



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**COACERVACIÓN COMPLEJA DE  
MEZCLAS GELANA-GELATINA Y SU USO  
EN ENCAPSULACIÓN**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**QUÍMICO DE ALIMENTOS**

PRESENTA

**JOSÉ ANTONIO ROSILES EXKIWS  
HERNÁNDEZ**



MÉXICO, D.F.

2008



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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>	<b>MARÍA DE LOS ÁNGELES VALDIVIA LÓPEZ</b>
<i>Vocal</i>	<b>AMELIA MARÍA DE GUADALUPE FARRÉS GONZÁLEZ SARAVIA</b>
<i>Secretario</i>	<b>ALBERTO TECANTE CORONEL</b>
<i>1er. Suplente</i>	<b>FRANCISCO RUÍZ TERÁN</b>
<i>2do. Suplente</i>	<b>MARÍA DE LOURDES OSNAYA SUAREZ</b>

## **Sitio donde se desarrolló el tema.**

Laboratorio 313. Departamento de Alimentos y Biotecnología. Conjunto E, Facultad de Química, UNAM.

### *Asesor*

Dr. Alberto Tecante Coronel

### *Sustentante*

José Antonio Rosiles Exkiws Hernández

## **Agradecimientos**

Al Dr. Alberto Tecante Coronel, por la oportunidad de trabajar en su laboratorio y ayudarme con todo su conocimiento y experiencia, siempre en un ambiente cordial, de amistad y respeto, para poder conjuntamente, sacar adelante este trabajo. “La buena ciencia es paciencia”.

A la I.A. Mariana Ramírez Gilly por el apoyo técnico en la realización de las pruebas reológicas para esta tesis.

Al subprograma 127 “Formación básica en investigación” de la Facultad de Química de la UNAM por el apoyo brindado para la conclusión de esta tesis.

A la M. en C: María de los Ángeles Valdivia López y a la Dra. Amelia María de Guadalupe Farrés González Saravia, por los valiosos comentarios y aportes para la corrección de éste trabajo.

## Dedicatorias

A mi mamá, a ella le debo todo lo que soy y lo que espero ser.

A mi hermana Berenice, por siempre estar ahí.

A mi tía Gela, porque siempre la he sentido junto a mí y ayudarme todo lo que pudo durante el principio de mi educación.

A Pablo, Jaime, César y David por hacer más llevadera la vida en la facultad, siempre tratando de pasarla bien y acompañándonos unos a otros en las buenas y en las malas y por forjar una amistad para toda la vida.

A mi amigo Miguel y a toda su familia, por demostrarme que la amistad nada tiene que ver con la edad ni la distancia, y que se puede tener más de un hogar.

A mis entrañables compañeros de vida Juan Antonio, Iván, Gaby, Michel, José Luis, Paola, Alejandro, Alma, Natyela, Aries, Karina, porque no importan los años, el cariño siempre ha estado ahí.

A mis amigos de la Universidad, Caro, Toñita, Tania, Fernanda, Melisa, Melania, Paulina, Armando, César, Carlitos, Rafael, Paco, Uriel, Naela, Karla, Rodrigo, Victor. Por compartir conmigo la experiencia de vivir en la Facultad.

A mis compañeros del Laboratorio 313: Mariana, Mitzi, Pablo, Carmen y Emmanuel por el gran ambiente que siempre hubo durante el trabajo.

# Índice

Pág.

<b>RESUMEN .....</b>	<b>8</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>9</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>11</b>
OBJETIVO GENERAL .....	11
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	11
<b>ANTECEDENTES .....</b>	<b>12</b>
COACERVACIÓN .....	12
GELANA.....	16
Mecanismo de gelificación .....	17
GELATINA .....	17
Mecanismo de gelificación .....	18
<b>ESTUDIOS PREVIOS .....</b>	<b>19</b>
<b>METODOLOGÍA .....</b>	<b>23</b>
MATERIALES .....	23
DIAGRAMA GENERAL DE TRABAJO.....	23
MÉTODOS.....	24
MEZCLAS SIN AJUSTE DE PH.....	25
MEZCLAS CON AJUSTE DE PH .....	25
PRUEBAS REOLÓGICAS .....	26
PRUEBAS DE ENCAPSULACIÓN.....	27
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>28</b>
PRUEBAS INICIALES .....	28
DETERMINACIONES REOLÓGICAS.....	36
Formulación I.....	41
Formulación II .....	42
Formulación III.....	43
Formulación IV.....	46
Formulación V .....	50
Formulación VI.....	53
Formulación VII.....	56
PRUEBAS DE ENCAPSULACIÓN .....	62
Encapsulación de sustratos líquidos .....	62
Encapsulación de sustratos sólidos.....	64
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>67</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>69</b>

## Índice de figuras

Pág.

Figura 1. Unidad repetitiva de la gelana de bajo acilo (Chilvers y Morris 1987). .....	16
Figura 2. Esquema general del procedimiento experimental para la preparación y selección de coacervados usados para la encapsulación de sustratos. ....	23
Figura 3: Mezcla 0.050% gelana con 0.250% gelatina. (La franja blanca en el fondo es debida a la etiqueta exterior del recipiente). ....	30
Figura 4: Mezcla 0.150% gelana con 0.250% gelatina. ....	30
Figura 5: Mezcla 0.005% gelana con 0.05% gelatina. ....	30
Figura 6: Mezcla 0.05% gelana con 1.75% de gelatina. ....	31
Figura 7: Mezcla 0.05% gelana con 0.75% gelatina. De izquierda a derecha; solución, gel de la fase inferior. ....	31
Figura 8: Mezcla 0.005% gelana con 0.75 gelatina. ....	31
Figura 9: Mezcla 0.025% gelana con 0.75 gelatina. De izquierda a derecha; solución, gel fase superior, gel fase inferior. ....	32
Figura 10: Mezcla 0.05% gelana con 1.75% gelatina. ....	32
Figura 11: Diagrama de separación de fases a diferentes proporciones de gelana y gelatina. Cada figura representa un comportamiento del sistema. ....	33
Figura 12: Mezcla 0.15% gelana con 1.75% gelatina (40x). ....	33
Figura 13: Mezcla 0.15% gelana con 1.0% gelatina (40x). ....	34
Figura 14: Mezcla 0.025% gelana con 1.5% gelatina (40x). ....	34
Figura 15: Mezcla 0.025% gelana con 1% gelatina (40x). ....	34
Figura 16. Evolución de los módulos dinámicos con el tiempo durante la gelificación de 1.25% de gelatina a 25 °C y pH 4.01. La frecuencia fue 1 Hz y la deformación 5%. ....	39
Figura 17. Barrido de frecuencia después de 24 h de reposo a 25 °C. ....	40
Figura 18. Barrido de frecuencia de una solución de gelatina al 1.25% tras 24 horas de reposo a temperatura ambiente. ....	40
Figura 19. Barrido de frecuencia de una solución de gelatina al 1.25% tras 24 horas de reposo en refrigeración (8 °C). ....	40
Figura 20: Barrido de deformación, solución de gelatina al 0.5% a pH 3.55. ....	42
Figura 21: Barrido de frecuencia, formulación II. Solución de gelatina al 1% y mezcla con gelana al 0.005% pH 5.12. ....	43
Figura 22: Barrido de frecuencia, formulación III. Solución de gelatina al 1.0% a pH 3.37. ....	44
Figura 23: Barrido de frecuencia, formulación III. Mezcla gelatina al 1% con gelana al 0.25% pH 3.37. ....	44
Figura 24: Barrido de frecuencia, formulación III. Comparación solución de gelatina al 1% y su mezcla con gelana al 0.25% pH 4.92. ....	45
Figura 25: Barrido de frecuencia, formulación III. Comparación entre las mezclas de gelatina al 1% con gelana al 0.25% a pH 3.37 y 4.92. ....	46
Figura 26: Barrido de frecuencia, formulación IV. Controles, soluciones de gelatina al 1.25% pH 3.88 y 5.02. ....	47
Figura 27: Barrido de frecuencia, formulación IV. Comparación entre el patrón de gelatina al 1.25% y la mezcla con 0.15% de gelana pH 3.88. ....	48
Figura 28: Barrido de frecuencia, formulación IV. Comparación entre el patrón de gelatina al 1.25% y la mezcla con 0.15% de gelana pH 5.02. ....	48
Figura 29. Barrido de frecuencia, formulación IV. Comparación entre las mezclas de gelatina al 1.25% con gelana al 0.15% a pH 3.88 y 5.02. ....	49
Figura 30: Barrido de frecuencia, formulación V. comparación entre controles de gelatina al 1.25% pH 4.01 y 5. ....	50
Figura 31: Barrido de frecuencia, formulación V. comparación entre control de gelatina al 1.25% y mezcla con gelana 0.025% pH 4.01. ....	51
Figura 32: Barrido de frecuencia, formulación V. comparación entre control de gelatina al 1.25% y mezcla con gelana 0.025% pH 5. ....	51
Figura 33: Barrido de frecuencia, formulación V. comparación entre mezclas de gelatina al 1.25% y gelana al 0.025% pH 4.01 y 5. ....	52

Figura 34: Barrido de deformación, formulación VI. Comparación de controles de gelatina a 1.25% pH 4.01 y 5.....	53
Figura 35: Barrido de deformación, formulación VI. Comparación entre control de gelatina al 1.25% y mezcla con gelana al 0.025% pH 4.01. ....	54
Figura 36: Barrido de deformación, formulación VI. Comparación entre control de gelatina al 1.25% y mezcla con gelana al 0.025% pH 5. ....	54
Figura 37: Barrido de deformación, formulación VI. Comparación entre las mezclas de gelatina al 1.25% y gelana al 0.025% pH 4.01 y 5.....	55
Figura 38: Barrido de frecuencia, formulación VII. Comparación entre controles de gelatina al 1.75% pH 4.99. ....	56
Figura 39: Barrido de frecuencia, formulación VII. Comparación entre control de gelatina al 1.75% y mezcla con gelana al 0.1% pH 4.03. ....	57
Figura 40: Barrido de frecuencia, formulación VII. Comparación entre control de gelatina al 1.75% y mezcla con gelana al 0.1% pH 4.99. ....	57
Figura 41: Barrido de frecuencia, formulación VII. Comparación entre las mezclas de gelatina al 1.75% con gelana al 0.1% pH 4.03 y 4.99. ....	58
Figura 42: Mezcla de gelatina al 1.25% con gelana al 0.15% a pH 5.02 tras 24 horas de reposo en refrigeración, a la izquierda, sistema completo, a la derecha, gel formado en la fase inferior. ....	59
Figura 43: Barrido de frecuencia, promedio de cuatro muestras de mezcla de gelatina al 1.25% con gelana al 0.15% pH 5.02.....	60
Figura 44: Barrido de temperatura promedio de tres muestras de mezcla de gelatina al 1.25% con gelana al 0.15% pH 5.02.....	61
Figura 45: Mezcla del coacervado con aceite mineral rojo encapsulado en la parte superior, después de una hora de agitación y 24 horas a 8 °C. ....	62
Figura 46: Fase superior de la mezcla de polímeros con el aceite mineral encapsulado (izquierda) y fase inferior de la mezcla (derecha).....	63
Figura 47: Imágenes de microscopio (10x), de la mezcla de polímeros con aceite mineral.....	63
Figura 48: Encapsulación de aceite de maíz, imágenes al microscopio (10x). A la derecha fotografía después de 48 horas en la estufa al vacío. ....	64
Figura 49: Ensayo de encapsulación de magnetita, a la izquierda sistema completo después de la refrigeración, a la derecha, fase inferior.....	65
Figura 50: Encapsulación de magnetita después del secado.....	66



## Resumen

El propósito principal de este trabajo fue encontrar mezclas de gelana y gelatina que formen coacervados complejos estables para usarlos como matrices de encapsulación. Para ello se determinaron las proporciones de ambos componentes, las condiciones de pH del medio acuoso y las propiedades reológicas de las mezclas que formaron los coacervados. Se usaron pruebas de cizalla de baja amplitud para estudiar las propiedades viscoelásticas de los geles preparados con mezclas de estos biopolímeros en diferentes proporciones. Se prepararon mezclas con concentraciones desde 0.05% a 1.75% para gelatina y 0.005% a 0.25% para gelana. Con base en el aspecto físico de las mezclas, se seleccionaron siete de ellas para prepararlas ajustando su pH final. Los geles de estas mezclas fueron examinados para conocer sus propiedades viscoelásticas. Cada una de las siete mezclas se analizó a dos diferentes valores de pH. Se examinó la solución de gelatina para usarla como control así como sus mezclas con gelana. Con base en los resultados obtenidos en las pruebas reológicas, se seleccionó una mezcla con 1.25% de gelatina, 0.15% de gelana y pH 5.02 que fue usada como matriz para la encapsulación de sustratos sólidos y líquidos. El examen de los sistemas bajo el microscopio mostró que fue posible encapsular aceite y magnetita. Sin embargo, la estabilidad de los encapsulados depende del estado de hidratación de los coacervados. Es necesario hacer más estudios para determinar de qué manera la deshidratación de los encapsulados y su posterior rehidratación permiten mantener el sustrato atrapado en el coacervado de gelana y gelatina.

## Introducción

Las mezclas de polisacárido-proteína son ampliamente utilizadas en la industria de alimentos debido a sus propiedades funcionales. En estos sistemas las proteínas contribuyen a la formación de emulsiones y espumas, mientras que los polisacáridos están presentes como espesantes o agentes capaces de ligar el agua (Hemar et al., 2002). Estas propiedades pueden ser aprovechadas para estabilizar, dar textura, crear nuevos productos, encapsular y crear vehículos para la liberación de aromas y sabores.

La estructura y estabilidad de los productos alimenticios no sólo dependen de las propiedades de las proteínas y los polisacáridos, sino también de la fuerza de las interacciones entre ambos. Estas interacciones son importantes, pero debido a la naturaleza química y estructural de las mismas, las condiciones ambientales en las que se encuentran los componentes las afectan en gran medida, principalmente los siguientes factores: a) la proporción de los componentes, b) la fuerza iónica (presencia de iones), c) el tipo de iones (mono, divalentes), d) el pH y e) la temperatura.

Los parámetros más importantes que afectan las interacciones polisacárido-proteína están bien documentados. Los avances recientes se están enfocando en la cinética de formación de estructuras, termodinámica y estructura de las mezclas, por lo que la coacervación compleja es uno de los campos que están en estudio (Turgeon et al., 2003).

En este trabajo se prepararon mezclas de gelana (polisacárido aniónico) con gelatina para conocer de qué manera los factores que influyen en las interacciones polisacárido-proteína, afectan a las propiedades viscoelásticas de sus mezclas, ya que el conocimiento de este comportamiento es de gran utilidad para determinar el potencial de aplicación de estos materiales en la tecnología alimentaria. Uno de los propósitos fue encontrar las formulaciones que produzcan coacervados complejos estables. Para ello fue necesario encontrar la relación entre la composición y las propiedades reológicas de las mezclas.

