramienta útil en la evaluación de métodos de preparación de la emulsión, de la coalescencia y de identificación de floculación por puenteo.

Dickinson (1998) en su estudio sobre la influencia de la carragenina iota en emulsiones con gotas de aceite cubiertas con albúmina sérica bovina describe un aumento muy pronunciado (mas de un orden de magnitud) en el tamaño de partícula ($d_{3,2}$) cuando la cantidad de carragenina adicionada supera cierta concentración ($\geq 5 \times 10^{-3}$ wt%) para volver bruscamente al valor inicial en presencia de concentraciones superiores al 0.1 wt %. El pronunciado aumento en el tamaño de partícula es interpretado como una medida promedio de los agregados formados por causa del puenteo (Figura 8).

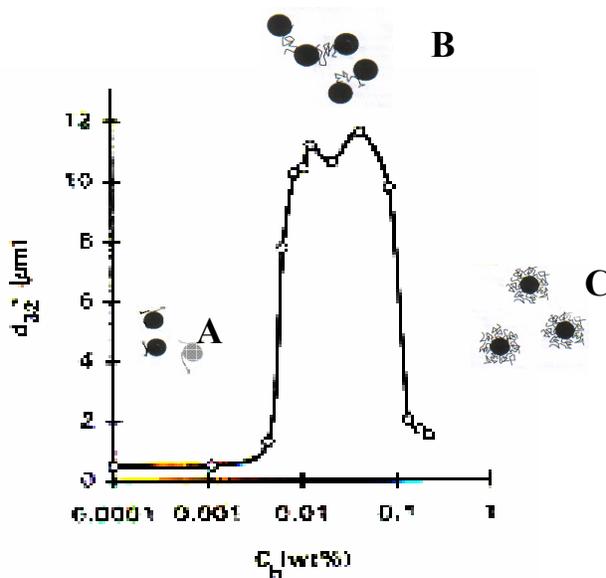


FIGURA 8. Efecto de la concentración del polímero adsorbido en el tamaño de partícula $d_{3,2}$. Tomado de Dickinson (2003) y Syrbe (1998).

- A.- El bajo valor de $d_{3,2}$ corresponde al tamaño real de las partículas coloidales.
- B.- A mayores concentraciones se registra un salto aparente en el tamaño de partícula debido a la floculación por puenteo ocasionada por interacciones atractivas entre el polímero no adsorbido y la superficie coloidal de naturaleza proteica.
- C.- Reestabilización parcial en concentraciones mas elevadas de polímero no adsorbido se refleja en tamaños de partícula considerablemente más pequeños.

En contraste, la floculación por agotamiento se trata de un fenómeno osmótico y, por tanto, la dilución con agua puede causar desagregación debido a una disminución en la presión osmótica (Fennema, 1996). Esto limita a las determinaciones de tamaño de partícula como indicadores de dicho fenómeno de floculación pues es necesario, en estas determinaciones, la dispersión previa de la muestra en agua y su posterior agitación (Euston, 2002).

Un mejor indicador de la floculación por agotamiento son las determinaciones de turbidimetría. El cambio de turbidez al variar la altura del tubo que contiene la muestra de emulsión, es interpretada por Euston (2002) como un indicador de cremado inducido por floculación por agotamiento.

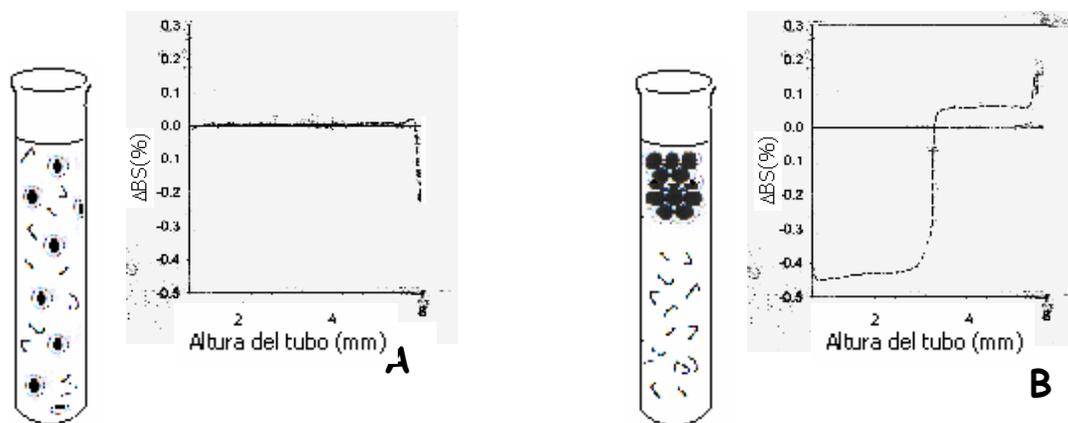


FIGURA 9. Herramientas usadas en el seguimiento de floculación inducida por agotamiento. Basado en descripciones de Euston (2002).

- A.- Polímero no adsorbido en la superficie proporciona viscosidad suficiente para mantener estable al sistema. La luz dispersada por las partículas se mantiene constante a todo lo largo del tubo
- B.- Polímero no adsorbido en la superficie en $c > CFC$ induce floculación por agotamiento que ocasiona un cambio drástico en la curva de luz dispersada en la medición turbidimétrica.

3.6.3 Otras determinaciones

A menudo, determinaciones visuales pueden realizarse. Dickinson (1998) reporta para la identificación de floculación por agotamiento la medida de la altura de la fase acuosa detectable a simple vista a los 3 días después de la preparación de emulsiones con caseinato de sodio y diferentes concentraciones de pectina.

Los cremados resultantes de la floculación por agotamiento serán densos y compactos, En contraste se espera la formación de cremados sueltos y de lenta compactación si la floculación se debe al puenteo (Syrbe, 1998).

Son importantes también las cuantificaciones de proteínas e hidrocoloides en un cremado o fase acuosa después de haber sometido la muestra a condiciones drásticas de centrifugación donde los polímeros adsorbidos serán concentrados en la fase cremada y separados de los no adsorbidos que quedarán en la fase acuosa (Dickinson, 1998)

Se han expuesto ya los papeles que proteínas e hidrocoloides juegan en una emulsión; se ha hecho énfasis en el impacto que el tipo, concentración e interacciones de estos polímeros tienen sobre la estabilidad o inestabilidad de la misma. Se hablará ahora de las proporciones que aceite y proteína guardan en algunos casos específicos.

3.7 PROTEÍNAS E HIDROCOLOIDES EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

3.7.1 Proteínas e Hidrocoloides en una emulsión nutrimental

Debido a su valor nutrimental, las proteínas y los lípidos son componentes inherentes de una gran variedad de alimentos. La leche, sus derivados y las fórmulas lácteas diseñadas para soporte nutrimental, son ejemplos de emulsiones alimenticias.

La estabilidad, en estos casos, dependerá por supuesto, de todos los componentes presentes en el sistema, de las interacciones que existan entre ellos, además del proceso de elaboración que en muchos casos exige un tratamiento térmico. El efecto que una esterilización comercial típica (121°C durante 15 minutos) tiene sobre emulsiones aceite en agua estabilizadas con caseinato de calcio ha sido estudiado por Srinivasan (2003). En emulsiones sometidas a una presión de homogenización de 207/34 bar con un 30% de aceite de soya, Srinivasan observó la polimerización de las caseínas en grandes agregados como resultado de las condiciones de esterilización. El mismo autor señala además que, en concentraciones bajas de proteína (0.5-1%) el tratamiento térmico causa una floculación excesiva que es atribuida principalmente a la formación de puentes, ya que la cantidad de proteína disponible para la adsorción disminuye debido a la polimerización. En concentraciones de proteína > 2.0% Srinivasan reporta la formación de gotas mas homogéneas e individuales. En otras palabras, en este tipo de sistemas, una cantidad de proteína 1/15 de la cantidad de aceite, es suficiente para cubrir completamente la superficie de la gota evitando así la floculación por puenteo (sección 3.5.2).

Otros autores (Dickinson, 1997; Berli, 2002) en estudios sobre emulsiones con 35 y 30% de aceite, consideran que la adición del 2- 3% en peso de proteína en la emulsión es suficiente para cubrir por completo la interfase.

La mayoría de los estudios previos sobre el comportamiento de emulsiones o/w estabilizadas con proteína (Dickinson, 1997, 1998; Berli, 2002; Srinivasan, 2003) se han realizado sobre sistemas con porcentajes de aceite que van de un 30 a un 45%, altos en proporción a la cantidad de proteína adicionada que en dichos estudios va de un 0.5 a un 5% en peso de emulsión.

En el contexto de los alimentos, sin embargo, las proteínas y los lípidos suelen encontrarse en proporciones diferentes a las reportadas en estos estudios. Tomemos como ejemplo una fórmula nutrimental con una distribución energética basada en la recomendación para el adulto mexicano promedio¹ (hidratos de carbono 60- 63% (sacarosa no más de 10%), lípidos 25% y proteínas 12 a 15 % del aporte calórico total).

La Tabla 1 presenta las cantidades en gramos de carbohidratos, lípidos y proteínas que corresponden a un aporte total de 100 kcal de acuerdo con la distribución energética mencionada. La tabla considera los aportes calóricos para carbohidratos, lípidos y proteínas como 4, 9 y 4 kcal/g respectivamente.

TABLA 1. Cantidades de nutrimentos /100 kilocalorías de dieta balanceada para el adulto mexicano

Nutrimento	gramos/100 kcal de dieta balanceada
Carbohidratos	15 - 15.75
Lípidos	2.77
Proteínas	3 - 3.75

Nótese que las cantidades de lípidos y proteínas en la Tabla 1 son similares entre sí (la cantidad de proteína es, incluso, es ligeramente superior: aproximadamente 1.26 de la

¹ Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (Ingestión diaria recomendada (IDR) de energía para la población mexicana, 2001)

cantidad de lípidos, los cuales, en el caso de una emulsión fluida son representados por el aceite). Obsérvese también que la cantidad de proteína respecto a la cantidad de aceite es muy superior al valor de 1/15 reportado por Srinivasan (2003) necesario para cubrir en su totalidad las gotas de aceite.

La literatura no reporta estudios sobre el comportamiento de emulsiones o/w estabilizadas con proteína donde los porcentajes de aceite y proteína sean similares a aquellos que interesan directamente a aplicaciones con carácter nutrimental y por consiguiente comercial.

En la parte experimental de este trabajo se exploran las características de emulsiones O/W formulados con caseinato de calcio, donde la proteína y el aceite guardan proporciones similares a las que pueden encontrarse en la industria de alimentos.

Se estudia también el efecto de 3 diferentes hidrocoloides, seleccionados en función del mecanismo con el que pueden contribuir a la estabilidad o inestabilidad de una emulsión. Las características más importantes de los caseinatos de calcio y de los hidrocoloides seleccionados se presentan a continuación.

3.7.2 Sinopsis del caseinato de calcio y de algunos hidrocoloides de importancia en la Industria de Alimentos

3.7.2.1 Caseinato de calcio

Se le da el nombre de caseína a la fracción protéica de la leche que contiene un grupo prostético formado por el éster fosfórico de la serina o de la treonina y que flocculan en la leche a un pH de 4.6 o cuando se encuentran bajo la acción de enzimas específicas como el cuajo (Santos, 1987).

Los caseinatos son manufacturados precipitando la caseína de la leche disminuyendo su pH hasta 4.6 ya sea mediante la adición de un ácido mineral diluido o mediante la conversión de lactosa en ácido láctico por la adición de algún cultivo microbiano. La cuajada formada es lavada con agua y disuelta en un álcali apropiado para aumentar su pH a un valor cercano a 7.0 para posteriormente ser sometida a un secado por aspersión.

Cuando se utiliza NaOH para ajustar el pH, el producto formado se denomina caseinato de sodio. Cuando se utiliza $\text{Ca}(\text{OH})_2$ para ajustar el pH el producto obtenido es el caseinato de calcio (Srinivasan, 2003).

Las dispersiones de caseinato de calcio son intensamente blancas y de menor viscosidad que las de caseinato de sodio. Estas propiedades son atribuidas a la presencia relativamente grande de agregados (miscelas) debida a interacciones entre el calcio y la caseína (Moughal, 2000). El caseinato de calcio, es frecuentemente usado en preparaciones nutrimentales para alimentación enteral. En muchas ocasiones, estas emulsiones requieren ser sometidas a un proceso de esterilización comercial.

La capacidad del caseinato de calcio para adsorberse en la superficie de una gota de aceite en una emulsión ha sido estudiada por Srinivasan (2003). Dicho autor observó

la adsorción eficiente de péptidos de caseinato de calcio en las interfases de emulsiones sometidas a tratamiento térmico.

3.7.2.2 Goma de Mezquite

La goma de mezquite es el exudado obtenido de los tallos y ramas de Prosopis juliflora, D.C o especies relacionadas de Prosopis (Fam. Leguminosae). La goma es obtenida en forma de gotas traslúcidas un poco semejantes al ámbar. El árbol del mezquite es originario de México; donde se encuentran 10 especies siendo la más abundante y estudiada P. Juliflora. Esta especie crece a lo largo de la zona costera del Océano Pacífico (desde Sinaloa hasta Panamá) así como en amplias zonas del centro y norte de la república. El área ocupada por árboles de mezquite en México se estima alrededor de 3,550,500 hectáreas (Vernon, 2000). La literatura reporta un estudio de cuantificación de la cantidad de goma producida por árboles de mezquite en el estado de San Luis, siendo la cantidad estimado de 30 g por árbol en un periodo de 15-20 días.

La colecta de esta goma se realiza manualmente, para después ser sometida a un proceso que generalmente involucra su clasificación en grados de color (las “gotas” de goma van desde claras a oscuras, las mas oscuras presentan altas cantidades de taninos y son eliminadas.) , molienda, pasteurización, filtrado, y algunas veces, secado por aspersion.

Aunque en la actualidad la goma de mezquite no es un hidrocoloide de uso industrial, la importancia de la presencia de esta goma en el territorio mexicano, se entenderá si se hace referencia a su estructura y a experimentos reportados en la literatura que respaldan un uso potencial de la misma:

En términos generales, la goma de mezquite es la sal neutra (predominantemente sal de calcio) de un polisacárido complejo y ramificado cuya estructura interna esta formada por residuos de (-D-galactosa (1-3) en su cadena principal y (1-6) en sus ramificaciones que sostienen, a su vez, residuos de L-arabinosa, L-ramnosa, β -D-glucouronato y 4-O-metil- β -D-glucuronato.



FIGURA 10. Goma de Mezquite.

La goma de mezquite contiene también pequeñas cantidades de proteína (0.7-5.8%) , las cuales juegan un papel muy importante en las características emulsificantes de esta goma tal como en el caso de la goma arábica, dando lugar al modelo descrito anteriormente (sección 3.4.2) donde el residuo de aminoácidos se “ancla” en la interfase y el carbohidrato hidrofílico en la solución acuosa evitando la colaescencia de las gotas mediante efectos estéricos y/o eléctricos.

La capacidad emulsificante de esta goma, ha sido estudiada por Vernon (2000) quien encontró que actúa sinérgicamente con la goma arábica retardando el tiempo de coalescencia en emulsiones o/w; los autores encontraron incluso menor tamaño y menor dispersibilidad en el tamaño de partícula de emulsiones de oleoresinas / agua preparadas con goma de mezquite que aquellas preparadas con goma arábica.

