



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**DESCRIPCIÓN REOLÓGICA DE LA TRANSICIÓN  
SOL-GEL DE GELANA DE ALTO ACILO**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**QUÍMICA DE ALIMENTOS**  
P R E S E N T A:

**MITZI DEJANIRA ARELLANO COVARRUBIAS**



**MÉXICO, D.F.**

**2009**



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:**

Presidente	<b>ALBERTO TECANTE CORONEL</b>
Vocal	<b>AMELIA MARÍA DE GUADALUPE FARRÉS GONZÁLEZ SARAVIA</b>
Secretario	<b>AGUSTÍN REYO HERRERA</b>
1Ter.T suplente	<b>RODOLFO FONSECA LARIOS</b>
2° suplente	<b>FRANCISCO JAVIER CASILLAS GOMEZ</b>

Sitio donde se desarrolló el tema.

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

Asesor del tema:

**Dr Alberto Tecante Coronel.**

---

Supervisor técnico:

**I. A. Mariana Ramírez Gilly.**

---

Sustentante:

**Mitzi Dejanira Arellano Covarrubias**

---

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi asesor de Tesis, Dr. Alberto Tecante Coronel por brindarme la oportunidad de desarrollar este trabajo bajo su dirección, por su paciencia y apoyo para concluir este proyecto.

A la I. A. Mariana Ramírez Gilly, Técnico Académico de la Facultad de Química-UNAM, por su disposición, apoyo, amistad y todo el tiempo invertido en la realización de las pruebas reológicas.

A la Dra. Amelia María de Guadalupe Farres González Saravia y al profesor Agustín Rey Herrera por sus acertados comentarios en la corrección de éste trabajo.

A el M. en C. Emmanuel Flores Huicochea por proporcionarme los datos de contenido de iones, determinados por absorción atómica, en la gelana de alto acilo.

A Claudia Fátima Salcedo González por proporcionarme el dato del contenido de carbohidratos en la gelana de alto acilo.

## DEDICATORIAS

Por encima de todo, a los cinco motores que hasta ahora han impulsado mi vida:

A mi mami Gloria, por ayudarme a levantar y seguir adelante cuando más lo necesité, por todo el amor, amistad y apoyo que me ha brindado siempre, por estar conmigo en todos y cada uno de los proyectos de esta vida.

A mi papi Arturo, que siempre ha estado a mi lado en cada logro y tropiezo, por mostrarme que el trabajo, esfuerzo y dedicación son la base de todo éxito.

A mi mejor amiga y cómplice, mi hermana Ara, por cuidarme, por darme el ejemplo de como ser fuerte y nunca rendirme.

A mi hermanito Arturo quien muy a su modo particular siempre esta conmigo me da su apoyo, cariño y me enseña que la vida hay que disfrutarla, tomarla en serio pero con ligereza y optimismo.

Finalmente y no al último, a Enrique, mi mejor amigo, mi cómplice, mi compañero, mi novio, por brindarme su confianza, apoyo y amor en esta etapa de mi vida, por el tiempo que ha compartido conmigo, por enseñarme que la soledad no existe y que las tristezas y malos momentos son pasajeros.

Los amo y gracias por que este logro no es solo mío, es también de ustedes.

A mis abuelitos Lupe, Raimundo, Tere y Aurora, a mis tías y tíos Tere, Lilia, Linda, Enrique, Silvia y Joaquin, a mis primas y primos Andy, Nane, Jessi, Luis, Toño, Jair y Michel que de uno u otro modo siempre me han apoyado, estando presentes o desde algún otro lugar.

A mis amigos: A los que me ayudaron y compartieron momentos tristes y felices, fiestas, juegos, diversión y escuela, quienes son parte de mi vida y me hicieron parte de las suyas; Ángel, Sandra, Iván, Mamer, Ángel Rafael, Memo que en algún momento se convirtieron en más que solo amigos.

A aquellos que estuvieron conmigo desde el inicio de este viaje apoyándonos y motivándonos a seguir adelante; Ana, Javo, Roger, Iván, Paco, Haza, los quiero.

A quienes a lo largo de este sendero conocí y me brindaron su amistad y apoyo Lencho, Pablo, Toño, Carmen y Jaime.

A quienes no hace mucho encontré, me han brindado su amistad y apoyo; Juan, Ale, Anita, Neto, Mau, Brenda, Tere, Itzel y Oscar.

A aquellos que no quitaron el dedo del renglón y día a día presionaron por darle fin a éste proyecto; Manuel, Carlos (Spin), Kyke, Javo.

A todos ustedes que aunque nuestras vidas han tomado y seguramente seguirán tomando caminos diferentes siempre les estaré agradecida por todo.

A mis compañeros de laboratorio, Carmen, Emanuel, Pablo y Toño por compartir momentos gratos, conocimientos y brindarme su amistad.

A todas las personas que estuvieron conmigo y me apoyaron a lo largo de esta travesía.

# INDICE

Contenido	pág
Resumen	
Introducción	1
1. Aspectos generales	4
1.1 Geles	4
1.2 Reología	6
1.3 Esfuerzo y deformación	7
1.4 Funciones materiales en cizalla oscilatoria	9
1.5 Pruebas reológicas	11
1.6 Barridos de deformación	12
1.7 Barridos de frecuencia	13
1.8 Determinación de punto de gelificación	15
1.9 Gelana	15
1.10 Aplicaciones de gelana en alimentos	20
2. Hipótesis y objetivos	21
2.1 Hipótesis	21
2.2 Objetivos	21
3. Materiales y métodos	22
3.1 Metodología	22
3.2 Materiales	23
3.3 Métodos	23
3.3.1 Determinación de humedad	23
3.3.2 Preparación de geles	23
3.3.3 Relación estequiométrica GHA-Na <sup>+</sup>	24
3.3.4 Pruebas reológicas	25
4. Resultados y discusión	28
4.1 Temperaturas de transición a partir de los barridos de temperatura	28
4.2 Temperaturas de transición a partir de los barridos de temperatura a diferentes frecuencias	31
4.3 Temperaturas de transición por el método de la tan $\delta$ crítica	33
4.4 Diagrama de transición sol-gel	37
4.5 Variación de los módulos dinámicos con la frecuencia	39
Conclusiones	43
Referencias	45

## RESUMEN

Se estudió, mediante técnicas reológicas, la transición sol–gel de gelana de alto acilo (GHA) en presencia y ausencia de contraión externo ( $\text{Na}^+$ ) proveniente de cloruro de sodio. Mediante pruebas de cizalla oscilatoria de baja amplitud que incluyeron barridos de deformación, frecuencia y temperatura, se evaluó el comportamiento viscoelástico de soluciones de GHA mediante las funciones materiales  $G'$  y  $G''$ . Por medio de la determinación del punto de cruce de los módulos  $G'$  y  $G''$  y el método de tangente crítica de delta, se obtuvo la temperatura de transición sol–gel de sistemas con concentraciones de gelana en el intervalo 0.08 a 1% p/p y concentraciones de contraión de 0, 1, 5, 10, 50 y 100 mM. Ambos métodos mostraron que la adición de ión aumentó tanto la temperatura de fusión como la de gelificación para una misma concentración de polisacárido. Con las temperaturas encontradas se trazó un diagrama de transición sol-gel en el cual se observa que la histéresis térmica ocurrió a bajas concentraciones de polisacárido. Sin embargo, al aumentar esta concentración la histéresis térmica disminuyó hasta prácticamente desaparecer. Es posible tener geles a temperatura ambiente, con espectros mecánicos que muestran un claro dominio de  $G'$  sobre  $G''$  aun para concentraciones de gelana de 0.08% p/p. Con estos estudios se plantea contribuir al conocimiento de la funcionalidad de este polisacárido en medio acuoso, en presencia y ausencia de un ion monovalente y sentar las bases para futuros trabajos con otros iones monovalentes y divalentes.

## **INTRODUCCIÓN**

Las propiedades funcionales de los ingredientes alimenticios han sido definidas como cualquier propiedad fisicoquímica que afecta el comportamiento y características de un alimento lo cual contribuye a la calidad del producto final. Los polisacáridos poseen estas propiedades que dependen en gran parte de las interacciones de los biopolímeros con otros constituyentes de los alimentos, como lípidos, agua y sales. Además, influyen también el pH, la temperatura, la fuerza iónica, la constante dieléctrica del medio, la concentración y tipo de carbohidrato. Entre las principales propiedades funcionales de los polisacáridos se encuentran: la capacidad emulsionante, espesante, estabilizante, gelificante, texturizante, espumante, entre otras. Como resultado de su funcionalidad, son ingredientes comunes de muchos alimentos procesados, lo que permite la manufactura de una amplia variedad de productos.

Recientemente, se ha incrementado la importancia comercial de los polisacáridos de origen microbiano y han sido producidos a gran escala por la industria de fermentaciones debido a que pueden ser obtenidos de acuerdo con la demanda del mercado y con una calidad estandarizada, de modo que los problemas de disponibilidad y variación se ven minimizados. Sin embargo, el uso racional y óptimo de estos polisacáridos depende del pleno conocimiento de su funcionalidad.

La gelana es un producto de fermentación ampliamente utilizada que puede ofrecer disolución a muchos de los problemas encontrados en los actuales agentes gelificantes, puesto que puede formar una gran variedad de geles. A pesar de su corta existencia, por el hecho de proveer de un gran intervalo de texturas, producir la misma que otros polisacáridos o crear nuevas, la

investigación de este polisacárido ha ido en aumento, lo cual es conveniente para promover su utilización tanto en la industria farmacéutica como alimentaria. Hasta ahora, la mayoría de las investigaciones relacionadas con la gelificación de gelana se basan en estudios fisicoquímicos básicos que han revelado detalles importantes sobre la estructura molecular y han propuesto mecanismos de asociación entre las macromoléculas de gelana. También han surgido algunos estudios en donde se abordan aspectos reológicos y se explican los mecanismos de agregación en función de la fuerza iónica del medio y de la concentración de polisacárido.

La evolución y análisis del comportamiento reológico de los alimentos es relevante a causa de la necesidad, entre otras cosas, de establecer condiciones óptimas para un determinado proceso de transformación, así como el diseño y equipo a utilizar (Pérez, 2008).

Con la finalidad de ampliar el conocimiento sobre los aspectos reológicos conocidos de este polisacárido, tener un panorama más amplio de su comportamiento y promover su utilización en los sistemas alimentarios existentes o en el desarrollo de nuevos productos, en el presente trabajo se examinó, por medio de técnicas reológicas, el comportamiento de geles de gelana de alto acilo (GHA) con y sin adición de iones sodio, en forma de NaCl, determinando el efecto que las concentraciones, tanto de polímero como de iones, tienen sobre el comportamiento y propiedades viscoelásticas de los geles formados. Se determinaron las temperaturas de transición sol-gel para examinar el efecto que la concentración de polímero y la adición de iones tienen sobre dichas temperaturas en los geles formados. Con estas temperaturas se elaboró un diagrama de transición de conformación para poder

predecir el comportamiento de geles de GHA a diferentes concentraciones de polímero y iones.

Diversos estudios con gelana de bajo acilo (GLA) han demostrado que al ir aumentando la concentración de polímero y de iones, el fenómeno de histéresis térmica se ve aumentado, debido a que la adición de iones favorece la agregación de las dobles hélices de gelana, por lo que se podría pensar que estos parámetros tendrán el mismo efecto sobre la GHA. Sin embargo, ésta tiene dos grupos acilo (un grupo acetilo y un glicerilo) que la molécula de GLA no tiene, lo que modifica las propiedades de este polisacárido. Varios autores (Jay et al. 1998; Kasapis et al. 1999; Morris et al. 1996) afirman que los voluminosos grupos acetilo y glicerilo previenen la asociación cercana entre las cadenas en la formación de la doble hélice y dificultan el empaquetamiento de las uniones cruzadas en la red tridimensional. Tomando en cuenta lo anterior, esperamos que la adición de iones provoque un menor o nulo aumento en el fenómeno de histéresis térmica durante la fusión y gelificación de geles de GHA.

# **1. ASPECTOS GENERALES**

## **1.1 GELES**

Un gel se define como un sistema sustancialmente diluido que no exhibe flujo estacionario en la escala de tiempo que dura la observación de su comportamiento (Ferry 1980). Existen geles químicos y físicos. En los primeros el entrecruzamiento de polímeros ocurre mediante enlaces covalentes, mientras que en los segundos ocurre mediante interacciones de diferentes tipos. En ambos casos se forma una red capaz de atrapar el disolvente y otras sustancias de bajo peso molecular. Las redes de geles que están soportadas fundamentalmente por interacciones no covalentes son termorreversibles, es decir, pueden gelificar y fundir al disminuir y aumentar la temperatura, respectivamente. Esto sucede sobre todo cuando quienes más contribuyen al mantenimiento de la red son los puentes de hidrógeno.

Desde el punto de vista estructural, un gel consta de una matriz continua de material interconectado y una gran cantidad de disolvente, retenido en los intersticios. Los diversos tipos de geles ofrecen propiedades diferentes; por ejemplo, los geles particulados son mucho más gruesos que los geles poliméricos, teniendo por tanto mucha mayor permeabilidad.

Las moléculas poliméricas en disolución se comportan como si estuviesen enrolladas al azar, inmovilizando eficazmente gran cantidad de disolvente (agua), aumentando, por lo tanto, considerablemente la viscosidad. Si la concentración de polímero no es muy baja, las moléculas tienden a entrecruzarse y enmarañarse. Así la disolución alcanza una cierta elasticidad, aunque no un umbral de fluencia. La gelificación es consecuencia de la formación de enlaces cruzados intermoleculares. Estos enlaces cruzados pueden ser covalentes, salinos o regiones microcristalinas. En el caso de polielectrolitos, es decir,

polímeros cargados eléctricamente, la gelificación puede ser inducida por la formación de puentes salinos.

Desde el punto de vista reológico, un gel típico es un material que muestra un umbral de fluencia y tiene propiedades viscoelásticas. Cuando sobre el gel actúa un esfuerzo pequeño ( $\sigma = \text{fuerza}/\text{área}$ ), se comporta elásticamente; se deforma inmediatamente y mantiene la forma obtenida hasta que el esfuerzo es retirado. Si el esfuerzo aplicado es mayor, el producto puede mostrar un comportamiento viscoelástico: primero se deforma elásticamente, luego comienza a fluir y al cesar el esfuerzo recupera parcialmente su forma original.