Las proteínas y los polisacáridos pueden formar complejos, los cuales son considerados un nuevo coloide. Las partículas en estos complejos tienen una carga neutra y presentan interacciones de atracción que conducen a una separación de fases, en la que una de éstas es pobre en coloide y la otra está muy concentrada en coloide. Esta fase es el coacervado y la fase diluida es llamada fase de equilibrio. Las interacciones que se presentan para que este fenómeno ocurra son de tipo electrostático (de Kruif et al., 2004).

Con base en lo anterior, el conocimiento de la forma en que ocurren las interacciones en los sistemas proteína-polisacárido y de sus propiedades reológicas es importante en el desarrollo de propiedades deseables en productos alimenticios, como las características sensoriales y de textura.

# Objetivos

## OBJETIVO GENERAL

Determinar las proporciones de los componentes y las condiciones de pH del medio ambiente acuoso que permiten obtener coacervados complejos entre gelana y gelatina para probarlos como matrices de encapsulación de sustratos sólidos y líquidos.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ⌘ Determinar las proporciones de ambos componentes que conducen a la formación de coacervados por medio del diagrama de separación de fases para preparar las matrices de encapsulación.
- ⌘ Examinar por medio de pruebas oscilatorias de baja amplitud las propiedades viscoelásticas de los coacervados preparados a distinto pH para conocer su comportamiento mecánico.
- ⌘ Examinar la capacidad de los coacervados para encapsular diferentes sustratos sólidos y líquidos.

## **Antecedentes**

### Coacervación

Se entiende por coacervación la separación en dos fases líquidas de un sistema coloidal. De estas dos fases, hay una rica en coloide llamada “coacervado” y una más diluida llamada solución de equilibrio. Esta separación está mediada por la atracción electrostática que se presenta entre los componentes. La coacervación compleja ocurre gracias a la interacción de dos coloides con cargas opuestas, a diferencia de la coacervación simple que ocurre por un solo tipo de moléculas. Los estudios de coacervación compleja entre polisacáridos y proteínas han enfatizado la importancia de factores como el pH, la fuerza iónica, la proporción proteína/carbohidrato, la concentración total de biopolímero y el rendimiento de coacervación.

El fenómeno de coacervación compleja comenzó a ser estudiado sistemáticamente con la mezcla binaria de goma arábica y gelatina, que constituye el ejemplo clásico de un sistema líquido complejo cuyo pH permite que los polímeros tengan cargas opuestas. A partir del estudio de este sistema se propusieron modelos teóricos para explicar su formación y características coloidales. Aunque estos estudios tenían poca aplicación biológica fue en los últimos diez años que comenzó el interés en relación con tales sistemas. En la literatura (de Kruif et al., 2004) se postulan los siguientes aspectos sobre la coacervación compleja:

- Si uno de los poliones es un electrolito fuerte se formará un precipitado más que un coacervado.
- Si la proporción de mezcla es máxima, los complejos formados tendrán carga neutra.
- Aun si hay un exceso de uno de los polielectrolitos los complejos se cargan muy poco.
- Las sales tienen un efecto de disociación sobre los complejos de polielectrolitos.
- En las dos fases del sistema, la concentración de sal es la misma.

Los poliácidos como la carragenina sulfatada o los exopolisacáridos fosfatados de bacterias al parecer forman precipitados, pero hay una pequeña posibilidad de que haya condiciones fisicoquímicas para que formen complejos y éstos permanezcan en solución.

Hay evidencia clara de que la estequiometría de los complejos está principalmente determinada por la densidad de carga de los poliones. La neutralidad de carga está muy cercana a ciertos valores de pH (uno para cada proporción de mezcla), entonces para un complejo de un poliácido con una proteína globular por debajo de su punto isoeléctrico, la proporción proteína/poliácido disminuye con el pH, debido a la mayor existencia de grupos protonados. Pero los ácidos débiles a valores de pH muy bajos ya no se disocian, por lo tanto ya no se forman más complejos para un pH menor de 2. La situación con un electrolito fuerte puede ser distinta; primero, los complejos de proteína con electrolitos fuertes tienden a formar precipitados o estructuras similares a los

sólidos y segundo, los poliácidos fuertes no se neutralizan a pH bajo. Cuando un polianión fuerte es titulado con una proteína en un sistema con fuerza iónica relativamente baja y a un pH ligeramente debajo del punto isoeléctrico, entonces el polianión que está en exceso comienza a captar protones hasta lograr la neutralidad de los complejos, por lo cual se observarán ligeros incrementos del pH hasta que sea añadida la cantidad suficiente de proteína.

Por lo tanto, es necesario lograr las condiciones de pH y concentración de sal para lograr la formación del coacervado, a pH más alto lo que se tienen son complejos completamente solubles y a más bajos no se logra la separación de las fases debido a que se suprimen las interacciones electrostáticas.

Para estudiar el proceso de separación de fases hay que tener en cuenta que en él ocurren muchas transiciones estructurales que incluyen la formación de complejos solubles, complejos agregados y coacervados. Los primeros estudios cinéticos del mecanismo de complejación/coacervación se hicieron con el sistema lactoglobulina/goma acacia pero no fue posible concluir cómo ocurre el proceso, principalmente porque al agregar los biopolímeros a un pH en el que la proteína y el polisacárido presentan la máxima interacción electrostática, inmediatamente se producía la separación de fases.

La solución que se utilizó fue acidificar lentamente *in situ* una mezcla de proteína/polisacárido, partiendo de un pH en el que no haya interacciones, esto se logró utilizando glucono-delta-lactona (GDL) que es un éster que se disocia en agua liberando ácido glucónico, éste a su vez se disocia en gluconato y protones, lo cual conlleva a una acidificación progresiva del sistema. Esta técnica permitió enfocarse en fases iniciales, intermedias o finales de la separación de fases y con

ella se definieron los cambios de estado mediados por el pH. Este estudio concluyó que la separación de fases en un coacervado se da por el mecanismo de nucleación y crecimiento (Sánchez et al., 2006).

Las propiedades viscoelásticas del coacervado influyen directamente en el proceso de encapsulación, que es uno de los principales propósitos de la coacervación compleja. Siempre la encapsulación se hace con coacervados en sistemas líquidos. El sistema tradicional gelatina/goma arábica ha sido investigado para encapsular capsaicina (Xing et al., 2004) y aceite (Mayya et al., 2003), el rendimiento de encapsulación aumenta si se le añade un surfactante al sistema, el cual va a interactuar primero con los polímeros de cargas opuestas, reduciendo así la tensión superficial que se presenta en la interfase del agua y el aceite, y posteriormente ayuda a formar una segunda capa esta vez formada por los complejos de polielectrolitos. Si el surfactante que se utiliza tiene una estructura suficientemente rígida y estable y puede formar puentes de hidrógeno, entonces va a colaborar en la formación de microcápsulas más estables.

El proceso de microencapsulación por coacervación consta de varias etapas, la primera es dispersar el agente a encapsular en una solución con el polímero de cubierta, para posteriormente inducir la coacervación, y al finalizar esta parte obtener las microcápsulas, ya sea por centrifugación o filtración. El endurecimiento de las cápsulas puede darse por enfriamiento del sistema o por adición de un surfactante como se mencionó anteriormente.



## Gelana

La gelana es un polisacárido producido por la bacteria *Sphingomonas paucimobilis* (antes *Pseudomonas elodea*), cuya unidad repetitiva consiste en un tetrasacárido lineal formado por 1,3 D-glucosa, 1,4 D-ácido glucurónico, 1,4 D-glucosa y 1,4 L-ramnosa (Sanderson, 1990). Su forma desacilada o de bajo acilo se muestra en la Figura 1. Algunas características de la gelana son: capacidad de gelificación, compatibilidad con otros hidrocoloides originando una variedad de texturas de gel, alta sensibilidad a sales, facilidad de modificar los atributos de textura del gel modificando la concentración del polisacárido y la de los iones que favorecen la gelificación, buena estabilidad sobre un amplio intervalo de pH en el medio, factibilidad de obtener geles a concentraciones tan bajas como 0.05% y de convertir sus geles de termorreversibles a termoirreversibles con sólo modificar la concentración de polisacárido y la fuerza iónica.

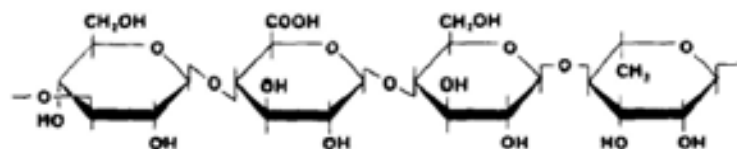


Figura 1. Unidad repetitiva de la gelana de bajo acilo (Chilvers y Morris 1987).

La gelana requiere de la presencia de cationes para formar geles. Los cationes divalentes promueven una gelificación más fuerte y a mayor temperatura en comparación con los cationes monovalentes, aunque se ha observado que a concentraciones superiores de 1% masa se forman geles débiles en ausencia de iones (Rodríguez Hernández, 1997).

El mayor uso industrial de la gelatina es como agente gelificante, pero además presenta una muy alta resistencia a ser fragmentada por enzimas. Inicialmente se propuso como sustituto del agar en la composición de medios de cultivo (Chilvers y Morris, 1987)

### **Mecanismo de gelificación**

El proceso de gelificación de la gelatina ocurre en presencia de iones tanto monovalentes como divalentes, después de enfriar soluciones calientes de polímero.

Se ha propuesto un mecanismo de gelificación en dos pasos en el cual inicialmente se forman dobles hélices a partir de cadenas desordenadas y posteriormente ocurre la agregación de pares de dobles hélices.

Existe un intervalo relativamente amplio de propiedades de textura que pueden ser obtenidas con geles de gelatina seleccionando correctamente el tipo y cantidad de iones (los iones divalentes tienen mayor efecto gelificante que los monovalentes), así como la concentración de gelatina (Lau et al., 2000).

### **Gelatina**

La gelatina es una proteína producida por hidrólisis parcial de colágeno, utilizada principalmente en la industria alimentaria en el campo de los postres a base de agua. Es un biopolímero que forma geles termorreversibles, cuya estructura, aún después de formados, no permanece estática y continúa

evolucionando y cambiando debido a la baja energía de las interacciones que conectan la red formada (Tosh *et al.*, 2003).

La fuerza y textura de los geles formados depende más de la concentración de la proteína que de la fuerza iónica y el pH.

### **Mecanismo de gelificación**

El tropocolágeno está conformado por una estructura de triple hélice, que a su vez está formada por tres polipéptidos. La estructura se estabiliza por una gran cantidad de puentes de hidrogeno que ocurren entre los grupos carbonilo y amino de los aminoácidos, o bien entre las moléculas de agua y los carbonilos de la cadena. Cuando una solución de gelatina se calienta las moléculas se ordenan al azar formando anillos, posteriormente cuando comienza el enfriamiento, empieza a formarse nuevamente la estructura de triple hélice y comienzan a surgir las interacciones al interior de las hélices y también entre las moléculas. El nivel de nucleación depende de la concentración de polímero.

La participación de las cadenas en una o varias zonas de entrecruzamiento deriva en la formación de una red de triples hélices entrelazadas (Tosh *et al.*, 2003).

## Estudios previos

Existen en la literatura varios trabajos que tratan el estudio de las mezclas de polisacárido y proteína así como las propiedades de los geles que éstos forman. También se han realizado trabajos sobre coacervación compleja y el uso de sistemas similares para encapsular sustratos. En esta sección se presentan algunos de los trabajos revisados.

En 1987 Chilvers y Morris estudiaron la coacervación que se presenta en las mezclas de gelana y gelatina y el uso de los coacervados resultantes para encapsular sustratos. Los autores reportan que después de elegir las proporciones de biopolímeros que permiten la coacervación se procedió a encapsular sólidos y líquidos utilizando como agente reticulante glutaraldehído. En esta investigación no se reportan pruebas reológicas de los componentes y se muestra que ajustando el pH de las mezclas entre 3.5 y 5 es posible encapsular sustratos sólidos y posteriormente deshidratar completamente los coacervados. Para el caso de la encapsulación de parafina líquida y aceite de girasol, no fue posible secar completamente las microcápsulas sin que éstas se destruyeran.

Ducel *et al.* (2004) realizaron un estudio de caracterización fisicoquímica (determinación de potencial Z, turbidimetría y tamaño de partícula) de coacervados complejos utilizando proteínas vegetales en presencia de polisacáridos para lograr la coacervación. La proteína utilizada fue extraída de harina de chícharo y se utilizaron varios polisacáridos para propiciar la coacervación compleja. Éstos fueron: goma arábiga, carboximetilcelulosa y

alginato. La formación de coacervados se logró mezclando soluciones con 1% de proteína en ácido acético para alejarse del punto isoelectrico y así facilitar su dispersión. Los polisacáridos se dispersaron en agua destilada a 40 °C con agitación constante y finalmente el coacervado se obtuvo agregando la dispersión de polisacárido a la de proteína sin dejar de agitar a 500 rpm y 30 °C.

Las pruebas de encapsulación se realizaron a diferente pH y con diferentes proporciones de biopolímero, se utilizaron las condiciones en las que se determinó, por medio de pruebas de turbidimetría, una mayor formación de coacervados.

El factor más importante para que se lleve a cabo la coacervación compleja es el pH, en dicho trabajo se reportan pruebas para determinar el potencial Z de los polisacáridos y las proteínas a fin de lograr la máxima interacción entre ellos. El resultado es que para lograr una máxima neutralización de cargas, se requiere un pH de 3.5 para maximizar la coacervación con la goma arábica y la carboximetilcelulosa y de 3.0 para el alginato.

Los estudios de turbidimetría se realizaron igualmente para optimizar el proceso de coacervación, ya que la aparición de turbidez está asociada con la formación de gotas dispersas en la solución, fenómeno que está relacionado con la coacervación. La dispersión de luz está relacionada con el tamaño de las partículas esparcidas por la solución. Para la caracterización completa del sistema proteína de chícharo/goma arábica, se realizaron estudios de turbidimetría variando el pH. Para pH de 3.5 se observó la máxima turbidez, resultado consistente con la observación hecha después de determinar el potencial Z que

indicó que a este pH ocurre una máxima neutralización de cargas y formación de coacervados.

El principal aporte de este trabajo es la determinación del potencial Z, con el cual se puede conocer el pH en que los polímeros están cargados, pero sobre todo, el pH al cual ocurre la coacervación.

Yeo et al. (2005), usaron coacervados complejos de gelatina y goma arábica para encapsular aceites con sabor para su posterior liberación. Trabajaron dos variables en la coacervación y en la encapsulación: la concentración de polímeros y la velocidad de agitación al mezclar las soluciones, obteniendo resultados favorables de coacervación y encapsulación en todas las formulaciones propuestas. Para poder seguir la liberación de los aceites microencapsulados, utilizaron un método simple, que consiste, primero en teñir el aceite a encapsular para después poder separarlo por medio de filtración y después cuantificarlo por métodos espectrométricos (cromatografía de gases).

Las principales conclusiones de este trabajo se basan en las diferencias de tamaño y distribución de las partículas que ocurren al variar la velocidad de agitación utilizada durante el experimento.

Onder et al. (2008), presentan un estudio en el cual tres tipos de ceras de parafina, útiles en la industria textil, fueron encapsuladas en coacervados complejos hechos de polímeros biodegradables, en este caso, gelatina y goma arábica, para investigar su temperatura de almacenamiento y capacidad de liberación, su durabilidad así como los desempeños en procesos térmicos viables al ser integrados en las fábricas textiles.