3.7.2.3 Celulosa Microcristalina

La celulosa microcristalina es un derivado de la celulosa, que es un homopolisacárido lineal de unidades de D-glucopiranosas, donde los monómeros se unen mediante enlaces glucosídicos β (1,4). Se encuentra de manera natural en frutas y vegetales, y está compuesta de millones de microfibras. Cada microfibra está compuesta de dos áreas:

- *Región para-cristalina* .- Esta es una masa flexible y amorfa de cadenas de celulosa
- *Región cristalina* .- Microfibras ordenadas en paquetes apretados en un arreglo rígido y lineal

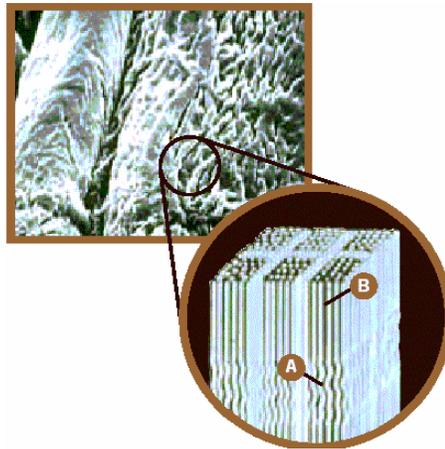


FIGURA 11. Estructura de la celulosa microcristalina
(FMC Biopolymers página web)

- A. Región amorfa
- B. Región cristalina

La celulosa puede des-polimerizarse por medio de hidrólisis ácida controlada, donde el ácido penetra las regiones amorfas de menor densidad, dejando intactas las zonas cristalinas y las libera en forma de pequeños cristales. Las regiones cristalinas se encuentran asociadas por un gran número de puentes de hidrógeno lo cual las hace insolubles, sin embargo, dependiendo del proceso de manufactura, los cristales

obtenidos pueden llegar a ser dispersables en agua y tener propiedades funcionales similares a las de las gomas solubles. Para añadir dispersabilidad, es necesaria, una vez que se ha llevado a cabo la hidrólisis ácida, la presencia de una barrera que se oponga a la asociación y crecimiento de agregados. El compuesto que generalmente impide la asociación, es la carboximetilcelulosa (CMC), debido a que les confiere a las partículas una carga negativa (Fennema, 1996).

La celulosa microcristalina puede encontrarse en el mercado bajo el nombre comercial de Avicel (FMC biopolymers). Las diferentes líneas de este producto se diferencian entre sí por el porcentaje de carboximetilcelulosa presente, es decir, por su grado de dispersibilidad. De acuerdo con información publicada en el sitio web del fabricante (<http://www.FMCbiopolymers>) la funcionalidad de estas mezclas derivadas de la celulosa, radica en la capacidad que tienen sus partículas (cuando han sido adecuadamente dispersas) para organizarse en una red tridimensional que afecta el movimiento del agua e imparte estabilidad a los sistemas coloidales; dicho sistema se mantiene unido mediante débiles puentes de hidrogeno confiriendo a sus soluciones, viscosidad y carácter pseudoplástico. El tipo de flujo de las dispersiones de Avicel, dificulta el calentamiento de dichos sistemas debido a que las corrientes de convección no distribuyen el calor como lo hacen normalmente en un fluido Newtoniano. Al respecto Dell (2001) contraindica su calentamiento pues indica que este requeriría un gasto significativo de tiempo y energía.

3.7.2.4 Lambda-(λ)-Carragenina

El término carrageniana denota un grupo o familia de galactanos sulfatados extraídos de las algas rojas siendo el género *Chondrus* el principal productor (Badui 1996).

Las carrageninas son cadenas lineares de unidades de D-Galactopiranosas unidas mediante enlaces glicosídicos alternados (1→3)-α-D- y (1→4)-β-D, la mayor parte de

las unidades de azúcar tienen uno o dos grupos sulfato, esterificados a un grupo hidroxilo en los carbonos 2 ó 6.

Las carrageninas, tal cual son extraídas, son mezclas de polisacáridos no homogéneos que presentan tres estructuras principales denominadas kappa (κ), iota (i) y lambda (λ). Estas 3 formas principales de carrageninas difieren únicamente en el número de grupos sulfato por disacárido: kappa tiene uno, iota tiene dos y lambda tiene tres (Langendorff, 2000). Los bloques predominantes de cada tipo se presentan en la Figura 12.

Los productos de carragenina contienen diferentes proporciones de los tres tipos pero con una o dos que representan el mayor porcentaje (Fennema 1996, FMC).

Los pesos moleculares van entre 500 000, la forma natural de la planta marina, y 100 000, que es la carragenina comercial más usada en la elaboración de alimentos (Badui, 1996).

Las carrageninas iota y kappa, en solución acuosa, sufren una transición desde un estado desordenado a una configuración ordenada en forma de hélice al enfriar una solución caliente. La configuración helicoidal, está asociada con la capacidad de formar geles (Badui, 1996; Langendorff, 2000) sin embargo, el mecanismo de gelificación no se conoce con exactitud.

Los geles formados por la kappa-(κ)-carragenina son los más fuertes, los geles formados por iota, son un poco mas solubles y su formación se ve favorecida en presencia de iones de calcio. La lambda-(λ)-carragenina adopta una configuración desordenada, en cualquier circunstancia de temperatura y fuerza iónica, y es incapaz de formar geles. La lambda-(λ)-carragenina se usa por tanto como estabilizante en bebidas, principalmente en productos de tipo lácteo ya que una propiedad muy importante de las carrageninas es su reactividad con las proteínas, principalmente con las de la leche. Existen interacciones de los iones sulfato con los grupos cargados de la

proteína, ya sea de manera directa o a través de iones divalentes como el calcio, la interacción depende de la carga neta del complejo y por lo tanto está en función del punto isoeléctrico de la proteína: cuando la relación de la carga ente la carragenina y la proteína es igual a 1 el complejo precipita puesto que el grado de interacción es el máximo (Badui, 1996).

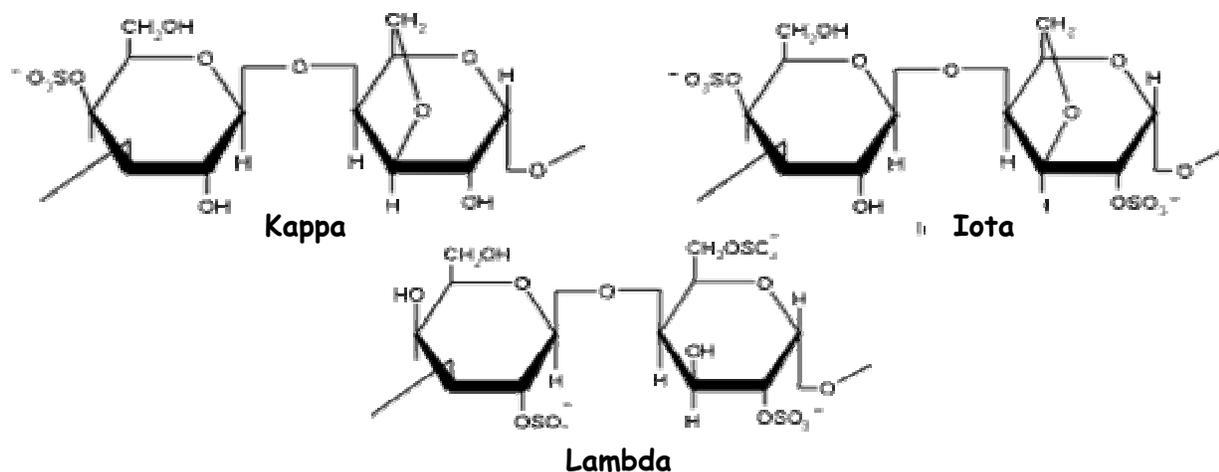


FIGURA 12. Diferentes tipos de carragenina
(FMC Biopolymers página web)

4.- PROBLEMA DE ESTUDIO Y OBJETIVO

En el presente estudio, se trabaja sobre emulsiones aceite en agua; el porcentaje de aceite en todas ellas se mantiene constante (4.0%). Para estudiar su estabilización se eligieron 4 niveles de proteína (2.6, 3.8, 4.9 y 6.1%) en todos los casos la cantidad de proteína, en relación a la cantidad de lípido se encuentra muy por encima de la necesaria para cubrir la interfase formada entre el agua y el aceite; tal como sucede en emulsiones con carácter nutricional. Sobre estas emulsiones se prueban 3 diferentes hidrocoloides en 4 niveles de concentración. El objetivo es determinar como afectan las relaciones proteína: hidrocoloide en parámetros físicos de la emulsión tales como estabilidad, pH, y viscosidad. Los resultados se presentan en forma de diagramas de fases construidos en función de las observaciones realizadas sobre emulsiones con 15 días de almacenamiento.

En este estudio en particular se consideró que la información obtenida de estos sistemas a los 15 días de almacén era suficiente para presentar un panorama del efecto que diversas relaciones de proteína-hidrocoloide tienen sobre la estabilidad de emulsiones aceite en agua.

Observaciones posteriores, son muy útiles en otro tipo de sistemas, donde se trabaja con formulas completas de alimentos, ya que en esos casos generalmente se pretende establecer tiempos de vida de anaquel. En este estudio, sin embargo, se consideró que las observaciones posteriores a los 15 días tienen poco significado ya que los sistemas con los que se trabajó son muy sencillos comparados con lo que sería un producto alimenticio; los sistemas y objetivos son diferentes y los resultados, aunque proporcionan información útil, no son extrapolables.

Las materias primas y los métodos se exponen mas ampliamente a continuación.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 MATERIALES

Las materias primas utilizadas en este trabajo fueron las siguientes:

Caseinato de Calcio (Lactonat EC, lote # 21275 Globe Chemicals, que reporta un contenido mínimo de proteína del 88.5%), aceite de maíz, Celulosa microcristalina o MCC (Avicel CL-611, FMC Bio Polymers, con contenido típico de carboximetilcelulosa de sodio del 11.3-18.8%), lambda-(λ)-Carragenina (Viscarin GP 209, FMC Bio Polymers) y Goma de mezquite (Proporcionada por el Dr Vernon Carter CBI UAM Iztapalapa) conseguida en su forma natural (gotas traslúcidas con impurezas y restos tales como ramas del árbol y tierra). Para su purificación, la goma de mezquite, después de ser disuelta completamente en agua, fue colada y filtrada hasta la eliminación total de las impurezas visibles y se llevó a 30°Brix. Posteriormente se pasteurizó (73°C durante 15 segundos).

5.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se prepararon 4 emulsiones o/w al 4.06% en peso de aceite de maíz en presencia de caseinato de calcio al 2.6%, 3.8%, 4.9% y 6.1% en g de proteína por 100 g de la emulsión final. Dichas concentraciones se seleccionaron por caer dentro del rango en que, típicamente, se utilizan en la industria de bebidas nutritivas. Las emulsiones así preparadas se denominaron blancos y se codificaron con las letras A, B, C y D (en orden creciente de concentración de caseinato).

Para cada emulsión blanco (es decir por cada concentración de caseinato) se probaron tres diferentes gomas : goma de mezquite, Avicel CL611 y Viscarin GP209 cuyas emulsiones se codificaron con las letras Z, M y L respectivamente.

Las gomas se probaron en 4 concentraciones que, en cada caso, caen dentro de los rangos sugeridos por el proveedor: 0.25-0.8% para el Avicel CL611 y 0.02-0.3% para la carragenina Viscarín (Summary Grid of FMC ingredients used in beverage systems). Las concentraciones estudiadas aquí para cada uno de ellos son diferentes entre si ya que los rangos sugeridos son diferentes. En el caso de la goma de mezquite se probaron concentraciones de 0.5-1.7% . La codificación y % de ingredientes de las emulsiones se presentan en las Tablas 2, 3 y 4.

TABLA 2 Codificación de emulsiones con diferentes % de goma de mezquite				
% w/w caseinato	A	B	C	D
% w/w goma	2.6	3.8	4.9	6.1
1) 0.5	<i>AZ1</i>	<i>BZ1</i>	<i>CZ1</i>	<i>DZ1</i>
2) 0.9	<i>AZ2</i>	<i>BZ2</i>	<i>CZ2</i>	<i>DZ2</i>
3) 1.3	<i>AZ3</i>	<i>BZ3</i>	<i>CZ3</i>	<i>DZ3</i>
4) 1.7	<i>AZ4</i>	<i>BZ4</i>	<i>CZ4</i>	<i>DZ4</i>

TABLA 3 Codificación de emulsiones con diferentes % de Avicel CL 611				
% w/w caseinato	A	B	C	D
% w/w goma	2.6	3.8	4.9	6.1
1) 0.25	<i>AM1</i>	<i>BM1</i>	<i>CM1</i>	<i>DM1</i>
2) 0.36	<i>AM2</i>	<i>BM2</i>	<i>CM2</i>	<i>DM2</i>
3) 0.48	<i>AM3</i>	<i>BM3</i>	<i>CM3</i>	<i>DM3</i>
4) 0.6	<i>AM4</i>	<i>BM4</i>	<i>CM4</i>	<i>DM4</i>

TABLA 4 Codificación de emulsiones con diferentes % de Viscarin GP 209				
% w/w caseinato	A	B	C	D
% w/w goma	2.6	3.8	4.9	6.1
1) 0.02	<i>AL1</i>	<i>BL1</i>	<i>CL1</i>	<i>DL1</i>
2) 0.1	<i>AL2</i>	<i>BL2</i>	<i>CL2</i>	<i>DL2</i>
3) 0.2	<i>AL3</i>	<i>BL3</i>	<i>CL3</i>	<i>DL3</i>
4) 0.3	<i>AL4</i>	<i>BL4</i>	<i>CL4</i>	<i>DL4</i>

5.3 PREPARACIÓN DE LAS EMULSIONES

El proceso común a la elaboración de todas las emulsiones fue el siguiente. Para cada emulsión, se preparó primero la fase acuosa añadiendo lentamente la cantidad correspondiente de caseinato de calcio al agua en agitación; en el caso de las emulsiones que llevan algún hidrocoloide, este se adicionó después de la proteína. La adición se llevó a cabo a una temperatura de 40°C y a una velocidad de agitación de 1500 rpms con un rotor estator. La agitación continuó durante 3 minutos una vez terminada la incorporación de la proteína para lograr una completa dispersión de la misma.

La fase oleosa se adicionó a la solución de proteína así preparada cuando ambas se encontraban a una temperatura de 70°C. La incorporación de las fases (pre-homogenización) se llevó a cabo agitando la mezcla a una velocidad de 3000 rpms con un rotor estator durante 3 minutos. La mezcla fue entonces homogenizada en un homogenizador de pistones de dos etapas (Equipo Niro Soavi) a 200 bars en la primera etapa y 50 en la segunda. Las emulsiones fueron enlatadas y sometidas a esterilización en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

5.4 EVALUACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS

5.4.1 Inestabilidad de emulsiones

Las emulsiones fueron esterilizadas y almacenadas a temperatura ambiente (20-23°C) durante 15 días; transcurrido este período se evaluó visualmente la estabilidad de las emulsiones clasificándolas como sigue:

Estable.- *Las emulsiones se consideraron “estables” si se mostraban homogéneas a la evaluación visual, es decir, si no prestaban agregados, cremado o separación acuosa o si estos eran mínimos y desaparecían por completo al trasvasar o agitar.*

Relativamente estable.- Se denominó así a las emulsiones si los agregados formados eran pequeños y pocos; también se consideraron como “Relativamente estables” aquellas emulsiones que, sin llegar a mostrar agregados, reflejaban en su consistencia un flujo lento perceptible al ser transvasadas.

Inestable.- Se consideró “inestables” a las emulsiones que mostraron discernible formación de agregados, cremado o separación acuosa. La “aparición” de agregados por efecto de la agitación en emulsiones aparentemente estables, se tomó como indicador de floculación por puenteo según indica Syrbe et al., (1988), señalando que la agitación aumenta la tasa de este tipo de inestabilidad: “los agregados de mayor tamaño se mueven más fácilmente en presencia de un flujo impuesto y “recogen” a los agregados más pequeños”.

Muy inestable.- Se consideraron emulsiones muy inestables si al abrirlas había abundante formación de crema en la tapa y agregados de gran tamaño en el cuerpo de la emulsión.

Para contar con evaluaciones más objetivas se realizaron también pruebas de cremado por centrifugación. Sin embargo, esta prueba presentaba el inconveniente de que, en los casos donde la formación de agregados era abundante (como sucedió con las emulsiones formuladas con goma de Mezquite) se hacía imposible la toma de muestras homogéneas para ser sometidas a centrifugación. En otros casos, cuando el tamaño y consistencia de los agregados lo permitían, se pesó el contenido de los agregados reportando g “nata”/236 ml de emulsión.