La Figura 1 muestra las diferencias entre un material de comportamiento líquido, sólido y viscoelástico. La velocidad de deformación es el cambio con el tiempo ( $d\varepsilon/dt$ ), de la deformación relativa ( $\varepsilon$ ) y puede ser igual al gradiente de velocidad de acuerdo con el tipo de deformación que exista.

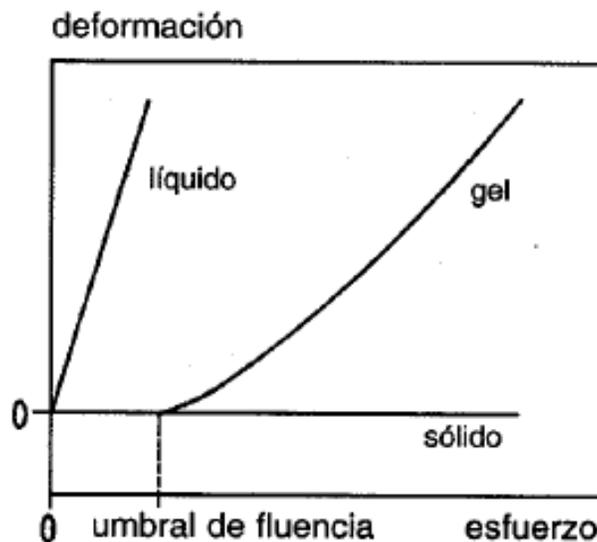


Figura 1. Representación de la velocidad de deformación en función del esfuerzo en un líquido newtoniano, un material viscoelástico y un sólido elástico (Fennema, 1995).

El comportamiento de un cuerpo viscoelástico depende en gran medida de la escala de tiempo de la deformación. La deformación rápida, e.g. la alcanzada cuando se aplica un esfuerzo fluctuante a alta frecuencia, supone una escala de tiempo pequeña. A escalas de tiempo muy pequeñas, un gel se comporta casi de forma completamente elástica y, a escalas de tiempo muy grandes, casi como un producto enteramente viscoso. También el umbral de fluencia es dependiente del tiempo, el umbral tiende a ser más pequeño cuanto mayor sea la escala de tiempo. La magnitud de todos estos parámetros reológicos puede variar mucho con los geles (Fennema, 1995).

## **1.2 REOLOGÍA**

La palabra “reología” fue utilizada por primera vez por Eugene C. Bingham (1928) a quien se le reconoce la autoría del nacimiento de la reología como ciencia. La palabra reología proviene del griego  $\rho\eta\epsilon\omicron\sigma$  = fluir,  $\lambda\omicron\gamma\omicron\sigma$  = estudio o tratado. Hoy en día la reología se establece como la ciencia que estudia la deformación y flujo de la materia (Barnes et al. 1992); el modo en que los materiales responden a la aplicación de un esfuerzo o deformación (Steffe, 1996). La reología está basada en principios de física clásica y mecánica de fluidos, el sólido perfecto de Hooke y el líquido viscoso perfecto de Newton, respectivamente. Sin embargo, las características de sólido o líquido viscoso perfecto, no están presentes en la mayoría de los materiales reales.

Se fundamenta en “ecuaciones constitutivas”, las cuales relacionan variables dinámicas (presión, esfuerzo, fuerza) con variables cinemáticas (deformación, velocidad de deformación o cizalla) para dar como resultado entidades o propiedades reológicas (módulo de almacenamiento, módulo de pérdida, viscosidad, módulo complejo, entre muchas más), conocidas como “funciones materiales” (Pérez, 2008).

En la industria de alimentos la reología tiene numerosas aplicaciones:

- A. En el cálculo de procesos de ingeniería que implican un gran número de equipos como tuberías, bombas, extrusoras, mezcladoras, intercambiadores de calor, homogeneizadores, viscosímetros.
- B. En la determinación de la funcionalidad de algún ingrediente en el desarrollo de nuevos productos.
- C. En el control de calidad de algún producto final o intermedio.
- D. En pruebas de vida de anaquel.
- E. En la evaluación de textura en correlación con análisis sensorial de algún producto alimenticio.

### **1.3 ESFUERZO Y DEFORMACIÓN**

#### **Deformación**

Para hablar de deformación es necesario considerar simultáneamente el concepto de fuerza, esto es porque los dos conceptos coexisten en una masa dada. La fuerza es una acción física cuya aplicación provoca un cambio en el movimiento o en su forma o dimensiones. Si al aplicar una fuerza sobre un cuerpo se altera su estado de movimiento o de reposo se habrá provocado un deslizamiento, es decir, se habrá movido al cuerpo entre dos puntos en el espacio. Por otro lado, si al aplicar la fuerza se cambia el tamaño (por lo tanto el volumen) o forma del cuerpo, entonces se habrá provocado una deformación (Steffe, 1996).

Un tipo común de deformación encontrado en reología es la deformación de cizalla, la cual se genera cuando una fuerza se aplica de forma paralela a la superficie del cuerpo. La idea puede ser ilustrada con una barra rectangular de altura  $h$ . La parte baja es estacionaria y la parte superior es linealmente desplazada cierta cantidad igual a  $\delta L$ .

Cada elemento está sujeto al mismo nivel de deformación así que el tamaño del elemento no es relevante. El ángulo de cizalla,  $\gamma$ , puede ser calculado como:

$$\tan \gamma = \delta L/h$$

Para pequeñas deformaciones, el ángulo de cizalla (en radianes) es igual a la deformación de cizalla (también simbolizada  $\gamma$ )  $\tan \gamma = \gamma$ .

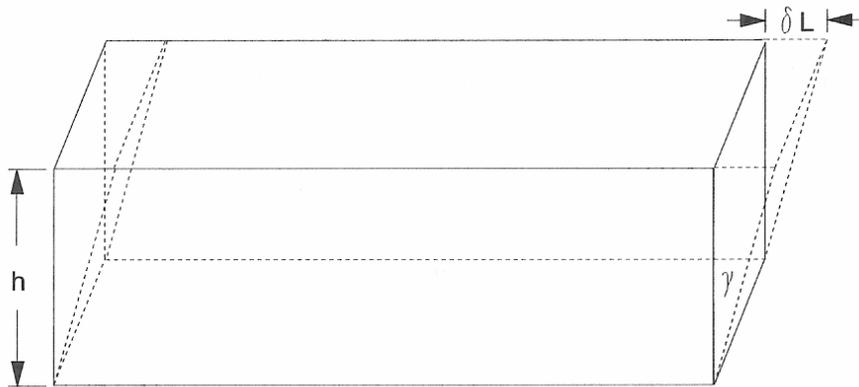


Figura 2. Deformación en cizalla de una barra rectangular (Steffe, 1996).

## Esfuerzo

Se define como la fuerza por unidad de área y regularmente es el causante de un cambio de movimiento o de dimensiones en el cuerpo sobre el cual se está aplicando y usualmente se expresa en Pascales ( $N/m^2$ )

$$\sigma = F/A$$

Los esfuerzos se dividen en esfuerzos normales (esfuerzos de tensión y compresión) y esfuerzos tangenciales también conocidos como esfuerzos cortantes o de cizalla. Los esfuerzos normales son aquellos que resultan de la aplicación de una fuerza perpendicular a la superficie del material. Los esfuerzos tangenciales se generan cuando la fuerza actúa paralela o tangencial a la superficie.

Las ecuaciones que muestran una relación entre esfuerzo y deformación son también llamadas ecuaciones reológicas de estado o ecuaciones constitutivas (Steffe, 2006).

## 1.4 FUNCIONES MATERIALES EN CIZALLA OSCILATORIA

$G'$ : Módulo de almacenamiento, función dependiente de la frecuencia.

$$G' = (\sigma_0/\gamma_0) \cos (\delta)$$

$G''$ : Módulo de pérdida, función dependiente de la frecuencia.

$$G'' = (\sigma_0/\gamma_0) \text{sen} (\delta)$$

En estas ecuaciones  $\sigma_0$  y  $\gamma_0$  son la amplitud de la onda de esfuerzo y de deformación, respectivamente.

La Figura 3 muestra dos placas paralelas rectangulares con la placa inferior estacionaria y la superior animada con un movimiento oscilatorio armónico simple que hace que se mueva de izquierda a derecha en dirección horizontal y el material en estudio ocupa el espacio entre las placas.

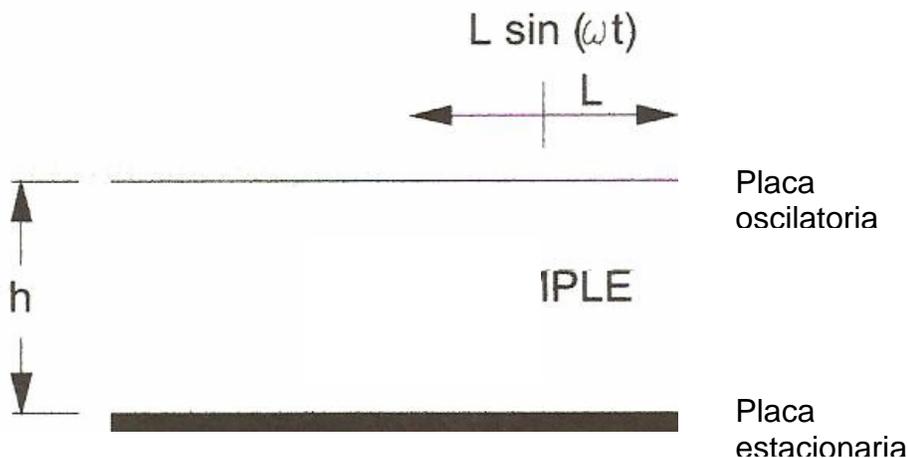


Figura 3. Deformación oscilatoria entre placas rectangulares (Steffe, 1996).

Al aplicar una deformación al material entre las placas, ésta resulta ser una función de tiempo definida como:

$$\gamma = \gamma_0 \sin(\omega t)$$

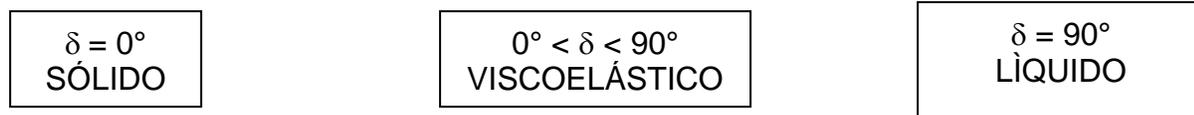
donde  $\gamma_0$  es la amplitud de la onda de deformación igual a  $L/h$  cuando el movimiento de la placa superior es  $L \sin(\omega t)$ ,  $\omega$  es la frecuencia expresada en rad/s la cual es equivalente a  $\omega/(2\pi)$  Hertz. Si las placas estuvieran separados una distancia de 1.5 mm y la placa superior se moviera 0.3 mm desde la línea central, entonces la máxima amplitud de deformación sería calculada como 0.2 o 20%:  $\gamma_0 = L/h = 0.3/1.5$

Para pequeñas amplitudes de deformación, el esfuerzo de cizalla producido por la deformación de entrada es el siguiente:

$$\sigma = \sigma_0 \sin(\omega t + \delta)$$

donde  $\sigma_0$  es la amplitud del esfuerzo de cizalla y puede ser definido como la fuerza máxima por unidad de área recibida por la placa estacionaria y  $\delta$  es el ángulo de fase relativo a la deformación. El periodo de tiempo asociado con el ángulo de fase es igual a  $\delta/\omega$ .

Para entender mejor los parámetros viscoelásticos descritos, es de gran utilidad examinar aisladamente el comportamiento de un sólido de Hooke y un líquido de Newton. Para un sólido perfectamente elástico, toda la energía es almacenada,  $G''$  es cero y el esfuerzo y la deformación están en fase. En contraste para un líquido con propiedades elásticas toda la energía es disipada en forma de calor,  $G'$  vale cero y el esfuerzo y la deformación se encuentran fuera de fase exactamente  $90^\circ$ .



Tangente de  $\delta$  o ángulo de fase: Este parámetro está directamente relacionado con la energía perdida por ciclo, dividida entre la energía almacenada por ciclo:

$$\tan \delta = G''/G'$$

Es una medida del predominio del carácter viscoso sobre el carácter elástico del material.

## **1.5 PRUEBAS REOLÓGICAS**

Los reómetros son instrumentos con los que se determinan distintas funciones materiales. Aquellos capaces de determinar las propiedades reológicas fundamentales de alimentos fluidos y semisólidos, se dividen en dos categorías: rotacional y axial. Los rotacionales pueden ser operados bajo velocidad angular independiente del tiempo y bajo oscilación armónica simple y se utilizan generalmente para investigar el comportamiento de dependencia con el tiempo (Steffe, 2006).

En los instrumentos oscilatorios, el material a examinar es sometido a variaciones armónicas de esfuerzo y deformación. Los resultados son muy sensibles a la composición química y estructura física, así que pueden tener diferentes aplicaciones las cuales incluyen;

- Determinar la evolución de la fuerza de un gel.
- Seguir la gelificación de almidón.
- Estudiar la transición vítrea.
- Observar la coagulación o desnaturalización de proteínas.
- Evaluar la cuajada en productos lácteos.
- Evaluar la fusión del queso.
- Estudiar el desarrollo de texturas en pastelería y productos cárnicos.
- Realizar pruebas de vida de anaquel y la relación entre propiedades reológicas y percepción sensorial humana (Steffe, 1996).

Algunas veces las pruebas oscilatorias son referidas como “pruebas de cizalla de baja amplitud” ya que se deben aplicar pequeñas deformaciones para mantener el

comportamiento viscoelástico lineal. En las pruebas reológicas de cizalla oscilatoria, se obtienen los módulos  $G'$  y  $G''$ . El primero describe el comportamiento elástico, similar al de un sólido, mientras que el segundo describe el comportamiento viscoso, similar al de un líquido (Steffe, 1996).

## 1.6 BARRIDOS DE DEFORMACIÓN

Los barridos de deformación son llevados a cabo a una frecuencia constante y son utilizados para examinar la dependencia de  $G'$  y  $G''$  con la amplitud de la deformación para de este modo determinar la extensión de la zona de viscoelasticidad lineal (ZVL). Para deformaciones inferiores a un valor crítico,  $G'$  y  $G''$  tienen un valor constante con el incremento de la deformación. El límite de la ZVL se excede cuando  $G'$  y  $G''$  empiezan a decrecer significativamente (Figura 4). En la zona de viscoelasticidad lineal las propiedades reológicas no dependen de la deformación o el esfuerzo.