Finalmente los coacervados formados en este trabajo, cumplieron las expectativas de lograr encapsular parafinas a altas temperaturas, a partir de materiales biodegradables.

La revisión de la literatura muestra que la formación de coacervados complejos a partir de proteína (biopolímero catiónico) y carbohidrato (biopolímero aniónico) puede ser manipulada variando el pH y las proporciones de los componentes. Onder *et al.* (2008) proponen que la velocidad de agitación es un factor a considerar para controlar el tamaño y distribución de partículas. A diferencia de los reportes citados, en esta tesis se examinó el comportamiento reológico de los coacervados y la información obtenida se tomó como referencia para elegir las formulaciones usadas para las pruebas de encapsulación. Las variables consideradas fueron las proporciones de biopolímero y el pH sin variar la velocidad de agitación.

Para comprobar la formación de coacervados, se realizaron observaciones al microscopio, a diferencia de Ducel *et al.* (2008) quienes se basan en pruebas de turbidimetría y determinación de potencial Z, siendo esta última prueba la más confiable para determinar la neutralidad de carga que deben tener los coacervados.

# Metodología

## Materiales

⌚ Se usó gelatina grado alimenticio (Kelcogel, CPKelco, EUA) y gelatina de piel de cerdo (Sigma Chemicals, Mexico). Los materiales se usaron sin ningún tratamiento adicional.

⌚ Los sustratos de encapsulación incluyeron: Magnetita (Xelera), aceite mineral rojo (3 en 1) y aceite de maíz comestible (Mazola).

## Diagrama general de trabajo

La Figura 2 muestra el esquema general de trabajo usado para preparar y seleccionar los coacervados usados en la encapsulación de diferentes sustratos.

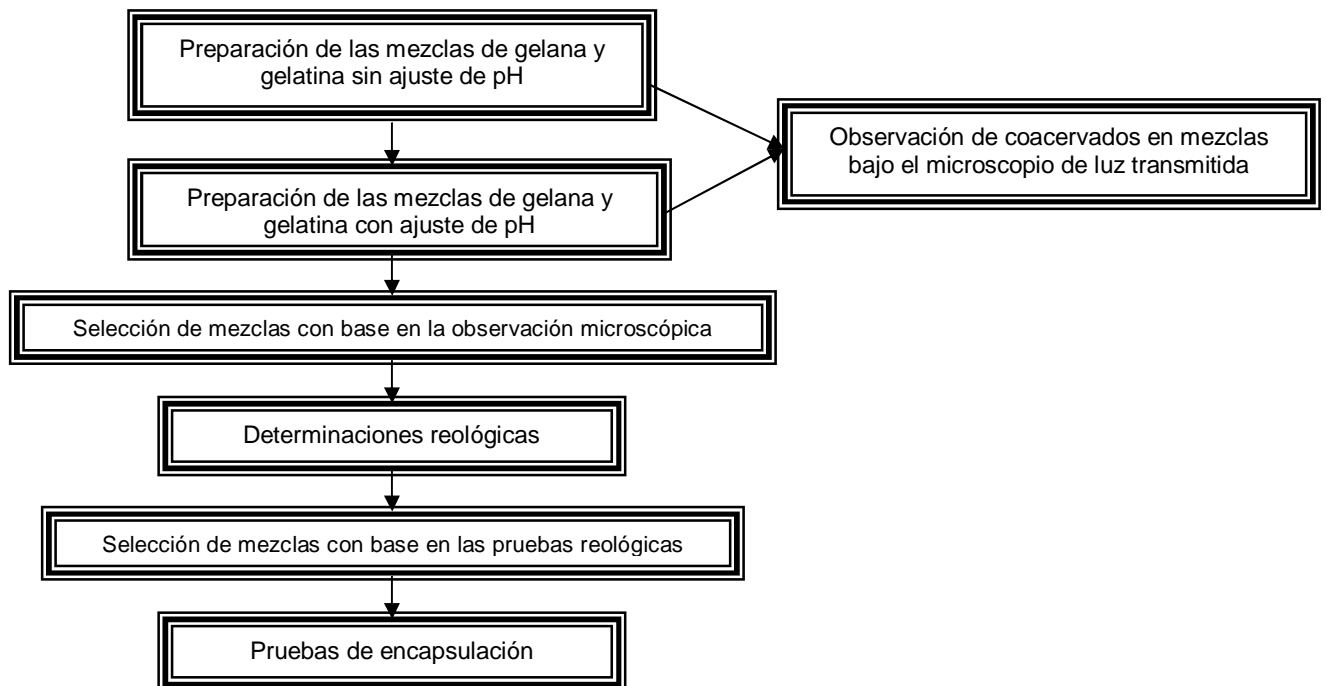


Figura 2. Esquema general del procedimiento experimental para la preparación y selección de coacervados usados para la encapsulación de sustratos.



## Métodos

Para preparar las mezclas de gelana y gelatina se tomaron como base las condiciones reportadas en la literatura (Chilvers y Morris 1987). La gelana se usó en el intervalo de concentraciones de 0.01 a 1.0% y la gelatina de 0.1 a 3.5%, sin y con ajuste de pH.

Antes de preparar las formulaciones se realizaron algunos análisis a los componentes. A la gelana y a la gelatina se les determinó el contenido de humedad. Para esto, se pesaron 2 gramos de muestra en un crisol metálico previamente llevado a peso constante y se colocó en la estufa a 100 °C durante 2 horas, el contenido de humedad (%) se determinó por diferencia de peso, obteniendo el siguiente resultado:

- ✓ humedad de gelana: 11.6% con un coeficiente de variación de 1.32%
- ✓ humedad de la gelatina: 8.83% con un coeficiente de variación de 0.50%.

A la gelatina se le determinó el contenido de nitrógeno total por el método de micro-Kjeldahl (AOAC, 1990), el cual proporciona el porcentaje de nitrógeno en la muestra y al multiplicarlo por el factor para gelatina, se obtiene el contenido de proteína (%) en la muestra.

El resultado fue:

- ✓ nitrógeno: 16.6% con un coeficiente de variación de 2.23%.
- ✓ proteína: 92.4% con un coeficiente de variación de 2.23%.

### Mezclas sin ajuste de pH

En matraces Erlenmeyer se prepararon las dispersiones de gelana y gelatina por separado a las concentraciones propuestas en la literatura. Ambas dispersiones se calentaron por separado a 60 °C. Después de compensar las pérdidas por evaporación, las dispersiones se mezclaron en caliente y con agitación constante. Se dejaron 24 horas a temperatura ambiente para ser analizadas.

### Mezclas con ajuste de pH

Debido a que en la coacervación compleja, las interacciones son predominantemente electrostáticas, la influencia del pH en el medio acuoso es determinante en este proceso. Para observar el efecto de este parámetro se realizaron las siguientes pruebas.

De las soluciones de gelana y gelatina observadas sin ajuste de pH se seleccionaron algunas concentraciones que, fueron preparadas nuevamente. Después de calentar los matraces a 60 °C, el pH se ajustó a un valor entre 6 y 9 con hidróxido de sodio 0.01 N, posteriormente manteniendo la temperatura se mezclaron las dispersiones en agitación constante, después de mezclar, el pH se ajustó a valores entre 3.5 y 5 utilizando ácido clorhídrico 0.01 N. Las preparaciones calientes se vaciaron en un molde precalentado y se dejaron 24 horas a diferentes condiciones con el fin de obtener resultados repetibles. Las

condiciones fueron, a temperatura ambiente, en un baño de agua a 25° C y en refrigeración a 8° C.

### Pruebas reológicas

Todas las determinaciones se realizaron en un reómetro ARES-RFS III (TA Instruments, EUA) usando placas paralelas estriadas. Las pruebas realizadas fueron:

- Barrido de deformación a una frecuencia constante de 1 Hz, para verificar que las mediciones se llevaran a cabo en la zona de viscoelasticidad lineal, es decir, en la zona en la cual la relación esfuerzo-deformación es lineal y por lo tanto las funciones materiales son constantes. Para esto se impuso un movimiento oscilatorio de frecuencia constante y amplitud variable sobre la placa inferior.
  
- Barrido de frecuencia dentro de la zona de viscoelasticidad lineal. Esta prueba se hizo usando la amplitud para la cual se observó la zona de viscoelasticidad lineal. Esta prueba proporciona información acerca de las características del material, es decir, ayuda a determinar si el comportamiento es el de un gel, de una solución diluida o de una solución concentrada.

- Barrido de temperatura a frecuencia y deformación constantes. Se realizó para obtener información acerca de la temperatura de fusión y en su caso, gelificación de las muestras.

### Pruebas de encapsulación

Las soluciones de gelana y gelatina a la concentración seleccionada (0.15% y 1.25%, respectivamente) se prepararon nuevamente por separado y se ajustó el pH a 6 con hidróxido de sodio 0.01 N. Posteriormente, en caliente, se mezclaron las dispersiones y después, sin detener la agitación, se adicionó el material a encapsular, manteniendo en agitación los tres componentes (gelana, gelatina y sustrato), se ajustó el pH en 5.02 con ácido clorhídrico 0.01N y para la encapsulación de magnetita, se agregó 5% de glicerol (como plastificante). Todas las mezclas se dejaron enfriar durante 1 hora con agitación constante a temperatura ambiente, después se colocaron en refrigeración a 8 °C durante 24 horas y posteriormente se deshidrataron en un horno a 70 Pa de presión de vacío.

## Resultados y discusión

### Pruebas iniciales

En la primera parte del trabajo se prepararon mezclas sin ajustar el pH para observar su aspecto físico y su morfología al microscopio. En general, los resultados de estas observaciones son comparables con los reportados por Chilvers y Morris (1987). Las observaciones realizadas en estas mezclas se reportan en la Tabla 1.

Tabla 1. Comparación entre las observaciones hechas en las mezclas propuestas por Chilvers y Morris (1987) y las mezclas preparadas en este trabajo. En ninguna mezcla hay iones agregados.

Concentración de biopolímero en la mezcla (% p/p)		Reportado		Este trabajo		Gel	Clave asignada a la mezcla
Gelana	Gelatina	Coacervación	Floculación	Coacervación	Floculación		
0.005	0.050	NO	NO	SI	NO	NO	C
	0.250	NO	NO	NO	NO	NO	A
	0.750	NO	NO	NO	NO	SI	G
	1.00	NO	NO	NO	NO	SI	I
	1.25	NO	SI	NO	NO	SI	G
	1.50	NO	SI	NO	SI	SI	G
	1.75	NO	SI	NO	SI	SI	H
0.025	0.050	SI	NO	NO	NO	NO	C
	0.250	SI	NO	SI	NO	NO	C
	0.500	SI	NO	SI	NO	NO	F
	0.750	SI	NO	SI	SI	SI	H
	1.00	SI	NO	SI	NO	SI	H
	1.25	NO	SI	NO	NO	SI	F
	1.50	NO	SI	SI	SI	SI	H
	1.75	NO	SI	SI	SI	SI	H
0.05	0.050	NO	NO	NO	NO	NO	C
	0.250	SI	NO	SI	NO	NO	F
	0.500	SI	NO	SI	SI	NO	F
	0.750	SI	NO	SI	SI	SI	F
	1.00	SI	NO	SI	NO	SI	B
	1.25	SI	SI	SI	NO	SI	D
	1.50	NO	SI	NO	SI	SI	H

	1.75	NO	SI	NO	SI	SI	I
0.1	0.050	NO	NO	NO	SI	NO	C
	0.250	SI	NO	SI	SI	SI	B
	0.500	SI	SI	NO	SI	NO	F
	0.750	SI	SI	NO	SI	NO	F
	1.00	SI	SI	NO	SI	SI	F
	1.25	SI	SI	NO	SI	SI	H
	1.50	NO	SI	SI	SI	SI	H
	1.75	NO	SI	NO	SI	SI	H
0.15	0.050	NO	SI	NO	SI	NO	C
	0.250	NO	SI	NO	SI	NO	B
	0.500	SI	SI	SI	SI	NO	F
	0.750	SI	SI	SI	SI	NO	F
	1.00	SI	SI	SI	SI	SI	F
	1.25	NO	SI	SI	SI	NO	F
	1.50	NO	SI	NO	SI	NO	F
	1.75	NO	SI	NO	SI	SI	H
0.2	0.050	NO	SI	NO	SI	NO	B
	0.250	NO	SI	NO	SI	NO	B
	0.500	SI	SI	SI	SI	NO	F
	0.750	SI	SI	SI	SI	NO	F
	1.00	SI	SI	SI	SI	NO	F
	1.25	NO	SI	SI	SI	NO	F
	1.50	NO	SI	NO	SI	NO	F
	1.75	NO	SI	SI	SI	NO	F
0.25	0.050	NO	SI	NO	SI	NO	B
	0.250	NO	SI	NO	SI	NO	B
	0.500	NO	SI	NO	SI	NO	B
	0.750	NO	SI	SI	SI	NO	B
	1.00	NO	SI	NO	SI	SI	F
	1.25	NO	SI	SI	SI	NO	F
	1.50	NO	SI	NO	SI	NO	F
	1.75	NO	SI	NO	SI	NO	F

En las filas sombreadas se señalan las mezclas en las que se encontró diferencia con las observaciones reportadas. Estas diferencias pueden atribuirse a diferencias en la observación de las soluciones, por ejemplo para determinar la formación de coacervados se hicieron observaciones al microscopio, y en el caso de la floculación sólo se analizaron a simple vista. Todas las mezclas preparadas, se dejaron a temperatura ambiente durante 24 horas para su posterior

observación. A cada una de las mezclas se le asignó una clave para identificar el tipo de sistema que se formó después del enfriamiento.

Las características observadas en las mezclas se muestran de la figura 3 a la 10.

Mezcla A: Solución homogénea. Sin separación de fases.



Figura 3: Mezcla 0.050% gelana con 0.250% gelatina. (La franja blanca en el fondo es debida a la etiqueta exterior del recipiente).

Mezcla B: Solución no homogénea, con formación de flóculos.



Figura 4: Mezcla 0.150% gelana con 0.250% gelatina.

Mezcla C: Solución no homogénea con formación de precipitados. Sin separación de fases.

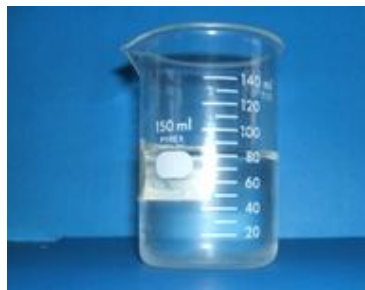


Figura 5: Mezcla 0.005% gelana con 0.05% gelatina.

Mezcla D: Separación de fases, formación de gel en la fase inferior.



Figura 6: Mezcla 0.05% gelana con 1.75% de gelatina.

Mezcla E: Separación de fases, formación de gel en ambas fases.

Mezcla F: Separación de fases, formación de gel en la fase inferior, en la fase superior formación de flóculos.



Figura 7: Mezcla 0.05% gelana con 0.75% gelatina. De izquierda a derecha; solución, gel de la fase inferior.