La metodología para la prueba de cremado por centrifugación se presenta a continuación:

A los 15 días de vida de anaquel ($T = 20-23^{\circ}\text{C}$) se determinaron las alturas de las fases cremadas por centrifugación de muestras de 14 ml de emulsión. Las muestras se colocaron en tubos de centrífuga y fueron llevados a 60°C calentándolos en baño

maría. Una vez alcanzada la temperatura, los tubos fueron centrifugados durante 15 min a 3980 rpm. Inmediatamente después, se midió con vernier la altura de la fase cremada y se expresó como porcentaje del volumen de aceite presente en 14 ml de emulsión de acuerdo con la ecuación 2:

$$\% \text{ Cremado} = \frac{\text{altura crema (mm)} \pi r^2}{5(\text{mm})\pi r^2} \times 100\% \quad \text{-----} \quad (2)$$

Donde

%Cremado = volumen de crema en mm³ crema/100 mm³ aceite presente en la muestra centrifugada.

Altura crema (mm) π r² = volumen de la fase cremada por centrifugación

5 (mm) π r² = volumen de aceite presente en la muestra (Figura 13)

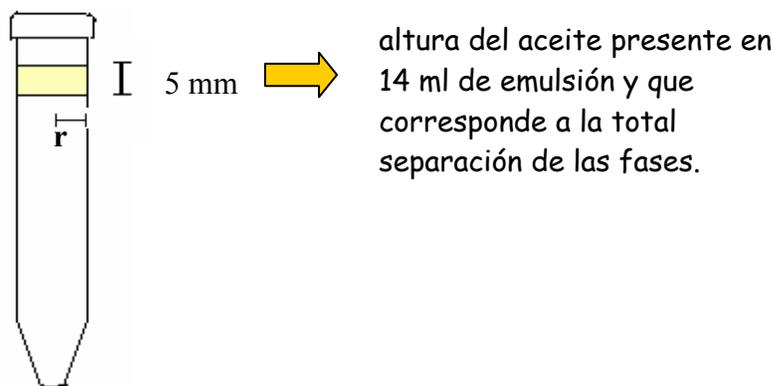


FIGURA 13. Altura del espacio ocupado por el aceite en el tubo de centrífuga.

En cada muestra de centrifugación se tienen 0.577 g de aceite (considerando un 4.06% w/w de aceite y una densidad promedio de las emulsiones de 1.016 g/ml). La altura en el tubo del espacio ocupado por este aceite es de 5 mm.

Puesto que ninguna de las emulsiones centrifugadas presentó separación de aceite como tal, fue necesario expresar el % de cremado como “volumen de crema en mm³

crema/100 mm³ aceite presente en la muestra centrifugada”. Estas unidades servirán como referencia siempre y cuando se asuma que un alto porcentaje de la fase cremada se encuentra compuesta por aceite, sin embargo, en ningún caso darán información sobre el volumen real de aceite que se encuentra presente en la fase cremada. Para fines de este trabajo, se considera que el cálculo del % de cremado referido al volumen de aceite deja de tener sentido en aquellas emulsiones donde el cremado no presente límites definidos o bien cuando la altura del espacio ocupado por la crema dentro del tubo sea mayor a 10 mm. Los resultados en estos casos se interpretarán en función de las características de los polímeros presentes en el sistema y que pudieran encontrarse presentes en la fase cremada (sección 3.6.3).

5.4.2 pH

Las determinaciones de pH se realizaron a los 15 días de vida de anaquel a 20-23°C con equipo OAKTON previamente calibrado contra una solución buffer de pH conocido.

5.4.3 Viscosidad

Las determinaciones de viscosidad se a realizaron a los 15 días de vida de anaquel a 20-23°C en equipo Brookfield RVT adaptador UL utilizando una geometría de cilindros concéntricos. El volumen de las muestras fue de 16 ml. Se ajustó la velocidad del motor y se tomaron lecturas de los porcentajes de torque (%T). Las mediciones se realizaron por duplicado y se obtuvieron valores promedio que se expresaron como Pa.s utilizando las formulas y factores de conversión que corresponden al equipo y adaptador y que se presentan a continuación:

$$\text{Viscosidad (cP)} = [64/N(\text{rpm})] \% t$$

Donde:

N(rpm)=velocidad del motor

64 = factor para el adaptador UL de Brookfield

% t= porcentaje de torque leído en el tacómetro del equipo a X rmp

*1cP =1 centipoise =10⁻³ Pa*s*

5.4.4 Densidad

Las determinaciones de densidad se realizaron a los 15 días con equipo DMA 35n Anton Paar a 20-23°C. La densidad se determinó únicamente como parámetro de control. Las gráficas de densidad se muestran en el Apéndice B.

5.4.5 Determinación de Tamaño de Partícula

Tres meses después de preparadas las emulsiones, se tuvo la oportunidad de realizar mediciones de tamaño de partícula en un equipo Malven MasterSizer Modelo 2000 por lo que se abrió una serie extra de latas.

Como era de esperarse, muchas de las emulsiones presentaban ya cremados abundantes; sin embargo la apariencia física de las emulsiones guardaba en general las mismas tendencias que presentarían a los 15 días de su preparación. Se consideró por tanto que las mediciones de tamaño de partícula sería útiles para una mejor comprensión de los sistemas.

Los datos de referencia para las mediciones fueron:

Modelo de análisis: esférico

Índice de refracción de las partículas dispersas: 1.395 Absorción: 0.1

Medio dispersante: agua

Índice de refracción del medio dispersante: 1.33

Para el análisis de resultados, se reportan valores de D(4,3) (diámetro volumétrico promedio). Las gráficas de Distribución de Tamaño de Partícula (DTP) para todas las emulsiones se presentan en el Apéndice A.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 EMULSIONES CON CASEINATO DE CALCIO

6.1.1 Observaciones de estabilidad

La estabilidad al cremado de emulsiones formuladas con 2.6, 3.8, 4.9 y 6.1% de caseinato de calcio (donde la cantidad de proteína es muy superior a la necesaria para cubrir la interfase¹) fue determinada por observación visual y por cremado por centrifugación a los 15 días de su preparación (T almacén = 20-23°C).

Aun cuando las 4 emulsiones presentaron formación visible de pequeños agregados; fue posible apreciar cierta tendencia a una mayor estabilidad a medida que aumentaba la cantidad de caseinato de calcio:

En aquellas emulsiones con menor concentración de proteína (A y B) se observó un número mayor de agregados suspendidos en el cuerpo de la emulsión, la inestabilidad se reflejó incluso en la formación de crema en la tapa de la lata (Figura 14). En contraste, en aquellas emulsiones con mayor concentración de proteína (C y D) el número de agregados formados fue menor, por lo que se les consideró “relativamente estables”.

La prueba de cremado por centrifugación confirmó esta tendencia presentando las emulsiones A, B y C porcentajes de cremado de 58, 53 y 52% respectivamente mientras que la emulsión D, con mayor contenido de caseinato de calcio, presentó un porcentaje de cremado del 37% (Figura 15).

¹ La cantidad de proteína necesaria para cubrir completamente la interfase se estima en 1/15 de la cantidad de aceite (sección 3.7.1). Las proporciones que la proteína guarda con respecto al aceite en las emulsiones A, B, C y D son 11/15, 16/15, 20/15 y 25/15 respectivamente.

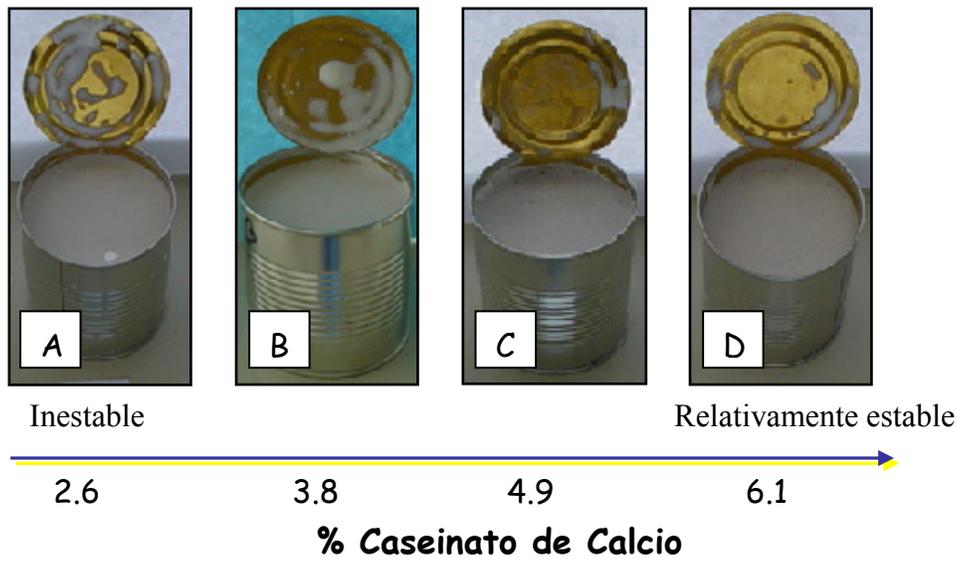


FIGURA 14. Tendencia de estabilidad de emulsiones con diferentes concentraciones de caseinato de calcio:
 La emulsión A (con 2.6% de caseinato de calcio) fue la más inestable
 La emulsión D (con 6.1% de caseinato de calcio) presentó relativa estabilidad

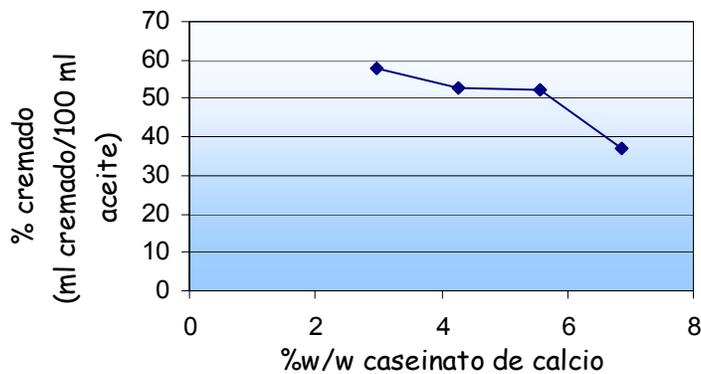


FIGURA 15. % vol. Cremado por centrifugación referido al volumen de aceite en emulsiones con Caseinato de Calcio

Definida esta tendencia al aumento en la estabilidad a mayores concentraciones de caseinato de calcio, se pasará a comentar sobre el pH, viscosidad y tamaño de partícula de estas emulsiones.

6.1.2 Efecto de la concentración de caseinato de calcio sobre el pH de emulsiones aceite en agua

Se registró una disminución en el pH de las emulsiones a medida que aumenta la concentración de proteína (Figura 16; 15 días de almacén $T= 20-23^{\circ}\text{C}$). Dicha disminución en el pH es muy ligera y se atribuye principalmente a la presencia de ácido glutámico; aminoácido de concentración relativamente elevada en las caseínas (Santos,1987). En todos los casos, el pH de las emulsiones se encontró muy por encima del punto isoeléctrico de la caseína. En estas condiciones la mayoría de los grupos ácidos presentes en las cadenas polipeptídicas se encuentran ionizados aumentando así la concentración de iones $[\text{H}^+]$ en el medio.

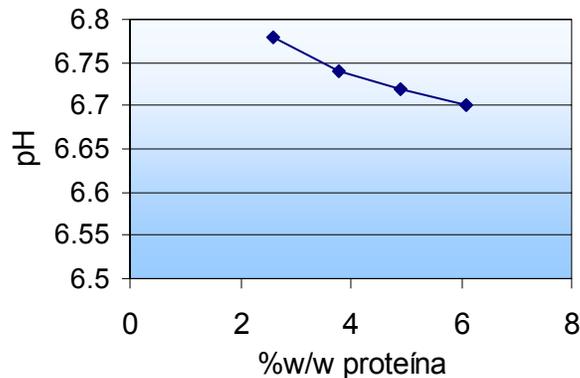


FIGURA 16. pH de emulsiones A, B, C, D

6.1.3 Efecto de la concentración de caseinato de calcio sobre la viscosidad de emulsiones aceite en agua

Se determinó la viscosidad (como función de la velocidad de cizalla) de las emulsiones A, B, C y D que contienen 2.6%, 3.8%, 4.9% y 6.1% de caseinato de calcio respectivamente. En todos los casos las emulsiones presentaron valores muy bajos de viscosidad y la sensibilidad del equipo no permite una mejor resolución lo que dificulta la interpretación de resultados; la gráfica de la Figura 17 sugiere, sin embargo, viscosidades ligeramente más elevadas para la emulsión con 6.1% de caseinato. Considerando que esta emulsión era la que presentaba mayor estabilidad al cremado, su viscosidad parece reflejar el lógico aumento en la viscosidad de la fase acuosa en presencia de porcentajes mayores de proteína.

De acuerdo con la Ley de Stokes (sección 3.2.1) dicho aumento en la viscosidad de la fase acuosa se traduciría en una disminución en la tasa de cremado (como efectivamente ocurrió), por lo que las tendencias de las emulsiones a presentar mayor estabilidad al aumentar la concentración de caseinato de calcio son congruentes con la Ley de Stokes.

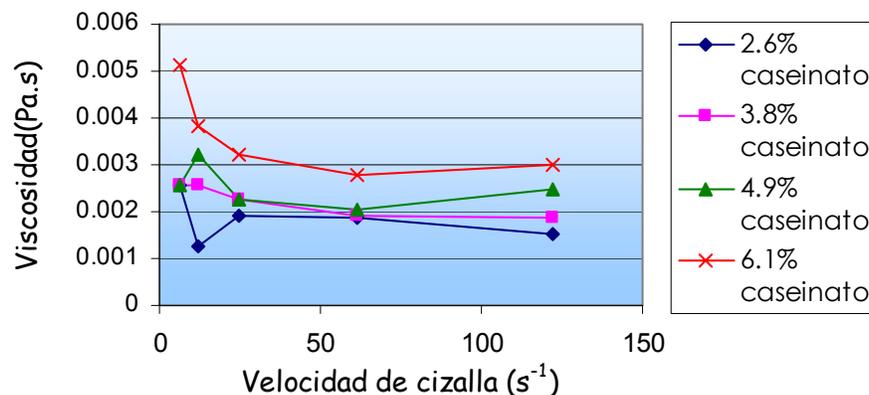


FIGURA 17. Viscosidad de emulsiones con caseinato de calcio

6.1.4 Efecto de la concentración de caseinato de calcio sobre el Tamaño de Partícula de emulsiones aceite en agua

Transcurridos 3 meses desde la preparación de las emulsiones, se tuvo la oportunidad de realizar mediciones del tamaño de partícula. Las emulsiones se habían mantenido a temperatura ambiente y las mediciones se realizaron en equipo Malvern Mastersizer 2000 ($t = 20-23^{\circ}\text{C}$).

En la Figura 18 se observa que el diámetro promedio de las gotas en las emulsiones disminuye casi linealmente con el incremento en la concentración de caseinato de calcio en valores que van desde 2.6 hasta 4.9%, donde la gráfica presenta un mínimo, para aumentar ligeramente cuando el porcentaje de caseinato es de 6.1.

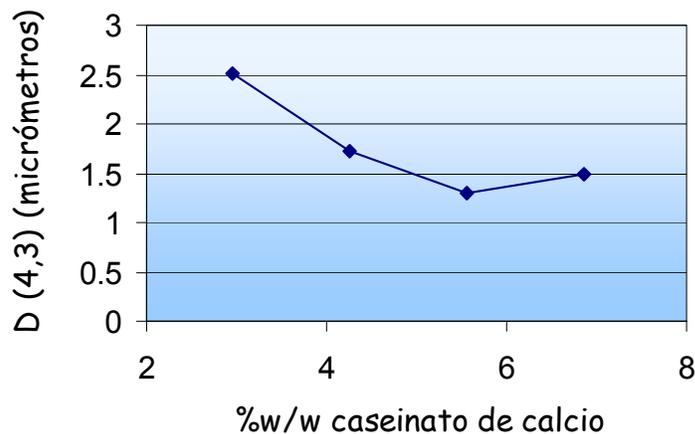


FIGURA 18. Efecto de la cantidad caseinato sobre el D (4,3) de emulsiones o/w

La disminución del diámetro promedio con el aumento en la concentración de proteína puede ser atribuida a una mayor probabilidad de que el aceite entre en contacto con material surfactante al momento de formarse la emulsión (sección 3.3.2), lo que

estabiliza las gotas recién formadas evitando su floculación y/o coalescencia, es decir, favoreciendo la formación de un mayor número de gotas pequeñas.