Además de identificar la ZVL, los barridos de deformación han sido utilizados para distinguir geles débiles de geles fuertes; en los geles débiles la extensión de la ZVL es mayor que en los geles fuertes (Steffe, 1996).

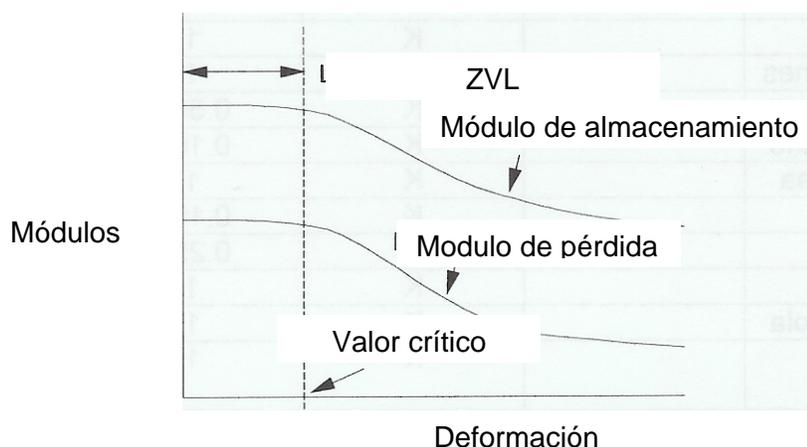


Figura 4. Respuestas esquemáticas típicas a la deformación, mostrando la zona de viscoelasticidad lineal (ZVL) (Steffe, 1996).

## 1.7 BARRIDOS DE FRECUENCIA

Los barridos de frecuencia son las pruebas más comunes. En ellas la frecuencia aumenta mientras la deformación se mantiene constante. Cuando una disolución diluida, una disolución concentrada y un gel de un biopolímero dado son sometidos a barridos de frecuencia, muestran diferentes comportamientos y producen diferentes espectros mecánicos propios de cada sistema.

En una disolución diluida,  $G''$  es mayor que  $G'$  sobre todo el intervalo de frecuencia pero tienden a igualarse a altas frecuencias (Figura 5). En las disoluciones concentradas, se observa una alta dependencia de los módulos a frecuencias bajas, predominando  $G''$  sobre  $G'$  y al aumentar la frecuencia  $G''$  y  $G'$  se igualan para luego mostrar un comportamiento más sólido a altas frecuencias ( $G' > G''$ ) con poca o nula dependencia con la frecuencia (Figura 6).

Para un gel fuerte,  $G'$  es significativamente mayor que  $G''$  a lo largo de todo el intervalo de frecuencia (Figura 7). Los módulos dependen más de la frecuencia cuando se trata de disoluciones diluidas o concentradas pero son prácticamente constantes cuando se trata de un gel. En el espectro de un gel débil,  $G'$  es superior a  $G''$  pero ambos muestran una alta dependencia con la frecuencia y pueden entrecruzarse a altas frecuencias (Figura 8) (Steffe, 1996).

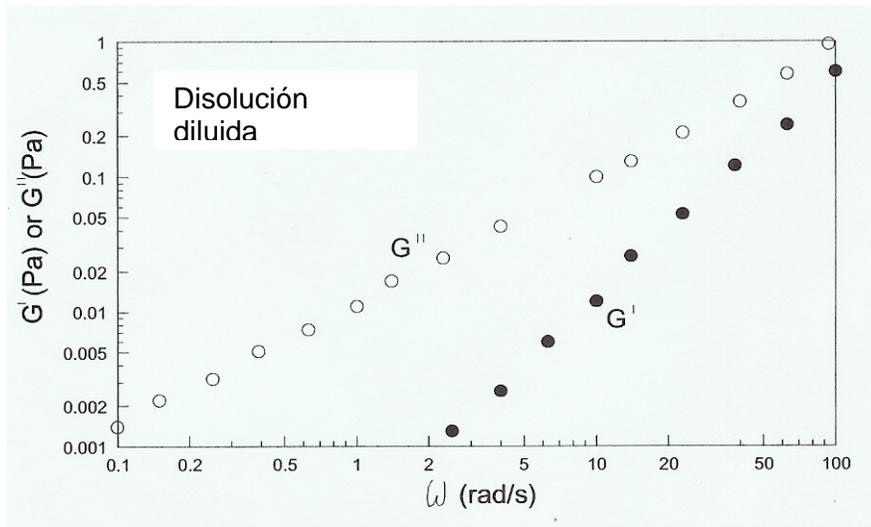


Figura 5. Espectro mecánico de una disolución diluida (Steffe, 1996).

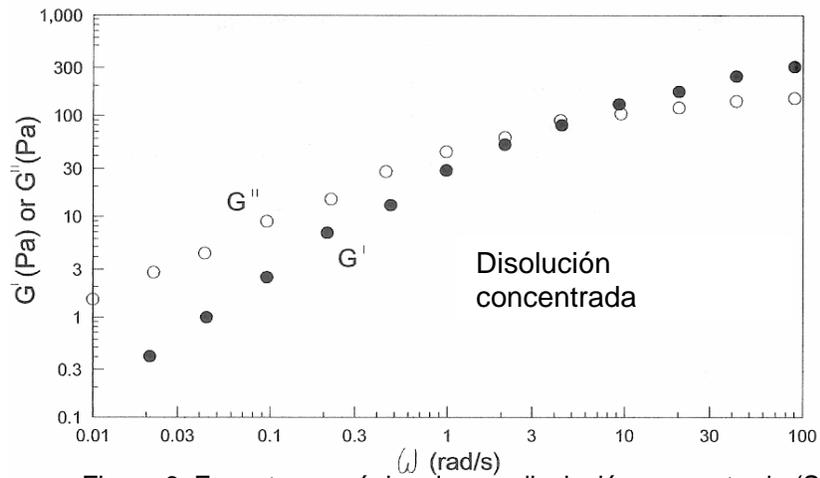


Figura 6. Espectro mecánico de una disolución concentrada (Steffe, 1996).

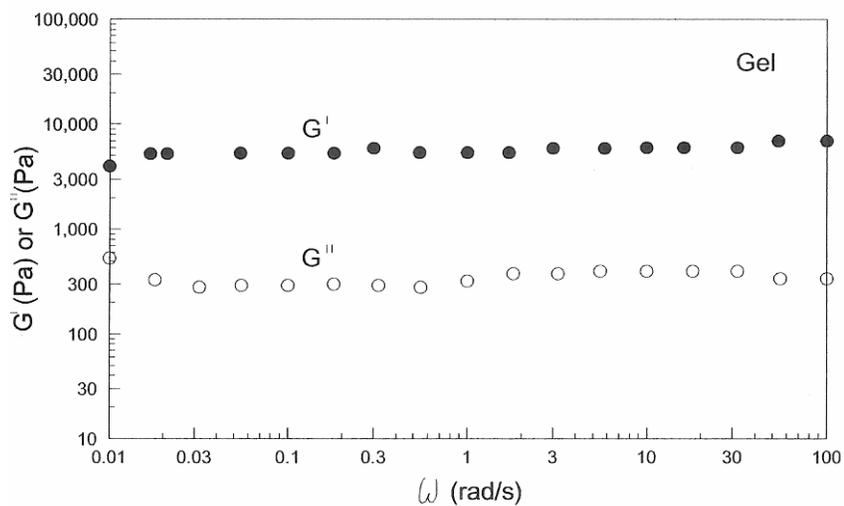


Figura 7. Espectro mecánico de un gel fuerte (Steffe, 1996).

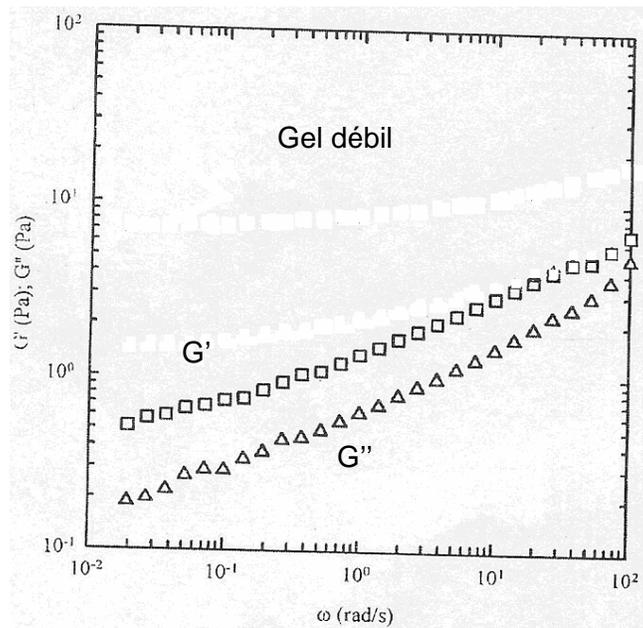


Figura 8. Ejemplo de espectros mecánicos de geles débiles

## 1.8 DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE GELIFICACIÓN

Los barridos de temperatura se utilizan, en este caso, para determinar temperaturas de transición. Para ello, se localiza el punto de cruce de los módulos  $G'$  y  $G''$ , es decir, el punto en el cual  $\tan \delta = G''/G' = 1$  e independiente de la frecuencia. Este método está basado en el criterio de Winter y Chambon (1986). Según este criterio el tiempo de gelificación es aquel en el que la  $\tan \delta$  es independiente de la frecuencia. Con base en esto, el punto de gelificación puede ser determinado a partir de la evolución de la  $\tan \delta$  a diferentes frecuencias y será aquel para el cual todas las curvas converjan.

## 1.9 GELANA

La gelana es un heteropolisacárido extracelular, lineal, aniónico, secretado por el microorganismo *Sphingomonas paucimobilis*, anteriormente conocido como *Sphingomonas elodea*, *Pseudomonas elodea* o *Aeromonas elodea*, que fue descubierta en

1978 (Goh et al. 2006; Huang et al. 2003b; Abramovic & Klofutar 2006) y aprobada en 1992 por la FDA para ser utilizada como hidrocoloide alimenticio (Mao et al. 2000). Su producción comercial fue patentada en 1982 y es preparada comercialmente por fermentación aerobia en un medio compuesto por carbohidratos rápidamente disponibles, como fuente de carbono, fosfato, fuentes de nitrógeno orgánicas e inorgánicas, y elementos traza adecuados. La fermentación es llevada a cabo en condiciones estériles con un estricto control de la aireación, agitación, temperatura y pH, y cuando la fermentación está completa, la disolución viscosa es pasteurizada para eliminar las células viables. El material celular es removido por centrifugación o filtración (Phillips et al. 1992).

La estructura primaria de la gelana está formada por unidades repetidas de un tetrasacárido formado por  $\beta$ -D-glucosa,  $\beta$ -D-ácido glucurónico,  $\beta$ -D-glucosa y  $\alpha$ -L-ramnosa (Huang et al. 2007; Jay et al. 1998; Morris et al. 1996; Grasdalen & Smidsrød 1987; Kasapis et al. 1999). La gelana se encuentra comercialmente disponible en dos formas, gelana de bajo acilo (GLA) y gelana de alto acilo (GHA). La GHA tiene un grupo L-glicerilo en el carbono 2 ( $C_2$ ) de una de las moléculas de glucosa (Figura 9) y un grupo acetilo en el carbono 6 ( $C_6$ ) del mismo residuo. En promedio se encuentra un grupo glicerilo por cada unidad repetida y un acetilo por cada dos (Kasapis et al. 1999). Este polímero forma geles suaves, muy elásticos y no quebradizos (Mao et al. 2000). Cuando la GHA es tratada con un álcali a altas temperaturas los grupos acilo son hidrolizados y se obtiene la forma desacilada de la gelana (Mao et al. 2000). Esta forma produce geles duros, no elásticos y quebradizos.

El voluminoso sustituyente L-glicerilo, localizado en el interior de la doble hélice, altera los puentes de hidrógeno dentro y entre las dobles hélices y enmascara estéricamente los grupos glucurónicos alterando la unión de cationes como el potasio (Jay et al. 1998; Kasapis et al. 1999).

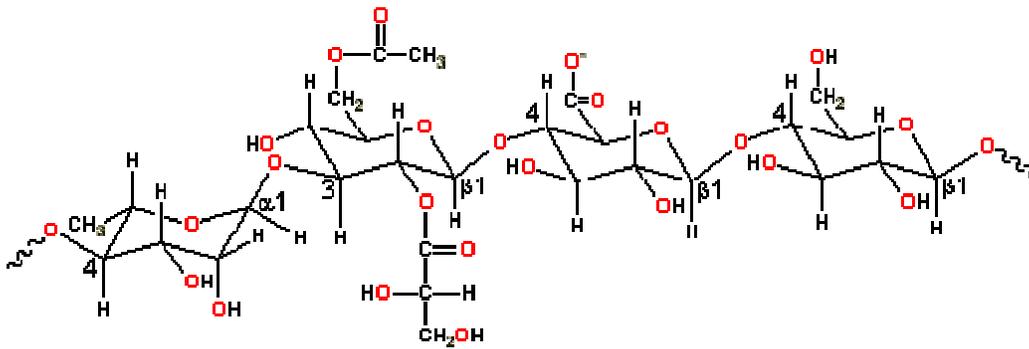


Figura 9. Unidad repetitiva de gelana de alto acilo (Chaplin, 2008).

Esto puede explicar las débiles propiedades gelificantes de la GHA ya que los voluminosos grupos acetilo y glicerilo previenen la asociación cercana entre las cadenas en la formación de la doble hélice y dificultan el empaquetamiento de las uniones cruzadas en la red tridimensional. La gelificación de gelana involucra dos pasos: a) La adopción de una estructura helicoidal seguida de b) La asociación de estas unidades básicas en una red tridimensional. Por ello se argumenta que la inhibición de la unión catiónica reduce la asociación inter-hélice y altera las propiedades reológicas de los geles (Morris et al. 1996). Sin embargo, el grupo glicerilo también tiene efectos estabilizadores en la estructura de la doble hélice ya que los tres átomos de oxígeno en el grupo glicerilo estabilizan la estructura de la doble hélice formando cuatro nuevos puentes de hidrógeno inter o intra catenarios (Kasapis et al. 1999). Es por esto que a pesar de que los geles de gelana de alto acilo son normalmente más suaves que los de

bajo acilo, la estructura de los primeros es más estable, un atributo que soporta esta idea es la alta temperatura de ordenamiento conformacional de la GHA.