Mezcla G: Sin separación de fases, mezcla gelificada.



Figura 8: Mezcla 0.005% gelana con 0.75 gelatina.



Mezcla H: Separación de fases, gel en ambas fases, formación de flóculos en la fase superior.



Figura 9: Mezcla 0.025% gelana con 0.75% gelatina. De izquierda a derecha; solución, gel fase superior, gel fase inferior.

Mezcla I: Sin separación de fases, mezcla gelificada con formación de flóculos.

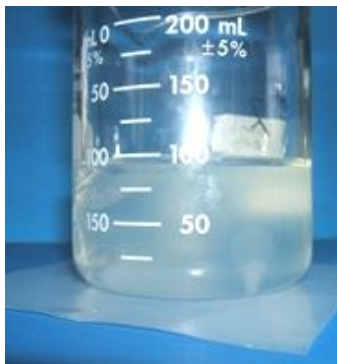


Figura 10: Mezcla 0.05% gelana con 1.75% gelatina.

Después de realizar todas las pruebas iniciales y observaciones, fue posible construir un diagrama de separación de fases de las mezclas, con base en la proporción de cada uno de los componentes que se muestra en la Figura 11.

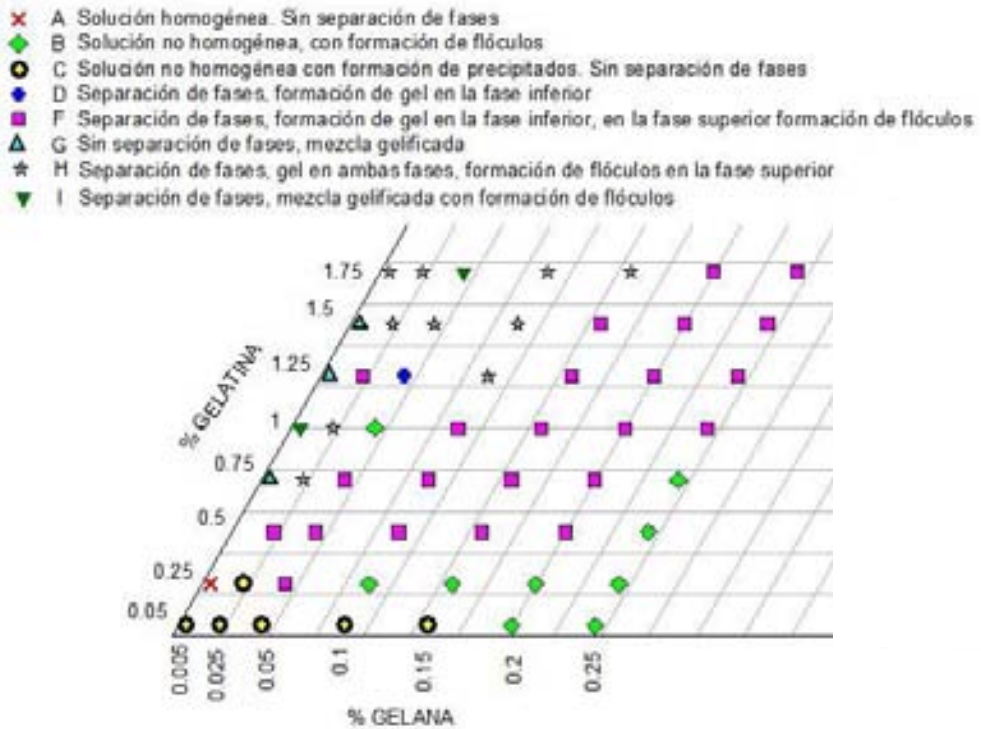


Figura 11: Diagrama de separación de fases a diferentes proporciones de gelana y gelatina. Cada figura representa un comportamiento del sistema.

Las mezclas preparadas se observaron al microscopio de luz transmitida para revisar la formación de estructuras tras 24 horas a temperatura ambiente. Las Figuras 12 a 15 muestran los sistemas formados.

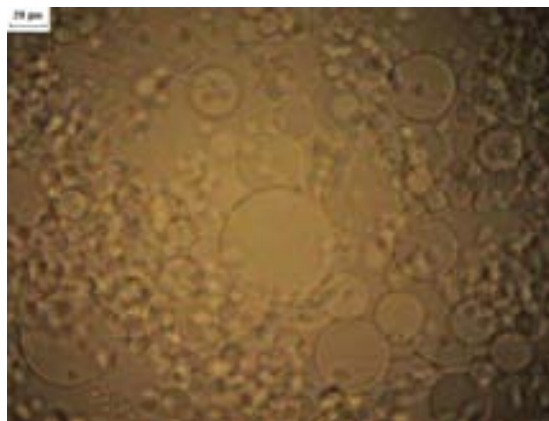


Figura 12: Mezcla 0.15% gelana con 1.75% gelatina (40x).

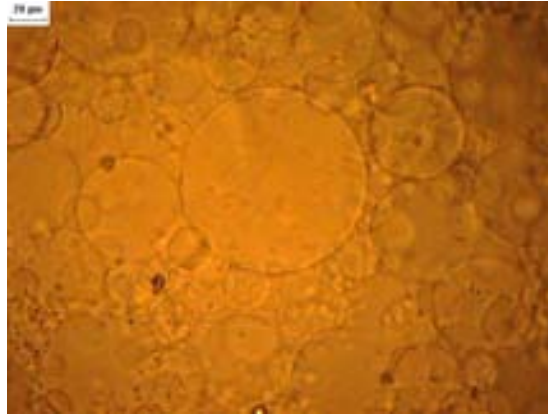


Figura 13: Mezcla 0.15% gelana con 1.0% gelatina (40x).

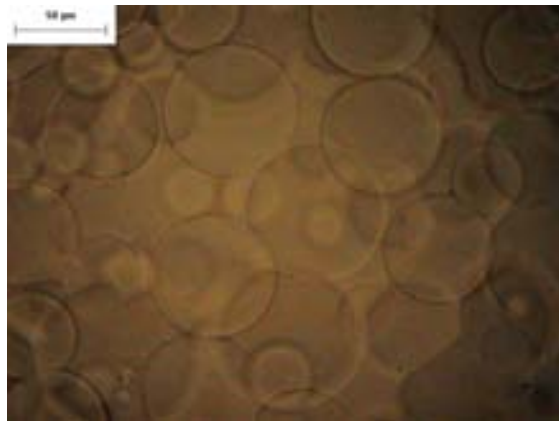


Figura 14: Mezcla 0.025% gelana con 1.5% gelatina (40x).

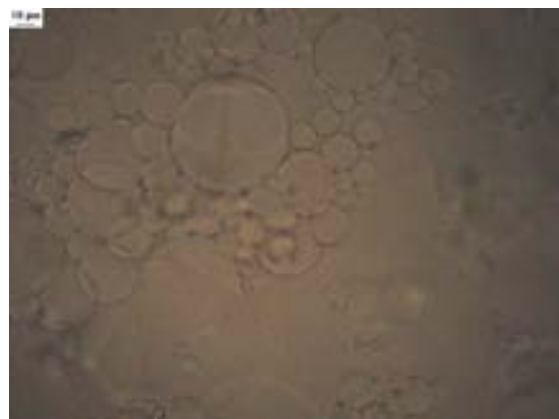


Figura 15: Mezcla 0.025% gelana con 1% gelatina (40x).

En las figuras 12 a 15 se observa la formación de estructuras en las distintas combinaciones de gelana y gelatina.

A partir de estas observaciones se seleccionaron mezclas representativas de los comportamientos mostrados. Se prepararon las mezclas seleccionadas ajustando el pH a valores entre 3.5 y 5 como se muestran en la Tabla 2.

## Determinaciones reológicas

La comparación entre el comportamiento viscoelástico de las mezclas preparadas con diferente proporción de componentes y valor de pH, permite distinguir sus características mecánicas y reproducir las condiciones para mantener dichas características. En virtud de ello en esta sección se hace el análisis de tales características y las diferencias entre las proporciones usadas. Asimismo, se incluyen algunos barridos de deformación. Un módulo de almacenamiento ( $G'$ ) superior al módulo de pérdida ( $G''$ ) indica características elásticas del material (gel), así como también la magnitud de la fuerza del gel examinado.

Cualitativamente  $G'$  es una medida de la fuerza necesaria para lograr deformar el material, entonces, cuanto mayor sea  $G'$  en comparación con  $G''$  el gel es más fuerte y resistente a la deformación.

También es posible analizar el comportamiento viscoelástico de los materiales utilizando la tangente del ángulo de desfase,  $\tan \delta$ , que está directamente relacionada con la energía perdida en cada ciclo, dividida por la energía almacenada en cada ciclo. La  $\tan \delta$  puede variar desde 0 hasta infinito, desde valores muy altos para soluciones diluidas, de 0.2 a 0.3 para polímeros amorfos y valores muy bajos (cerca de 0.01) para geles.

Es importante puntualizar que los módulos dinámicos dependen de la frecuencia para el caso de soluciones diluidas y concentradas, pero en el caso de los geles, son independientes de la frecuencia, lo que se explica por su

comportamiento elástico en el cual no hay flujo en la escala de tiempo de observación. El ángulo de desfase puede ser calculado por medio del arcotangente del cociente  $G''/G'$ .

La Tabla 2 muestra las combinaciones resultantes de la selección hecha sobre las observaciones iniciales sin ajuste de pH. En las mezclas seleccionadas se ajustó el pH con el propósito de evaluar su efecto sobre las propiedades viscoelásticas de los geles correspondientes. La clave asignada para cada pH hace referencia al aspecto físico mostrado en el diagrama de fases. Por ejemplo, la proporción gelana/gelatina 0.025/0.50% (primera fila de la Tabla 2) tuvo las características físicas identificadas con la clave F en el diagrama de fases (Fig.11). Al ajustar el pH (pH (1) en la Tabla 2) las características físicas de esta proporción de componentes correspondieron con las de la clave A en el diagrama. Luego de un segundo ajuste de pH, sus características correspondieron a las de la clave D en el diagrama. Finalmente, se asignó un número romano a cada formulación para poder identificarla al hacer referencia a ella en la discusión que sigue.

Tabla 2. Mezclas preparadas con ajuste a dos valores de pH.

Concentración de biopolímero en la mezcla (%)		Clave antes de ajustar el pH	pH de trabajo (1)	Clave después de ajustar el pH (1)	pH de trabajo (2)	Clave después de ajustar el pH (2)	Formulación
GELANA	GELATINA						
0.025	0.50	F	5.47	A	3.55	D	I
0.0050	1.00	I	5.12	G	3.48	G	II
0.25	1.00	F	3.37	D	4.92	F	III
0.15	1.25	F	3.82	F	5.02	F	IV
0.025	1.25	H	4.01	G	5.00	G	V
0.050	1.25	D	4.01	F	5.00	H	VI
0.10	1.75	H	4.03	H	4.99	H	VII

Después de realizar y observar las mezclas ajustando el pH, se observaron cambios en las mezclas, debido a que en los sistemas las interacciones son electrostáticas. El cambio de pH modifica la manera en que interaccionan los biopolímeros, dando como resultado, en algunos de los casos, comportamientos distintos a los observados en las pruebas iniciales.

Las pruebas reológicas se realizaron a este grupo de muestras. Inicialmente se estudió la preparación únicamente con gelatina, es decir, antes de adicionarle la solución de gelana, a manera de control y para determinar si la adición del polisacárido provoca algún cambio en las propiedades mecánicas del gel obtenido.

La gelificación de soluciones de gelatina depende tanto de la concentración de proteína como del tiempo una vez dispersada. Esto se comprobó mediante un barrido de tiempo para determinar el tiempo que tarda en formarse un gel de una solución con 1.25% de gelatina.

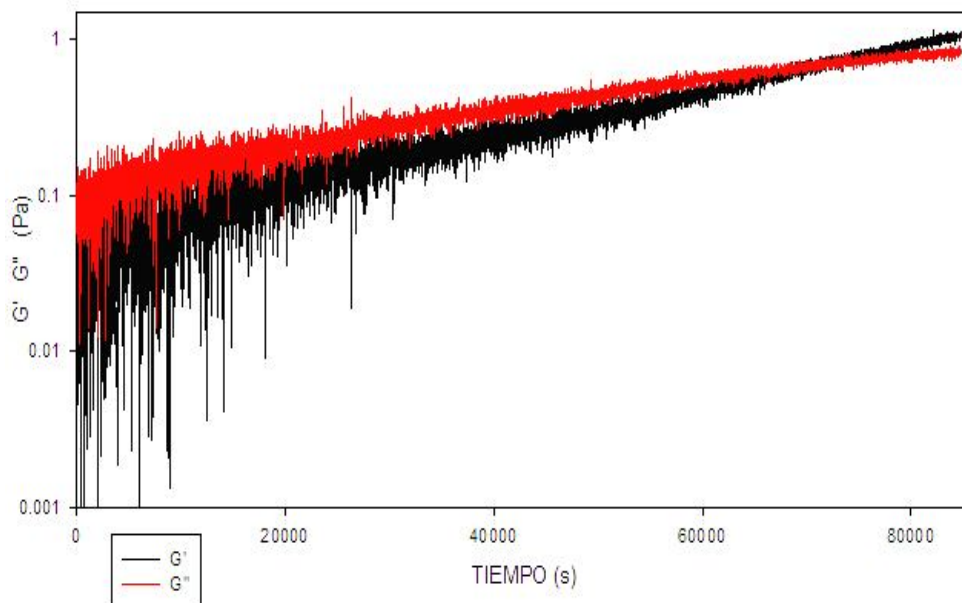


Figura 16. Evolución de los módulos dinámicos con el tiempo durante la gelificación de 1.25% de gelatina a 25 °C y pH 4.01. La frecuencia fue 1 Hz y la deformación 5%.

En la Figura 16 puede observarse cómo al principio de la prueba la señal del módulo de almacenamiento ( $G'$ ) es muy dispersa, lo que indica que el material no está gelificado. También se muestra que es necesario dejar reposar las soluciones al menos 23 horas para poder estudiar su comportamiento mecánico, ya que es en ese momento en el cual  $G' = G''$ , *i.e.*  $\tan \delta = 1$ . Este tiempo fue considerado el tiempo de gelificación más allá del cual  $G'$  es mayor que  $G''$  debido a la formación de gel.

Con esta información, la solución de gelatina se preparó nuevamente, pero esta vez se dejó durante 24 horas a diferentes condiciones de temperatura (baño a 25° C y refrigeración a 8° C) para establecer la temperatura de formación de geles y asegurar la repetición en las determinaciones reológicas.



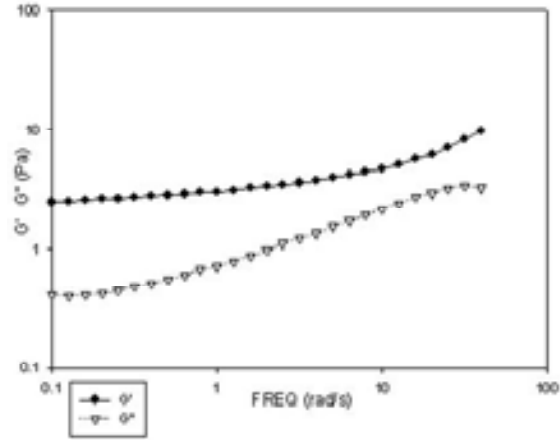


Figura 17. Barrido de frecuencia después de 24 h de reposo a 25 °C.