En las etapas posteriores a la formación de la emulsión, la protección eléctrica y estérica que la capa superficial de proteína confiere a las gotas de aceite así como la viscosidad que la proteína libre aporta al medio disminuyen la tasa de cremado y favorece tamaños de partícula más pequeños.

Se ha hablado hasta ahora de lo observado en emulsiones simples que consisten en gotas de aceite cubiertas de proteína, y proteína libre; a continuación se discutirá sobre el efecto que algunos hidrocoloides tienen sobre la estabilidad de las emulsiones A, B, C y D.

6.2 EMULSIONES CON CASEINATO Y GOMA DE MEZQUITE (Series AZ, BZ, CZ, DZ)

6.2.1 Observaciones de estabilidad

Se observó el efecto que diversas concentraciones de goma de mezquite (0.5, 0.9, 1.3 y 1.7 %) tienen sobre la estabilidad de emulsiones formuladas con caseinato de calcio (A, B, C y D). Como se discute en esta sección, la inestabilidad fue característica de estas emulsiones. La prueba de centrifugación fue descartada ya que la presencia de múltiples agregados laminares dificultaban la toma de muestras homogéneas.

La Figura 19 presenta el mapa de estabilidad (después de 15 días de almacén $T = 20-23^{\circ}\text{C}$) de las emulsiones como función de la composición del sistema. En la Figura 19 se observa que los sistemas que eran inestables en ausencia de goma de mezquite, permanecieron inestables al ser adicionados con esta goma. Para la mayoría de las composiciones se observó incluso (Figura 19) una zona calificada como “muy inestable”. Dicha inestabilidad se manifestó en la formación irreversible de agregados laminares bien definidos (natas) cuyo color blanco contrasta con la coloración grisácea del resto de la emulsión y cuyo tamaño y cantidad aumentan tanto con la concentración de goma como con la concentración de proteína.

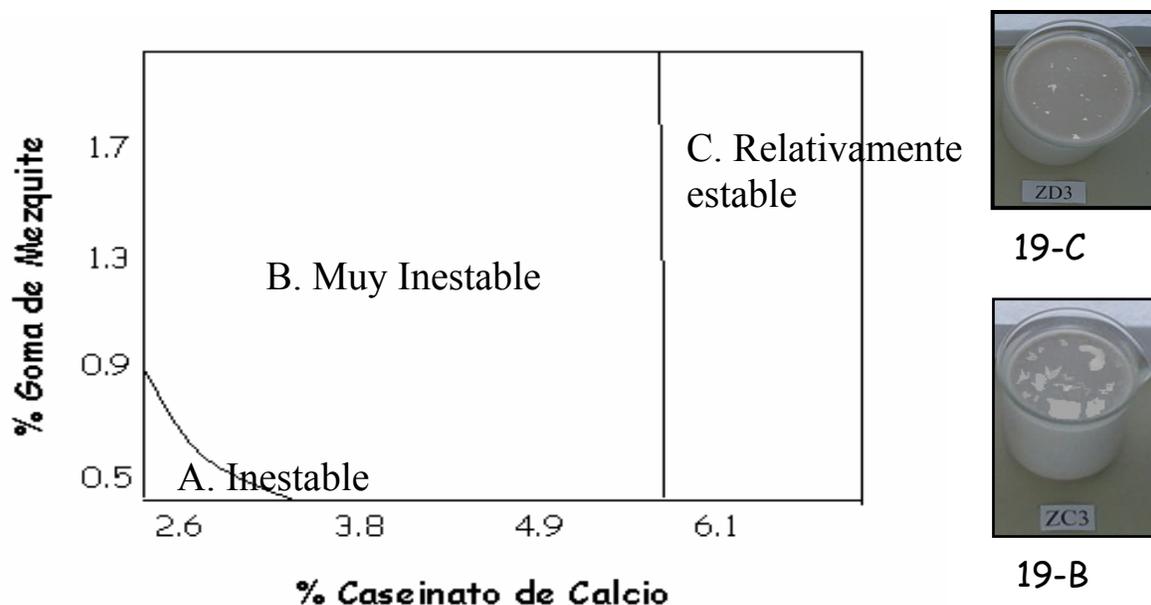


FIGURA 19. Diagrama de estabilidad para las emulsiones de la serie Z

- A. Inestabilidad manifiesta como agregados pequeños (sin imagen representativa).
- B. Inestabilidad manifiesta como agregados laminares. Considerada como "Muy inestable" por la abundancia y tamaño de estos agregados. Figura 19-B.
- C. Inestabilidad manifiesta como agregados pequeños. La relativa mayor estabilidad de estas emulsiones se atribuye a una mayor concentración de caseinato de calcio. Figura 19-C.

Las observaciones indican que a pesar de que la goma de mezquite es un polímero surfactante (sección 3.7.2.2) capaz de adsorberse en las gotas de aceite, su presencia no favoreció la estabilidad de las emulsiones. Este comportamiento, contrario a lo que se esperaba, pudiera explicarse si se considera el efecto conjunto de la goma de mezquite con el caseinato de calcio. Como se señaló en la sección 3.5.3.b.1 la interpenetración o mezclado de 2 macromoléculas diferentes se ve restringido por su tamaño, su forma y por las repulsiones que se generan como resultado de efectos electrostáticos entre las macromoléculas. Es probable entonces que en lugar de presentarse un efecto sinérgico entre ambos polímeros; se hayan promovido situaciones de incompatibilidad o exclusión entre ambos sobre la superficie de la gota.

Mas aún; la formación de grandes agregados insolubles sugiere que la competencia de 2 macromoléculas surfactantes por la superficie de las gotas de aceite dio lugar a una cobertura inadecuada de las mismas originando el “puenteo” o adsorción simultánea de una misma molécula de polímero surfactante en dos interfases mal protegidas (“bridging flocculation” sección 3.5.2).

Al igual que sucedió en ausencia de goma de mezquite, las emulsiones donde hay mayor cantidad de caseinato de calcio (6.1% serie DZ), presentaron una relativa mayor estabilidad. Estos resultados sugieren que, a esa concentración de caseinato, el efecto surfactante de la goma de mezquite habrá quedado rebasado por el de la proteína; de igual manera un ligero aumento en la viscosidad del medio (sección 6.2.3) proporciona mayor estabilidad a estas emulsiones.

6.2.2 Efecto de la concentración de Goma de Mezquite sobre el pH de emulsiones formuladas con caseinato de calcio

No se observaron cambios drásticos en el pH de las emulsiones al aumentar las concentraciones de goma de mezquite. La ausencia de tendencias en la gráfica de la Figura 20 (15 días de almacén $T= 20-23^{\circ}\text{C}$) puede deberse a una distribución heterogénea de grupos que afectarían el pH del medio (como iones y grupos COO^- presentes en los residuos de glucuronato). Dicha distribución heterogénea de los grupos en la muestra es la que se espera considerando que se trabajó con una goma mínimamente procesada cuya composición no ha sido sometida a la estandarización como sucede con las gomas comerciales.

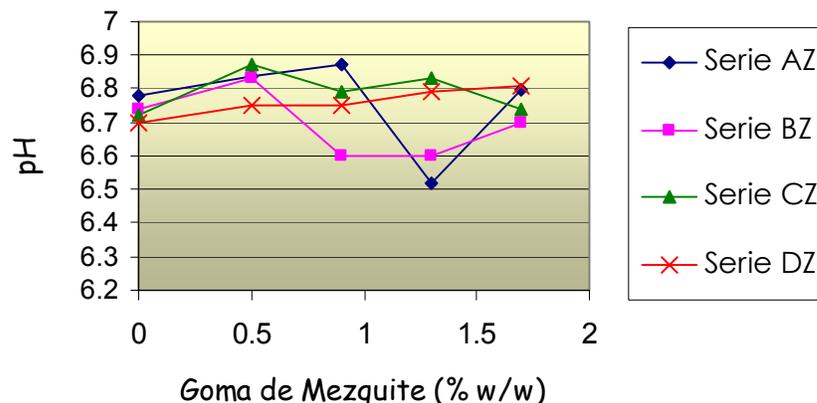


FIGURA 20. pHs de emulsiones con Goma de Mezquite

6.2.3 Efecto de la concentración de Goma de Mezquite sobre la viscosidad de emulsiones formuladas con caseinato de calcio

Se midió la viscosidad de las emulsiones formuladas con caseinato de calcio y goma de mezquite (Series AZ, BZ, CZ, DZ) a una velocidad de cizalla de 122.4/s y se comparó con la viscosidad medida sobre las emulsiones blanco (A, B, C y D) formuladas con caseinato de calcio.

Se observó que la goma de mezquite no incrementa de manera importante la viscosidad de estos sistemas: De acuerdo con la gráfica de la Figura 21 los incrementos de viscosidad son muy ligeros y las viscosidades más altas se registraron en las emulsiones de la serie con mayor concentración de caseinato de calcio (serie DZ) que, como ya se señaló fueron también las únicas que presentaron cierta estabilidad al tiempo de observación (15 días; T almacén = 20-23°C).

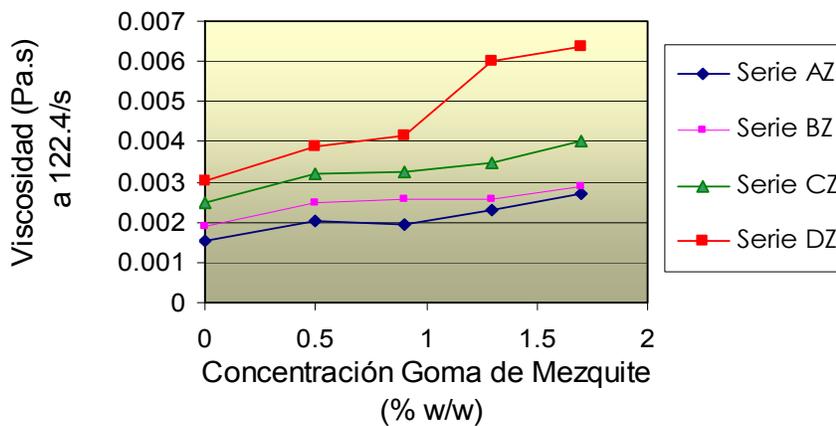


FIGURA 21. Viscosidad de Emulsiones con Goma de Mezquite

6.2.4 Efecto de la concentración de Goma de Mezquite sobre el Tamaño de Partícula de emulsiones formuladas con caseinato de calcio

En la Figura 22 no se aprecia ningún impacto de la goma de mezquite en la disminución del tamaño de partícula de las emulsiones en estudio, al menos en el rango de concentraciones de goma estudiado en este trabajo. Esto es contrario a lo que podría esperarse si consideramos que la goma de mezquite es un hidrocoloide con actividad surfactante (Sección 3.7.2.2). La Figura 23 muestra el diámetro volumétrico promedio, $D(4,3)$, como función de la concentración de goma de mezquite presente en las emulsiones (3 meses de almacén $T=20-23^{\circ}\text{C}$).

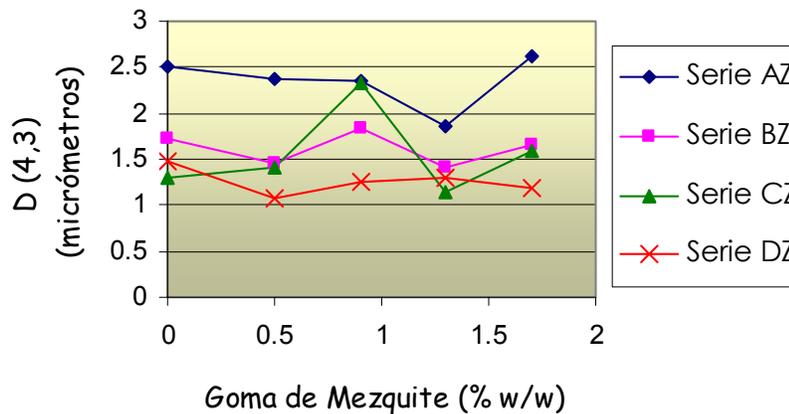


FIGURA 22. $D(4,3)$ de emulsiones con Goma de Mezquite

Los resultados no muestran aumentos drásticos del tamaño de partícula, que habrían sido un indicador de floculación por puenteo (sección 3.6.2) sin embargo es necesario subrayar que sí había agregados presentes en estas emulsiones que, por su tamaño apreciable a la vista, caían fuera del rango de medición del equipo y dificultaban la toma de muestras homogéneas. Este problema podría encubrir un efecto real de la goma de mezquite en la inestabilidad de los sistemas.

Del análisis de las partículas que sí fueron observadas por el equipo, se puede decir que el efecto de la concentración de proteína, parece seguir siendo determinante en el

tamaño de partícula, pues al igual que en las emulsiones blanco, la presencia de una mayor cantidad de proteína da lugar a la formación de partículas mas pequeñas (Serie DZ). En cuanto al efecto de la concentración de goma de mezquite, las gráficas no presentan tendencias que sugieran un impacto positivo de la goma sobre este parámetro.

Un mecanismo de competencia entre los 2 polímeros surfactantes donde la goma de mezquite tendiera a quedar excluida de la interfase podría explicar estos resultados.

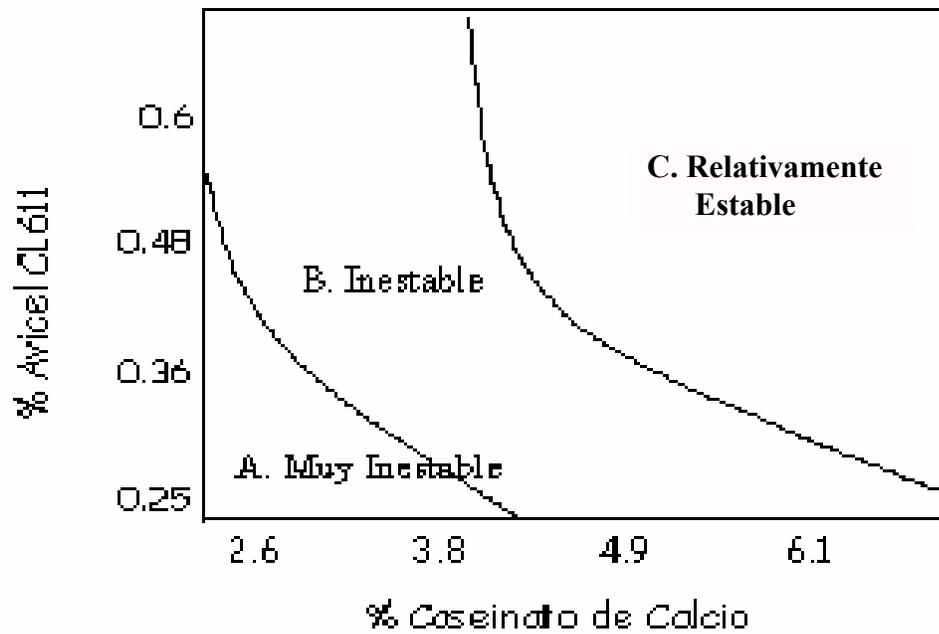
Según lo anterior, la capacidad de adsorción en interfases que, de acuerdo a varios autores (ver Secciones 3.4.2 y 3.7.2.2) tiene la goma de mezquite, no representa, bajo las condiciones y en las concentraciones usadas, una ventaja en la estabilidad de estas emulsiones. La estabilidad relativamente mayor de las emulsiones de la serie DZ se atribuye principalmente a un aumento en la concentración de proteína.

6.3 EMULSIONES CON CASEINATO Y AVICEL CL611 (Series AM, BM, CM, DM)

6.3.1 Observaciones de estabilidad

Se observó el efecto que diversas concentraciones (0.25, 0.36, 0.48, 0.6%) de Avicel CL611 (mezcla comercial de celulosa microcristalina y carboximetil celulosa) tienen sobre la estabilidad de emulsiones formuladas con caseinato de calcio (A, B, C y D). El mapa de estabilidad (a los 15 días de almacén a 23-25°C; Figura 22) muestra mayor estabilidad de las emulsiones al incrementarse tanto la concentración de Avicel como la de caseinato; esta mayor estabilidad fue acompañada de un incremento en la viscosidad de los sistemas.