La gelificación de GHA como la de GLA involucra dos etapas. A altas temperaturas la gelatina en disolución se encuentra como cadenas aleatorias, al disminuir la temperatura se promueve la transición de estas cadenas a dobles hélices, seguida de la asociación de los segmentos de dobles hélices rígidas para formar agregados lo que lleva a la formación de una red tridimensional como se ilustra en la Figura 10 (Goh et al. 2006). Los cationes monovalentes como divalentes estabilizan la red tridimensional mediante enlaces cruzados entre dos dobles hélices de gelatina vía grupos carboxilo del residuo glucurónico (Figura 11). Sin embargo, los cationes monovalentes y divalentes siguen diferentes mecanismos de gelificación. Los cationes divalentes, unen dos dobles hélices directamente (doble hélice -  $M^{++}$  - doble hélice) mientras que los cationes monovalentes lo hacen indirectamente (doble hélice -  $M^+$  - agua -  $M^+$  - doble hélice). Los cationes divalentes son más efectivos en la formación de geles que los cationes monovalentes (Huang et al. 2003a; Huang et al. 2004; Nakajima et al. 1996).

El proceso de fusión del gel y la pérdida de la conformación ordenada, también ocurren en dos etapas. La primera prácticamente coincide con la gelificación en el proceso de enfriamiento y puede ser atribuida a la fusión de secuencias aisladas de estructuras de dobles hélices. La segunda está desplazada a temperaturas más altas y parece surgir de la disociación de los agregados de dobles hélices mediados por cationes. En el caso de la GHA se ha observado una supresión de la agregación de dobles hélices, lo cual se puede deber a que el grupo acetilo en la superficie de la doble hélice promueve la solvatación y bloquea el empaquetamiento cercano de dobles hélices (Morris et al. 1996).

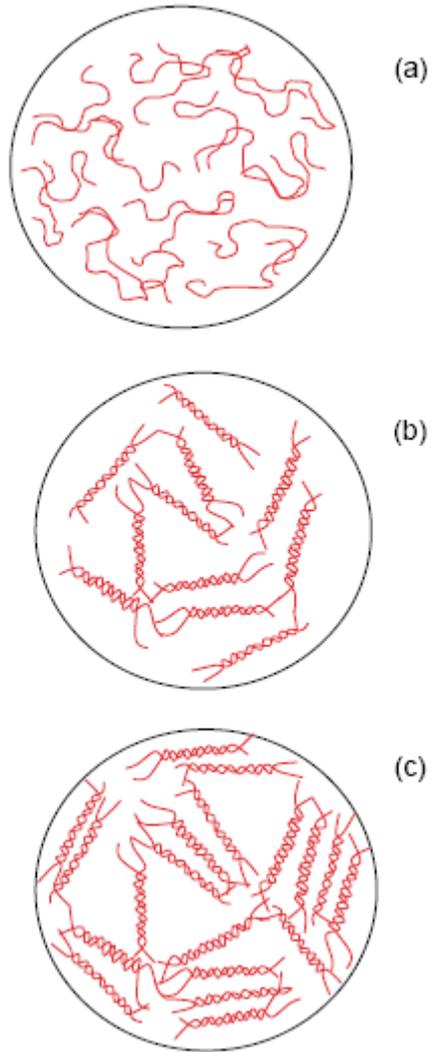


Figura 10. Modelo propuesto para la gelificación de la gelatina.  
 a) Cadenas aleatorias, b) Formación de las dobles hélices,  
 c) Agregación de dobles hélices (Goh et al. 2006).

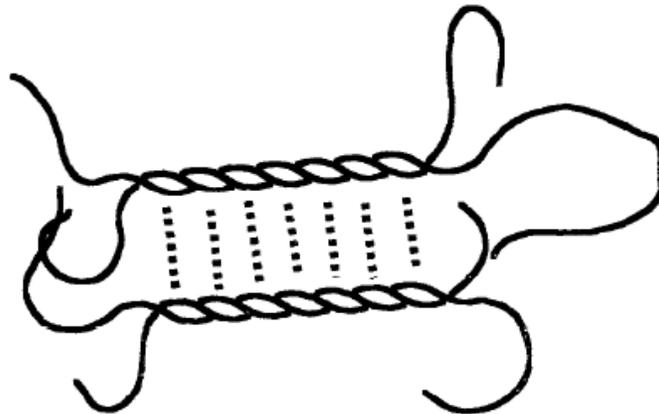


Figura 11. Representación esquemática de la interacción  
 doble hélice – M<sup>+</sup> - agua – M<sup>+</sup> - doble hélice (Goh et al. 2006).

## 1.10 APLICACIONES DE LA GHA EN ALIMENTOS

El Cuadro 1 resume las principales aplicaciones de la GHA en productos alimenticios. Aunque la GHA puede ser utilizada efectivamente sola en varios productos, sus beneficios algunas veces se ven realizados cuando se usa en combinación con otros hidrocoloides alimentarios (CP Kelco, 2009).

Cuadro 1. Aplicaciones típicas de gelatina en alimentos.

<b>Área principal</b>	<b>Productos típicos</b>
Confitería	Gelatinas de almidón, gelatinas de pectina, malvaviscos, rellenos.
Mermeladas y jaleas	Mermeladas reducidas en grasa, mermeladas de imitación, rellenos de pastelería, jaleas.
Alimentos fabricados	Frutas fabricadas, vegetales, carnes.
Geles a base de agua	Postres de geles, aspics (gelatinas saladas).
Rellenos para pays y pudines	Postres instantáneos, pudines enlatados, pudines pre-cocidos, rellenos para pays
Glaseados, helados	Glaseados para pastelería, helados enlatados.
Productos lácteos	Helados, leche gelatinizada, yogurt, malteadas, quesos bajos en grasa, dips.
Bebidas	Frutas, bases de leche, bebidas de soya y carbonatadas.

## **2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS**

### **2. 1 Hipótesis**

Diversos estudios con GLA han demostrado que al ir aumentando la concentración de polímero y de contraiones, la histéresis térmica aumenta, debido a que la presencia de iones favorece la agregación de las dobles hélices de gelana. Por ello, se postula que ambas variables tendrán el mismo efecto sobre la GHA. Sin embargo, la GHA tiene un grupo acetilo y uno glicerilo que la GLA no tiene, lo que modifica sus propiedades.

Se ha reportado (Jay et al. 1998; Kasapis et al. 1999; Morris et al. 1996) que los voluminosos grupos acetilo y glicerilo previenen la asociación cercana entre las cadenas en la formación de la doble hélice y dificultan el empaquetamiento de las uniones cruzadas en la red tridimensional. Teniendo en cuenta este esquema, se postula que la adición de iones provoque un aumento menor o nulo en la histéresis térmica durante la fusión y la gelificación de geles de GHA.

### **2.2 Objetivos**

- Determinar por medio de técnicas reológicas el comportamiento de geles de gelana de alto acilo con y sin adición de iones sodio para establecer el efecto que la concentración de polisacárido y iones tienen sobre las temperaturas de fusión y gelificación y el comportamiento viscoelástico de los geles formados.
- Determinar las temperaturas de transición sol-gel de geles formados con distintas concentraciones de gelana y iones sodio para elaborar un diagrama de transición conformacional y poder predecir el comportamiento de geles de GHA en función de la temperatura y la concentración de polímero y de iones.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 METODOLOGÍA

La Figura 12 muestra el diagrama general de la experimentación.

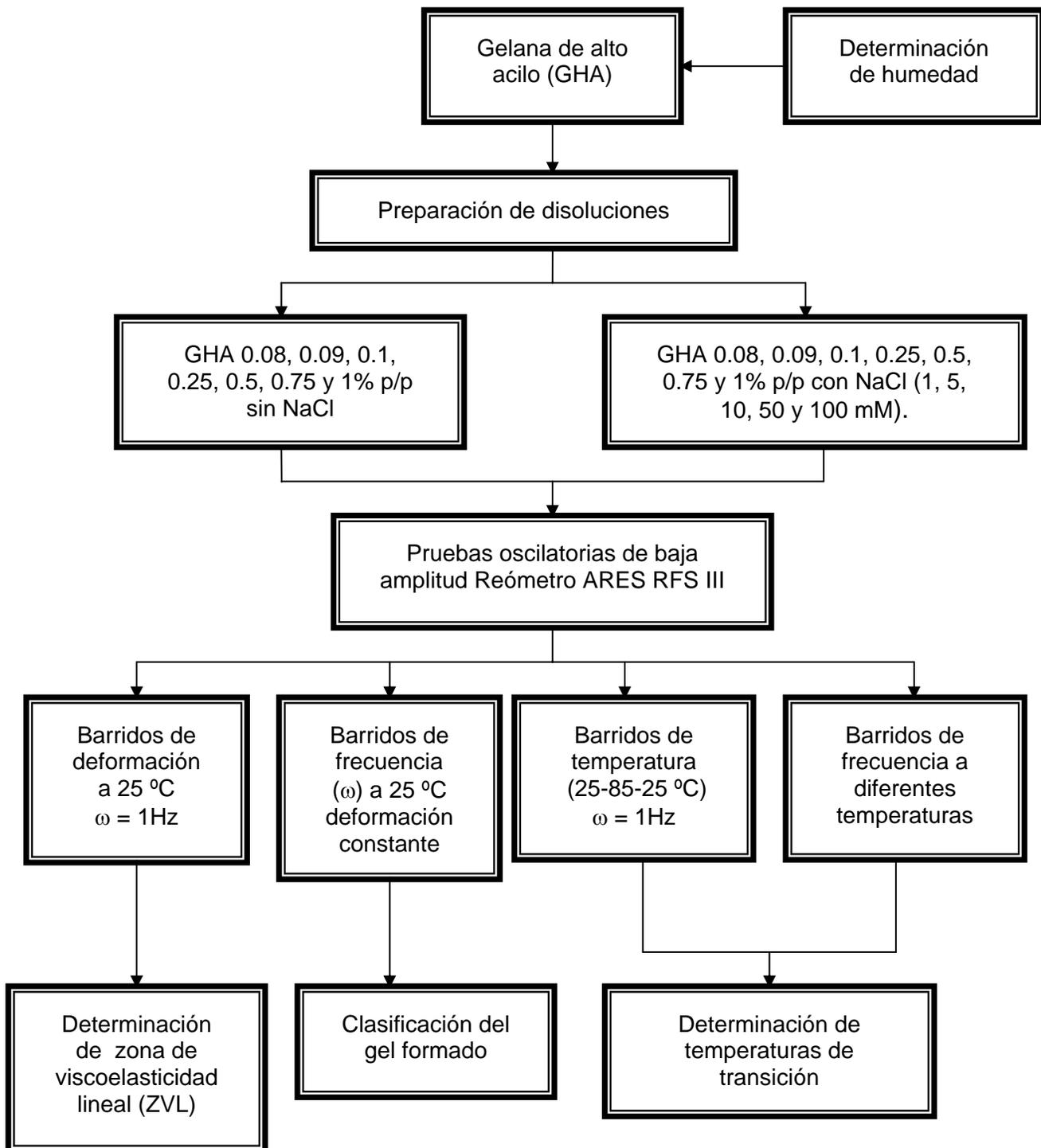


Figura 12. Diagrama general de la experimentación.

## **3.2 Materiales**

Se usó gelana de alto acilo grado alimenticio (KELCOGEL LT 100, CP Kelco, San Diego, USA), cloruro de sodio (MERCK, USA) y agua desionizada. La gelana no fue sometida a ningún tratamiento previo a su utilización. El contenido (%) de iones determinado por absorción atómica fue: 1.36 Na<sup>+</sup>, 4.06 K<sup>+</sup>, 3.45 Ca<sup>+2</sup> y 0.59 Mg<sup>+2</sup>. El contenido de carbohidratos determinado mediante azúcares totales de la GHA fue de 83.4%.

## **3.3 Métodos**

### **3.3.1 Determinación de humedad**

La humedad fue determinada por el método estándar (AOAC,1990) para harinas (PRT-701). Se pesaron 2 g de gelana en un pesa filtro previamente secado a  $130 \pm 3$  °C, enfriado en desecador y pesado tan pronto como alcanzó la temperatura ambiente. Sin cubrir, el pesa filtro se calentó a 130 °C por 1 hora, contada a partir de haber alcanzado dicha temperatura, hasta obtener un peso constante. En seguida se tapó el pesa filtro, se transfirió al desecador y se pesó a temperatura ambiente. La humedad (%) fue calculada por diferencia de pesos y referida a la masa inicial de muestra. La determinación se hizo por triplicado y su valor promedio fue 5.91% con una desviación estándar de 0.033% y un coeficiente de variación de 0.56%.

### **3.3.2 Preparación de geles**

La gelana se dispersó completamente en agua desionizada a temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C). El volumen total fue 100 mL. Una vez dispersa se calentó en

baño María hasta 90 °C, con agitación constante y se mantuvo a esta temperatura por aproximadamente 10 minutos. El agua evaporada durante el calentamiento se compensó agregando agua caliente tomando en cuenta la presencia de cloruro de sodio. La concentración de gelana fue 0.08, 0.09, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 y 1% p/p y para cada concentración se prepararon geles sin agregar NaCl y con 1, 5, 10, 50 y 100 mM de esta sal. La disolución caliente se vació en moldes cilíndricos de 25 mm de diámetro para formar los geles y realizar las pruebas reológicas. Los moldes se enfriaron y se mantuvieron en refrigerador a 7 °C durante 24 h mínimo. Para las pruebas reológicas se cortaron discos de aproximadamente 3 mm de espesor.