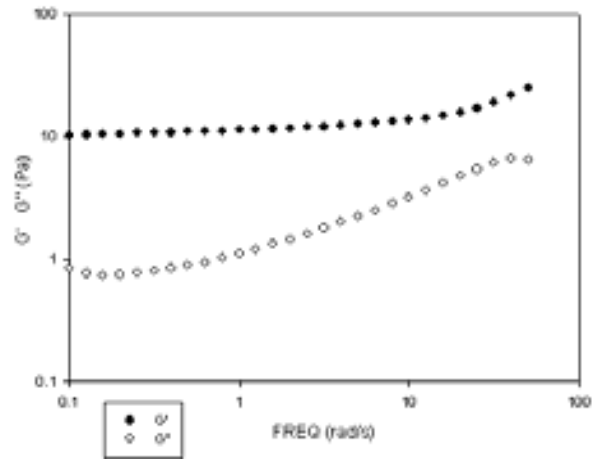


Figura 18. Barrido de frecuencia de una solución de gelatina al 1.25% tras 24 horas de reposo a temperatura ambiente.

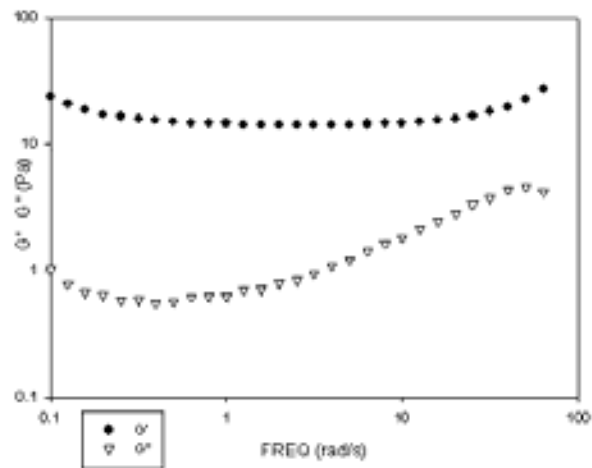


Figura 19. Barrido de frecuencia de una solución de gelatina al 1.25% tras 24 horas de reposo en refrigeración (8 °C).

Las figuras 17, 18 y 19, muestran el comportamiento de los geles formados a diferentes condiciones de temperatura (25° C, temperatura ambiente y 8°C respectivamente). Con estos resultados se concluyó que la mejor manera de tratar las mezclas es dejándolas reposar durante 24 horas a temperatura de refrigeración a fin de mantener una temperatura constante de  $8 \pm 1$  °C, debido a que bajo estas condiciones el barrido de frecuencia mostró que el gel formado era más fuerte (figura 19).

Una vez definidas las condiciones de temperatura se evaluaron las propiedades reológicas de las mezclas seleccionadas a las que se les ajustó el pH, primero, de la gelatina a la concentración a la que está en las soluciones como control y después en la mezcla con gelana.

Debido a que las concentraciones de gelana no alcanzan a formar geles en ausencia de iones, las soluciones de polisacárido no fueron usadas como control en las determinaciones.

## **Formulación I**

En el barrido de deformación que se le realizó a la formulación I se observó que la concentración de gelatina no fue lo suficientemente alta para que pudiera formarse un gel.

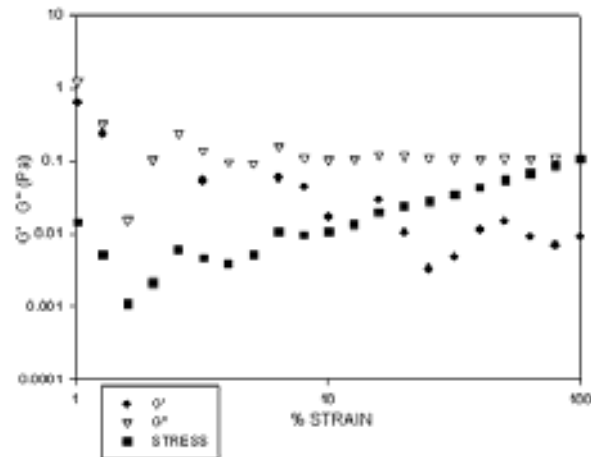


Figura 20: Barrido de deformación, solución de gelatina al 0.5% a pH 3.55.

En la Figura 20 se observa cómo el módulo de almacenamiento,  $G'$ , no es superior al de pérdida,  $G''$ , lo cual indica que la muestra no es un gel, por lo tanto no se realizaron las pruebas de barrido de frecuencia.

## Formulación II

Para la formulación II los espectros mecánicos obtenidos se muestran en la Figura 21. En este caso, el control con 1.0% de gelatina y pH 3.48 no se analizó debido a que no gelificó y por lo tanto no se compara con la correspondiente mezcla con gelatina. Solamente se muestra el control y la mezcla preparadas a pH 5.12.

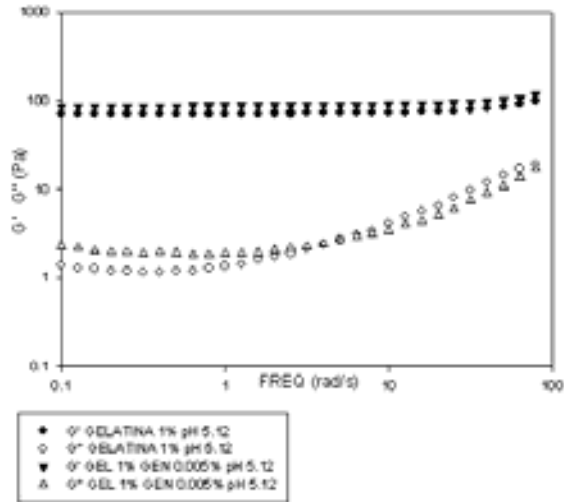


Figura 21: Barrido de frecuencia, formulación II. Solución de gelatina al 1% y mezcla con gelana al 0.005% pH 5.12.

En la Figura 21 se muestra la gráfica correspondiente a la formulación II. Se puede observar cómo la adición de gelana cambia las propiedades del gel en el módulo de almacenamiento los valores en promedio son 18.1% mayores después de la mezcla. Por lo tanto al ser mayor el módulo de almacenamiento se comprobó cómo la adición de gelana a una solución de gelatina formó un gel más fuerte.

### Formulación III

Para el caso de la formulación III el control con 1.0% de gelatina a pH 3.37 no se pudo comparar con su correspondiente mezcla con gelana debido a que no se formó un gel, como se muestra en la Figura 22. El valor de  $G'$  no se mantiene por arriba del valor de  $G''$ , la muestra se comporta como una solución diluida y no como un gel.

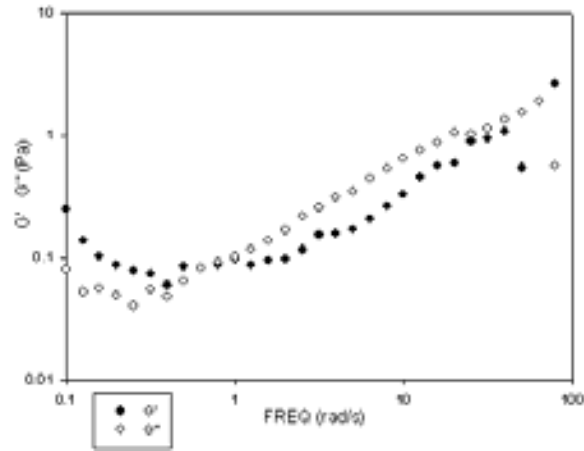


Figura 22: Barrido de frecuencia, formulación III. Solución de gelatina al 1.0% a pH 3.37.

Cuando a este control se le adicionó la solución de gelana a pH 3.37 ocurrió una separación de fases en la mezcla y la formación de un gel en la fase inferior cuyo barrido de frecuencia se muestra en la Figura 23.

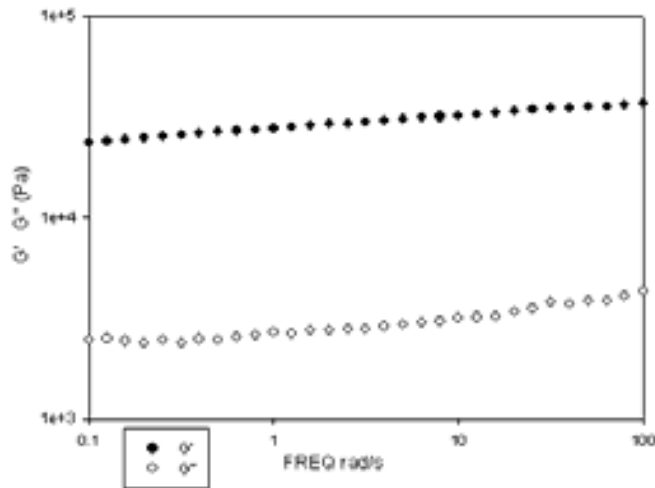


Figura 23: Barrido de frecuencia, formulación III. Mezcla gelatina al 1% con gelana al 0.25% pH 3.37.

El barrido de deformación de la formulación III (Figura 23) muestra cómo el valor de  $G''$  es en promedio 1012% menor que el valor de  $G'$ , y la  $\tan \delta$  en promedio es de 0.099 con desviación estándar de 0.006, el valor de la tangente y

su baja desviación estándar junto con la diferencia entre los valores de los módulos, indican que la muestra es un gel fuerte.

La Figura 24 compara el patrón de gelatina al 1.0% y su mezcla con gelatina a 0.25% y pH 4.92

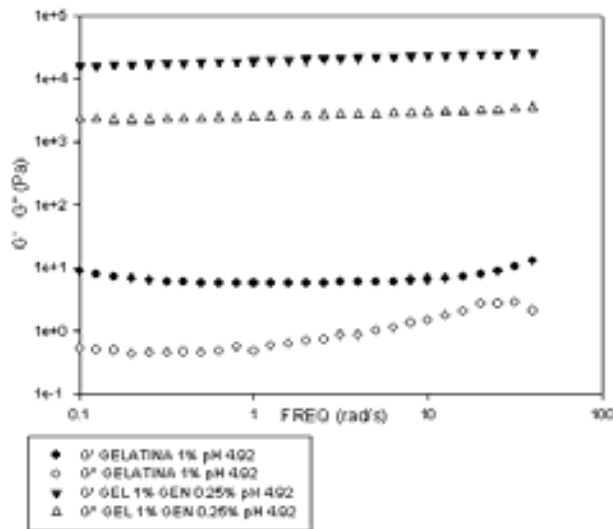


Figura 24: Barrido de frecuencia, formulación III. Comparación solución de gelatina al 1% y su mezcla con gelatina al 0.25% pH 4.92.

En la Figura 24 puede observarse la gran diferencia entre los módulos del control y los de la mezcla, clara evidencia de que la interacción gelatina-gelatina ocurre, y forma un gel más fuerte. En el caso del control de gelatina, aunque a bajas frecuencias se comporta como un gel, al pasar a frecuencias más altas, la tangente del ángulo de desfase comienza a aumentar y a mostrar un comportamiento dependiente de la frecuencia. En cambio, para el gel formado con la mezcla, la  $\tan \delta$  tiene un valor promedio de 0.129 y una desviación estándar de 0.005, mostrando un comportamiento típico de un gel.

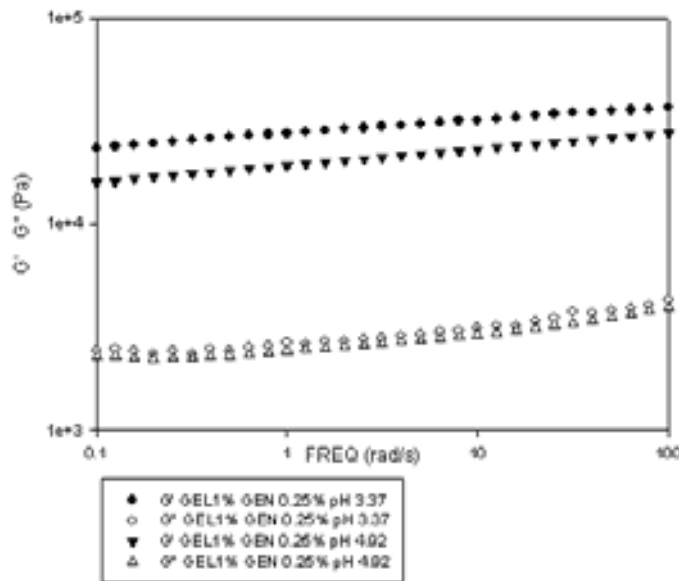


Figura 25: Barrido de frecuencia, formulación III. Comparación entre las mezclas de gelatina al 1% con gelana al 0.25% a pH 3.37 y 4.92.

La Figura 25 muestra que aunque los geles tienen un comportamiento similar a simple vista en cuanto a la pendiente del módulo de almacenamiento  $G'$ , el gel que se forma cuando el pH es 3.37 tiene una  $\tan \delta$  de 0.099, que es menor a la del gel formado a pH 4.92 que fue de 0.129. Al comparar estos valores fue posible determinar que el gel formado a pH 3.37 es más fuerte, debido a que a este pH la gelatina está más protonada que a 4.92, por lo tanto, hay una mayor interacción con la gelana.

## Formulación IV

En la formulación IV fue posible comparar los controles de gelatina con los valores de pH establecidos como se muestra en la Figura 26 para el barrido de frecuencia de ambos controles.

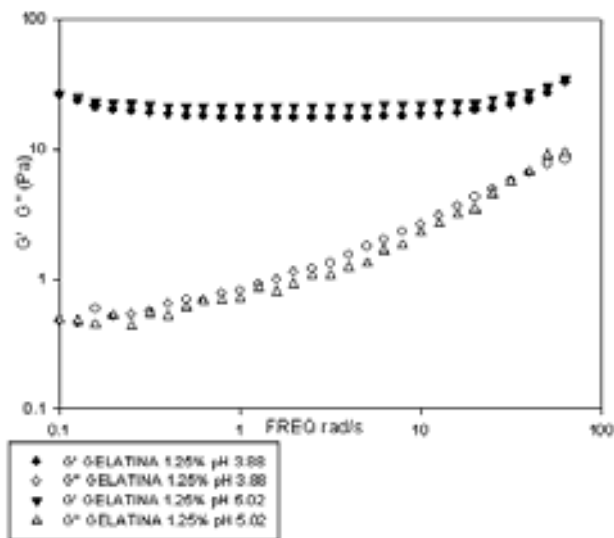


Figura 26: Barrido de frecuencia, formulación IV. Controles, soluciones de gelatina al 1.25% pH 3.88 y 5.02.

La Figura 26 muestra cómo las soluciones de gelatina preparadas a diferentes pH, a bajas frecuencias se comportan como un gel, pero en la evolución de la prueba los módulos de almacenamiento  $G'$  y de pérdida  $G''$  en las dos muestras fueron dependientes de la frecuencia y en ambos casos la pendiente de  $G'$  es muy similar. La diferencia en el comportamiento de los geles se determina hasta comparar los valores de  $\tan \delta$  que son menores para el gel formado a 5.02, lo cual indica que este último es más elástico.