El aumento en la estabilidad se distinguió a simple vista en una disminución del tamaño y cantidad de los agregados; para tener una evaluación mas objetiva de esta apreciación se registró y graficó (Figura 24) el peso de la nata formada (g nata colada/236 ml de emulsión) en cada emulsión. El diagrama de la Figura 23 resume los efectos de las mezclas caseinato de calcio/Avicel CL611 en la estabilidad de las emulsiones.



C. Relativamente Estable



B. Inestable

FIGURA 23. Diagrama de estabilidad para las emulsiones de la serie M

A. Muy Inestable. Emulsiones que presentan los agregados de gran tamaño. La inestabilidad se atribuye principalmente a la baja viscosidad de las emulsiones en esta zona.
 B. Inestable. La inestabilidad se manifiesta como agregados laminares de regular tamaño.
 C. Relativamente estable. Las emulsiones en esta zona presentan mínima o nula formación de agregados. La relativa estabilidad se atribuye a los altos valores de viscosidad registrados en estas emulsiones. Se presenta como ejemplo la fotografía de la emulsión DM3

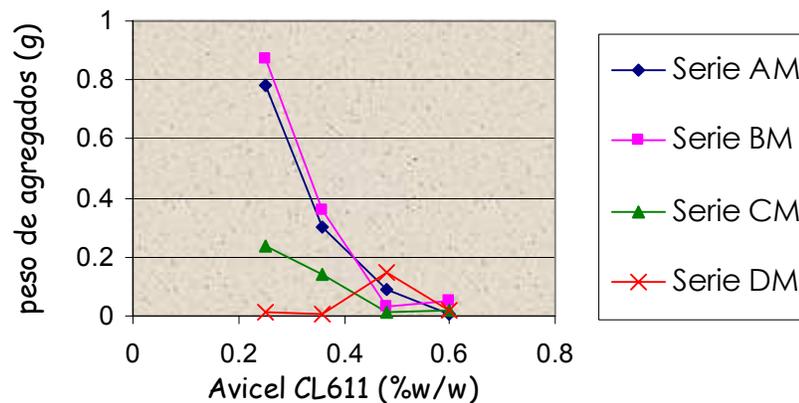


FIGURA 24. Peso de agregados formados en emulsiones con Avicel CL611

La disminución en la formación de agregados se atribuye al arreglo tridimensional que, de acuerdo con lo expuesto en la sección 3.7.2.4, adoptan las partículas de Avicel al ser dispersas en agua y que constituiría una barrera física limitando la floculación de las gotas de aceite. En términos de la ley de Stokes el efecto suspensor estaría definido por la viscosidad que el Avicel imparte al sistema como se señala mas adelante en la sección 6.3.3.

La observación visual del cremado por gravedad y el pesado de los agregados permitieron establecer una clara tendencia al aumento de estabilidad al aumentar las concentraciones de Avicel y caseinato.

La prueba de centrifugación de las emulsiones, por otra parte, dio lugar a la formación de cremados anchos en la parte superior del tubo. Contrario a lo que se esperaba, el espesor de estos cremados aumentó con la concentración de caseinato y Avicel. El aumento en los porcentajes de cremado por centrifugación se presentan en la grafica de la Figura 25.

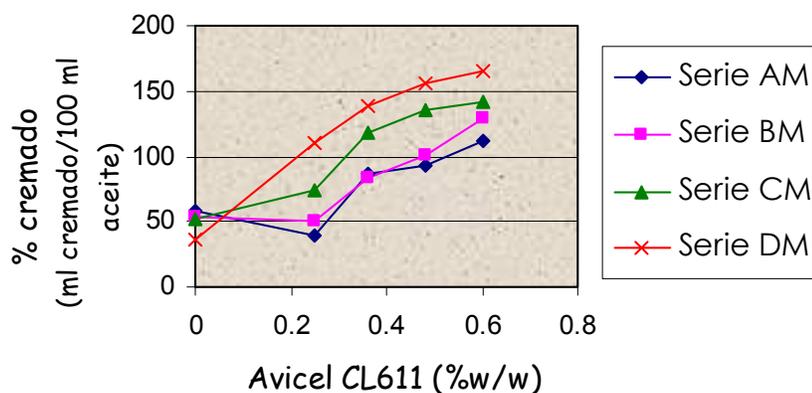


FIGURA 25. % vol. Cremado por centrifugación referido al volumen de aceite en emulsiones con Avicel CL611

Para explicar la causa de estos altos porcentajes de cremado (algunos superiores al 100% referido al volumen de aceite) se planteó la hipótesis de que el Avicel CL611

migraba también, junto con el aceite, a la parte superior del tubo, ensanchando así la fase cremada. Para corroborar esta hipótesis, se preparó una dispersión de Avicel CL611 (0.6%) y una emulsión o/w (4.0 % aceite) también en presencia de Avicel CL611 y se observaron las características después de ser sometidas a centrifugación (Figura 26).

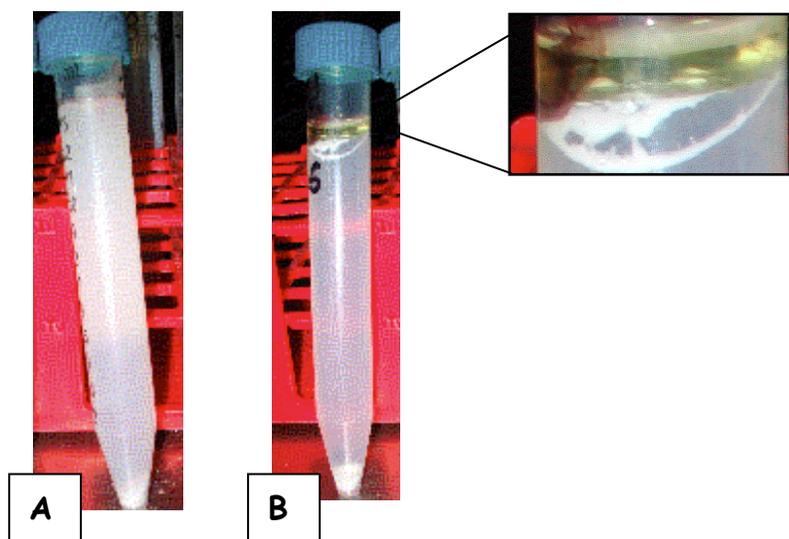


FIGURA 26. Comportamiento del Avicel CL611 a la centrifugación
A. Dispersión de Avicel CL611 después de la centrifugación
B. Emulsión o/w en presencia de Avicel CL611 después de ser centrifugada

Se observa en la Figura 26-B cierta acumulación de Avicel CL611 en el aceite y en la zona inmediata inferior; por el contrario no se observa migración de Avicel a capas superiores en ausencia de aceite (Figura 26-A). Se observó, por tanto, cierta capacidad del Avicel para situarse en la interfase agua-aceite. Esta característica anfífilica del Avicel parece ser un resultado de la mezcla de celulosa microcristalina con carboximetilcelulosa:

La celulosa microcristalina, posee un alto grado de ordenación entre sus moléculas, y, a pesar de tener muchos hidroxilos libres, es muy poco soluble en agua debido a que

estos grupos no se hidratan por estar interactuando entre sí. Por lo que constituiría la parte hidrofóbica del Avicel. La carboximetilcelulosa, por otro lado, adquiere cierta solubilidad gracias a su carga negativa; se encuentra presente en el Avicel CL611 en una concentración de 11.3-18.8% y constituiría la parte hidrofílica.

La Figura 27 muestra la apariencia de la capa superior de la emulsión o/w en presencia de Avicel CL611 cuando se le ha dejado reposar. Se observa que, en condiciones menos drásticas de separación (migración por gravedad) el Avicel CL611 forma una red coloidal que se deposita en las interfases superior e inferior de la capa de aceite (Figura 27 A.1, A.2 y A.3); en estas zonas, las fotografías sugieren que el Avicel pudiera llegar a atrapar parte del aceite.

La turbidez que se observa en el resto del sistema (fase acuosa Figura 27 A.4) revela que también hay Avicel disperso en la fase acuosa; lo que probablemente se debe a que, además de la celulosa microcristalina, el Avicel tiene un porcentaje de carboximetilcelulosa; este compuesto confiere a las partículas una carga negativa y les proporciona dispersibilidad. (sección 3.7.2.3).

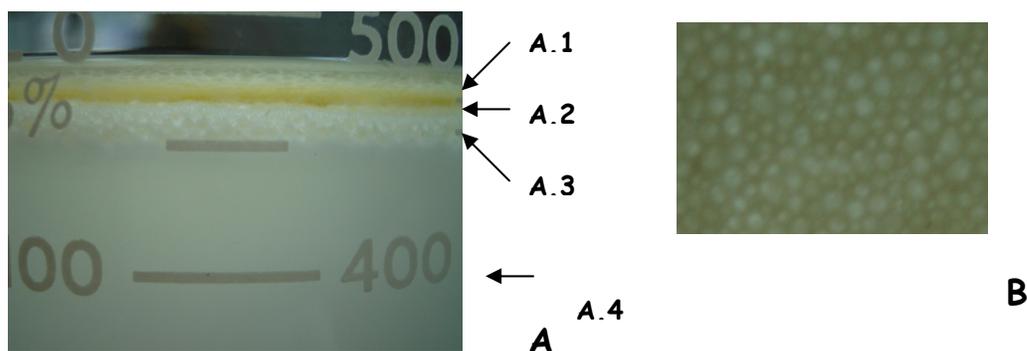


FIGURA 27. Comportamiento de una emulsión o/w en presencia de Avicel CL611. Fotografías tomadas un par de horas después de su preparación.

- A. Vista lateral de las capas formadas: A.1 red de Avicel, A.2 aceite, A.3 red de Avicel, A.4 Avicel disperso en fase acuosa.
- B. Vista superior (cercana) de las capas formadas: Estructuras de Avicel se observan por arriba y por debajo de la capa flotante de aceite.

6.3.2 Efecto de la concentración del Avicel CL611 sobre el pH de emulsiones formuladas con caseinato de calcio

Estas emulsiones presentan incrementos de pH dentro del rango 6.7 - 7.1 en concentraciones crecientes de Avicel CL611 (Figura 28; 15 días de almacén $T= 20-23^{\circ}\text{C}$). Este incremento se puede explicar por la presencia en el Avicel de un contenido típico de 11.3-18.8% de carboximetil celulosa de sodio: La disociación de esta sal da lugar al ión **celulosa-O-CH₂-CO₂⁻** que es la base conjugada de la especie ácida **celulosa-O-CH₂-CO₂H**. Al no tratarse de un ácido fuerte se espera que exista cierto equilibrio entre ambas especies. La reacción de hidrólisis está dada por:



La producción de iones OH^- en esta reacción se considera responsable de los aumentos de pH registrados al incrementarse la concentración de Avicel en las emulsiones.

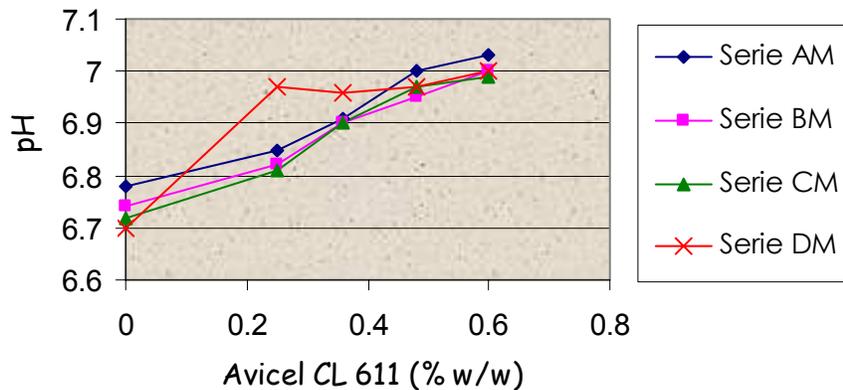


FIGURA 28. pHs de emulsiones con Avicel CL611

6.3.3 Efecto de la concentración del Avicel CL611 sobre la viscosidad de emulsiones formuladas con caseinato de calcio

Se midió la viscosidad de las emulsiones en presencia de Avicel CL611 (0.25, 0.36, 0.48, y 0.6%) a una velocidad de cizalla de 122.4/s. Se observó que el Avicel aumenta apreciablemente la viscosidad de las emulsiones (Figura 29). La mayor estabilidad que mostraron las emulsiones al aumentar las concentraciones de caseinato y Avicel responde, de acuerdo con la Ley de Stokes, a un aumento en la viscosidad la fase acuosa.

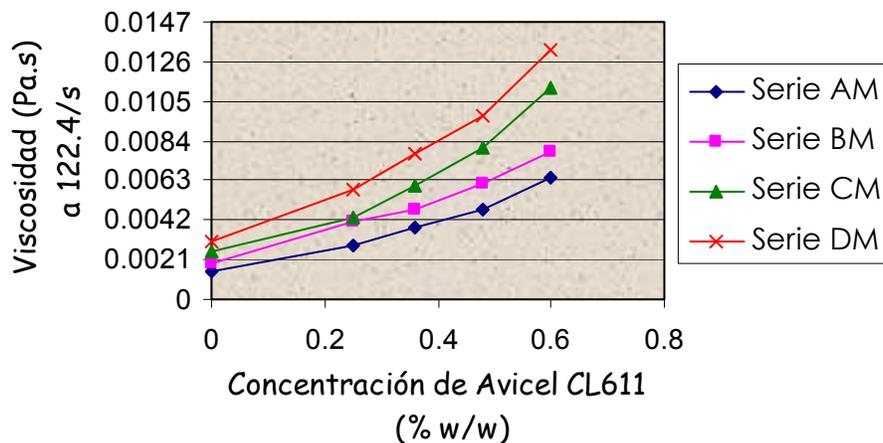


FIGURA 29. Viscosidad de emulsiones con Avicel CL611

Viscosidades elevadas, sin embargo, pueden ser indeseables en un producto comercial pues este no fluye adecuadamente y no es agradable al consumidor. En cuanto a la reología de las dispersiones de Avicel, la literatura reporta comportamientos pseudoplástico. De acuerdo con Dell (2001) El tipo de flujo de las dispersiones de Avicel, interfiere con las corrientes de convección dificultando su calentamiento. Al respecto el mismo autor indica que este requeriría un gasto significativo de tiempo y energía, por lo que contraindica su uso en ese tipo de productos.

6.3.4 Efecto de la concentración del Avicel CL611 sobre el Tamaño de Partícula de emulsiones formuladas con caseinato de calcio

La grafica de la Figura 30 sugiere que la influencia del Avicel CL611 en el valor del $D(4,3)$ de las emulsiones en estudio esta relacionada con la concentración de caseinato presente (t almacén = 3 meses $T= 20-23^{\circ}C$). La tendencia parece ser la siguiente:

- Concentración más baja de proteína (serie AM): los tamaños de partícula fueron *INFERIORES* al que presento la emulsión en ausencia de Avicel.
- Concentración intermedia de proteína (serie BM): los tamaños de partícula fueron *MUY SIMILARES* al que presento la emulsión en ausencia de Avicel.
- Concentraciones más altas de proteína (series CM y DM): los tamaños de partícula fueron *MAYORES* que las presentadas en ausencia de Avicel.