### 3.3.3 Relación estequiométrica GHA–Na<sup>+</sup>

Se determinó la cantidad estequiométrica de iones por adicionar para que las disoluciones de gelana (0.08, 0.09, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 y 1% p/p) estuvieran completamente en su forma sódica. Para ello se tomó en cuenta la estructura ideal de la unidad repetitiva de gelana (Figura 9) y se determinó su peso molecular así como el de su forma sódica:

Gelana nativa,  $C_{29}H_{44}O_{24} = 776 \text{ g/mol}$

Sal de sodio,  $C_{29}H_{43}O_{24}Na = 798 \text{ g/mol}$

$$\left( \frac{23 \text{ g Na}}{798 \text{ g GHA}} \right) \left( \frac{1 \text{ mol Na}}{23 \text{ g Na}} \right) \left( \frac{1000 \text{ mmol Na}}{1 \text{ mol Na}} \right) \left( \frac{1 \text{ meq Na}}{1 \text{ mmol Na}} \right) = 1.253 \frac{\text{meq Na}}{\text{g GHA}}$$

$$1.253 \frac{\text{meq}}{\text{g}} = 1.253 \frac{\text{mmol}}{\text{g}} \left( \frac{23 \text{ mg Na}}{1 \text{ mmol Na}} \right) = 28.819 \frac{\text{mg Na}}{\text{g GHA}} = 2.88\%$$

Esta cantidad es superior a la determinada por absorción atómica (1.36 %) lo que indica que la gelana en polvo no es completamente una sal sódica. A manera de ejemplo se

muestra el cálculo para determinar la concentración de iones necesarios para tener una disolución 1% p/p de GHA HA totalmente en su forma sódica.

$$\left( \frac{28.819 \text{ mg Na}}{1 \text{ g GlnHA}} \right) \left( \frac{1 \text{ g GlnHA}}{100 \text{ mL soln}} \right) \left( \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} \right) \left( \frac{1 \text{ mmol Na}}{23 \text{ mg Na}} \right) = 12.53 \text{ mM}$$

Esta cifra indica que es necesaria una concentración de iones sodio de 12.53 mM para tener la cantidad estequiométrica de este ión en una disolución con 1% de gelana. Tomando en cuenta que la cantidad de iones sodio presentes en el polvo de GHA es de 0.593 mmol/g (1.36%), entonces en una disolución con 1% de gelana la concentración de iones ya presentes en el polisacárido es

$$\left( \frac{0.593 \text{ mmol Na}}{1 \text{ g GlnHA}} \right) \left( \frac{1 \text{ g GlnHA}}{100 \text{ mL soln}} \right) \left( \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} \right) = 5.93 \text{ mM}$$

La cantidad de iones presentes en el polvo de gelana no es suficiente para tener las diferentes disoluciones preparadas en su forma sódica. Por ello al adicionar iones se favoreció la formación de la misma, sin embargo, en cada una de las disoluciones se agregó un exceso de iones; 1 mM, 5 mM, 10 mM, 50 mM, 100 mM para asegurar la interacción entre ellos y el polisacárido.

### 3.3.4 Pruebas reológicas

Se llevaron a cabo pruebas de cizalla oscilatoria de pequeña amplitud en un reómetro de deformación controlada ARES-RFS III (TA INSTRUMENTS, USA). Las pruebas se realizaron en una geometría de placas paralelas estriadas de 25 mm de diámetro con una separación de 3 mm y los cambios de temperatura se hicieron usando el sistema Peltier.

### **a) Barrido de deformación**

Se realizaron barridos de deformación, mediante cizalla oscilatoria a 25 °C y 6.28 rad/s para determinar la región de viscoelasticidad lineal (ZVL). En esta zona la relación esfuerzo-deformación es lineal y por lo tanto las funciones materiales son independientes de ambas variables.

### **b) Barrido de frecuencia**

Los barridos de frecuencia se realizaron en un intervalo de 0.1 a 100 rad/s a deformación constante y 25 °C, para determinar el comportamiento viscoelástico de los sistemas preparados.

### **c) Barrido de temperatura**

Los barridos de temperatura se realizaron a una frecuencia de 6.28 rad/s, a la deformación determinada en los barridos de deformación y en intervalos de temperatura de 25 a 85 °C (calentamiento) y de 85 a 25 °C (enfriamiento) para determinar la temperatura de transición gel-sol y sol-gel, respectivamente.

### **d) Barridos de temperatura a diferentes frecuencias**

Sólo se examinó el gel con 1% de gelana y 10 mM de NaCl. Se realizaron barridos de temperatura de 25 a 85 °C y de 85 a 25 °C a frecuencias de 0.628, 6.28 y 62.8 rad/s para determinar si las temperaturas de transición dependen de la frecuencia y por lo tanto del tiempo.

**e) Barridos de frecuencia a diferentes temperaturas (método de la tangente crítica)**

Estas pruebas se realizaron para comparar con el método del cruce de  $G'$  y  $G''$  en los barridos de temperatura a una frecuencia constante. Se realizaron barridos de frecuencia en un intervalo de 0.1 a 100 rad/s a diferentes temperaturas, las cuales fueron propias de cada gel y de cada temperatura de transición determinada mediante la intersección de los módulos  $G'$  y  $G''$  en los barridos de temperatura. Esto significa que se realizaron diferentes barridos de frecuencia a diferentes temperaturas, por debajo y por arriba de la temperatura de transición encontrada mediante el cruce de los módulos de almacenamiento y pérdida. Una vez concluidos estos barridos se obtuvieron varias temperaturas para una misma frecuencia mismas que se graficaron con sus respectivos valores de  $\tan \delta$  y se determinó la temperatura de transición como el punto de intersección de todas las rectas que resultan a graficar la  $\tan \delta$  vs la temperatura.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Temperaturas de transición a partir de los barridos de temperatura

Mediante los barridos de temperatura en calentamiento y enfriamiento se determinaron las temperaturas de transición gel-sol y sol-gel, respectivamente. Para ello se localizó el punto en el cual  $G' = G''$ , es decir,  $\tan \delta = 1$ . Cabe mencionar que la transición no ocurre a una temperatura, sino sobre un intervalo de temperaturas. Sin embargo, para fines prácticos se toma en el punto de congruencia de los módulos dinámicos.

La Figura 13a muestra el barrido de temperatura de un gel con 0.08% p/p de GHA sin adición de iones. Durante el calentamiento el cruce de  $G'$  con  $G''$  ocurrió a una mayor temperatura que el cruce de estos mismos módulos durante el enfriamiento, es decir, la temperatura de fusión ( $T_m$ ) y gelificación ( $T_g$ ) del gel formado no fueron iguales. A esta diferencia de temperaturas de fusión y gelificación se le conoce como histéresis térmica.

La Figura 13b corresponde al espectro de un gel con 0.08% p/p de gelana y 50 mM de NaCl. Los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) se cruzaron a diferentes temperaturas durante el calentamiento y el enfriamiento. Sin embargo, la histéresis térmica disminuyó de manera significativa al agregar los iones. La Figura 13c corresponde a un gel con 1% de gelana sin iones adicionados. Al compararlo con el de 0.08% p/p de gelana (Figura 13a) se observa claramente como el aumento de concentración de polisacárido resultó en una disminución considerable de la histéresis térmica y ambas temperaturas fueron muy cercanas. El Cuadro 2 muestra las temperaturas de fusión y gelificación de los geles con diferentes concentraciones de gelana y de NaCl, determinadas mediante el cruce de los módulos dinámicos, así como la histéresis térmica expresada por la diferencia  $\Delta T = T_m - T_g$ . Globalmente, la adición

de iones y el aumento de la concentración de gelana redujeron la histéresis térmica. Sin embargo, el efecto fue diferente para una combinación dada.

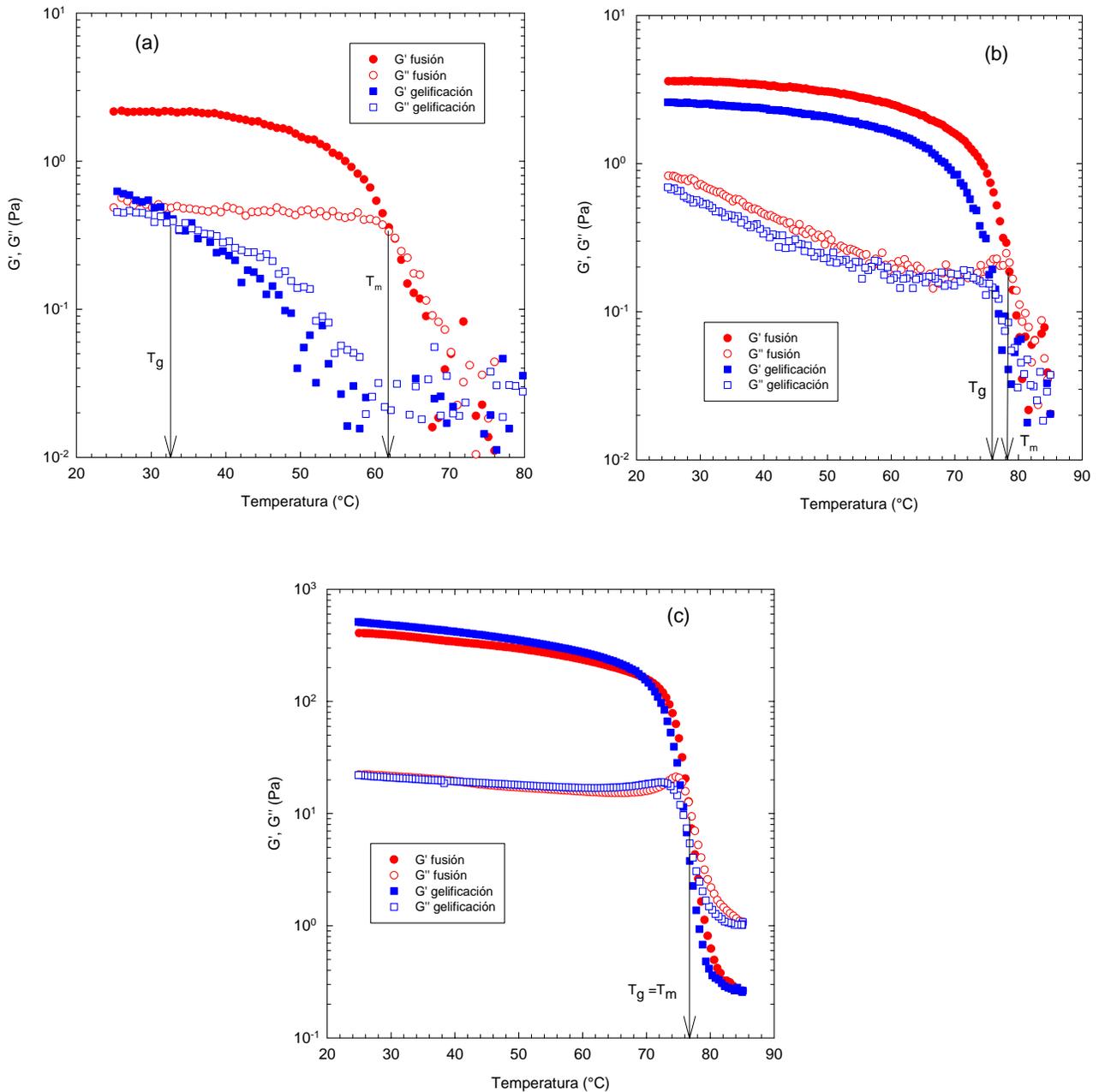


Figura 13. Determinación de las temperaturas de transición a partir de barridos de temperatura de diferentes combinaciones gelana + NaCl. a) 0.08% sin NaCl, b) 0.08% + 50 mM y c) 1% sin NaCl.

Cuadro 2. Temperaturas promedio (°C) de transición en los barridos de temperatura.

GHA 0.08%						
NaCl (mM)	0	1	5	10	50	100
T <sub>m</sub> (°C)	62.4 ± 0.092	66.3 ± 0.212	68.8 ± 0.390	72.0 ± 0.390	78.6 ± 0.270	80.3 ± 0.141
T <sub>g</sub> (°C)	36.4 ± 0.771	55.7 ± 0.198	64.9 ± 1.80	69.2 ± 0.537	77.5 ± 1.20	79.8 ± 1.03
ΔT (°C)	26.0	10.6	3.90	2.80	1.10	0.50
Gelana HA 0.09%						
T <sub>m</sub> (°C)	61.3 ± 0.184	66.0 ± 1.68	69.9 ± 0.785	71.9 ± 1.10	78.8 ± 0.184	81.4 ± 0.530
T <sub>g</sub> (°C)	37.6 ± 3.32	55.4 ± 4.09	67.8 ± 0.841	69.0 ± 0.311	78.2 ± 0.290	80.7 ± 0.184
ΔT (°C)	23.7	10.6	2.10	2.90	0.60	0.70
GHA 0.1%						
T <sub>m</sub> (°C)	62.8 ± 0.311	65.6 ± 0.573	69.4 ± 0.537	72.1 ± 0.550	79.3 ± 0.0354	81.1 ± 0.460
T <sub>g</sub> (°C)	51.1 ± 0.0919	57.2 ± 0.983	66.5 ± 0.933	68.9 ± 0.453	79.3 ± 0.205	82.4 ± 2.27
ΔT (°C)	11.7	8.40	2.90	3.20	0.00	-1.30
GHA 0.25%						
T <sub>m</sub> (°C)	67.0 ± 0.509	68.3 ± 0.248	71.3 ± 0.0495	75.1 ± 0.276	80.2 ± 0.431	83.7 ± 0.438
T <sub>g</sub> (°C)	63.0 ± 0.424	67.3 ± 4.05	68.7 ± 0.219	73.9 ± 0.198	79.3 ± 0.474	83.4 ± 0.474
ΔT (°C)	4.00	1.00	2.60	1.20	0.90	0.30
GHA 0.5%						
T <sub>m</sub> (°C)	74.1 ± 1.48	72.2 ± 0.0778	73.9 ± 0.141	76.5 ± 0.0778	81.4 ± 0.140	83.6 ± 0.214
T <sub>g</sub> (°C)	72.7 ± 1.57	70.9 ± 0.325	72.8 ± 0.431	75.4 ± 0.113	80.8 ± 0.0153	83.6 ± 0.258
ΔT (°C)	1.40	1.30	1.10	1.10	0.60	0.00
GHA 0.75%						
T <sub>m</sub> (°C)	74.5 ± 0.0849	75.1 ± 1.57	76.0 ± 0.926	77.0 ± 0.453	82.5 ± 1.52	84.1 ± 0.255
T <sub>g</sub> (°C)	73.9 ± 0.424	73.9 ± 0.990	74.9 ± 0.566	75.8 ± 0.099	81.3 ± 0.403	83.3 ± 0.0566
ΔT (°C)	0.60	1.20	1.10	1.20	1.20	0.80
GHA 1%						
T <sub>m</sub> (°C)	76.1 ± 0.537	76.5 ± 0.502	78.1 ± 1.19	78.6 ± 0.0707	81.2 ± 0.0141	83.9 ± 0.0424
T <sub>g</sub> (°C)	75.4 ± 0.926	75.7 ± 0.205	77.2 ± 0.849	77.9 ± 0.240	81.0 ± 0.0354	83.8 ± 0.255
ΔT (°C)	0.70	0.80	0.90	0.70	0.20	0.10

Por ejemplo, en ausencia de NaCl la histéresis térmica disminuyó notablemente con el aumento de la concentración de gelana. Tal disminución no fue proporcional al incremento de la concentración de polisacárido, sino que se aproximó a una dependencia del tipo  $\Delta T = bC^n$  con  $b = 0.52$  y  $n = -1.50$  ( $r = 0.9887$ ). El valor del exponente  $n$  se aproximó a cero con el aumento de la concentración de NaCl de modo que para 100 mM, la histéresis térmica fue menor de 1 °C para todas las

concentraciones de gelana, es decir, prácticamente independiente de la concentración de polisacárido. Por otro lado, para una concentración dada de gelana, el aumento de la concentración de NaCl resultó en una disminución de la histéresis térmica. La dependencia fue del mismo tipo que para la concentración de polisacárido y se hizo prácticamente inexistente para concentraciones de gelana de 0.75 y 1%. Adicionalmente, la adición de iones y el aumento de concentración de gelana, aun sin adición de iones, redujeron la dispersión de ambos módulos por arriba de la transición. El aumento de la concentración de gelana y la adición de iones, aumentan tanto la temperatura de fusión como la de gelificación. El aumento de  $T_m$  y  $T_g$  puede ser explicado por el hecho de que al aumentar la concentración de polímero, aumentan las interacciones entre dobles hélices y en presencia de iones monovalentes aumentan las interacciones doble hélice- $\text{Na}^+$ - $\text{H}_2\text{O}$ - $\text{Na}^+$ -doble hélice incrementándose así las asociación entre dobles hélices lo que hace que el gel formado tenga mayor estabilidad térmica y en consecuencia las temperaturas de fusión y gelificación aumenten.