En las Figuras 27 y 28 se muestra la comparación que se hizo del control de gelatina con la mezcla gelatina-gelana a dos diferentes valores de pH.



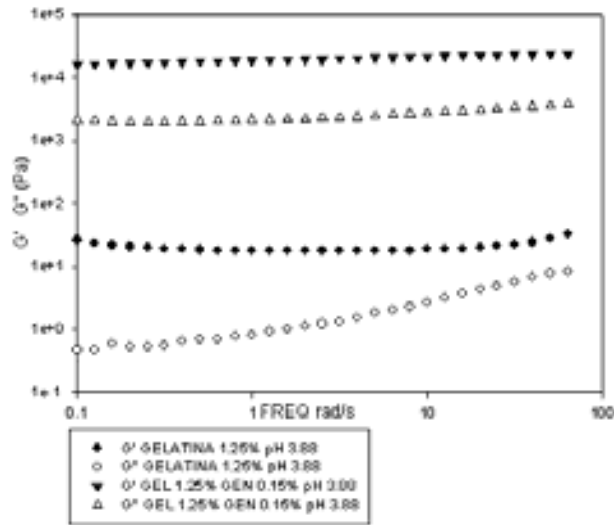


Figura 27: Barrido de frecuencia, formulación IV. Comparación entre el patrón de gelatina al 1.25% y la mezcla con 0.15% de gelana pH 3.88.

La Figura 27 muestra cómo la mezcla de gelana-gelatina tiene un comportamiento de gel durante toda la prueba, a diferencia del control de gelatina en el que los módulos no son independientes de la frecuencia. El mayor valor de los módulos de la mezcla indica que se necesita una mayor energía para poder deformar el material, que la que se requiere para deformar el control de gelatina.

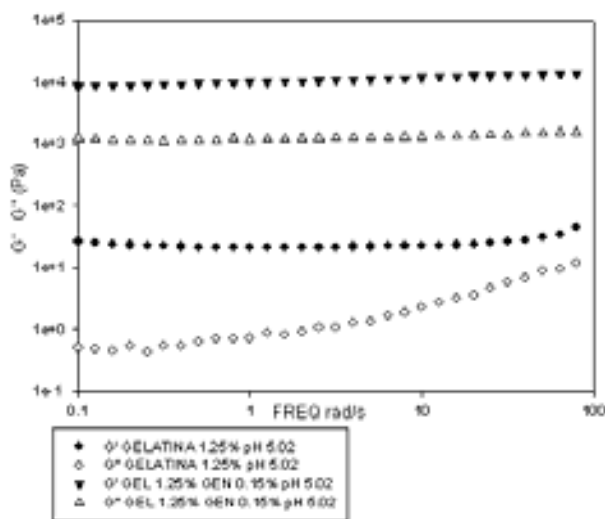


Figura 28: Barrido de frecuencia, formulación IV. Comparación entre el patrón de gelatina al 1.25% y la mezcla con 0.15% de gelana pH 5.02.

La Figura 28 muestra la comparación del patrón de gelatina y la mezcla con gelana de la formulación IV a pH 5.02. Nuevamente al adicionar la gelana los módulos de la muestra aumentaron, lo que indica que la muestra es más resistente a la deformación y presentó un comportamiento de gel con una  $\tan \delta$  promedio de 0.116 y desviación estándar de 0.008, a diferencia del patrón el cual a medida que la prueba avanzó los módulos dejaron de ser independientes de la frecuencia.

Con la información obtenida de las Figuras 27 y 28, sabiendo que la adición de gelana propició la formación de geles resistentes, en la Figura 29 se muestra la comparación entre los geles formados con mezcla gelatina-gelana a diferente pH.

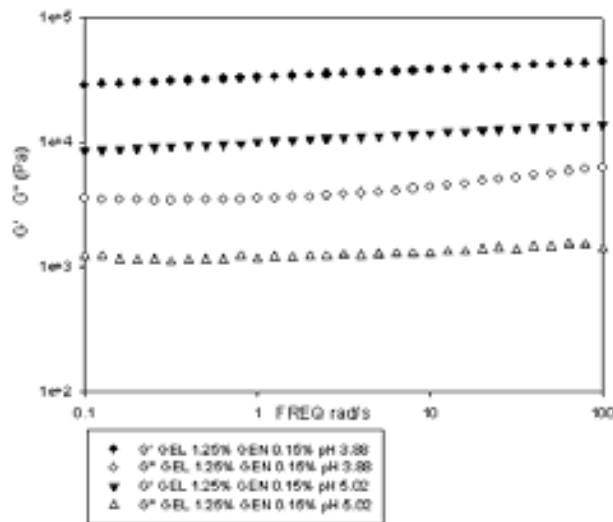


Figura 29. Barrido de frecuencia, formulación IV. Comparación entre las mezclas de gelatina al 1.25% con gelana al 0.15% a pH 3.88 y 5.02.

Al comparar los geles formados con las mezclas de gelana con gelatina (Figura 29) se observa cómo el gel formado a pH 3.88 es más resistente a la deformación, pero, los valores promedio de  $\tan \delta$  son idénticos hasta la tercera

cifra significativa (0.116) entonces, aunque el gel que se preparó a pH 3.88 es más resistente a la deformación ambos geles son igualmente elásticos

## Formulación V

La Figura 30 muestra la comparación de los barridos de frecuencia que se realizaron a los controles de gelatina a pH 4.01 y 5.00.

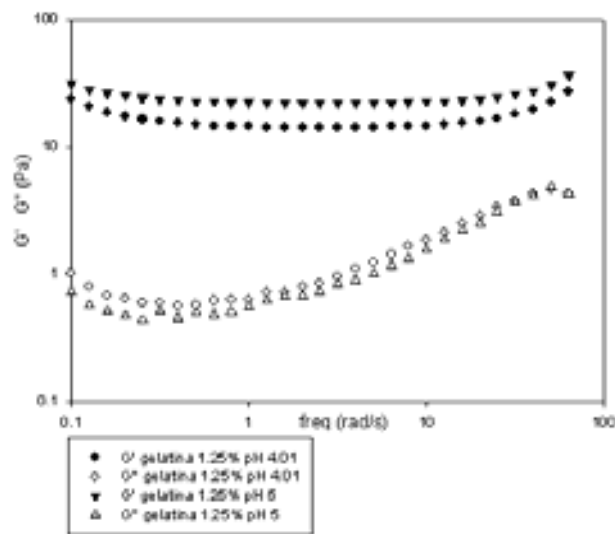


Figura 30: Barrido de frecuencia, formulación V. comparación entre controles de gelatina al 1.25% pH 4.01 y 5.

Como se muestra en la Figura 30, el pH afectó las propiedades viscoelásticas de las muestras. Aunque el comportamiento de los módulos dinámicos es similar, ninguno de los controles presentó completamente el comportamiento de un gel y la muestra a pH 4.01 tiene valores de  $\tan \delta$  más bajos, además de ser más resistente a la deformación, también es más elástico.

Los controles de gelatina se compararon con sus respectivas mezclas con gelatina (Figuras 31 y 32).

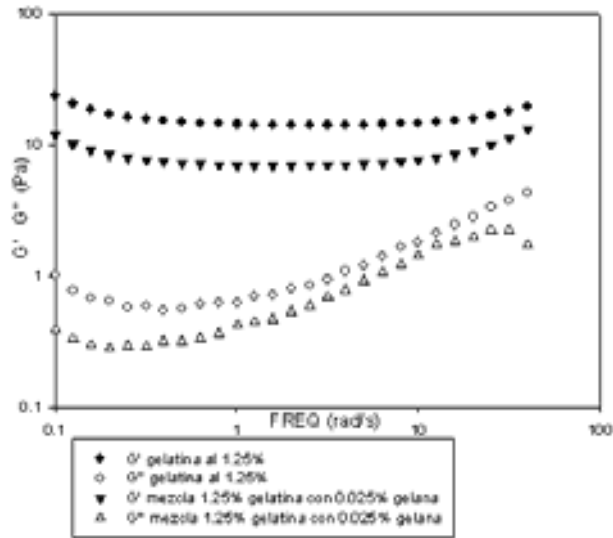


Figura 31: Barrido de frecuencia, formulación V. comparación entre control de gelatina al 1.25% y mezcla con gelana 0.025% pH 4.01.

En la Figura 31 se aprecia cómo la adición de gelana al patrón de gelatina modifica las propiedades de la muestra, formando un gel más débil. En este caso a diferencia de las formulaciones III y IV (Figuras 24, 27 y 28) en que la mezcla gelana-gelatina presentó una separación de fases y la formación de un gel en la fase inferior, la formulación V mantuvo una sola fase.

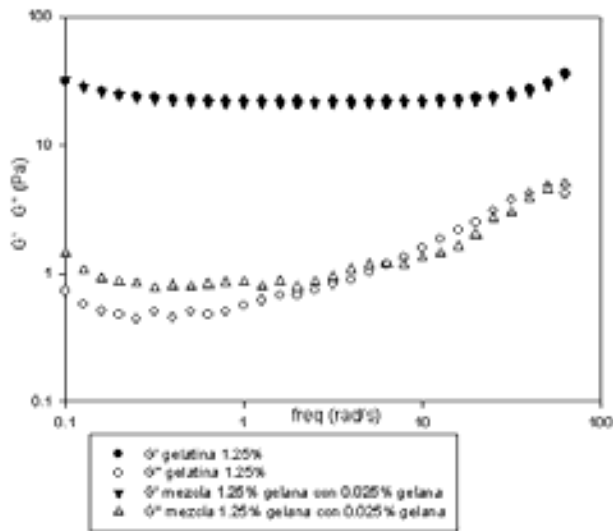


Figura 32: Barrido de frecuencia, formulación V. comparación entre control de gelatina al 1.25% y mezcla con gelana 0.025% pH 5.

En la Figura 32 la comparación entre el patrón de gelatina y la mezcla con gelana, muestra cómo los valores de  $G'$  para ambos sistemas son muy parecidos. En promedio entre ambos valores hay una diferencia de 1.07 Pa, entonces, la adición de gelana modificó muy ligeramente la fuerza del gel. Cuando se compararon los valores promedio de la  $\tan \delta$  (0.056 para el control de gelatina y 0.062 para la mezcla con gelana) se notó cómo el gel que formó el control de gelatina es más elástico que el de la mezcla, misma en la que no se presentó separación de fases después de ajustar el pH.

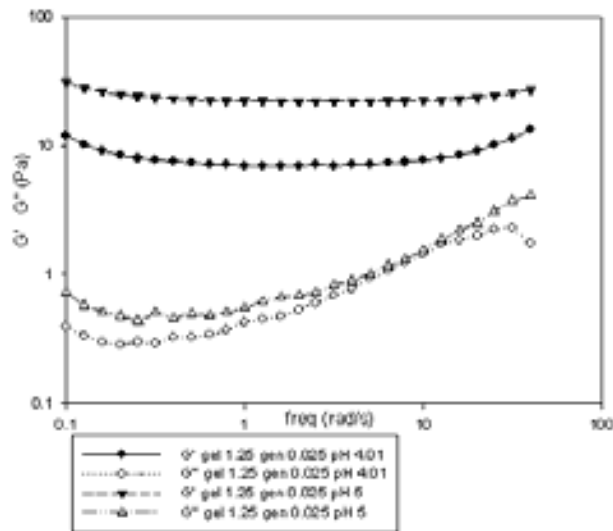


Figura 33: Barrido de frecuencia, formulación V. comparación entre mezclas de gelatina al 1.25% y gelana al 0.025% pH 4.01 y 5.

La comparación entre los geles formados por las mezclas gelana-gelatina se muestra en la Figura 33, el módulo de almacenamiento del gel formado a pH 5 está por encima, lo cual indica que es un gel no solo más resistente, sino que

cuando se compararon las  $\tan \delta$ , también mostraron que es más elástico al tener un valor menor que el observado para el gel formado a pH 4.01.

## Formulación VI

En la Figura 33, se muestra la comparación que se realizó entre los controles de gelatina para la formulación VI.

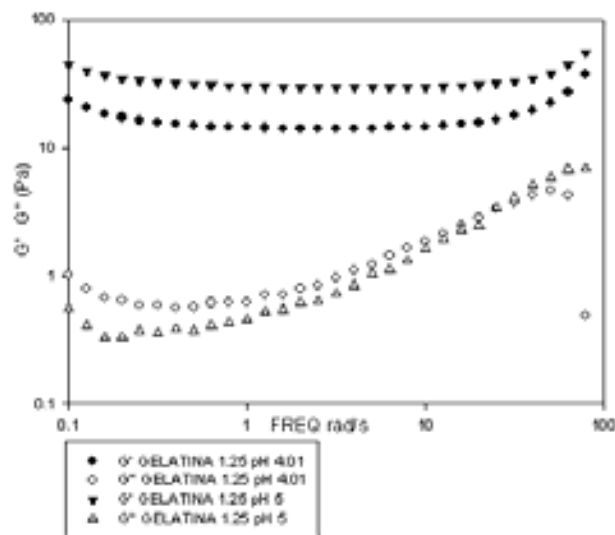


Figura 34: Barrido de deformación, formulación VI. Comparación de controles de gelatina a 1.25% pH 4.01 y 5.

La Figura 34 muestra que el gel que se forma a pH 5 es más fuerte, el módulo de almacenamiento  $G'$  está por encima y, además, los valores promedio de  $\tan \delta$  son menores por lo cual tiene un comportamiento más elástico que el gel formado a pH 4.01.

Las Figuras 35 y 36 muestran las comparaciones de los controles con las correspondientes mezclas con gelatina.

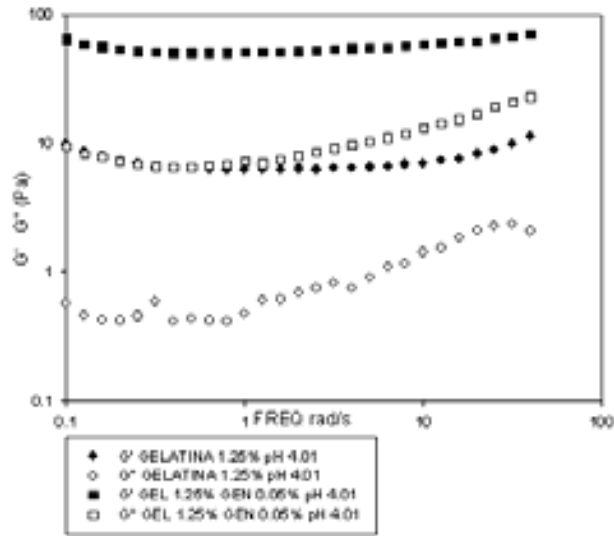


Figura 35: Barrido de deformación, formulación VI. Comparación entre control de gelatina al 1.25% y mezcla con gelatina al 0.025% pH 4.01.