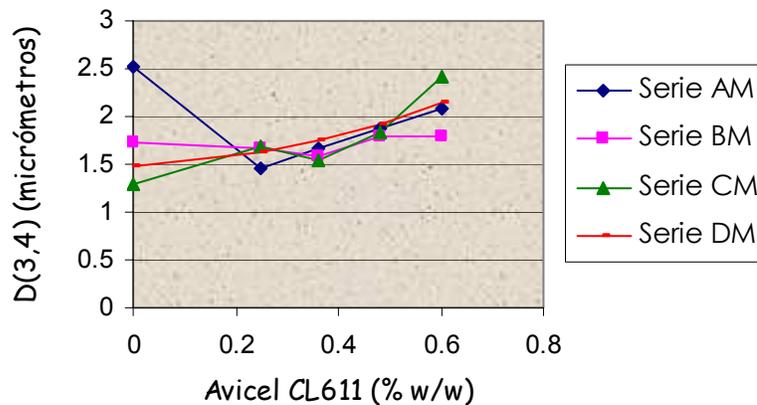


FIGURA 30. $D(4,3)$ de emulsiones con Avicel CL611

El efecto positivo del Avicel en el tamaño de partícula (disminución) solo se observo cuando la proteína se encontraba en baja concentración (serie AM) y se explicaría considerando la capacidad de adsorción en interfases de la red coloidal que forma el Avicel (secciones 3.7.2.3; 6.3.1). En concentraciones superiores de proteína (series CM y

DM), dicho efecto del Avicel no se observa posiblemente por quedar rebasado por la presencia e influencia de la proteína en el tamaño de partícula (sección 6.1.5).

Para una misma concentración de proteína las gráficas revelan cierta tendencia al aumento en el valor del $D(4,3)$ al incrementarse la concentración de Avicel. Este aumento podría deberse a la acumulación del Avicel en la superficie de las partículas.

6.4 EMULSIONES CON CASEINATO Y VISCARÍN GP209 (Series AL, BL, CL, DL)

6.4.1 Observaciones de estabilidad

La estabilidad al cremado de emulsiones formuladas con caseinato de calcio y Viscarín GP209 (producto a base de lambda-(λ)-carragenina) fue determinada por observación visual del cremado por gravedad y del cremado por centrifugación (tiempo almacén 15 días; temperatura 20-23°C).

Las emulsiones de esta serie se distinguieron por comportamientos que son indicativos de interacciones atractivas proteína-carragenina. De acuerdo con la literatura la atracción se debe a interacciones electrostáticas entre las cadenas de carragenina y la κ -caseína (Langendorff, 2000).

El mapa de la Figura 31 presenta el efecto del Viscarín GP209 en la estabilidad de emulsiones formuladas con caseinato de calcio. Se distinguen básicamente 3 zonas en el diagrama:

-Zona muy inestable.- Mínima concentraciones de caseinato (2.6%) y máxima de carragenina (0.2 y 0.3%).

-Zona inestable.- Varias relaciones caseinato carragenina

-Zona relativamente estable.- Máxima concentración de caseinato (6.1%) y máxima concentración de carragenina (0.2 y 0.3%)

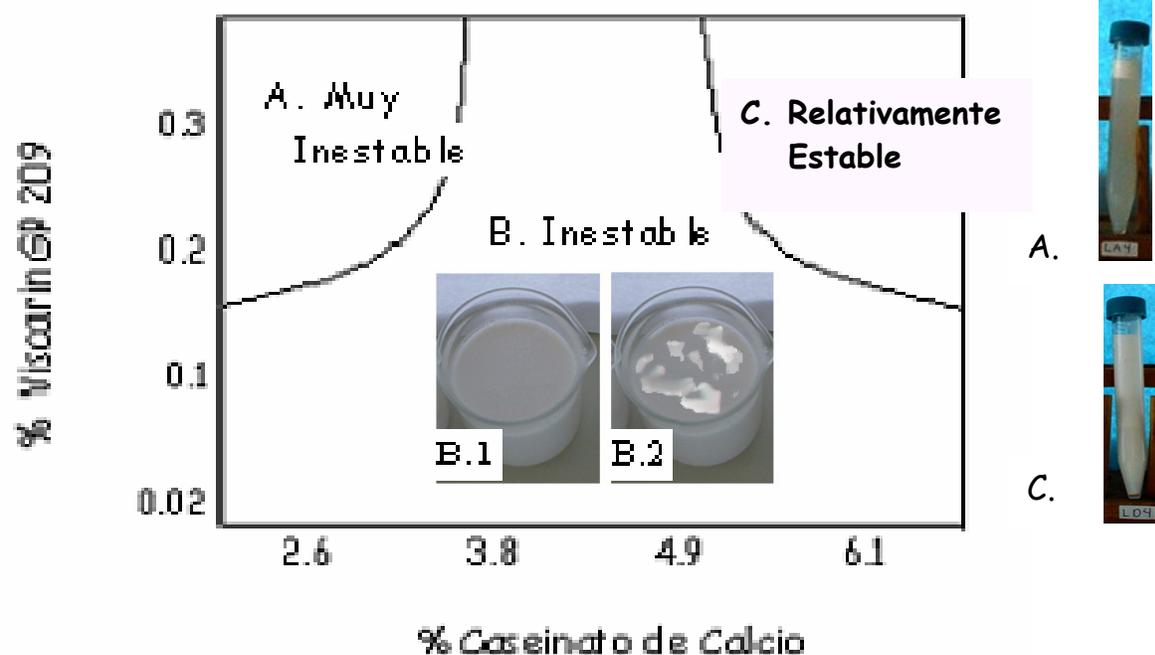


FIGURA 31. Diagrama de estabilidad para las emulsiones de la serie L

A. Muy Inestable. Emulsiones que presentaron mayor segregación de sus componentes sólidos al ser centrifugadas. La floculación es evidente y se atribuye a las relativamente altas concentraciones de carragenina Viscarin GP 209 y a las bajas concentraciones de proteína (rel Viscarin-proteína 1:9 en emulsión AL4).

B. Inestable. La inestabilidad de estas emulsiones se manifiesta principalmente en la formación de agregados laminares al momento de agitar una emulsión aparentemente estable. La emulsión CL2 se presenta en la Figura 31-B como ejemplo más representativo de este comportamiento: B.1 antes de agitar y B.2 después de agitar.

C. Relativamente estable. Emulsiones que presentaron mínima o nula formación de agregados. Las altas viscosidades presentadas por estas emulsiones y relaciones adecuadas de carragenina-proteína parecen ser las causas principales de estabilidad (rel Viscarin-proteína 1:20 en emulsión DL4).

a) Zona “Muy inestable”

A bajas concentraciones de caseinato (2.6%) y altas de Viscarín (0.2, 0.3%), las emulsiones de la zona calificada como “muy inestable” presentaban formación de agregados y una marcada separación de los componentes sólidos del suero acuoso al momento de transvasar la emulsión. La separación de los componentes sólidos fue mas clara con la prueba de centrifugación:

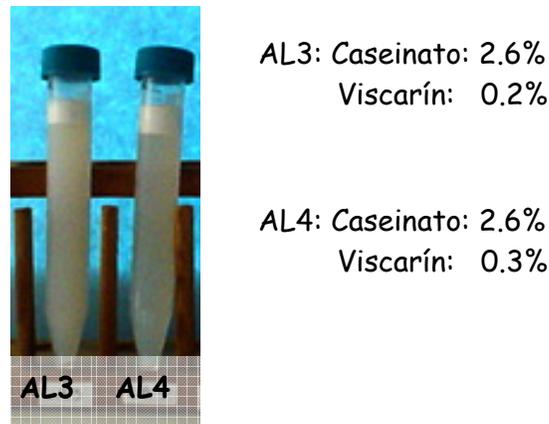


FIGURA 32: Emulsiones “Muy inestables”
% cremado >> 100%

Como ya se ha mencionado las carrageninas interaccionan atractivamente con las proteínas. Se observa, para las concentraciones señaladas en la Figura 32, que el efecto de esta atracción dio lugar a la formación de capas superiores opacas y de gran espesor (formación de complejos: sección 3.5.3), mucho mayores a las observadas en presencia de otras gomas. La transparencia de la zona inferior sugiere que una elevada cantidad tanto de carragenina como de proteína se encuentran en la zona superior. Esto podría explicarse proponiendo que las relativamente altas cantidades de carragenina presentes en estas emulsiones interaccionan con la mayoría de la caseína presente (tanto con la que se supone cubriendo las gotas de aceite, como con aquella que se encontraría libre en el medio) mas aún; la carragenina, adicionada en estas proporciones, podría en parte “secuestrar” a la caseína evitando la completa cobertura de las gotas de aceite con esta proteína. A su vez, gotas de aceite mal cubiertas serían susceptibles de coalescer o bien de presentar el fenómeno de “floculación por puenteo”

(sección 3.5.2); en ambos casos se esperaría un aumento en el tamaño de partícula como fue el caso en estas emulsiones (sección 6.4.4).

Debido a su baja densidad y a la ausencia de gotas en la fase acuosa inferior; puede decirse que la totalidad del aceite se encuentra en la zona superior de estas emulsiones; no es posible sin embargo, saber si la ligera turbidez que se observa en la fase acuosa se debe a restos de carragenina o a restos de proteína. Una cuantificación de estos polímeros en las fases separadas nos permitiría reconocer si existe un exceso de carragenina no adsorbida que pudiera, mediante un efecto osmótico, ser la causa de la separación acuosa observada (floculación por agotamiento: sección 3.5.1).

Las emulsiones de esta zona guardan las proporciones Viscarin: caseinato mas elevadas del diagrama.

b) Zona “inestable”

En la Figura 33 destaca una amplia zona de inestabilidad. En términos de composición del medio, esta zona difiere de la anterior en que disminuye la relación Viscarin:caseinato. Las emulsiones en esta zona parecían estables al abrir la lata, pero bastaba una ligera agitación para que se formaran en la superficie agregados laminares, de gran tamaño. Este singular comportamiento pudiera ser indicativo de floculación por puenteo según indica Syrbe et al., (1988), quien señala además que durante la agitación los agregados floculados se mueven mas fácilmente en presencia de un flujo impuesto y “recogen” a agregados mas pequeños. Los agregados mas grandes se presentaron en concentraciones intermedias de caseinato (3.8 y 4.9%) y Viscarin GP 209 (0.1 y 0.2%).

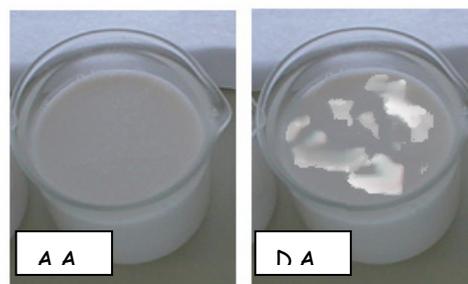


FIGURA 33. Emulsiones inestables.

A.A antes de agitar 74

D.A después de agitar.

De acuerdo con la sección 3.5.2 la floculación por puenteo se da cuando un polímero capaz de adsorberse en una partícula coloidal se encuentra en cantidad insuficiente para cubrir la superficie de la partícula. Entonces, una misma molécula de polímero podría adsorberse simultáneamente en 2 partículas coloidales, provocando su floculación. Al igual que en la zona considerada como “Muy inestable”, es probable que las interacciones de la carragenina con la proteína no hayan dejado proteína suficiente para cubrir adecuadamente las gotas de aceite. La carragenina podría entonces indirectamente promover la floculación por puenteo.

Al ser sometidas a la centrifugación, las emulsiones de la zona calificada como “inestable” presentaron también anchos cremados (% cremado >100%) , sin embargo, el contraste entre la fase superior y la inferior es menos marcado ya que ambas fases presentan un color blanco opaco sin ser tan evidente la separación acuosa. Estas observaciones sugieren que: si en la zona “Muy inestable” un exceso de carragenina no adsorbida habría promovido una separación por el efecto osmótico de agotamiento, este efecto casi ha desaparecido al disminuir la relación Viscarín:caseinato. Nuevamente, sería necesario determinar las concentraciones de proteína y de carragenina presentes en las fases para dar corroborar esta hipótesis.

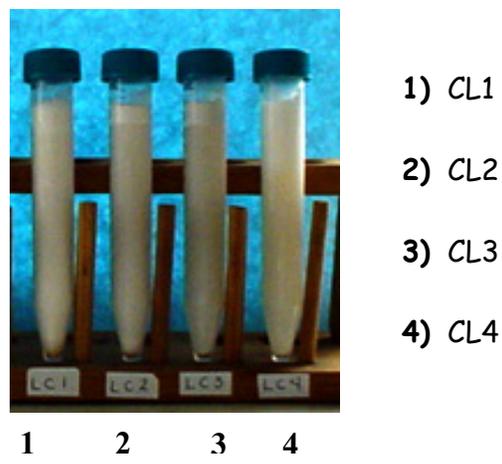


FIGURA 34: Efecto de la centrifugación en la serie CL considerada “inestable”

c) *Zona Relativamente estable*

La composición de las emulsiones en estas zonas se distingue por las altas concentraciones tanto de caseinato (6.1%) como de carragenina (0.2 y 0.3%). Estas emulsiones no presentaban agregados ni los formaban después de ser agitadas, sin embargo, era posible distinguir cierta separación acuosa al momento de transvasar la emulsión.

La ausencia de agregados (nata) en estas emulsiones puede interpretarse como el reflejo de una adecuada cobertura de las gotas de aceite con caseinato de calcio. No parece haber indicios de floculación por puenteo ni siquiera en la máxima concentración de Viscarin (0.3% que en la serie con menor concentración de proteína dio lugar a sistemas “Muy inestables”). Esta estabilidad parece deberse a relaciones apropiadas de Viscarín y caseinato de calcio donde habría suficiente proteína para interaccionar con la carragenina sin dejar de cubrir adecuadamente las gotas de aceite. Una mayor viscosidad de estos sistemas influyó también en su estabilidad.

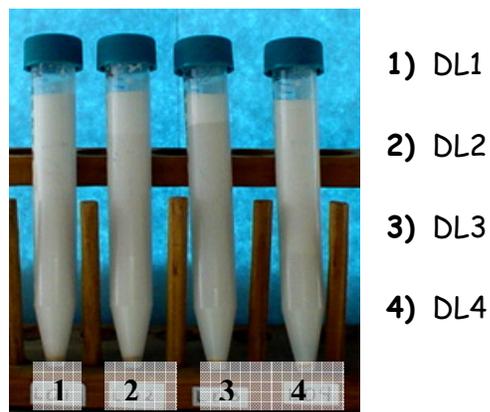


FIGURA 35: Efecto de la centrifugación en la serie DL

6.4.2 Efecto de la concentración del Viscarín GP209 sobre el pH de emulsiones formuladas con caseinato de calcio

Los pHs determinados sobre las emulsiones formuladas con caseinato de calcio y la carragenina Viscarin GP209 fueron, en todos los casos, superiores a 6.7 esto es, muy por encima del punto isoeléctrico de la caseína por lo que se considera que ambos polímeros: proteína y carragenina se encuentran con carga neta negativa.

El hecho de que ambos polímeros se encuentren con carga neta negativa; no impide, sin embargo, la interacción de ciertos “parches positivos” presentes en la proteína con los grupos sulfato de la carragenina. De acuerdo con Dickinson (1998) la atracción del grupo protéico $-NH_3^+$ y los grupos OSO_3^- presentes en la carragenina son fuertes y permiten una interacción atractiva neta a pHs aun muy por encima del punto isoeléctrico de las caseínas (Figura 36).

Las interacciones atractivas entre polímeros con cargas netas del mismo signo también son posibles mediante el puenteo por iones divalentes como el calcio que se encuentra presente en el caseinato de calcio.

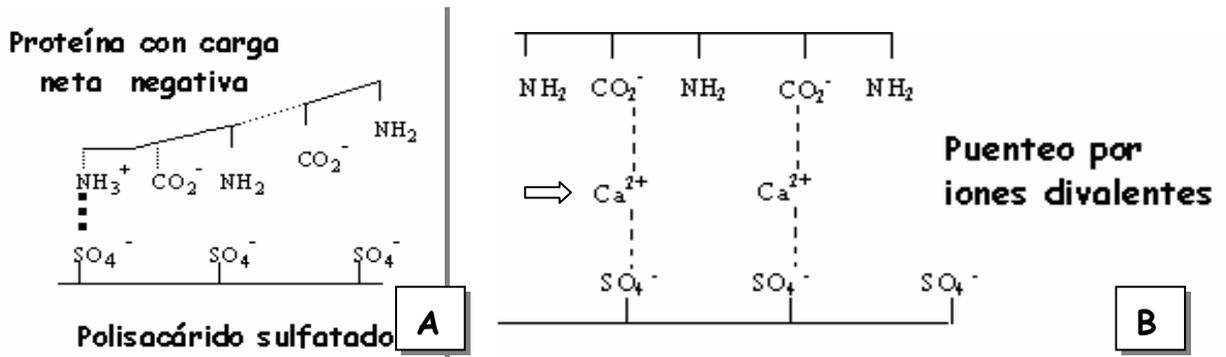


FIGURA 36. Interacciones posibles entre una proteína y un polisacárido sulfatado a $pH > pI$ proteína

- Atracciones locales entre aminoácidos básicos positivos NH_3^+ y grupos SO_4^- son posibles aún cuando la carga neta de ambos biopolímeros sea negativa (Dickinson, 1998)
- La presencia de calcio permite la formación de un puente divalente entre 2 polímeros con carga neta negativa (Bubnis, 2000)

La Figura 37 muestra un aumento en el pH de las emulsiones al aumentar las concentraciones de Viscarin GP209

El aumento de pH probablemente se deba a la presencia de grupos sulfato residuales (esto es que no se encuentren interaccionando con la proteína). Dichos grupos entrarían en equilibrio con su forma ácida al atrapar protones del medio acuoso.