#### **4.2 Temperaturas de transición a partir de los barridos de temperatura a diferentes frecuencias**

Una vez obtenidas las temperaturas de transición para todos los geles, se seleccionó aquél que mostró un claro cruce de  $G'$  y  $G''$ ; 1% de GHA + 100 mM NaCl (Fig. 14). Este gel fue sometido a barridos de temperatura a frecuencias de 0.628, 6.28 y 62.8 rad/s, para determinar si las temperaturas de transición dependen de la frecuencia y por ende del tiempo. Puesto que las temperaturas de gelificación y fusión son propiedades intrínsecas del material, no pueden depender de la frecuencia en los experimentos dinámicos.

En el Cuadro 3 se muestran las temperaturas de transición obtenidas. Las temperaturas de fusión y gelificación fueron muy cercanas, lo cual muestra que en los geles examinados ambas temperaturas no dependen de la frecuencia y por lo tanto la transición no está afectada por el tiempo.

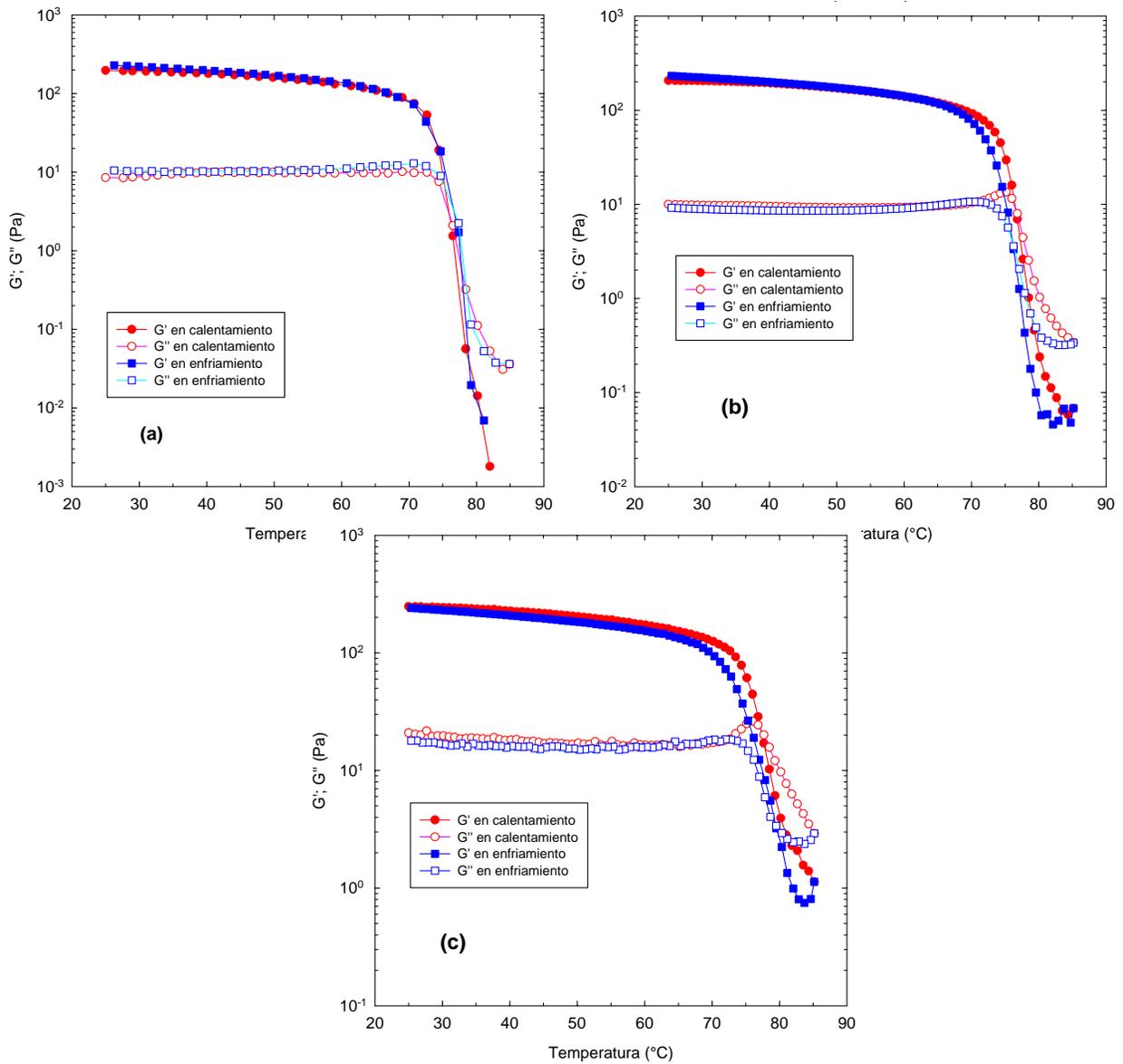


Figura 14. Barrido de temperatura a diferentes frecuencias (rad/s): a) 0.628, b) 6.28 y c) 62.8

Cuadro 3. Temperaturas de transición en barridos de temperatura a diferentes frecuencias.

Frecuencia (rad/s)	$T_m$ (°C)	$T_g$ (°C)
0.628	76.0	76.6
6.28	76.5	76.2
62.8	77.3	78.4

#### 4. 3 Temperaturas de transición por el método de la $\tan \delta$ crítica

Dentro de la zona de viscoelasticidad lineal, se realizaron barridos de frecuencia a temperaturas superiores e inferiores de las de fusión y gelificación determinadas mediante los barridos de temperatura. En la Figura 15 se muestran los espectros dinámicos obtenidos cerca de la temperatura de fusión,  $T_m$ , de un gel con 0.1% de gelana y 100 mM de NaCl.

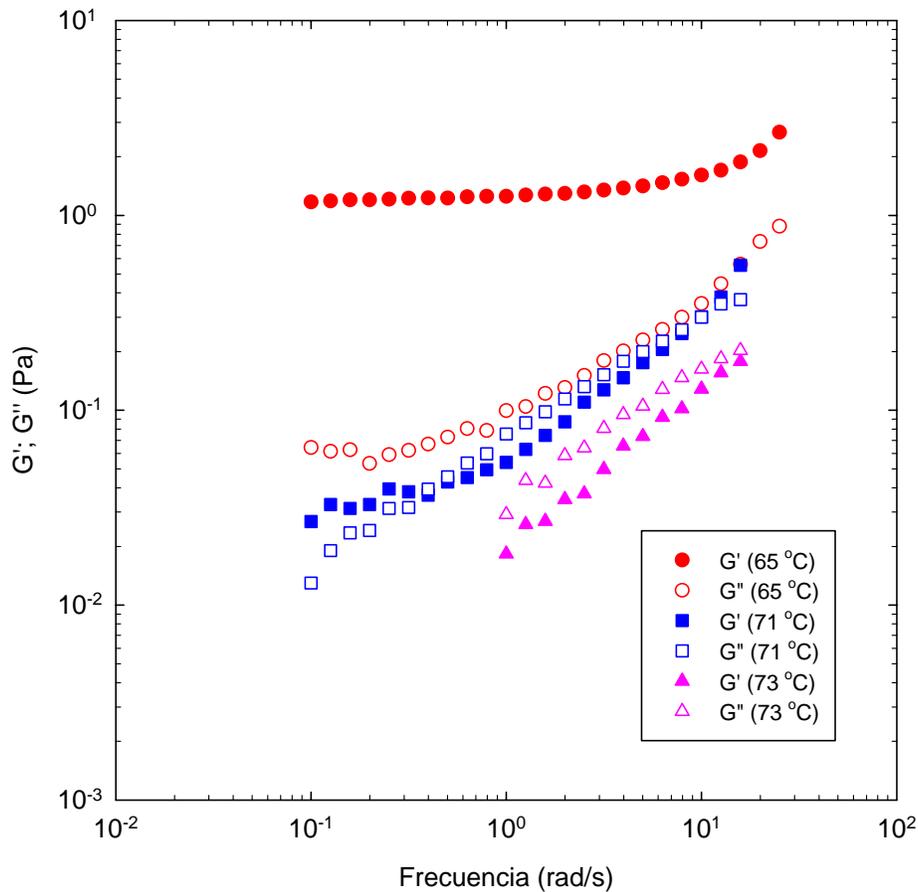


Figura 15. Espectros mecánicos a diferentes temperaturas para la determinación del ángulo de fase crítica. La deformación fue 40% para 65 °C y 50% para 71 y 73 °C

A temperaturas menores que la temperatura de fusión se observa un comportamiento de gel, es decir  $G' > G''$  con un “plateau” elástico característico para  $G'$ . Cerca de la temperatura de transición ambos módulos tienen valores similares y por arriba de la temperatura de fusión el módulo de pérdida fue mayor que el módulo de almacenamiento. La Figura 16 muestra la gráfica resultante del análisis de los datos mostrados en la Figura 15. La tangente del ángulo de desfase crítico es para el gel mostrado el punto de convergencia de las curvas con diferente frecuencia. En dicho punto la tangente del ángulo de desfase es independiente de la frecuencia y por lo tanto corresponde a la temperatura de fusión, la cual es aproximadamente  $69.6\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

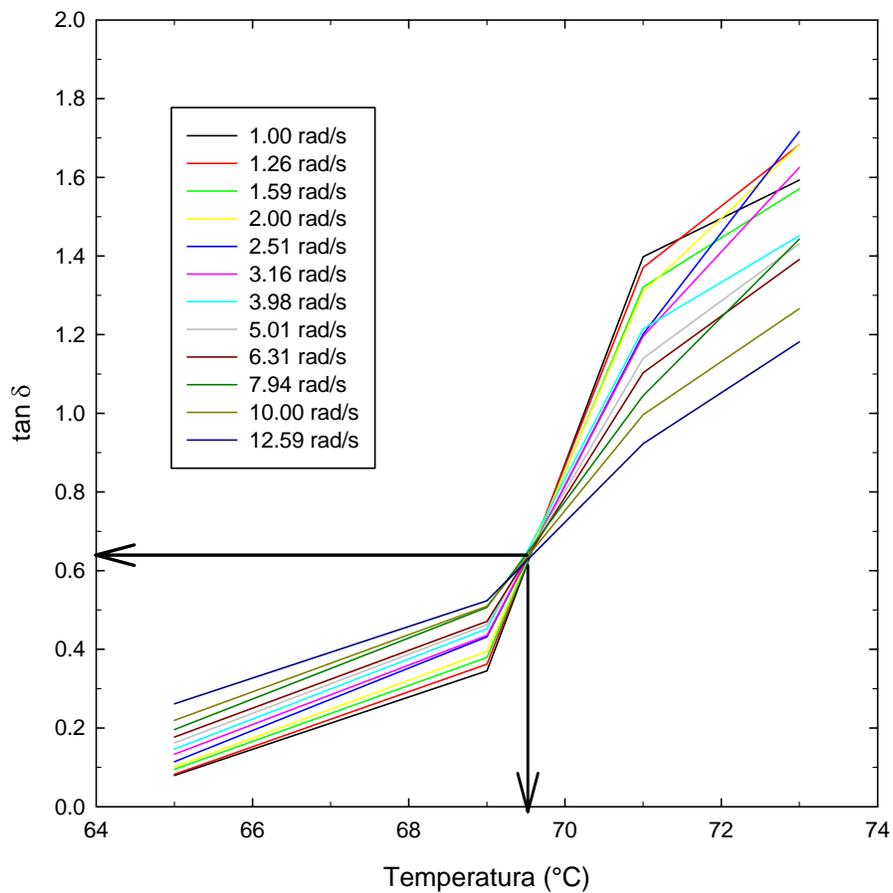


Figura 16. Ángulo de desfase crítico y temperatura de transición gel-sol de gelatina 0.1% con 10 mM NaCl

Vale la pena hacer notar que el ángulo de desfase crítico ocurre para  $\tan \delta = 0.62$  y no para  $\tan \delta = 1.0$  como predice la teoría. Esta diferencia se debe a la dispersión de los módulos con la frecuencia. El Cuadro 4 muestra las temperaturas de transición de los diferentes geles determinadas por este procedimiento. Cabe mencionar que con este método sólo se examinó el efecto de una concentración de iones (10 mM), es decir, se examinaron concentraciones de gelana de alto acilo de 0.08, 0.1, 0.5, 0.75 y 1% sin iones y estas mismas concentraciones con 10 mM de NaCl.

Cuadro 4. Temperaturas de transición a partir de barridos de frecuencia.