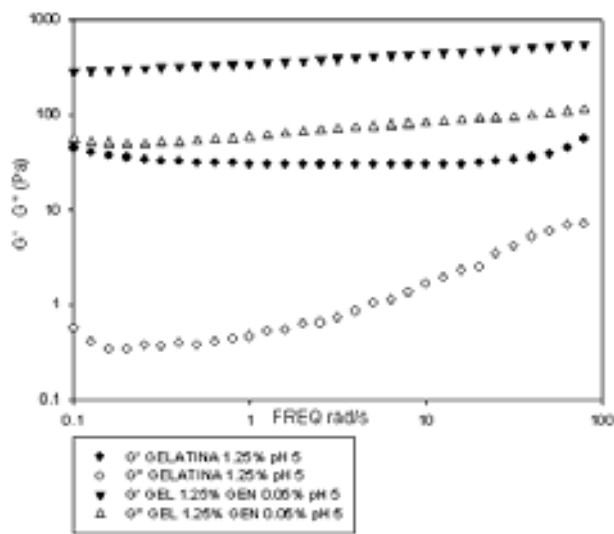


Figura 36: Barrido de deformación, formulación VI. Comparación entre control de gelatina al 1.25% y mezcla con gelatina al 0.025% pH 5.

En las Figuras 35 y 36 se observa que aunque el módulo de almacenamiento  $G'$  de los geles formados por la mezcla gelatina-gelatina en ambos casos está por encima del control de gelatina, las mezclas tienen un comportamiento menos elástico que los controles. Esto se determinó al comparar los valores promedio de

tan  $\delta$  que en los dos casos fueron menores en la gelatina que en la mezcla gelana-gelatina.

En la Formulación VI, al preparar las mezclas y ajustar el pH, los sistemas presentaron una separación de fases, los geles comparados son los que se formaron en la fase inferior. La Figura 37 muestra la comparación entre estos geles.

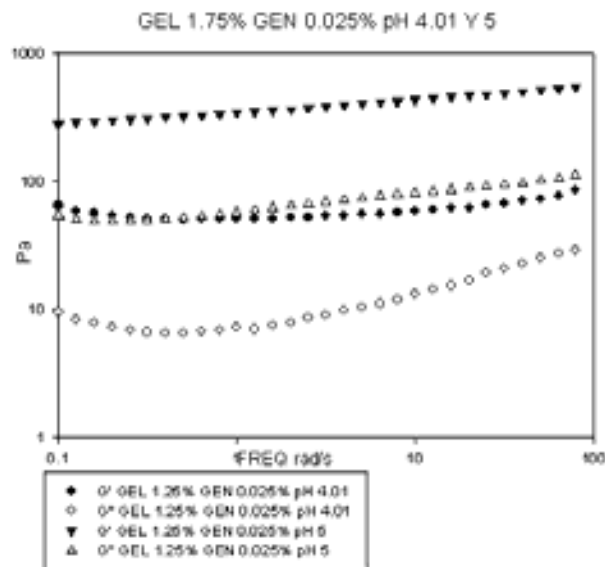


Figura 37: Barrido de deformación, formulación VI. Comparación entre las mezclas de gelatina al 1.25% y gelana al 0.025% pH 4.01 y 5.

Al comparar los geles resultado de las mezclas de la Formulación VI (Figura 37), se observa cómo el gel formado a pH 5 presenta módulos más altos que el formado a pH 4.01, lo cual indica que es un gel más resistente. Además, el valor de la tan  $\delta$ , es menor en promedio durante toda la prueba, es decir, que presenta un comportamiento más viscoso que la muestra trabajada a pH 4.01.



## Formulación VII

En la Formulación VII los dos controles formaron geles comparables entre sí y con sus respectivas muestras, la Figura 37 muestra los controles.

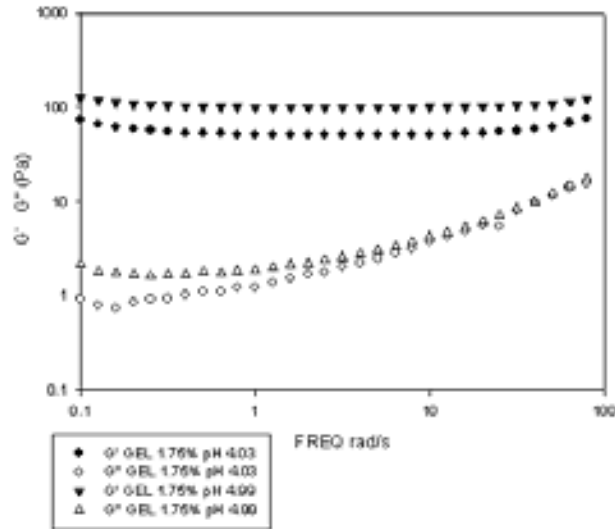


Figura 38: Barrido de frecuencia, formulación VII. Comparación entre controles de gelatina al 1.75% pH 4.99.

La Figura 38 muestra cómo el pH influye en las propiedades reológicas de los geles formados con los controles de esta formulación, a pH 4.99 el gel tiene módulos más altos que se deben a la formación de un gel más resistente.

Las Figuras 39 y 40 comparan los controles con sus respectivas mezclas con gelatina.

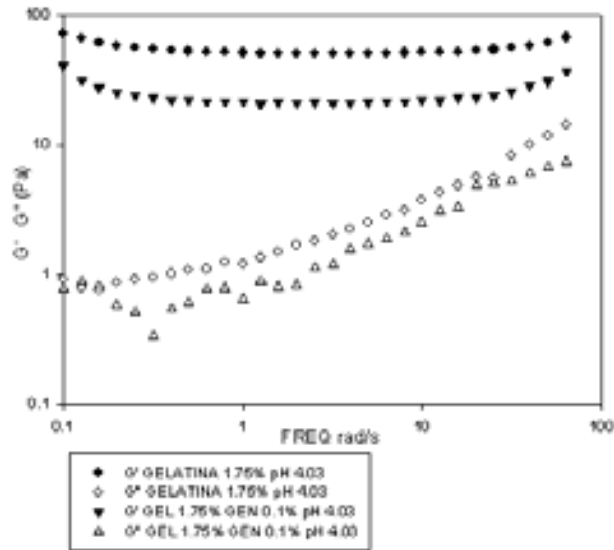


Figura 39: Barrido de frecuencia, formulación VII. Comparación entre control de gelatina al 1.75% y mezcla con gelana al 0.1% pH 4.03.

En la Formulación VII la mezcla de gelana-gelatina a pH 4.03, resultó en un gel que se formó en un sistema que no presentó separación de fases. En este caso igual que en la Formulación V (Figura 31), la adición de gelana a la mezcla modificó las propiedades reológicas, dando como resultado un gel con módulos más bajos, por lo tanto menos resistente (Figura 39).

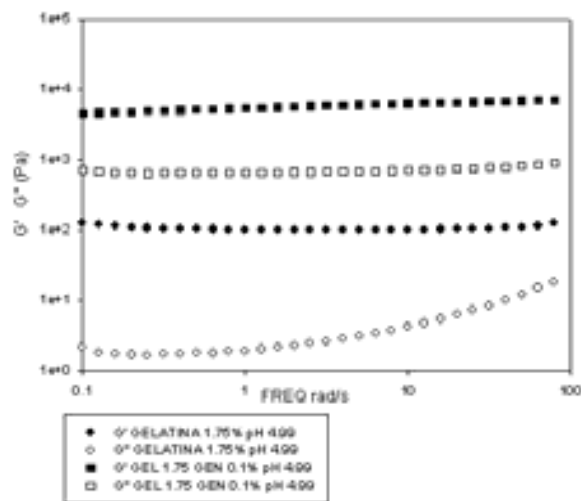


Figura 40: Barrido de frecuencia, formulación VII. Comparación entre control de gelatina al 1.75% y mezcla con gelana al 0.1% pH 4.99.

A pH 4.99 la mezcla de gelana-gelatina presentó separación de fases y se formó un gel en la fase inferior. Cuando el gel formado se comparó con el control de gelatina (Figura 40) los módulos fueron muy superiores indicando un gel más resistente. Así mismo, el valor de  $\tan \delta$  varía 8.9% a lo largo de la prueba, presentando un comportamiento de gel, a diferencia del control de gelatina en el que el ángulo de desfase a altas frecuencias deja de ser independiente.

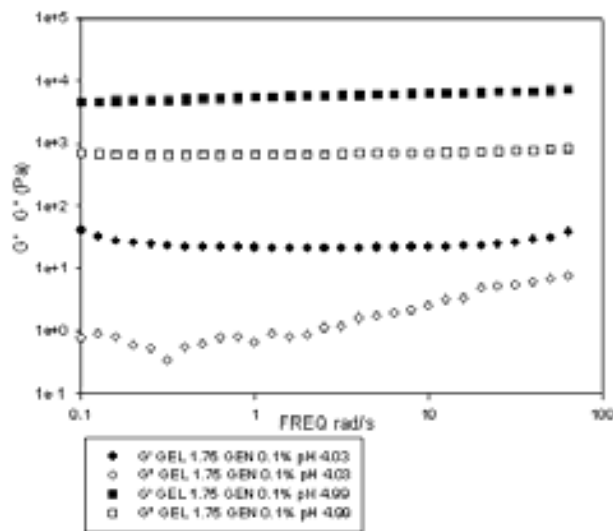


Figura 41: Barrido de frecuencia, formulación VII. Comparación entre las mezclas de gelatina al 1.75% con gelana al 0.1% pH 4.03 y 4.99.

En la comparación de las mezclas gelana-gelatina de la Formulación VII (Figura 41) se nota que la mezcla a pH 4.99 (que presentó separación de fases y formación de un gel en la fase inferior) tiene un comportamiento de gel más resistente, además de que los módulos son prácticamente independientes de la frecuencia. En la mezcla a pH 4.03, no ocurrió separación de fases y se formó un gel homogéneo en todo el sistema, aunque sus valores de  $\tan \delta$  son menores y por lo tanto tiene más carácter elástico, el gel es menos resistente.

Después de revisar todos los comportamientos reológicos y teniendo en cuenta el procedimiento de preparación primeramente de las soluciones y mezclas y posteriormente el tratamiento de los geles para colocar las muestras en el reómetro, se decidió que la muestra elegida para realizar las pruebas de encapsulación es, de la Formulación VI, la mezcla con 1.25% de gelatina y 0.15% de gelana a pH 5.02, la cual tuvo una  $\tan \delta$  promedio de 0.116 que se mantiene prácticamente constante. Además fue la formulación más repetible a lo largo de todas las pruebas tanto en forma como en espesor de los geles obtenidos, lo cual permitió formar discos con diámetro y espesor constante, que permitieran la menor variación en las pruebas reológicas. En la Figura 42 se muestra la imagen de la mezcla, en este sistema se observó una separación de fases y el gel se formó en la fase inferior.



Figura 42: Mezcla de gelatina al 1.25% con gelana al 0.15% a pH 5.02 tras 24 horas de reposo en refrigeración, a la izquierda, sistema completo, a la derecha, gel formado en la fase inferior.

En la Figura 42 a la derecha se observa el gel que se formó en la fase inferior de la mezcla gelana-gelatina. De todas las formulaciones, la VI fue la más

repetible. En las Figuras 43 y 44 está el promedio de cuatro barridos de frecuencia y cuatro barridos de temperatura respectivamente, realizados a la mezcla de la Formulación IV.

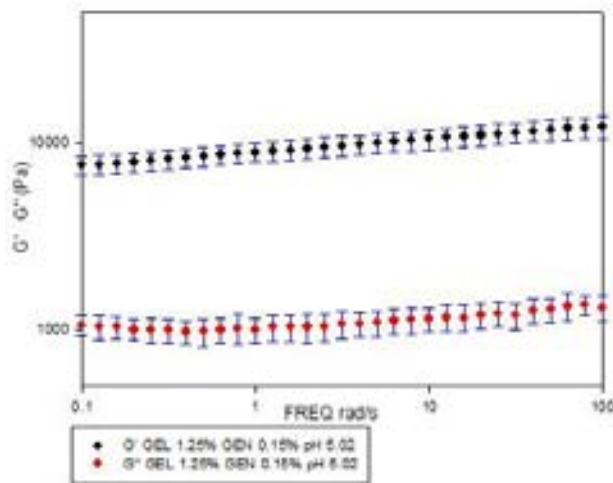


Figura 43: Barrido de frecuencia, promedio de cuatro muestras de mezcla de gelatina al 1.25% con gelana al 0.15% pH 5.02.

La Figura 43 muestra el comportamiento del gel formado por la mezcla de 1.25% de gelatina con 0.15% de gelana a pH 5.02. Los módulos de almacenamiento  $G'$  y de pérdida  $G''$  son prácticamente independientes de la frecuencia mostrando el comportamiento de un gel fuerte, el valor promedio de la  $\tan \delta$  sobre el intervalo de frecuencias es de 0.114 con un coeficiente de variación de 7.6%, lo que indica que tiene un comportamiento elástico. Aunque en la Formulación III (Figuras 23 y 25) se formó un gel con comportamiento más elástico (promedio de  $\tan \delta$  de 0.099), se eligió la Formulación IV por ser la más repetible durante los ensayos.

En la formulación VI el pH se ajustó a 5 y 4.01. Los ensayos de encapsulación se realizaron a pH 5, debido a que a pH 4.01 los geles son menos resistentes e incluso el módulo de pérdida es más dependiente de la frecuencia (figura 37). Por lo tanto, el ensayo realizado a pH 5 muestra un comportamiento más cercano al de un gel verdadero. En este caso la influencia del pH es evidente ya que a un mayor pH se obtiene un gel más resistente.

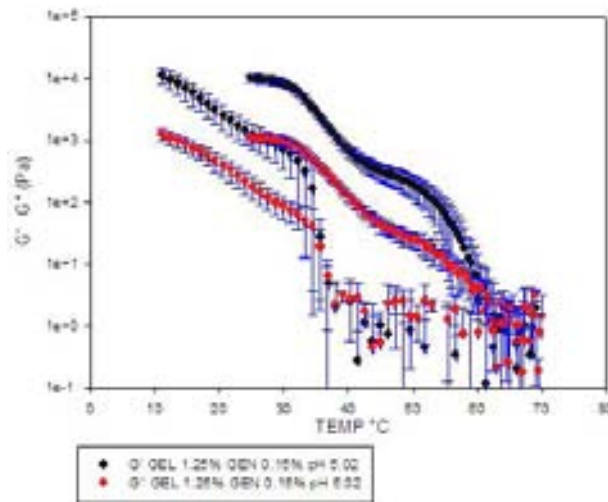


Figura 44: Barrido de temperatura promedio de tres muestras de mezcla de gelatina al 1.25% con gelatina al 0.15% pH 5.02.

En la Figura 44 se presenta el barrido de temperatura del gel de la Formulación IV. Se observa la fusión del gel (cuando  $G' = G''$ ) alrededor de 62 °C. Al enfriar, la solución gelifica nuevamente a 35 °C y los módulos alcanzan prácticamente los mismos valores antes de la fusión. Esto muestra la termorreversibilidad del gel y la presencia de histéresis térmica al ser diferentes las temperaturas de fusión y gelificación.

## Pruebas de encapsulación

### **Encapsulación de sustratos líquidos**

Las pruebas de encapsulación se realizaron en dos partes. Primero, se llevaron a cabo ensayos con un sustrato líquido, el cual debía cumplir la condición de no ser miscible con el agua. Por lo tanto se usó aceite. En un principio se utilizó aceite mineral teñido de rojo para facilitar su identificación a simple vista.