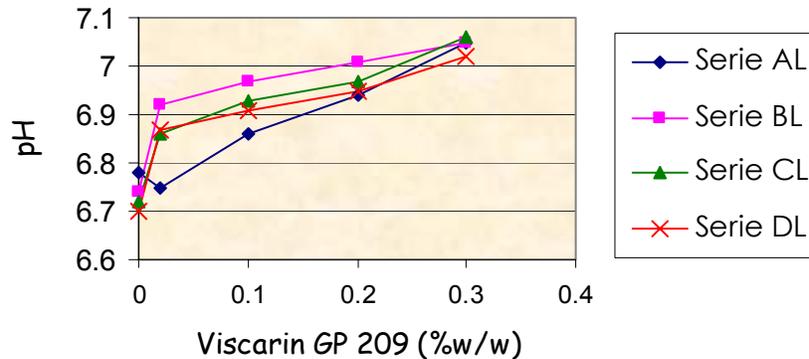


FIGURA 37. pHs de emulsiones con Viscarin GP209

6.4.3 Efecto de la concentración del Viscarin GP209 sobre la viscosidad de emulsiones formuladas con caseinato de calcio

La presencia de carragenina Viscarin GP209 incrementa la viscosidad de las emulsiones como se puede observar en la Figura 38 donde la viscosidad aumenta con la concentración de carragenina para todos los niveles de caseinato estudiados.

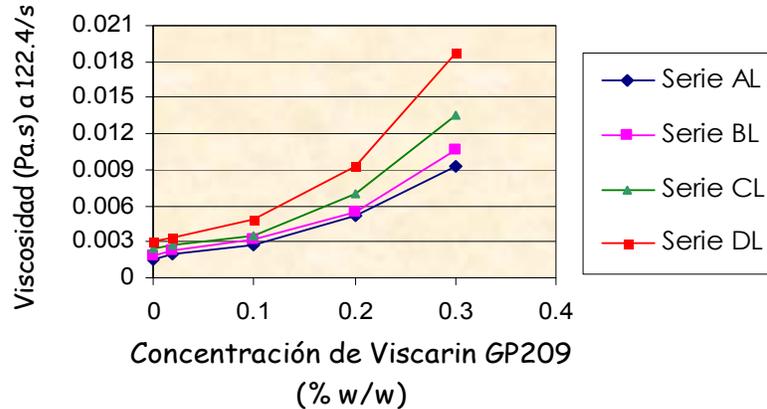


FIGURA 38. Viscosidad de emulsiones con Viscarin

Para altas concentraciones de caseinato de calcio y Viscarín (serie DL) vemos que el aumento en la viscosidad se vio acompañado de un aumento en la estabilidad de las emulsiones. Esto debido seguramente a un incremento en la viscosidad de la fase acuosa lo que favorece la suspensión de las gotas de aceite y limita su movilidad evitando la coalescencia.

Aumentos en la viscosidad, sin embargo, no siempre se tradujeron en una mayor estabilidad de las emulsiones. Por ejemplo: la emulsión AL4 que fue la más viscosa de la serie AL fue también la más inestable como ya se indicó en la sección anterior.

En un estudio similar, Dickinson (2003) interpreta la alta viscosidad de una emulsión que era evidentemente inestable, como el resultado de una significativa atracción entre la proteína y el hidrocoloide presentes en la misma (sección 3.6.1).

Considerando esto, el incremento en la viscosidad que presenta la emulsión AL4, puede reflejar la formación de estructuras floculadas que suponen la interacción, no solo entre la carragenina y la proteína libre, sino también entre la carragenina y la proteína que se encuentra cubriendo las interfases agua-aceite. Esta interacción pudiera interferir con una adecuada cobertura de las gotas de aceite (a esa relación de caseinato y Viscarin) afectando así la estabilidad de la emulsión.

6.4.4 Efecto de la concentración del Viscarín GP209 sobre el Tamaño de Partícula de emulsiones formuladas con caseinato de calcio

En las emulsiones de las series con menor concentración de caseinato (ver Figura 39; series AL y BL, con 2.6 y 3.8 % de caseinato) se observa un aumento particularmente drástico en el tamaño de partícula de las emulsiones al aumentar la concentración de Viscarín. Estos aumentos confirman las tendencias que se presentan en el resto de las observaciones indicando un mecanismo de formación de puentes originado por interacciones entre la carragenina y la proteína. La inestabilidad se hace mas evidente en aquellas emulsiones donde se eleva la relación hidrocoloide: proteína (relación 1:9 en emulsión AL4), como se observó en la prueba de cremado por centrifugación.

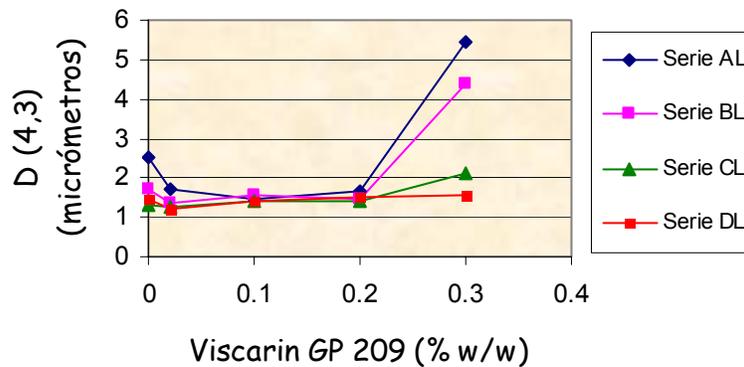


FIGURA 39. D(4,3) de emulsiones con Viscarín GP209

7. CONCLUSIONES

1.-EMULSIONES MODELO O BLANCOS SERIES A, B C y D (con 4.06 % w/w de aceite y 2.6, 3.8, 4.9 y 6.1 % w/w de caseinato de calcio)

En una emulsión al 4.06% de aceite en agua, aumentos en la concentración de caseinato de calcio dentro del rango de 2.6-6.1% favorecieron la estabilidad de la emulsión.

Esta tendencia se ve reflejada en una menor formación de crema y agregados y en una tendencia a la disminución del tamaño de partícula.

Este comportamiento se atribuye a la presencia de mayor cantidad de material surfactante al momento de formarse la emulsión y a un incremento en la viscosidad que concentraciones crecientes de caseinato confieren a la fase acuosa.

2.-EMULSIONES CON CASEINATO DE CALCIO Y GOMA DE MEZQUITE (Series AZ, BZ, CZ y DZ con 0.5, 0.9, 1.3 y 1.7 %w/w de goma de mezquite).

La goma de mezquite adicionada a las emulsiones blanco en un rango de concentración de 0.5-1.7% no favoreció su estabilidad.

La inestabilidad se refleja en la formación irreversible de grandes y abundantes agregados. No se observó algún efecto sinérgico entre las propiedades emulsificantes del caseinato de calcio y las de la goma de mezquite en las concentraciones estudiadas.

3.- EMULSIONES CON CASEINATO DE CALCIO Y PRODUCTO A BASE DE CELULOSA MICROCRISTALINA AVICEL CL611 (Series AM, BM, CM y DM con 0.25, 0.36, 0.48 y 0.6% w/w de Avicel CL611).

El Avicel CL611 adicionado a las emulsiones blanco en un rango de concentración de 0.25-0.6% promovió un aumento en la estabilidad de las emulsiones al incrementarse tanto la concentración de Avicel como la de caseinato.

Esta mayor estabilidad se atribuye a un marcado incremento en la viscosidad de la fase acuosa.

El Avicel CL611 presenta cierto grado de adsorción en interfases.

4.- EMULSIONES CON CASEINATO DE CALCIO Y PRODUCTO A BASE DE LAMBDA-(λ)-CARRAGENINA VISCARÍN GP209 (Series AL, BL, CL, y DL con 0.02, 0.1, 0.2 y 0.3% w/w de Viscarin GP209)

El Viscarin GP 209 al ser adicionado en proporciones elevadas (0.2 y 0.3%) a emulsiones con baja concentración de caseinato (2.6%) promovió la inestabilidad de los sistemas.

La inestabilidad se vio reflejada en la formación de anchos cremados y separación acuosa durante la centrifugación y en un brusco aumento del tamaño de partícula.

El Viscarin GP 209 también promovió inestabilidad en gran parte de las emulsiones estudiadas. Esta inestabilidad se caracterizó por la aparición de grandes agregados que se formaban al agitar los envases y se atribuye al fenómeno de “floculación por puenteo.”

El Viscarin GP 209 al ser adicionado en cantidades elevadas (0.2 y 0.3%) a emulsiones con alta concentración de caseinato (6.1%) dio lugar a emulsiones relativamente estables. Esta tendencia se atribuye a un aumento en la concentración de caseinato y a un aumento importante en la viscosidad del medio.

➤ RECOMENDACIONES

Es importante recordar que las emulsiones con las que aquí se trabajó son sistemas muy sencillos (aceite, agua, proteína e hidrocoloide) comparados con los que serían emulsiones alimentarias donde una gran variedad de ingredientes afectan la estabilidad de las emulsiones y es preciso además cumplir con especificaciones de calidad y aspectos sanitarios que aseguren la inocuidad de los alimentos.

Considerando lo anterior se señala aquí que los resultados obtenidos en este trabajo no serán extrapolables a otros sistemas mas complejos.

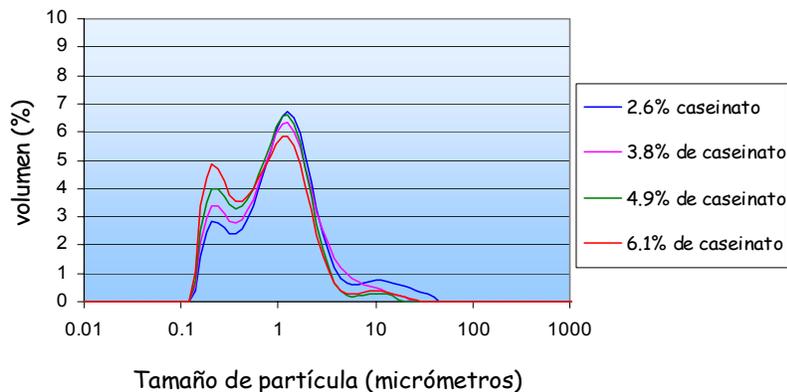
Algunas recomendaciones precisas en el uso de hidrocoloides se presentan a continuación:

- *Dispersar el hidrocoloide mediante adición lenta de porciones pequeñas a una suficiente cantidad de agua en agitación elevada. Esto para evitar la formación de masas que resultan después muy difíciles de dispersar (Ofner, 2000).*
- *Evitar hidrocoloides o concentraciones de los mismos que dentro de los sistemas eleven demasiado la viscosidad o modifiquen de manera importante su reología esto es especialmente importante en productos que son sometidos a tratamientos térmicos ya que, a medida que los sistemas se alejan del comportamiento Newtoniano, las corrientes de convección dejan de distribuir el calor adecuadamente por lo que su calentamiento requiere un gasto mayor de tiempo y energía (Dell, 2001).*

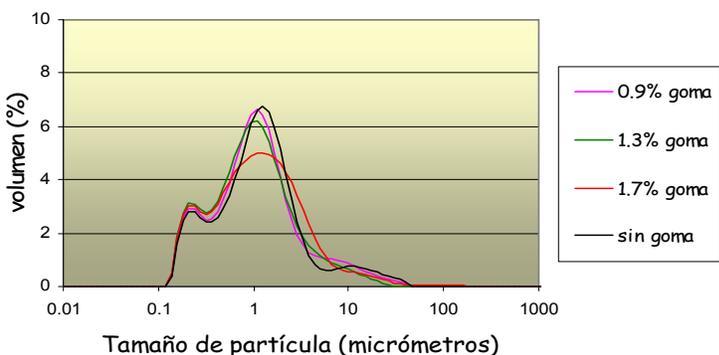
En relación a lo anterior, para cada alimento o fórmula se recomienda valorar físicamente, sobre puntos fríos del proceso, la eficiencia del tratamiento térmico que asegure la esterilidad e inocuidad del producto y constituye un punto crítico en todos los procesos.

A

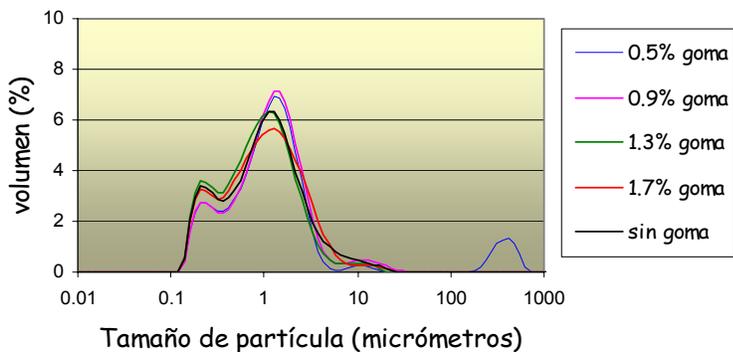
GRÁFICAS DE DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE PARTÍCULA (DTP)



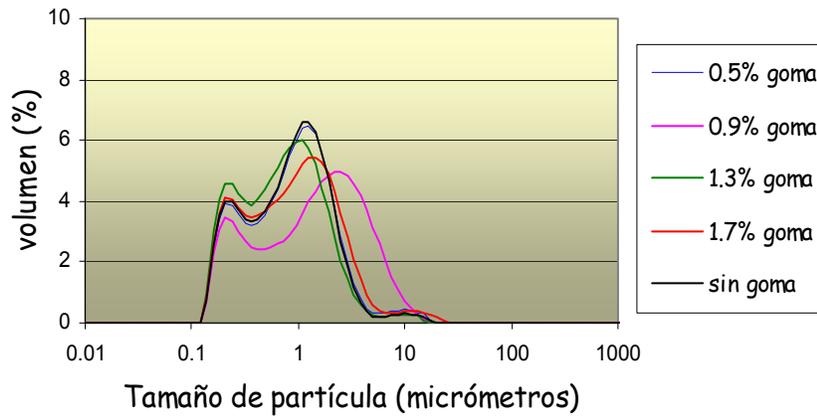
DTP emulsiones con diversas concentraciones de caseinato de calcio (Emulsiones A, B, C y D)



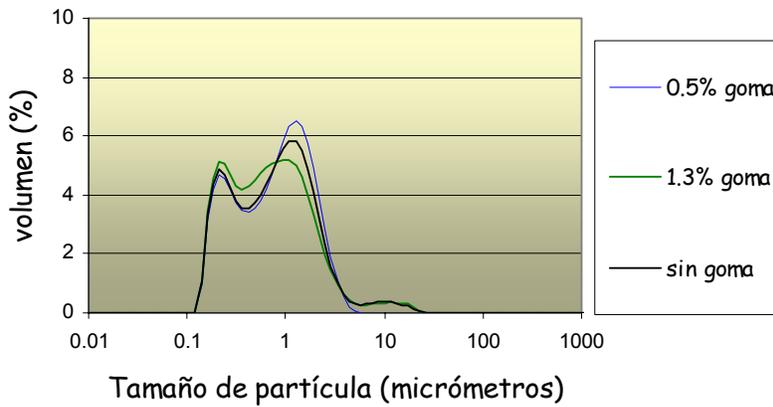
DTP de emulsiones con Goma de Mezquite y 2.6 % de caseinato de calcio (Serie AZ)