GHA 0.08%			GHA 0.5%		
NaCl (mM)	0	10	NaCl (mM)	0	10
$T_m$ (°C)	$56.6 \pm 3.89$	$69.3 \pm 0.198$	$T_m$ (°C)	$68.1 \pm 3.35$	$72.5 \pm 0.361$
$T_g$ (°C)	$49.3 \pm 3.31$	$66.6 \pm 1.02$	$T_g$ (°C)	$68.7 \pm 3.80$	$72.2 \pm 0.106$
$\Delta T$ (°C)	7.30	2.7	$\Delta T$ (°C)	-0.60	0.30
GHA 0.1%			GHA 0.75%		
$T_m$ (°C)	$56.7 \pm 1.34$	$69.0 \pm 0.750$	$T_m$ (°C)	$68.3 \pm 0.450$	$75.0 \pm 3.09$
$T_g$ (°C)	$50.7 \pm 0.665$	$68.0 \pm 0.0566$	$T_g$ (°C)	$68.1 \pm 0.976$	$77.9 \pm 0.516$
$\Delta T$ (°C)	6.00	1.00	$\Delta T$ (°C)	0.20	-2.90
GHA 0.25%			GHA 1.0%		
$T_m$ (°C)	$65.5 \pm 2.40$	$70.6 \pm 0.0212$	$T_m$ (°C)	$75.4 \pm 1.49$	$77.0 \pm 0.177$
$T_g$ (°C)	$63.9 \pm 3.06$	$69.8 \pm 0.912$	$T_g$ (°C)	$75.7 \pm 0.0919$	$75.1 \pm 0.0919$
$\Delta T$ (°C)	1.60	0.80	$\Delta T$ (°C)	-0.30	1.90

También con este método, las temperaturas de fusión y de gelificación aumentaron al aumentar la concentración de gelana y de contraiones. La histéresis térmica fue mayor para bajas concentraciones de gelana y fue prácticamente nula para altas concentraciones de polisacárido y de contraiones.

En el Cuadro 5 se comparan las temperaturas de transición determinadas a partir de los barridos de frecuencia (BF) por el método de la tangente de delta crítica con las obtenidas con el cruzamiento de  $G'$  y  $G''$  en los barridos de temperatura (BT).

Cuadro 5. Temperaturas de fusión y gelificación determinadas por los métodos de cruzamiento de los módulos dinámicos en barridos de temperatura (BT) y ángulos de fase crítica (FS).

	0 mM NaCl			10 mM NaCl		
GHA 0.08%						
Método	BT	BF	$\Delta T$ (°C)	BT	BF	$\Delta T$ (°C)
$T_m$ (°C)	$62.4 \pm 0.092$	$56.6 \pm 3.89$	5.80	$72.0 \pm 0.390$	$69.3 \pm 0.198$	2.70
$T_g$ (°C)	$36.4 \pm 0.771$	$49.3 \pm 3.31$	-12.9	$69.2 \pm 0.537$	$66.6 \pm 1.02$	2.60
GHA 0.1%						
$T_m$ (°C)	$62.8 \pm 0.311$	$56.7 \pm 1.34$	6.10	$72.1 \pm 0.550$	$69.0 \pm 0.750$	3.10
$T_g$ (°C)	$51.1 \pm 0.0919$	$50.7 \pm 0.665$	0.40	$68.9 \pm 0.453$	$68.0 \pm 0.0566$	0.90
GHA 0.25%						
$T_m$ (°C)	$67.0 \pm 0.509$	$65.5 \pm 2.40$	1.50	$75.1 \pm 0.276$	$70.6 \pm 0.0212$	4.50
$T_g$ (°C)	$63.0 \pm 0.424$	$63.9 \pm 3.06$	-1.00	$73.9 \pm 0.198$	$69.8 \pm 0.912$	4.10
GHA 0.5%						
$T_m$ (°C)	$74.1 \pm 1.48$	$68.1 \pm 3.35$	5.90	$76.5 \pm 0.0778$	$72.5 \pm 0.361$	4.00
$T_g$ (°C)	$72.7 \pm 1.57$	$68.7 \pm 3.80$	4.00	$75.4 \pm 0.113$	$72.2 \pm 0.106$	3.20
GHA 0.75%						
$T_m$ (°C)	$74.5 \pm 0.0849$	$68.3 \pm 0.450$	6.20	$77.0 \pm 0.453$	$75.0 \pm 3.09$	2.50
$T_g$ (°C)	$73.9 \pm 0.424$	$68.1 \pm 0.976$	5.80	$75.8 \pm 0.099$	$77.9 \pm 0.516$	-2.10
GHA 1%						
$T_m$ (°C)	$76.1 \pm 0.537$	$75.4 \pm 1.49$	0.80	$78.6 \pm 0.0707$	$77.0 \pm 0.177$	1.60
$T_g$ (°C)	$75.4 \pm 0.926$	$75.7 \pm 0.0919$	-0.30	$77.9 \pm 0.240$	$75.1 \pm 0.0919$	2.80

Con excepción de algunos casos, las temperaturas de transición determinadas por el método BT fueron superiores a las del método BF para todas las concentraciones de gelana con y sin adición de NaCl. Los casos de excepción corresponden a los valores negativos de  $\Delta T$  mostrados en el Cuadro 5. La mayor diferencia observada fue

aproximadamente 6 °C y ocurrió para las concentraciones que presentaron mayor histéresis térmica. El método de la tangente de delta crítica es más preciso que los barridos de temperatura ya que en el primero se toman en cuenta varias frecuencias, mientras que en el cruzamiento de  $G'$  y  $G''$  sólo una. No obstante este último método es más rápido, sencillo y proporciona un valor aproximado de la temperatura de transición.

#### 4.4 Diagrama de transición sol-gel

La Figura 17 muestra la variación del logaritmo de la concentración iónica total, concentración de gelana más concentración total de iones sodio, que incluye la ya presente más la agregada, contra el inverso de las temperaturas absolutas de fusión y de gelificación determinadas por los métodos BT y BF. La tendencia de los datos obtenidos por ambos métodos es la misma.

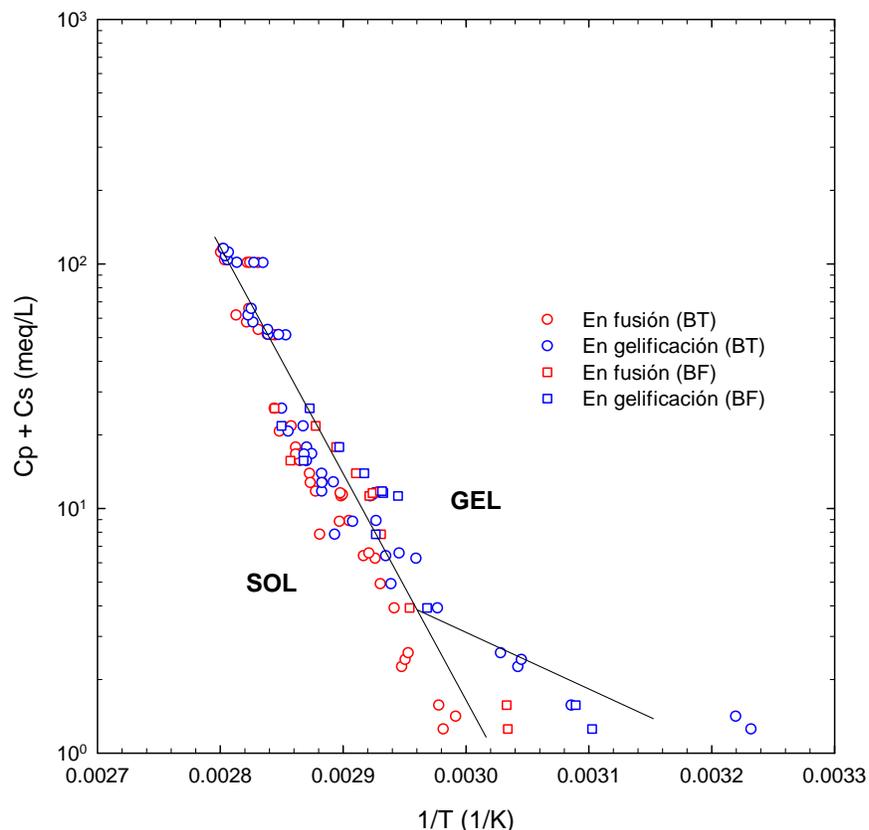


Figura 17. Diagrama de transición sol-gel. Las líneas muestran la tendencia de los datos.

A concentraciones bajas, aproximadamente menores de 4.6 meq/L, se observa el fenómeno de histéresis térmica lo cual explica que la gelificación de GHA ocurre en dos pasos; primero, las cadenas simples aleatorias de gelana pasan a ser dobles hélices, seguido de la transición sol-gel, debido a la agregación de las dobles hélices, mediada por interacciones iónicas (doble hélice- $\text{Na}^+$ - $\text{H}_2\text{O}$ - $\text{Na}^+$ -doble hélice), para formar una red tridimensional. Conforme se va aumentando la concentración tanto de polímero como de iones el fenómeno va siendo cada vez menor hasta llegar a un punto (4.6 meq/L aproximadamente) en el que es mínimo o casi nulo. Esto se debe a que a altas concentraciones solamente tiene lugar la transición de hebra aleatoria a doble hélice sin que se llegue a presentar la agregación de las dobles hélices mediada por iones y este es el motivo por el cual la misma temperatura de fusión y gelificación es observada.

El fenómeno de histéresis térmica se ve disminuido y en ciertos casos eliminado ya que las dobles hélices formadas no se agregan para formar una red tridimensional debido a que los grupos acetato situados en la periferia de las dobles hélices impiden la compactación y agregación de las dobles hélices. Por otro lado a altas concentraciones de gelana, sin adición de iones, las moléculas de polímero se encuentran muy cerca unas con otras, lo que favorece las interacciones de las cadenas aleatorias, la formación y el entrecruzamiento de las dobles hélices, sin implicar zonas de unión mediadas por iones. En cuanto a los iones, al aumentar la concentración éstos en disolución, comienza a haber un exceso de contraiones lo que ocasiona que en los grupos carboxilo del residuo glucurónico comiencen a presentar repulsión electrostática y las dobles hélices se repelan unas a otras impidiendo su agregación.

#### **4.5 Variación de los módulos dinámicos con la frecuencia**

En la Figura 18 se muestran los espectros dinámicos para diferentes concentraciones de gelana y iones. El gel con la concentración más baja de polisacárido, 0.08% p/p, sin adición de iones (Figura 18a) aún cuando no tenía un aspecto físico sólido, mostró un comportamiento característico de gel con  $G'$  mayor a  $G''$ , con moderada dependencia de ambos módulos con la frecuencia, lo que lo caracteriza como gel débil. En los geles con mayor concentración tanto de iones como de GHA (Figuras 18b a 18f),  $G'$  continuó siendo superior a  $G''$  pero la diferencia entre ellos fue cada vez mayor y su dependencia con la frecuencia cada vez menor. Esto demuestra que la fuerza del gel aumentó conforme aumentó la concentración de GHA y de iones.

En la Figura 19 se muestra la ubicación de los sistemas estudiados, sin iones, dentro del diagrama de transición sol-gel. Todos estos sistemas se encuentran dentro de la región gel; el sistema de concentración más baja se localiza cerca de la transición pero aún dentro de la región gel lo que confirma el comportamiento mostrado en los barridos de frecuencia, es decir, que todos los sistemas examinados a temperatura ambiente mostraron comportamiento de gel. Al adicionar iones los sistemas se localizan cada vez más lejos de la transición como se ilustra en la Figura 20.

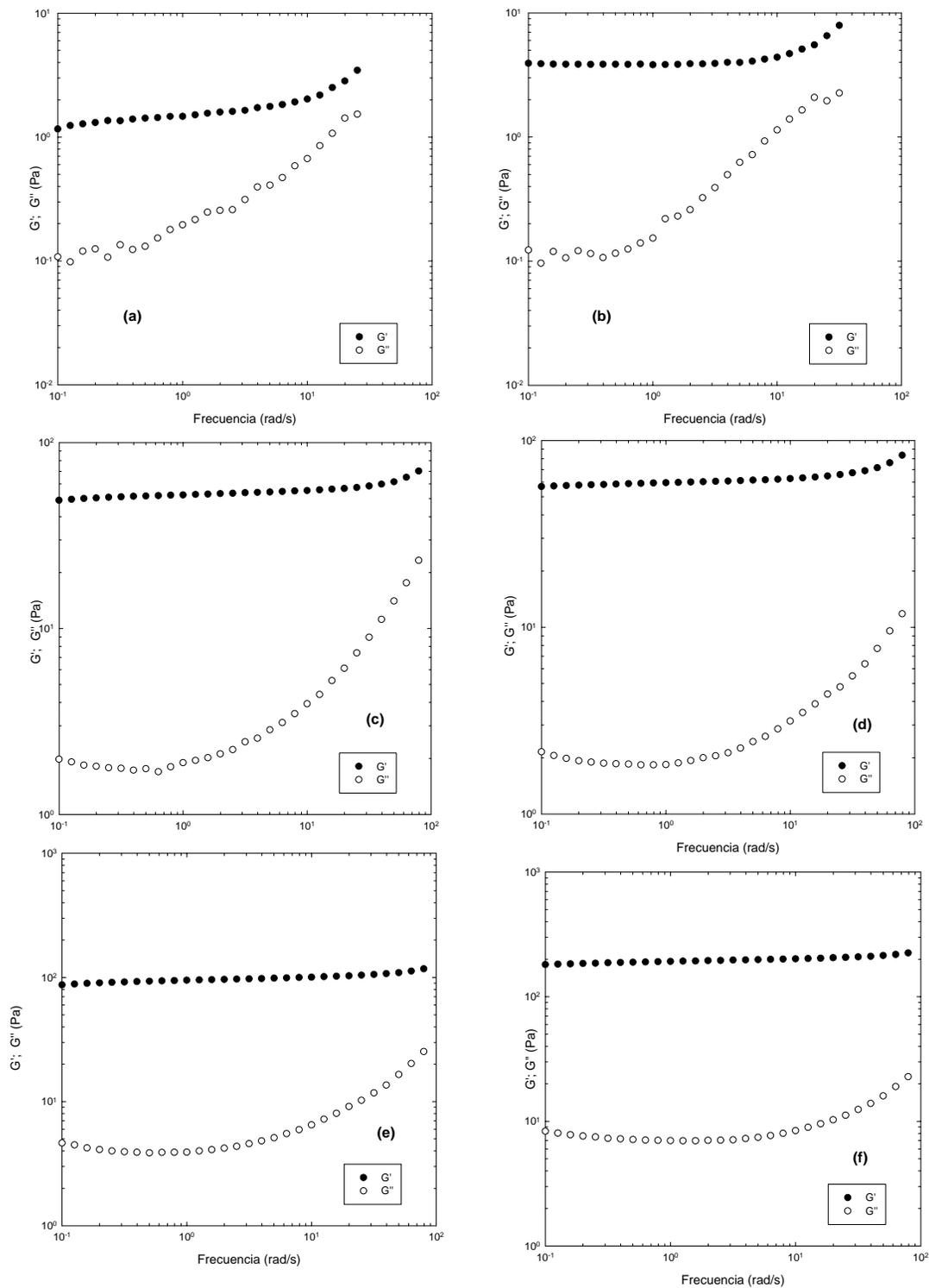


Figura. 18. Variación de los módulos dinámicos con la frecuencia para geles de gelatina: a) 0.08%, b) 0.08% + 100 mM NaCl, c) 0.5%, d) 0.5% + 100 mM NaCl, e) 1% y f) 1% + 100 mM NaCl.