La encapsulación se realizó utilizando arbitrariamente 15% del peso total (100 g) de la mezcla de biopolímeros. Es importante señalar que primero se mezclaron la gelana y la gelatina con el aceite y ya en agitación se ajustó el pH, para inducir la coacervación ya con el sustrato disperso en la mezcla. Después del tiempo de reposo, 24 h a 8 °C, la mezcla mostró, dos fases; en la fase superior, pudo observarse el aceite encapsulado en la matriz de gelana y gelatina, esta parte, migra hacia arriba debido a la menor densidad del aceite, mientras que en la fase inferior se observó turbidez, con el mismo aspecto físico que se presentó en el sobrenadante de las mezclas examinadas en el reómetro (Figura 45).



Figura 45: Mezcla del coacervado con aceite mineral rojo encapsulado en la parte superior, después de una hora de agitación y 24 horas a 8 °C.

La fase en la cual quedó el aceite se separó y se muestra del lado izquierdo en la Figura 46.

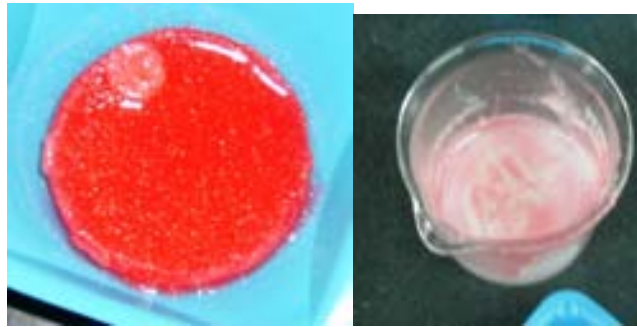


Figura 46: Fase superior de la mezcla de polímeros con el aceite mineral encapsulado (izquierda) y fase inferior de la mezcla (derecha).

La Figura 46 muestra cómo el aceite encapsulado pudo separarse completamente del resto de la solución, para poder observarla al microscopio (Figura 47).

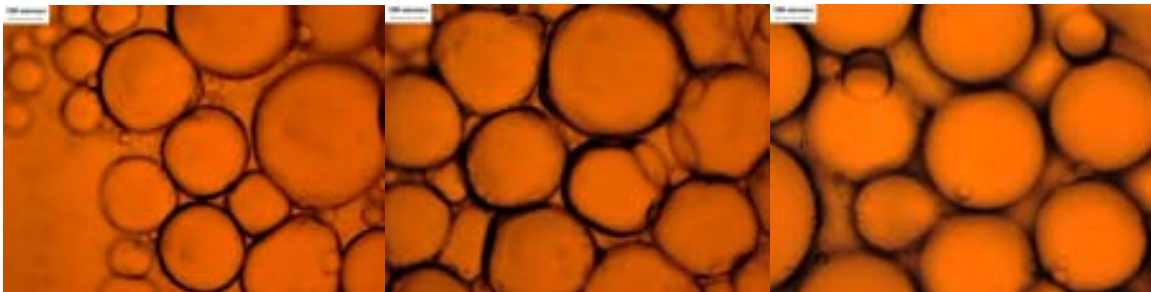


Figura 47: Imágenes de microscopio (10x), de la mezcla de polímeros con aceite mineral.

Bajo el microscopio se apreciaron gotas bien definidas, con aceite rojo en su interior (Figura 47). Las gotas se ubicaron en diferentes planos, debido a que lo que se observó no fue un corte, sino una porción de la fase en la que se encapsuló el aceite. El espacio entre las gotas es probablemente agua ya que no se observó aceite no atrapado en estos cuerpos formados por gelatina y gelatina.



Una vez comprobado que el aceite quedó atrapado en la matriz de gelatina y gelatina, el siguiente paso fue encapsular en este sistema aceite de maíz comestible y observar si el resultado era similar.

La encapsulación ocurrió de igual manera con el aceite de maíz, como se observa en las imágenes tomadas en el microscopio (Figura 48), pero esta vez, el aceite atrapado en la matriz se colocó en una estufa al vacío para su deshidratación y una vez seco se hicieron las observaciones macroscópicas.

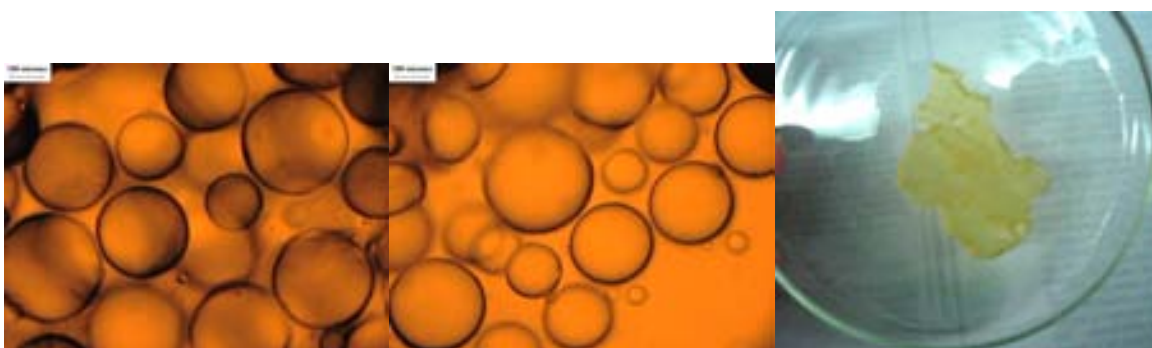


Figura 48: Encapsulación de aceite de maíz, imágenes al microscopio (10x). A la derecha fotografía después de 48 horas en la estufa al vacío.

La encapsulación del aceite de maíz se comprobó cortando una fracción de la matriz una vez deshidratada (Figura 48 extremo derecho) y observando la liberación de aceite desde el interior. Sin embargo, a partir del segundo día después del secado el aceite comenzó a exudar gradualmente.

### **Encapsulación de sustratos sólidos**

En el caso de los sustratos sólidos se buscó un material que cumpliera principalmente con dos condiciones: Primero, que fuera insoluble en agua y posteriormente, que fuera lo suficientemente denso para que en caso de que la

encapsulación ocurriera lentamente, el sólido pasara rápidamente a la parte inferior de la solución, el material seleccionado fue magnetita.

Los ensayos se realizaron, utilizando 3% del peso total de la mezcla, es decir, 3 gramos de magnetita para encapsular: Después de una hora de agitación y 24 h a 8 °C se obtuvo un sistema de dos fases, con la magnetita visiblemente concentrada en la fase inferior, según se muestra en la Figura 49.

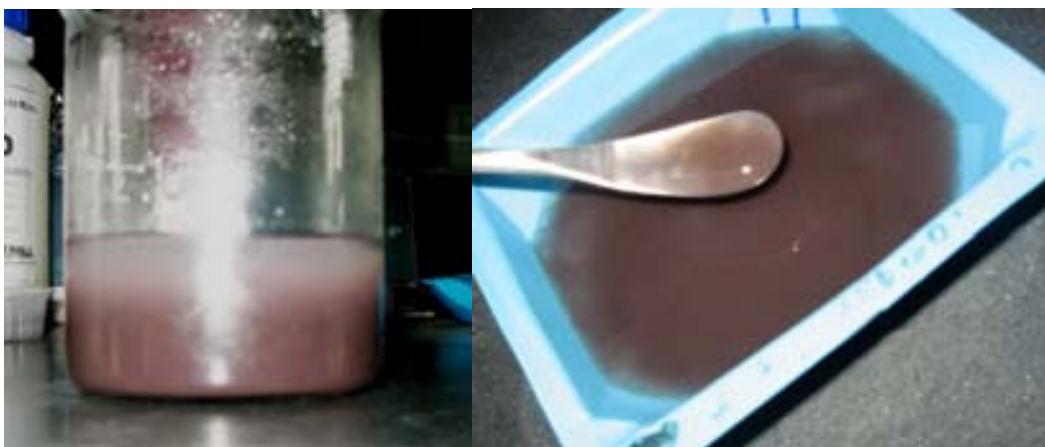


Figura 49: Ensayo de encapsulación de magnetita, a la izquierda sistema completo después de la refrigeración, a la derecha, fase inferior.

La Figura 49 muestra cómo la fase inferior, que es donde se encuentra la magnetita se separa y aparentemente está atrapada en la matriz de gelatina y gelatina. Debido a la opacidad del sustrato no fue posible obtener imágenes de microscopio de estas pruebas.

Para corroborar que la magnetita se quedó atrapada en la matriz de gelatina y gelatina, la muestra se secó en una estufa al vacío durante 48 horas. El resultado fue una lámina quebradiza en la cual la magnetita quedó atrapada: Esta lamina fue muy difícil de manipular debido a su fragilidad. Para resolver esta situación se agregó a la mezcla un plastificante, glicerol, para que una vez deshidratadas las

mezclas, no se produjeran láminas frágiles y pudieran ser manipuladas más fácilmente después del secado.

Para los siguientes ensayos con las mezclas, inmediatamente después del ajuste de pH se les agregó 5% en peso de glicerol y se continuó con el procedimiento normal. Después de la refrigeración se secaron a no más de 40 °C durante 6 días. Se logró observar la magnetita inmobilizada en la matriz de gelatina y gelatina (Fig. 50).



Figura 50: Encapsulación de magnetita después del secado.

Las imágenes de la figura 50 muestran cómo la magnetita fue atrapada en el interior de la mezcla de polímeros. La adición del glicerol evitó que una vez deshidratadas las muestras se volvieran quebradizas, ayudando a que la gelatina mantuviera la forma que adopta cuando gelifica una vez que se le retira el agua.

## Conclusiones

- ✓ Aunque se encontraron diferencias en el comportamiento de las mezclas de gelana/gelatina en relación con los resultados mostrados en la literatura (Chilvers y Morris, 1987), éstos sirvieron para seguir un esquema de concentraciones y poder seleccionar las proporciones más convenientes con la variación de pH.
- ✓ Debido a que la gelificación de la gelatina depende no solamente de la concentración de proteína y de la temperatura, sino también del tiempo (Figura 16), estas condiciones tuvieron que ser definidas a fin de obtener resultados repetibles y poder compararlos. (gelificación durante 24 horas a 8° C).
- ✓ En las formulaciones trabajadas, el pH afecta las propiedades viscoelásticas de los geles de gelatina: a pH mayor se forma un gel más fuerte.
- ✓ Los geles más fuertes no son necesariamente los más elásticos. La resistencia tiene que ver con los valores de los módulos  $G'$  y  $G''$ , mientras que el comportamiento elástico con la  $\tan \delta$  que es una medida de la pérdida de energía y de la energía almacenada ( $\tan \delta = G''/G'$ ).
- ✓ Al agregar gelana a las soluciones de gelatina, cambia el comportamiento de los geles que se forman y además contribuye a la formación de estructuras observables bajo el microscopio.
- ✓ Debido a que en la coacervación las interacciones son mayormente electrostáticas, el pH afecta el comportamiento de las mezclas.
- ✓ Es posible encapsular aceite en la matriz de gelana y gelatina.

- ✓ Debido a que es el pH el factor que favorece la coacervación y por lo tanto, la encapsulación del material. Se recomienda que el ajuste final de pH se realice cuando ya se encuentran la solución de gelana, gelatina y el sustrato a encapsular.
- ✓ La porción del gel que atrapa al aceite migra hacia la fase superior debido a la baja densidad del aceite. Esto se comprobó haciendo un ensayo con menos aceite y el resultado fue un sistema de tres fases, una superior con el aceite encapsulado, una intermedia que presentaba turbidez, y un gel en la fase inferior.
- ✓ Para que todo el aceite añadido se encapsule es necesario proporcionar el tiempo de agitación necesario para que a simple vista se disperse todo el aceite. Si esto no ocurre, una parte del aceite se separa de la solución sin quedar atrapado.
- ✓ El sistema con el aceite encapsulado no puede mantenerlo al interior por más de un día. Es necesario agregar algún reticulante para lograr que se mantenga atrapado más tiempo.
- ✓ La magnetita puede ser encapsulada e inmovilizada en la matriz de gelana y gelatina.
- ✓ Para evitar que la matriz que encapsula la magnetita se torne frágil después del secado, es necesario agregar un plastificante que le de cierta flexibilidad una vez seco el coacervado.

## Referencias

- ✓ AOAC (1990). Official Methods of Analysis, 15<sup>th</sup> edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC. Kjeldahl determination method. PRT-701.02-150.
- ✓ Chilvers, G.R. y Morris, V.J. (1987). Coacervation of gelatin-gellan gum mixtures and their use in microencapsulation. *Carbohydrate Polymers* 7, 111-120.
- ✓ Ducl V., Richerd J., Saulnier P., Popineau Y. y Boury F. (2004) Evidence and characterization of complex coacervates containing plant proteins: application to the microencapsulation of oil droplets, *Colloid and Surfaces A*, 232, 239-247
- ✓ Hemar, Y., Hall, C.E., Munro, P.A. y Singh, H. (2002). Small and large deformation rheology and microstructure of  $\kappa$ -carrageenan gels containing commercial milk protein products. *International Dairy Journal*, 12, 371-381.
- ✓ de Kruif C.G., Weinbreck F. y Vries R. (2004) Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 9 340-349
- ✓ Lau M., Tang J., Paulson A., Texture profile and turbidity of gellan/gelatin mixed gels, *Food Research International*, 33, 665-671.
- ✓ Mayya K. S., Bhattacharyya A. y Argillier J. F. (2003) Micro-encapsulation by complex coacervation: influence of surfactant, *Polymer International* 52 644–647.

- ✓ Onder E., Sarier N., Cimen E., Encapsulation of phase change materials by complex coacervation to improve thermal performances of woven fabrics, *Thermochimica Acta*, 47, 63-72
- ✓ Rodríguez Hernández, A. I. (1997). Propiedades reológicas dinámicas de geles formados por mezclas gelana-xantana y gelana- $\lambda$ -carragenina. Tesis de Maestría, F.Q. - UNAM, pp. 72-80.
- ✓ Sanderson, G.R. (1990). Gellan Gum. En Food Gels, Harris, P. Editor. Elsevier Science, New York, pp. 201-231.
- ✓ Sanchez C., Mekhloufi G. y Renard D. (2006) Complex coacervation between beta.lactoglobulin and acacia gum: A nucleation and growth mechanism. *Journal of Colloid and Interface Science* 299 867-873
- ✓ Tosh S., Marangoni A., et al. (2003) Aging dynamics in gelatin gel microstructure, *Food Hydrocolloids*, 17, 503-513
- ✓ Turgeon S. L., Beaulieu M., Shmitt C. y Sánchez C. (2003) Protein-polysaccharide interactions: phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*. 8, 401-414
- ✓ Xing F., Cheng G., Yang B. y Ma, L. (2004) Microencapsulation of capsaicin by the complex coacervation of gelatin, acacia and tannins, *Journal of Applied Polymer Science* 91 (4) 2669–2675.
- ✓ Yeo Y., Bellas E., et al., Complex Coacervates for Thermally Sensitive Controlled Release of Flavor Compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 7518-7525