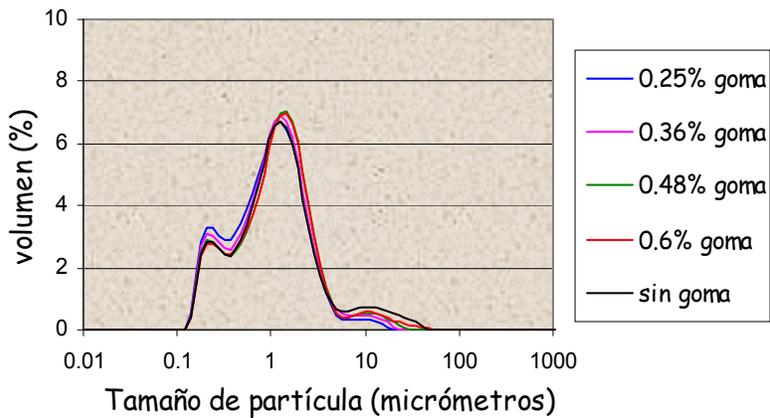
DTP de emulsiones con Goma de Mezquite y 3.8% de caseinato de calcio (Serie BZ)



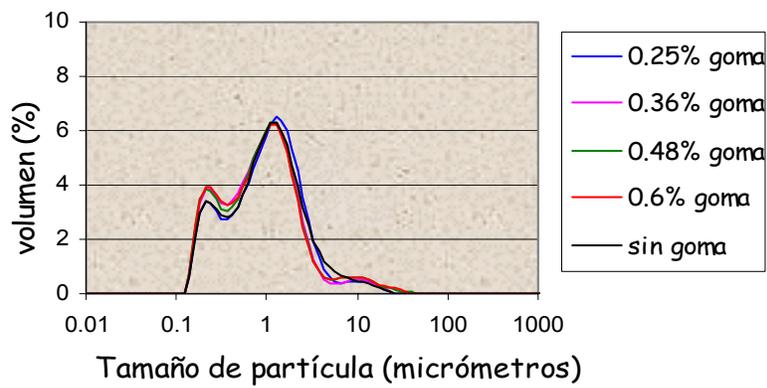
DTP de emulsiones con Goma de Mezquite y 4.9 % de caseinato de calcio (Serie CZ)



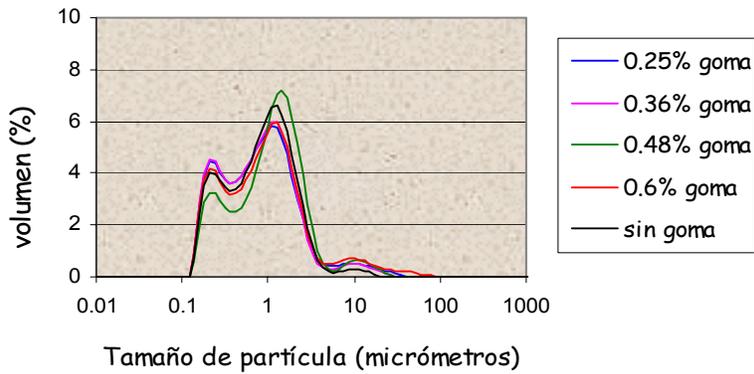
DTP de emulsiones con Goma de Mezquite y 6.1% de caseinato de calcio (Serie DZ)



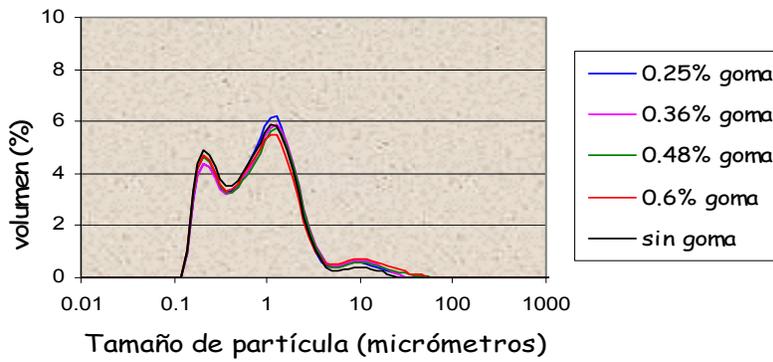
DTP de emulsiones con Avicel CL611 y 2.6% de caseinato de calcio (Serie AM)



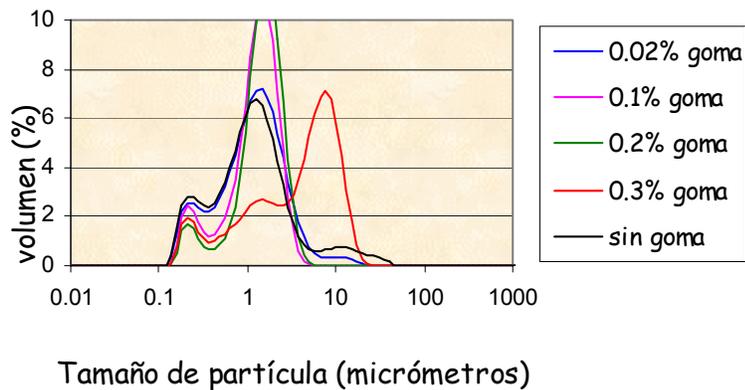
DTP de emulsiones con Avicel CL611 y 3.8% de caseinato (Serie BM)



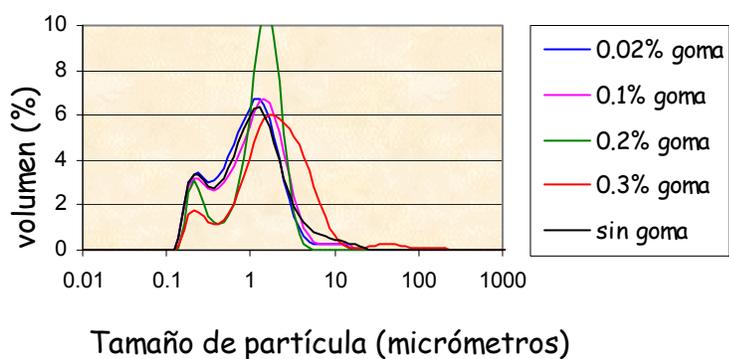
DTP de emulsiones con Avicel CL611 y 4.9 % de caseinato (Serie CM)



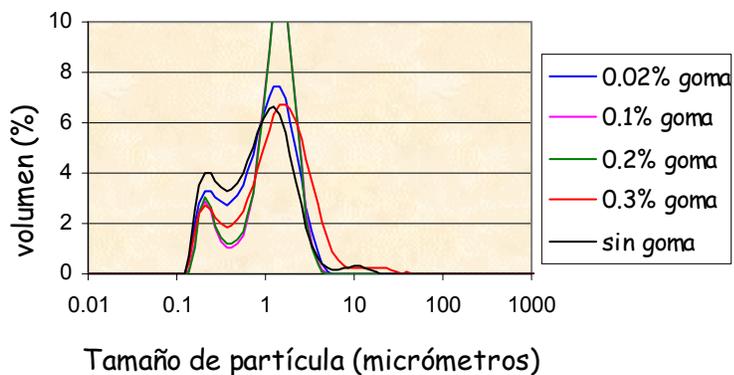
DTP de emulsiones con Avicel CL611 y 6.1 % de caseinato (Serie DM)



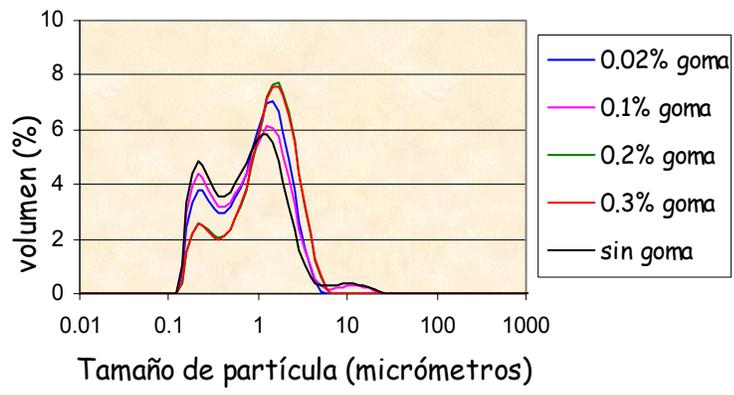
DTP de emulsiones con Viscarin GP209 y 2.6 % de caseinato (Serie AL)



DTP de emulsiones con Viscarin GP209 y 3.8% de caseinato (Serie BL)

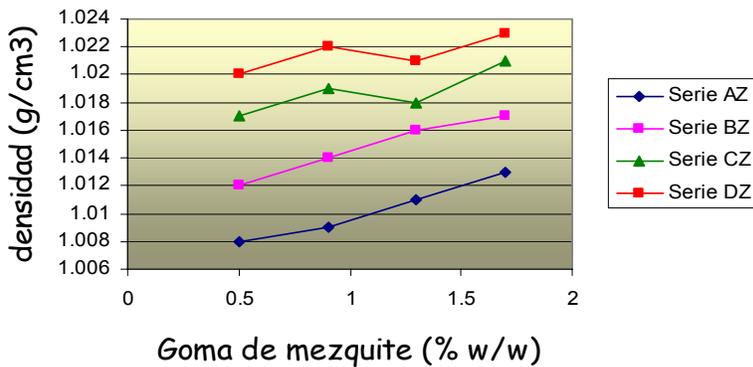


DTP de emulsiones con Viscarin GP209 y 4.9% de caseinato (Serie CL)

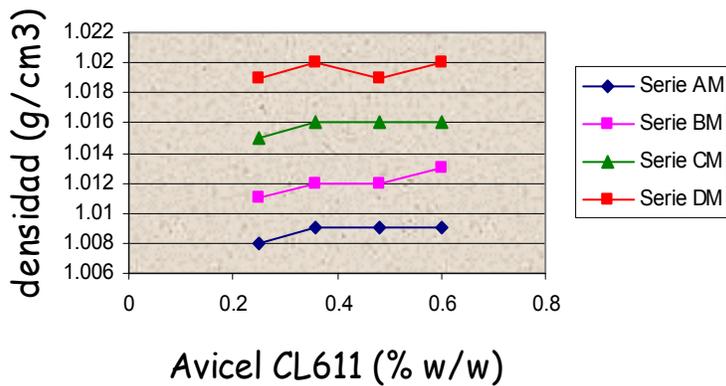


DTP de emulsiones con Viscarin GP209 y 6.1% de caseinato (Serie DL)

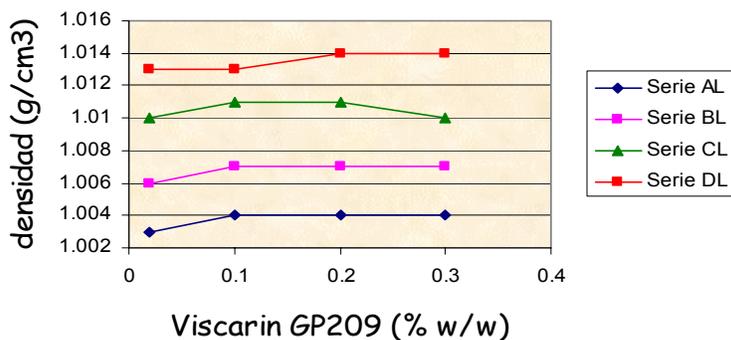
Apéndice **B** Gráficas de Densidad



Densidad de emulsiones con caseinato de calcio y goma de mezquite



Densidad de emulsiones con caseinato de calcio y Avicel CL611



Densidad de emulsiones con caseinato de calcio y Viscarin GP209

9. REFERENCIAS

1. *Badui D. S. (1996). Química de los alimentos. Longman de México editores, S.A de C.V 3° edic., México. pág 505-507, 114, 116*
2. *Berli, C.L.A, D. Quemada, A. Parker. (2002). Modelling the viscosity of depletion flocculated emulsions. *Colloids and Surfaces A:Physicochemical and Engineering Aspects* 203 pp 11-20*
3. *Brito, E., E. Galindo, A. López. (1999) Biopolímeros Biotecnología Alimentaria Cap. 13 Editorial Limusa Noriega Editores Primera Edición pp 431-439*
4. *Bubnis, W. (2000) Carrageenan, FMC BioPolymer. pp 28
<http://www.fmcbiopolymer.com>*
5. *Dell, S.M., and J.A.Colliopoulos. (2001) Avicel RC/CL, Microcrystalline Cellulose and Carboxymethylcellulose Sodium, NF, BP. FMC BioPolymer. pp 15 http://www.fmcbiopolymer.com/Content/BIO/Images/Section_14_PS_Avicel_RC_CL.pdf*
6. *Dickinson, E. (1997). Rheology of Sodium Caseinate Stabilized Oil -in Water Emulsions. *Journal of colloid an interface science* 191 pp 166-176*
7. *Dickinson, E. (1998). Stability and rheological implications of electrostatic milk protein-polysaccharide interactions. *Trends in Food Science &Technology* 9 pp 347-354*
8. *Dickinson, E., Semenova M., Antipova A. and Pelan E. (1998). Effect of high-methoxy pectin on properties of casein-stabilized emulsions. *Food Hydrocolloids* 17 pp 425-432*
9. *Dickinson, E.(1999). Caseins in emulsions; interfacial properties and interactions. *International Dairy Journal* 9 pp 305-312*
10. *Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids* 17 pp 25-39*

11. Euston, S.R. and R.L Hirst (2000). The emulsifying properties of commercial milk protein products in simple oil in water emulsions and in a model food system. *Journal of Food Science Food Chemistry and Toxicology* Vol.65, No 6
12. Euston, S.R., S.R.Finnigan and R.L. (2002). Hirst Kinetics of droplet aggregation in heated whey protein-stabilized emulsions: Effect of polysaccharides. *Food Hydrocolloids* 16 pp 499-505
13. Fennema, O. (1996). Food Chemistry Third edition Edited by Owen R. Fennema pp 96-98
14. Galiana, M. (1987). Diccionario ilustrado de las Ciencias. Tomo 2 Ediciones Larousse Primera edición pp 1424
15. Garti, N.et all (1999). Portulaca oleracea gum and casein interactions and emulsion stability *Food Hydrocollids* 13 pp127-138
16. Huang, X., Y. Kakuda, W.Cui (2001). Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids* 15 pp 533-542
17. Kaszuba Michael (2003). Presentation Why Measure Zeta Potential Folder: Malvern Instruments-General Presentation ID 67126 <http://www.brainshark.com/malvern/zetawebinar>
18. Langendorff. V, et all (2000). Effects of carrageenan type on the behaviour of carrageenan/milk mixtures. *Food Hydrocolloids* 14 pp273-280
19. McClements, D.J. (2000). Comments on viscosity enhancement and depletion flocculation by Polysaccharides. *Food Hydrocolloids* 14 pp 173-177
20. Moughal, K.I., P.A. Munro, H.Singh. (2000). Suspension stability and size distribution of particles in reconstituted commercial calcium caseinates. *International Dairy Journal* 10 pp 683-690
21. Ofner, C. (2000) Suspensions, FMC BioPolymer. pp 10 <http://www.fmcbiopolymer.com>

22. Santos,A. (1987). Leche y sus derivados. Editorial Trillas p 62
23. Srinivasan, M., H, Singh, P.A. Munro. (2002) Formation and stability of sodium caseinate emulsions influence of retorting (121°C for 15 min) before or after emulsification. *Food Hydrocolloids* 16 pp153-160
24. Srinivasan, M., H, Singh, P.A. Munro. (2003) Influence of retorting (121°C for 15 min), before or after emulsification, on the properties of calcium caseinate oil-in-water emulsions. *Food Chemistry* 80 pp 61-69
25. Syrbe, A. et all (1998). Polymer Science Concepts in Dairy Systems- An Overview of Milk Protein and Food Hydrocolloid Interaction. *Int. Dairy Journal* pp 179-193
26. Vernon-Carter, E.J., C.I.Beristain and Pedroza-Islas. (2000). Mezquite Gum (Prosopis gum). *Novel Macromolecules in Food Systems* pp 217-237