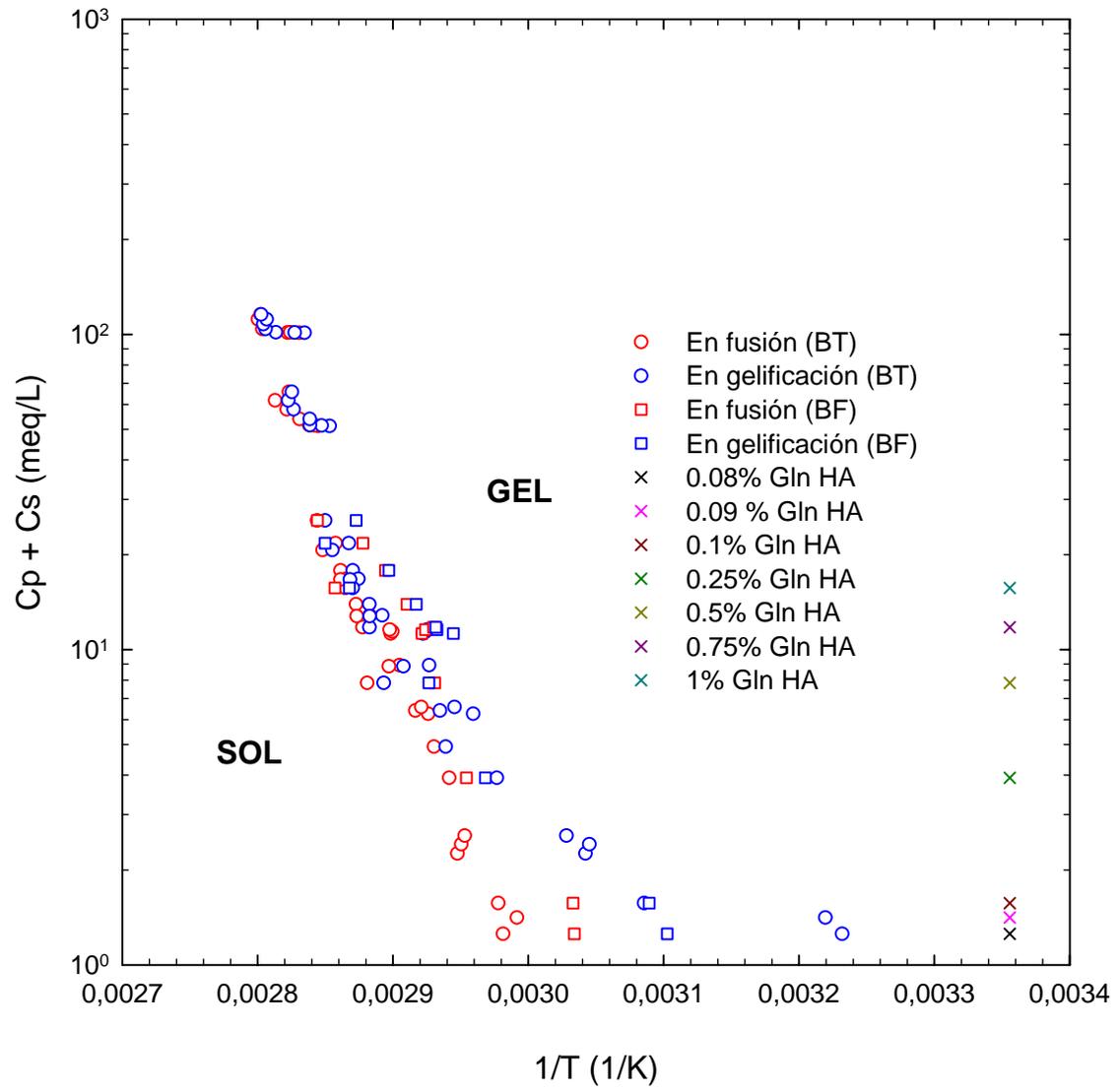


Figura 19. Ubicación de los sistemas estudiados (cruces) sin iones, dentro del diagrama de transición sol-gel

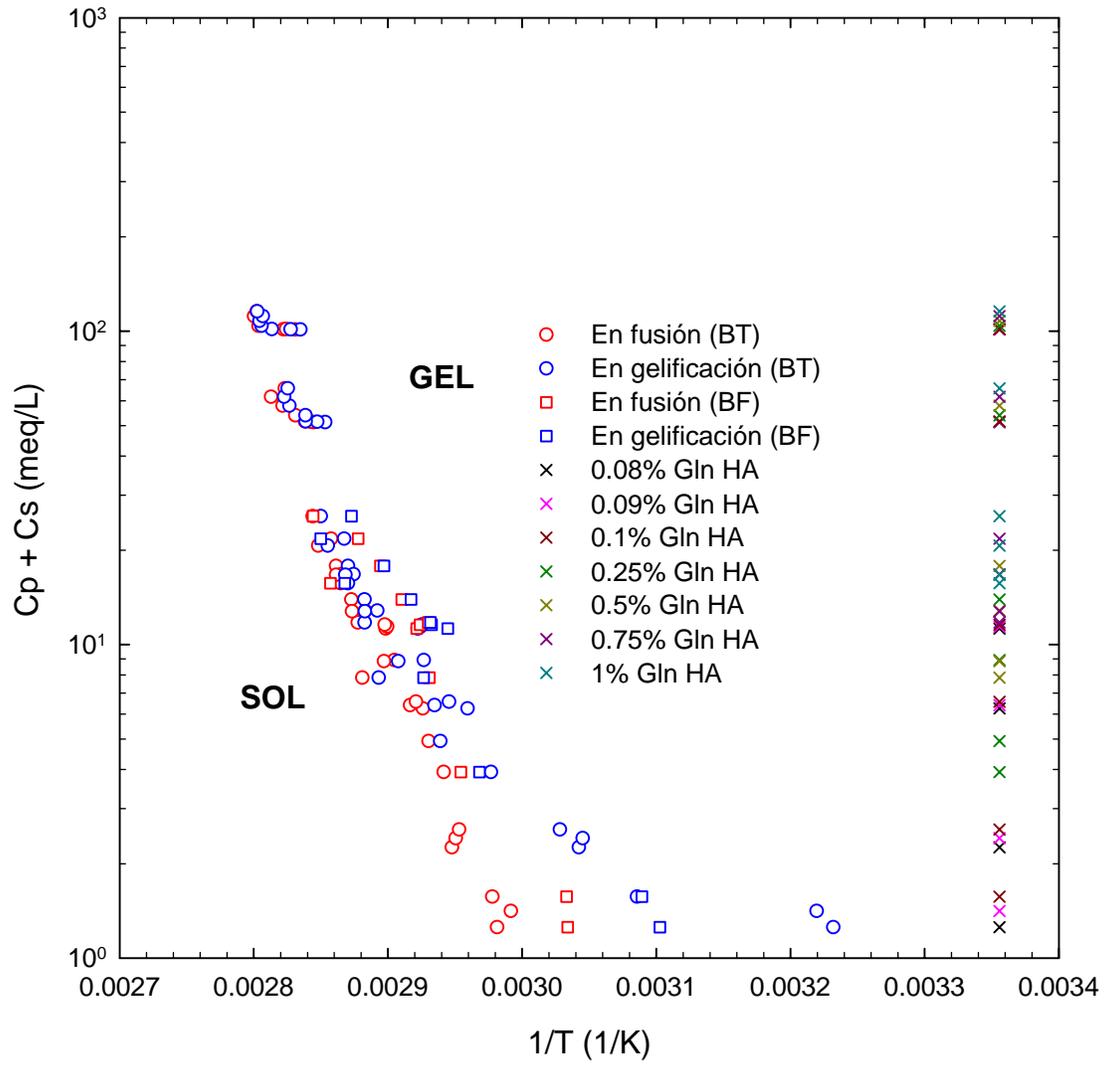


Figura 20. Ubicación de los sistemas estudiados (cruces) con y sin iones dentro del diagrama de transición sol-gel

## CONCLUSIONES

La gelana de alto acilo puede formar geles a concentraciones tan bajas como 0.08% p/p con espectros mecánicos característicos de gel débil.

Tanto el método de cruce de los módulos  $G'$  y  $G''$  durante los barridos de temperatura como el método de tangente crítica de delta mostraron ser útiles para la determinación de la temperatura de transición sol-gel de disoluciones de gelana de alto acilo.

Todas las formulaciones estudiadas formaron geles termoreversibles. Al aumentar la concentración de polisacárido aumentó la temperatura, tanto de fusión como de gelificación ya que este aumento en la concentración de gelana favoreció las interacciones entre las cadenas de polisacárido fomentando la formación de las dobles hélices y su entrecruzamiento. Al haber más uniones, tanto el punto de fusión como de gelificación aumentaron. La adición de iones tiene el mismo efecto, hasta cierto punto en el que los grupos carboxilo, puntos de unión del  $\text{Na}^+$ , son completamente saturados y la adición de iones produce un exceso de los mismos provocando que las dobles hélices se repelan.

Se logró la construcción de un diagrama de transición en el cual se observa que a concentraciones bajas, aproximadamente menores de 4.6 meq/L la histéresis térmica está presente, esto se debe a que a esas concentraciones la gelificación de GHA se da en dos pasos, de cadenas aleatorias a dobles hélices y de dobles hélices a red tridimensional. Por encima de ese punto (4.6 meq/L) la histéresis térmica ya no es observable, esto debido a que al aumentar la concentración de gelana, los grupos acetato situados en la periferia de las dobles hélices aumentan e impiden su compactación, además, las altas concentraciones de iones provocan repulsión entre las dobles hélices impidiendo la agregación, mediada por iones, provocando que solo la

transición hebra aleatoria-doble hélice tenga lugar. Con el diagrama de transición construido se puede identificar fácilmente el comportamiento, ya sea de disolución macromolecular, gel débil o gel que tendrán distintas disoluciones de gelana HA, con y sin adición de iones a diferentes temperaturas.

## REFERENCIAS

- Abramovic, H., Klofutar, C. (2006). Water adsorption isotherms of some gellan gums samples. *Journal of Food Engineering* 77, 514-520.
- 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.
- Barnes, H.A., Hutton, J.F., Walters, K. (1992). *An Introduction to Rheology*, Rheology Series, 3. Elsevier, The Netherlands.
- Chaplin, M. (2008). *Water structure and science. Gellan gum*. London South Bank University (<http://www.lsbu.ac.uk/water/hygellan.html>) consultada en abril de 2009.
- CP Kelco (2008). *Gellan gum*. <http://cpkelco.com/food/gellan.html> consultado en marzo de 2009).
- Fennema, O.R. (1995). *Química de los Alimentos*. Acribia, Segunda edición. España.
- Ferry, J.D. (1980). *Viscoelastic Properties of Polymers*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Goh, K.K.T., Haisman, D.R., Singh, H. (2006). Characterization of a high acyl gellan polysaccharide using light scattering and rheological techniques. *Food Hydrocolloids* 20, 176-183.
- Grasdalen, H., Smidsrød, O. (1987). Gelation of Gellan Gum. *Carbohydrate Polymers* 7, 371-393.
- Huang, Y., Cavinato, A.G., Tang, J., Swanson, B.G., Lin, M., Rasco, B.A. (2007). Characterization of sol-gel transitions of food hydrocolloids with near infra-red spectroscopy. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 40, 1018-1026.

- Huang, Y., Singh, P.P., Tang, J., Swanson, B.G. (2004). Gelling temperatures of high acyl gellan as affected by monovalent and divalent cations with dynamic rheological analysis. *Carbohydrate Polymers* 56, 27- 33.
- Huang, Y., Tang, J., Swanson, B.G., Cavinato, A.G., Lin, M., Rasco, B.A. (2003a). Near infrared spectroscopy: a new tool for studying physical and chemical properties of polysaccharide gels. *Carbohydrate Polymers* 53, 281- 288.
- Huang, Y., Tang, J., Swanson, B.G., Rasco, B.A. (2003b). Effect of calcium concentration on textural properties of high and low acyl mixed gellan gels. *Carbohydrate Polymers* 54, 517-522.
- Jay, A.J., Colquhoun, I.J., Ridout, M.J., Brownsey, G.J., Morris, V.J., Fialho, A.M., Leitão, J.H., Sá-Correia, I. (1998). Analysis of structure and function of gellans with different substitution patterns. *Carbohydrate Polymers* 35, 179-188.
- Kasapis, S., Giannouli, P., Hember, M.W.N, Evageliou, V., Poulard, C., Tort-Bourgeois, B., Sworn, G. (1999). Structural aspects and phase behaviour in deacylated ad high acyl gellan systems. *Carbohydrate Polymers* 38, 145–154.
- Mao, R., Tang, J., Swanson, B.G. (2000). Texture properties of high and low acyl mixed gellan gels. *Carbohydrate Polymers* 41, 331-338.
- Morris, E.R., Gothard, M.G.E., Hembert, M.W.N., Manning, C.E., Robinson, G. (1996). Conformational and rheological transitions of welan, rhamsan and acylated gellan. *Carbohydrate Polymers* 30, 165-175.
- Nakajima, K., Ikehara, T., Nishi, T. (1996). Observation of gellan gum by scanning tunneling microscopy. *Carbohydrate Polymers* 30, 77-81.
- Phillips, G.A., Williams, P.A., Wedlock, D.J. (1992). *Gums and stabilizers for the food Industry*. Ed. IRL Press at Oxford University. Press Oxford New York.

Pérez, C.S.J. (2008). Propiedades reológicas dinámicas de dispersiones acuosas de gelatina: efecto de la concentración de iones calcio en la formación de geles. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias.

Steffe, J.F. (1992). Rheological Methods in Food Process Engineering. Freeman Press, second edition, United States of America.

Winter, H.H. & Chambon, F. (1986). Analysis of linear viscoelasticity of a cross-linking polymer at the gel point. *Journal of Rheology* 30, 367-382.